J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 30 (11): 7215 - 7223, 2005

CHEMICAL STUDY OF VOLATILE OIL OF FRESH AND DRY LEAVES SAGE (*Salvia fruticosa)* AND ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Benkhayal, F. A.*; M. H. Al-Saadi: A. H. Al-Saadi*** and H.M. Al-Sanousi *****

* Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Omar EL- Mukhtar, Libya

** Faculty of Pharmacy , University of Omar EL- Mukhtar, Libya

*** Department of Zoology, College of Science, University of Omar EL- Mukhtar, Libya

**** Department of Botany, College of Science, University of Omar EL- Mukhtar, Libya

دراسة كيميائية للزيت الطيار المستخلص من الأوراق الغضة والجافة لنبات المريمية (*Salvia fruticosa*) وفعاليته المضادة للبكتريا

فهيم عبد الكريم بن خيال *، محمد حمود السعدي**، علي حمود السعدي*** و حميدة مصطفى السنوسي ****

* قسم علوم وتقنية الأغذية – كلية الزراعة – جامعة عمر المختار – البيضاء – ليبيا

** كلية الصيدلة – جامعة عمر المختار – البيضاء – ليبيا

*** كلية العلوم – قسم الحيوان – جامعة عمر المختار – البيضاء – ليبيا

**** كلية العلوم – قسم النبات – جامعة عمر المختار – البيضاء – ليبيا

الملخص

استخلص الزيت الطيار من الأوراق الجافة والغضة لنبات المريمية *Salvia fruticosa* بواسطة التقطير المائي حيث كان ذو لون اصفر ورائحة عطرية بنسبة 0.7 ، 0.3 % للعينتين على التوالي، وبينت النتائج المتحصل عليها باستخدام تقنية كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة GC-MS إلى ارتفاع نسبة عشر مركبات (1,8-Cineole، 1,8-Cineol Isomer ، Camphor ، Trans-α-Terpineol ، α-Terpineol ، Linalool ، β-Myrcene، α-Pinene ، β-Caryophyllene Isomer ، α-Camphene) للعينة الجافة ، بينما سجلت العينة الغضة تواجد عالي لـثلاث مركبات (1,8-Cineol Isomer، Camphor، α-Terpineol isomer) .

وعند أجراء الدراسة الميكروبية للكشف عن الفعالية المضادة للبكتريا لكلا العينتين تبين أن الزيت الطيار المستخلص من الأوراق المجففة يمتلك فعالية محددة تجاه العزلات تحت الدراسة(*E. coli*، *S. ureus*، *P. mirabilis*، *K. penumoniae*) حيث أعطت نتائج الاختبار مناطق تثبيت قليلة نسبيا (5.6، 5.7، 4.6، 5.3 ملم على التوالي)، في حين أدت المعاملة بالزيت الطيار المستخلص من الأوراق الغضة الى تثبيط فعال تجاه بكتريا الـ *S. aureus* (22 ملم) على الرغم من أن هذا المستخلص لم يظهر أي فعالية تثبيطية تجاه العزلات الثلاثة المتبقية.

المقدمة

استخدم العديد من النباتات منذ زمن بعيد في الطب الشعبي للتخفيف من حدة الالتهابات ومضاعفاتها الناتجة عن الإصابة بأجناس مختلفة من البكتريا والفطريات المرضية من خلال فعلها المثبط لنمو مثل هذه الكائنات ، وقد كان هذا دافعاً لدخول هذه النباتات بما تحتويه من مركبات فعالة في صناعة أنواع مختلفة من الأدوية والمستحضرات الطبية . ومن جهة أخرى استخدمت هذه النباتات كعناصر حافظة بإضافتها للأغذية وذلك لفعاليتها التثبيطية لبعض أنواع الكائنات الميكروبية للحفاظ على تلك الأغذية من الفساد.

واستخدمت نباتات العائله الشفويه ذات الزيوت الطياره الاروماتيه بشكل واسع فى هذا المجال مما شجع العديد من الدول فى الاونه الخيره لاخضاع نباتاتها المتبطنه و التابعه لهذه العائله للكثير من الدراسات و البحوث حيث أشارت الدراسات التي أجريت على نبات المريمية Salvia بنوعيه(*S. leriaefolia* ، *S. viridis*) الى كفاءة التربينات بأنواعها المختلفة في زيوتها الطيارة الى تثبيط نمو بعض أنواع البكتريا الممرضة مثل *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus* ، *Staphylococcus epidermidis* (Ulubelen *et al.*,2000 and Hbibi *et al.*,2000). وتوصل Carvalho وآخرون (2002) الى ان الزيوت الطيارة لنباتات النعناع *Mentha piperita* والحبق *Ocimum micrantum* لها تأثير كمضادات ميكروبية لبكتريا *Escherichia coli* ، *S. aureus*، *B. subtilis*.

ولكد Faleiro وآخرون (2003) على فعالية الزيوت الطيارة المستخلصة بالتقطير المائي من ثلاثة أنواع من الزعتر Thymus (*T. mastichina* ، *T. camphorates* ، *T. lotocephalns*) كمضادات ميكروبية ضد بكتريا *Proteus mirabilis* ، *E. coli* ، *S. aureus* . كما لا حظ Chorianopulos وآخرون (2004) ان الزيوت الطيارة المستخلصة من نباتات البردقوش والزعتر لها فعالية ضد بعض أنواع البكتريا الممرضة (*B. cereus* ، *E. coli* ، *S. aureus*) . واستكمالا للدراسات السابقة تهدف هذه الدراسة الى استخلاص الزيت الطيار من نبات المريمية *Salvia fruticosa* بالتقطير المائي لعينتين من الأوراق احدهما جافة والأخرى غضة وتحليل مكوناته بتقنية كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع طيف الكتلة (GC-Gas Chromatography–Mass Spectroscopy MS). والكشف عن فعاليتة المضادة تجاه أربع أنواع من البكتريا الممرضة (*Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* ، *Proteus mirabilis* *Klebsiella pneumoniae*).

المواد وطرق العمل

1-المادة النباتية :

جمعت الأوراق الغضة لنبات المريمية *Salvia fruticosa* من منطقة الجبل الأخضر بليبيا في شهر مارس 2005 وتم التعرف عليها بالاعتماد على سلسلة الفلورا الليبية والجزء الخاص بالعائلة الشفوية (Jafri and EL-Gadi , 1985).

2-استخلاص الزيت الطيار :

أستخلص الزيت الطيار من الأوراق الجافة والغضة بالتقطير المائي Hydrodistillation باستخدام طريقة Balbaa وآخرون (1981)، حيث تم وزن 100 جم من أوراق النبات مع 600 مل من الماء المقطر ووضعت في منظومة التقطير وأجريت عملية التقطير لمدة 5- 6 ساعات، ثم أخذ ناتج عملية التقطير(الزيت والماء) بعد التكثيف شبع بكلوريد الصوديوم Nacl واستخلص بالأيثر وأزيل الماء باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية NaSO4 anhydrous ، ثم التخلص من المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator والاحتفاظ بالزيت الناتج لإجراء الاختبارات .

3-كروموتوجرافيا الغاز- المدمج بمطياف الكتلة (GC- MS):

أجريت التحليلات الكيميائية للزيت بجهاز كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة (Shimadzu GC/MS – QPSOSOA, Software class 5000) في المركز الإقليمي للفطريات وتطبيقاتها – جامعة الأزهر– جمهورية مصر العربية . وقد تم التعرف على عدد المركبات ومعامل الاحتجاز Retention time (RT) وتحديد نسبة المركب في الخليط. كما تم التعرف على نوعية المركبات عن طريق منظومة التحليل الطيفي للكتلة من مكتبة ويلي (Wiley Mass Spectrum database) وتحديد المجموعة الكيميائية التي ينتمي إليها المركب بمطابقة كل من القيمة الدالة للكتلة Molecular ion peak (M^+) والقيمة الأعلى نسبة (Base Peak) والنظام التجزيئي الطيفي.

4- عينات البكتيريا:

استخدمت أربعة أنواع من العزلات البكتيرية الممرضة (*Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus*، *Proteus mirabilis* ، *Klebsiella pneumoniae*).

جهزت من جمهورية مصر العربية ، وأجريت لها عملية التنمية والتنشيط والاختبارات التشخيصية التأكيدية وصنفت بايوكيميائيا تبعا لطريقة (Koneman *et al.* , 1983 and Quinn *et al.* , 1994).

5- اختبار تأثير الزيت الطيار كمضاد للبكتريا:

استخدمت طريقة Disc diffusion assay كما أشار Sivropoulou وآخرون(1997)، بتقسيم أسطح أطباق بترى الحاوية على الوسط المغذى(Nutrient agar) إلى ثلاثة أقسام ويوضع قرص المضاد الحيوى Neomycin (القياسي الموجب) في احداها للمقارنة والقرص الورقى المشبع بالمستخلص النباتي في القسم الآخر، أما القرص الورقي المشبع بالماء المقطر(القياسي السالب) فقد وضع في القسم الثالث، مع ملاحظة عمل 3 مكررات لكل نوع من العزلات البكتريا ، يتم في البداية توزيع مقدار 0.2 مل من المعلق البكتيري على سطح الأجار في الأطباق وتركها حتى انجافاً. بعد ذلك وضعت الأقراص بالتوزيع الموضح سابقا . حضنت الأطباق في درجة حرارة 37 م^0 لمدة 48 ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين تم قياس قطر المنطقة الخالية من النمو حول الأقراص بالملميتر حيث يحسب معدل قطرين متعامدين لمنطقة التثبيط وطرح منها قطر القرص الورقي.

النتائج والمناقشة

1-تحليل الزيت الطيار

سجلت طريقة الاستخلاص بالتقطير المائي للعينتين الجافة والغضة لنبات المريمية *S. fruticosa* حاصل زيتي طيار ذو لون اصفر ورائحة عطرية قدر بـ 0.7 ، 0.3 % للعينتين على التوالي وبينت النتائج المتحصل عليها باستخدام تقنية كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة ارتفاع نسبة عشر مركبات (Trans-β-Camphor، 1,8-Cineole Isomer ، 1,8-Cineole، Caryophyllene α-Pinene، β-Myrcene، Linalool، α-Terpineol ، α-Terpineol Isomer ، α-Camphene) للعينة الجافة ، بينما سجلت العينة الغضة تواجد عالي لثلاث مركبات (1,8-Cineol Isomer، Camphor، α-Terpineol isomer) جدول (1) ، وهذا يشير إلى الاختلاف الكمي والنوعي في طبيعة المركبات الناتجة باختلاف طبيعة العينة المستخلصة إلى أن التواجد العالي لمثل هذه المركبات وهذا يتفق مع ما توصل اليه Ali و Attila (1987) في دراسة على الزيت الطيار لنفس النوع من النبات إلى ارتفاع نسبة مركبي 1,8-Cineole و Camphor كمكون أعظم في الزيت ، وفي دراسة أخرى لنفس النوع من النبات والنامي في مناطق برية في اليونان تبين احتواء الزيت الطيار على نفس المكونات الرئيسية مع وجود فروق قليلة في النسب لمركبات الـ Camphor، 1,8 Cineole، E-Caryophyllene وارتفاع عالي جدا لمركب Thujone بنوعيه Alpha و Beta (Pitarokili *et al.*, 2003).

2-تاثير الزيت الطيار لنبات المريمية كمضاد لنمو بعض انواع البكتريا

تبين من الدراسة الميكروبية أن للزيت الطيار المستخلص من الاوراق الجافة فعالية محددة تجاه العزلات تحت الدراسة (*E. coli*، *S. aureus*، *P. mirabilis*، *K. penumoniae*) حيث اعطت نتائج الاختبار مناطق تثبيت قليلة نسبيا (5.6 ، 5.7، 4.6، 5.3 ملم على التوالي) ، في حين أدت المعاملة بالزيت الطيار المستخلص من الأوراق الغضة الى تثبيط فعال تجاه بكتريا الـ *S. aureus* (22 ملم) على الرغم من ان هذا المستخلص لم يؤدي الى أي فعالية تثبيطية تجاه العزلات الثلاثة المتبقية (جدول 2 ؛ والشكل 1 ، 2، 3، 4).

جدول(1): تحاليل كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة للزيوت الطيارة لنبـــات المريميـــة *S. fruticosa* المستخلصة من العينتين الجافة والغضة

ت	معامل الاحتجاز	النسبة المئوية		الكتلة	القيمة العظمى	الرمز الكيميائي	الاسم
		A	B				
1	12.71	5.39	-	136	93	$C_{10}H_{16}$	α-Pinene
2	13.13	3.7	-	136	93	$C_{10}H_{16}$	α-Camphen
3	13.51	0.24	-	128	43	$C_8H_{16}O$	3-Octanon
4	13.84	-	0.69	136	93	$C_{10}H_{16}$	2-β-Pinene
5	14.26	9.58	-	136	41	$C_{10}H_{16}$	β-Myrcene
6	14.41	-	0.42	128	57	$C_8H_{16}O$	7-octen-4.ol
7	15.1	8.12	-	154	43	$C_{10}H_{18}O$	1,8-Cineole
8	15.28	7.7	66.3	154	43	$C_{18}H_{18}O$	1,8-Cineol Isomer
9	16.008	1.16	-	136	93	$C_{10}H_{16}$	γ-Terpinene
10	16.31	0.36	-	170	59	$C_{10}H_{18}O_2$	Linalal Oxide
11	16.6	6.42	1.45	154	71	$C_{10}H_{18}O$	Linalool
12	16.94	1.93	-	152	81	$C_{10}H_{16}O$	α-Thujone
13	17.25	1.79	-	152	81	$C_{10}H_{16}O$	β-Thujone
14	18.31	15.58	5.62	152	95	$C_{10}H_{16}O$	Camphor
15	18.92	4.17	2.12	154	59	$C_{10}H_{18}O$	α-Terpineol
16	19.39	2.09	1.98	154	71	$C_{10}H_{18}O$	Terpineol-4
17	19.86	10.62	7.17	154	59	$C_{10}H_{18}O$	α-Terpineol isomer
18	20.62	2.18	-	154	95	$C_{10}H_{18}O$	1-Borneol
19	29	0.18	-	204	119	$C_{15}H_{24}$	α-Copaene
20	29.6	0.12	-	204	81	$C_{15}H_{24}$	β-Bournene
21	31.78	8.11	1.77	204	41	$C_{15}H_{24}$	Trans-β-Caryophyllene
22	32.94	0.97	0.33	204	41	$C_{15}H_{24}$	Trans-β-aryophyllene Isomer
23	33.73	2.65	0.76	204	93	$C_{15}H_{24}$	α-Humulene
24	36.03	-	1.77	220	205	$C_{15}H_{24}O$	Hydroxytoluene Isomer
25	36.17	0.38	-	204	105	$C_{15}H_{24}$	Ledene
26	37.23	-	T	208	208	$C_{12}H_{16}O_3$	Elemicin
27	37.45	0.83	-	204	159	$C_{15}H_{24}$	Cadinene Isomer
28	43.14	-	1.28	204	41	$C_{15}H_{24}$	Sesquiterpene HC

A: الزيت الطيار المستخلص من العينة الجافة

B: الزيت الطيار المستخلص من العينة الغضة

جدول (2): يبين قطر منطقة التثبيط (ملم) لمستخلص الزيت الطيار لنبات تفاح الشـــاي_*S. fruticosa* تجاه بعض العزلات البكتيرية

العزلة البكتيرية	سيطرة موجبة (Neomycin)	المستخلص الزيتي		سيطرة سالبة (ماء مقطر)
		عينة جافة	عينة غضة	
E. coli	17	5.6	0.00	0.00
K. penumoniae	17	5.3	0.00	0.00
S. aureus	20	5.7	22	0.00
P. mirabilis	18	4.6	0.00	0.00

وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Velickovic وآخرون (2003) عند دراستهم للفعالية المضادة للبكتريا للمستخلص الزيتي لنبات المريمية نوع *S. officinalis* والتي تبين من خلالها قدرة المســتخلص على تثبيط نمــو الســلالات البكتيـــرية *B. subtilis* ATCC6633، *S. aureus* ATCC 6538 و*Sarcina lutea* ATTC 9341 حيث كانت أقطار منطقة التثبـيط 17.0، 11.6، 10.2 ملـم علـى

التوالي في حين لم يظهر أي تثبيط تجاه نمو السلالات البكتيرية *E. coli* ATTCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATTCC ، *Salmonella enteritidis* ATTC 13076 9027. حيث كانت اقطار منطقة التثبيط = صفر للسلالات الثلاثة، وذلك على الرغم من احتواء المستخلص الايثانولي على المركبات Linool، 1،8-Cineol ، Limonene ، Camphene ، - α pinene ، α -Humulene ، Barnyl acetate ، Camphor و Thujone بنوعيه Alpha و Beta والموجودة في الزيت الطيار للنبات. كما أضاف هؤلاء الباحثين بان مستخلص الاوراق كان الاقوى من ناحية الفعالية الضد بكتيرية مقارنة بمستخلصات الازهار والسيقان، وهنا يشير الى احتمالية احتواء المستخلص الزيتي للاوراق الغضة على مكونات فعالة تجاه بكتريا الـ *S. aureus* وهذه المواد لا تتوفر في المستخلص الزيتي للاوراق الجافة خصوصا المركب α-Terpineol- 1 والذي وجد في الزيت المحضر من الاوراق الغضة فقط بنسبة 2.12 % (جدول-1) خصوصا وان المركبات Linaly Acetate و Terpineol تمتلك اكبر فعالية تثبيط تجاه البكتيريا (Hinou *et al.*, 1989).

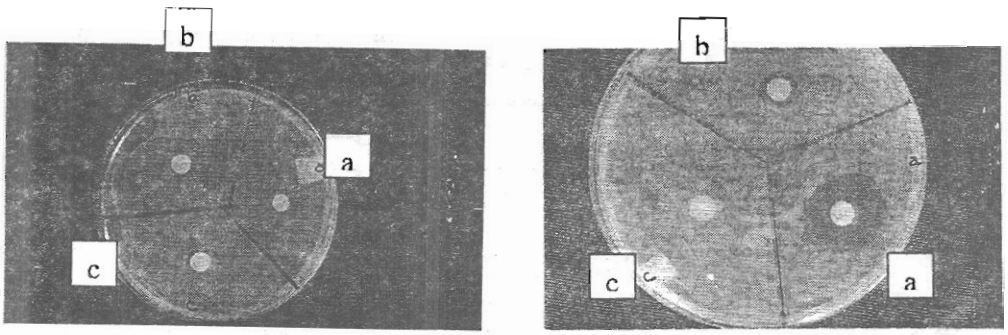
من جانب آخر اشار Sivropoulou وآخرون (1997) الى ان الزيت المستخلص من الأوراق الجافة لنبات المريمية نوع *S. fruticosa* ذو كفاءته منخفضة ضد البكتريا *E. coli* ، *P. aeruginosa* ، *S. typhimurium* ، *S. aureus* و *B. subtilis* ، رغم احتوائه على مركبات 8-Cineole ، 1 ، Thujone، Camphor بكميات تكاد تشكل النسبة الأعلى من مكونات الزيت (47.48 ، 23.86 ، 9.04 % على التوالي) حيث تشكل هذه المركبات المكونات الرئيسية لأغلب الحالات المدروسة من الزيوت الطيارة لنبات المريمية (Karousou, 1995).

وتوضح النتائج المتحصل عليها ان الفعالية المحدودة المضادة للبكتريا ربما تعزى الى هذه المركبات حيث لوحظ احتواء المستخلص الزيتي للأوراق الغضة على نسبة عالية من مركب 8-Cineol ، 1 تصل الى 66.3%، مقارنة بالزيت المستخلص من الأوراق الجافة والمحتوي على نسبة 7.7% (جدول - 1) الأمر الذي قد يسبب في زيادة فعالية الزيت المستخلص من الاوراق الغضة تجاه بكتريا *S. aureus* بالتآزر مع مركب α-Terpineol- 1 سالف الذكر. وهنا تجدر الاشارة الى ان الاختلافات في حساسية البكتريا للمستخلصات الزيتية يمكن ان تلاحظ ليس فقط بين الاجناس او الانواع البكتيرية بل ايضا ضمن السلالات التابعة لنفس النوع، فمثلا لوحظ ان السلالة البكتيرية *S. aureus* NCIMB8625 تظهر حساسية اكثر تجاه مستخلص الزيت الطيار لنبات *S. fruticosa* مقارنة بالسلالة *S. aureus* NCIMB 9518 (Sivropoulou *et al.*, 1997).

كذلك فقد وجد (Ulubelen *et al.*, 1994) ان هناك مركبات اخرى قد تتواجد في انواع مختلفة من نبات المريمية او نباتات اخرى تمتلك ظاهرة التخصص في الفعالية المضادة للبكتريا، حيث وجد ان المركبات Scareol ، Manool ، Spathulenol ، Dehydrosalvipisone -2,3 ، 7- Oxoroyleanone و Caryophyllene Oxide تكون فعالة ضد بكتريا *S. aureus*، في حين تكون المركبات Manool و 2,3-DehydroSalvipisone، فعالة ضد الفطر *Candida albicans* ، اما المركب Caryophyllene فهو فعال تجاه البكتريا *P. mixabilis* . وهذا يتفق مع ما تشير إليه النتائج المتحصل عليها بان الفعالية المحدودة للمستخلص الزيتي للعينة الجافة تجاه بكتريا *P. mirabilis* تعزى الى وجود نسبة بسيطة(8.11 %) من مركب Trans-Caryphyllene والمتخصص في تثبيط نمو هذه البكتريا وهي نسبة قليلة اذا ما قورنت بنسبة المركبات الاخرى، كما ان هذا المركب يختفي تماما في عينة الزيت المحضر من الاوراق الغضة.

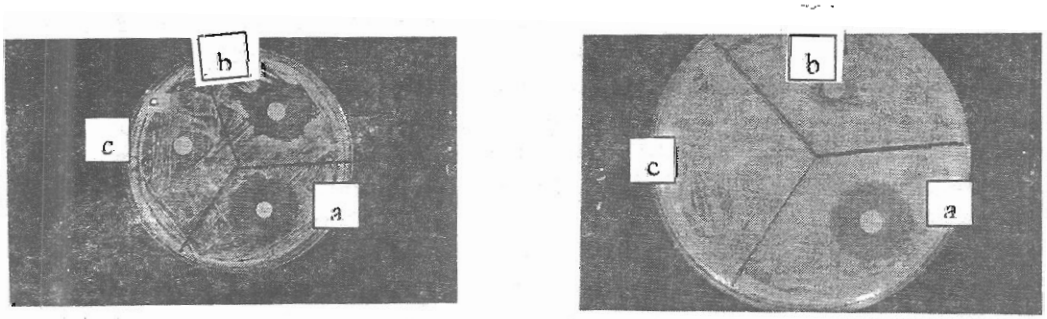
كما لاحظ Ulubelen واخرون (2000) ان المركبات المستخلصة من جذور المريمية نوع *S. viridis* تختلف في فعاليتها ضد بعض انواع البكتريا والفطريات حيث وجد ان المركب 1- Oxoferruginol فعال تجاه بكتريا *B. subtilis*، *S. aureus* و*S. epidermidis* وذو فعالية متوسطة ضد بكتريا *P. mirabilis* ، أما المركب Migrostegiol فيمتلك فعالية محدودة تجاه بكتريا *B. subtilis* . اما Haznedaroglu وآخرون (2001) فقد وجدوا ان الزيت الطيار المستخلص من الاجزاء الهوائية لنبات المريمية *S. tomentosa* والذي يحتوي على مركبات 1,8-Cineole بنسبة 17% و Beta-Caryophyllene بنسبة 11 % و Cyclofechene بنسبة 10 % و Delta-

Cadinene بنسبة ٦% فعال ضد أنواع عديدة من البكتريا الموجبة والسالبة لـصبغة جـرام، الا انـه لا يمتلك أي فعالية تجاه بكتريا *P. aeruginosa*.



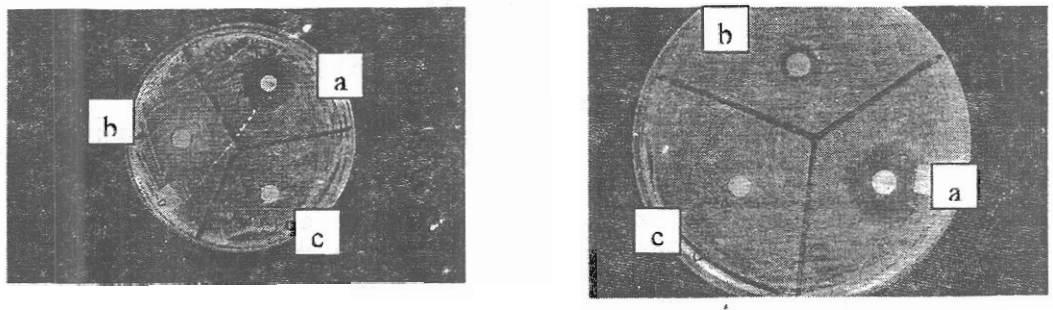
(ب) (أ)

شكل (1) اختبار التاثير المضاد لنمو بكتريا *P. mirabilis* لمستخلص الزيت الطيار لنبات المريمية.
أ. زيت مستخلص من اوراق مجففة ب. زيت من اوراق غضة
a. سيطرة موجبة (Neomycin) b. المستخلص c. سيطرة سالبة (ماء مقطر)



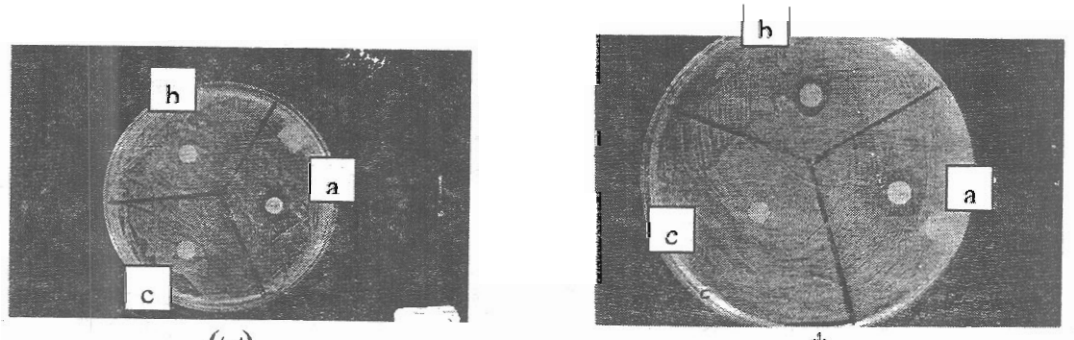
(ب) (أ)

شكل (2) اختبار التاثير المضاد لنمو بكتريا الـ *S. aureus* لمستخلص الزيت الطيار لنبات المريمية.
أ. زيت مستخلص من اوراق مجففة ب. زيت من اوراق غضة
a. سيطرة موجبة (Neomycin) b. المستخلص c. سيطرة سالبة (ماء مقطر)



(ب) (أ)

شكل (3) اختبار التاثير المضاد لنمو بكتريا الـ *K. pneumoniae* لمستخلص الزيت الطيار لنبات المريمية.
أ. زيت مستخلص من اوراق مجففة ب. زيت من اوراق غضة
a. سيطرة موجبة (Neomycin) b. المستخلص c. سيطرة سالبة (ماء مقطر)



(ب) (أ)

شكل (4) اختبار التاثير المضاد لنمو بكتريا الـ *E. coli* لمستخلص الزيت الطيار لنبات المريمية.
أ. زيت مستخلص من اوراق مجففة ب. زيت من اوراق غضة
a. سيطرة موجبة (Neomycin) b. المستخلص c. سيطرة سالبة (ماء مقطر)

وقد اشار (Peana *et al.*, 1999) ان الزيت المستخلص من النوع *S. desoleana* يحتوي على كميات كبيرة من الاسترات وكميات قليلة من الكحولات مقارنة بالنوع *S . sclarea* ، بينما لم يظهرا إلا فعالية تثبيطية ضعيفة ضد بكتريا *S. aureus* ، *E. coli* ، *S. epidermidis* وفطر *C. albicans* . ووجد (Perry *et al.*, 1999) ان المكونات الفعالة قد تتغير كما ونوعا حسب الجزء النباتي فالأجزاء الزهرية لنباتات *S. officinalis* تحتوي على نسبة من المركب Beta-Pinene أعلى مما في الأوراق(27% مقابل 10%) ، في حين تحتوي الأوراق على نسبة أعلى من المركب Thujone مقارنة بالأجزاء الزهرية (31% مقابل 16%)كما ان التغيرات الفصلية تؤثر على مكونات الزيت فقط وليس كميته حيث تنخفض كمية Thujone في فصل الربيع والصيف وتزداد في فصل الخريف والشتاء . وهذا يؤكد ان المكونات الفعالة في النبات قد تتغير كما ونوعا حسب الجزء النباتي والفصل السنوي والموقع الجغرافي والطريقة او المذيب المستخدم في الاستخلاص لذا يجب مراعاة مثل هذه العوامل عند أجراء مثل هذه الدراسات من ناحية طبيعة المكونات الزيتية وفعاليتها المهمة في الجوانب البحثية والتطبيقية.

المراجع

Ali, B. and Attila, A.(1987). Composition of essential oils from Turkish Salvia species . phytochemistry . *26* (3) : 846-874 .

Balbaa , S.I. , Hilal , S.H. and A.Y., Zaki . (1981). Medicinal plant constituents, 3rd., edition , general organisation for university and school books.

Carvalho, J.C.T.; Vignoli , V.V.; Ujikawa, K. and J.J., Neto.(2002). Antimicrobial activity of essential oils from plants used in brazilian popular medicine. Phytomedicine. *22*(5): 125-129.

Chorianopoulos , N. , Kalpoutzakis , E., Aligiannis ,N., Mitaku , S., Nychas, G.J. and S.A., Haroutounian. (2004) . Essential oils of Satureja , Origanum , and Thymus species : chemical composition and antimicrobial activities against foodborne pathogens . J. Agric . Food .chem . *52* (26) : 8261-8267.

Faleiro ,M.L., Migue ,MG., Ladeiro ,F., Tavares ,R., Brito ,J.C., Figueiredo, J. G. and J. G., Barroso.(2003).Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of thymus. Letters in Applied microbiology.*36*(1):35.

Haznedaroglu ,M.Z., Karabay ,N.V. and U., Zeybek.(2001). Antibacterial activity of *salvia tomentosa* essential oil. Fitoterapia. *72*(7): 829-831.

Habibi ,Z.; Eftekhar ,F., Samiee ,K. and A., Rustaiyan .(2000). Structure and antibacterial activity of p6 new labdane diterpenoid from *salvia leriaefolia*. J. Nat. prod .*63*(2):270-271.

Hinou , J. B., Harvala , C.E. and E. B., Hinou. (1989). Antimicrobial activity Screening of 32 Common Constituents of essential oils . Pharmazie . *44* (4) : 302-303 .

Jafri ,S.M.S.H. and El-Gadi ,A.(1985). Flora of Libya .Vols .25-144. Department of Botany , Al-Faateh Univ ., Tripoli.

Karousou , R . (1995) . Taxonomic Studies on the gretan labiatae : distribution , morphology and essential oils .Ph.D. Disseration , Aristotle University of thessaloniki .

Koneman ,E.W., Allen ,S.D., Dowell ,V.R. and H.M., Sommers.(1983). Enterobateriaceae . In color Atlas and taxt book of diagnostic microbiology . 2 nd Ed .I.B , lippin cott ,co. Newyork , London.

Peana , A.T., Moretti , M.D. and C., Juliano. (1999) . Chenical composition and antimicrobial action of the essential oils of *Salvia desoleana* and *S.sclarea*. Planta . Med. *65* (8) : 752-754 .

Perry , N., B., Anderson , R.E., Brennan , N.J., Douglas , M.H., Heaney , A.J. Mc Gimpsey , J.A. and B.M., Small field. (1999).Essential oils from Dalmatian sage(*Saliva officinalis*): Variation among individuals plant parts, seasons, and sites J.Agric .Food .Chem .*47*(5): 2048-2054.

Pitarokili ,D., Tzakou,O., Loukis,A. and C., Harvala. (2003).Volatile metabolites from *Salvia Fruticosa* as antifungal agent soil borne pathogens .J.Agric.Food chem. *51*(11) : 3294-3301.

Quinn , P.J., Carter , M.E., Markey ,B.K. and G.R., Carter.(1994). Enterobacteriaceae, in clinical veterinary microbiology. wolfe puplishing . an imprint of mosby year-book Europe-ltd- London .

Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras , T., and M., Aresnakis.(1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *salvia fruticosa* essential oil. J. Agric. Food chem. *45*(8) : 3197-3201.

Ulubelen, A., Topcu, G., Eris, C.; Somenmez, U., Kartal, M., Kurucu, S. and C., Bozok-Johansson. (1994). Terpenoids from *salvia sclarea*. Phytochemistry . *36*(4) : 971-974.

Ulubelen, A., Oksuz, S., Kolak, U., Bozok-Johansson, C., Celik, C. and W., Volter. (2000). Antibacterial diterpenes from the roots of *salvia viridis*. Planta Med. *66*(5) : 458-462.

Velickovic , D.T., Randjelovic, N.V., Ristic , M.S. and A.A., Smelcerovic. (2003) . Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leab and stem of *Salvia officinalis* L.J. Serb. Chem. Soc. *68* (1) : 17-24 .

CHEMICAL STUDY OF VOLATILE OIL OF FRESH AND DRY LEAVES SAGE (*Salvia fruticosa)* AND ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Benkhayal, F. A.*; M. H. Al-Saadi: A. H. Al-Saadi*** and H.M. Al-Sanousi ******

* **Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Omar EL- Mukhtar, Libya**

** **Faculty of Pharmacy , University of Omar EL- Mukhtar, Libya**

*** **Dept. of Zoology, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya**

**** **Dept. of Botany, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya**

ABSTRACT

The volatile oil of *Salvia fruticosa* which was extracted from the dry and fresh green leaves using hydrodistillation had a yellow color/aromatic and its percentage was (0.7,0.3)% respectively. The oil was studded for its constitutes by GC-MS . The results showed the high presence of ten components (1,8-Cineole ، 1,8-Cineol Isomer ، Camphor ، Trans-β Caryophyllene ،α-Pinene ، β-Myrcene ، Linalool ، α-Terpineol، α-Terpineol isomer, α-Camphene) in dry leaves and three components (1,8-Cineol Isomer ،Camphor ،α-Terpineol isomer) in fresh leaves.

Antibacterial study showed that the volatile oil extract from dry leaves inhibited the growth of *E. coli* , *K. pneumonia* , *S. aureus* and *P. mirabilis* with an inhibition zone approximately (5.6, 5.3, 5.7, 4.6) mm respectively. However the oil extract from fresh leaves showed a significant inhibitory effect toward *S. aureus* , with an inhibition zone about 22 mm. this result was very close to the neomycin as positive control (20 mm). On the other hand there was not any activity against the other three species of the bacteria used in this study.