

## اثر فعالیت ضد باکتریایی اسانس *Salvia officinalis L.*

زهرا آبروشه<sup>۱</sup>، محمدباقر رضایی<sup>۲</sup> و فاطمه اشرفی<sup>۳</sup>

### چکیده

بسیاری از فرآورده‌های خام گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به‌طور مستقیم در پزشکی مصرف می‌شوند، ولی در بیشتر موارد روغن‌های فرار را از مواد خام جدا نموده و به عنوان دارو بکار می‌برند. اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) به روشن تقطیر با آب استخراج و تأثیر آن بو روی ۴ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی با نامهای: *Shigella sonnei*, *E.coli*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* به روش چاهک مطالعه و ترکیب‌های شیمیایی اسانس توسط دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی GC و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه و شناسایی شده و با محاسبه شاخصهای بازداری روشن گردید که در مجموع ۱۰ ترکیب مختلف در اسانس مذبور شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبها  $\alpha$ -pinene (۵/۵ درصد)، borneol (۹/۴ درصد)،  $\alpha$ -humulene (۸/۴ درصد) و globulol (۹/۳ درصد) بود.

روغن فرار مؤثر در برابر سوسپانسیون باکتریهای فوق الذکر با تراکم  $10^8$  میکروارگانیسم در هر میلی لیتر تعیین گردیده تا میزان باکتری کشی آن مورد مطالعه قرار گیرد. فعالیت باکتری کشی اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی بعد از مدت زمان ۴۸-۲۴ ساعت به صورت حاله‌های عدم رشدی مشاهده شد. قطر این حاله‌ها به ترتیب در مورد باسیلوس سرئوس ۴۰ mm، باسیلوس آنتراسیس ۲۵ mm، شیگلا سونهای ۲۴ mm و اشرشیا کلی ۲۰ mm به دست آمد.

E-mail: abravesh@rifr-ac.ir

- ۱- کارشناس ارشد مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع،
- ۲- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.
- ۳- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شمال.

**واژه‌های کلیدی:** مریم گلی، باسیلوس سرئوس، باسیلوس آنتراسیس، شیگلا سونه‌ای، اشرشیاکلی

### مقدمه

بخش بزرگی از بیماریهای عفونی در پزشکی به کثرت، وقوع و مسری بودن آنها در ارتباط با بهداشت عمومی نسبت داده می‌شود. گرچه موارد استثنایی وجود دارد، ولی بیماریهای عفونی را می‌توان آسانتر از هر گروه مهمی از اختلالات دیگر پیشگیری و درمان کرد (ملکزاده، ۱۳۶۸).

مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) مهمترین گیاه دارویی متعلق به تیره نعناعیان (*Labiatae*) است که استفاده‌های درمانی آن به زمانهای خیلی دور بر می‌گردد. در قرون وسطی مردم آن را دارویی برای همه دردها دانسته، و اسانس‌گیری از آن نیز از همان زمان بین مردم معمول بوده است. اطبای قدیم مانند casin و پزشکان معاصر مانند Dr. H. Leclere آن را در رفع ضعف مفرط با منشاء عصبی، ضعف اعصاب، خستگی عمومی، سرگیجه‌های عصبی، لرزش اندامها و فلنج مؤثر تشخیص داده‌اند (زرگری، ۱۳۶۹).

از اسانس مریم گلی در صنایع عطرسازی (Piccagliha, 1997) در صنایع غذایی (به عنوان چاشنی و طعم‌دهنده و از گلهای آن به عنوان نوعی نوشابه مانند چای (بس از Reineccius ۱۹۹۶ و Lambert Ortiz ۱۹۹۶) و انجام عمل قهوه‌ای شدن روی گل، ...) (Odymnimh, 1995) استفاده‌های زیادی می‌شود.

فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاهان بر روی میکرووارگانیسم‌ها از دیر باز شناخته شده و مطالعات زیادی درباره گونه‌های مختلف گیاهی و تأثیر اسانس یا عصاره آنها روی میکروارگانیسم‌ها انجام شده است (رسولی، ۱۳۷۷) مطالعات Roussis (1996)

تأثیرپذیری اشرشیاکلی و مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس را در برابر روغنهای اسانس دار *Lamium garganicum* نشان داد.

در سالهای اخیر گزارش شده است که اسانس مریم گلی بهخصوص برخی ترکیبی‌های موجود در آن از جمله، 1,8-cineole, thujone, comphor، ضد میکروبی، آنتی اکسیدان و ضد سرطان است (Carata & et al 1996, Piccaglha & et al 1997).

بیشتر گونه‌های جنس *Salvia* از زمانهای بسیار دور در طب بکار می‌رفت. جنس *Salvia* دارای ترکیبی‌ای بیولوژیکی فعالی هستند ترکیبی‌های جدا شده از ریشه‌های *Salvia miltiorrhiza* موجود مهارآدنیلات سیکلаз می‌شود که آنزیم مسؤول تولید AMP-سیکلیک و یک تنظیم کننده مهم هورمونی و فرستنده عصبی می‌باشد (Kohda et al 1989, Janssen et al; 1989, Gonzalez et al; 1990, Daris et al 1989, 1987, 1989, Tada et al 1990, Daris et al 1994) و ضد ویروسی (Daris et al 1990) اسانس بدست آمده از گونه‌های *Salvia* و ترکیبی‌های اصلی آن انجام شده است. فعالیت ضد ویروسی *Salvia officinalis* مربوط به دی ترپنولیدها می‌باشد.

فعالیت بیولوژیکی و کاربرد اسانس در صنایع مختلف به ترکیبی‌ای شیمیایی موجود در آن بستگی دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شرایط کشت، روش‌های زراعت و اندام مورد اسانس‌گیری است (احمدی، ۱۳۷۲). در این تحقیق هدف مطالعه بررسی تأثیر اسانس گیاه مریم گلی بر روی شایع ترین باکتریهای دستگاه گوارش است که موجب عفونت می‌شوند. با توجه به بروز مقاومتهای میکروبی از یک سو و علمی‌تر کردن موارد استفاده گیاهان دارویی، از سوی دیگر، نیاز به یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و مؤثر بسیار ضروری است.

## مواد و روشها

### جمع آوری، خشک کردن و اسانس گیری گیاه

سرشارخه گلدار گیاه مریم گلی در اوخر فصل بهار ۱۳۸۱ از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع جمع آوری شد و در محیط آزمایشگاه و در سایه خشک گردید و با آسیای برقی پودر شده و با روش تقطیر با آب اسانس گیری صورت گرفت. اسانس مورد نظر در شیشه های کوچک مخصوص اسانس نگهداری شد و برای کارهای میکروبی به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال یافت.

### تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی GC-9A Shimadzu مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و داده پرداز EuroChrom 2000 از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-1 (غیر قطبی) به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۰۲۵ میکرون است. برنامه حرارتی ستون: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت افزایش دما برابر ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۶۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد.

### تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله یونی<sup>۱</sup> و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت. ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC می‌باشد. درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده است.

شناسایی طیفها به کمک شاخصهای بازداری آنها که با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C<sub>7</sub>-C<sub>25</sub>) تحت شرایط یکسان با تزریق انسانسها و توسط برنامه کامپیوترا نوشته شده (زبان بیسیک) محاسبه شدند. و در ضمن مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده (Bicchi Sandra و Davies ۱۹۸۷ و Bicchi Sandra و Davies ۱۹۹۸) صورت پذیرفت و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیب‌های استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوفیدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید شدند. محاسبه‌های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده‌پرداز EuroChrom 2000 به روش نرمال کردن سطح<sup>۲</sup> و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ<sup>۳</sup> مربوط به طیفها انجام شده است.

**باکتریهای مورد مطالعه و روش بررسی اثر ضد میکروبی**  
محیطهای کشت میکروبی مورد استفاده عبارت بودند از: مولر هیستون، نوترینت آگار (مرک، آلمان).

سویه‌های میکروبی *Bacillus* PTCC 1010 *Bacillus cereus* PTCC 1015 *E.coli* PTCC 1037, *Shigella sonnei* PTCC 1235, *anthracis* برای مطالعه اثرات ضد میکروبی از روش چاهک استفاده شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی با لوله شماره ۵/ مک فارلنده به تعداد تقریبی  $10^8 \text{ cfu/ml} \times 1/5$  تعیین شد.

1- Ion trap

1- Area normalization method

2- Response factors

بعد از کشت میکروب مورد نظر را به صورت کشت متراکم (Slide culture) در سطح پلیتھایی با قطر ۸cm حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار، چاله‌هایی به وسیله پیپت پاستور استریل به قطر ۶ mm روی محیط کشت ایجاد کرده این چاله‌ها از یکدیگر و از لبه پلیت با فاصله مناسب قرار گرفتند. سپس در محل این چاله‌ها با سمپلر استریل مقدار ۱  $\mu$ l از اسانس، درون چاله‌ها ریخته شد (هیچ حلالی بکار گرفته نشد). بعد از انجام این مراحل پلیتها را در داخل انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و بعد از مدت زمان ۴۸ - ۲۴ ساعت، قطر هاله‌های عدم رشد با خطکش مدرج اندازه‌گیری شدند (این آزمایش ۵ بار تکرار گردید).

## نتایج

به منظور تعیین ترکیب‌های شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی روغن فرار، اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی به روش تقطیر با آب استخراج و فعالیت ضد میکروبی آن بر روی باکتریهای *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* *E.coli*, *Shigella sonnei* مورد مطالعه قرار گرفتند. تأثیر ضد میکروبی اسانس این گیاه به وسیله روش چاهک نسبت به چهار میکروارگانیسم فوق الذکر را نشان داد. در این تحقیق اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی بر روی باسیلوس سرئوس بیشترین تأثیر را داشته است. در واقع باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس نسبت به ۳ باکتری دیگر حساسیت بیشتری داشته است. ۳ باکتری باسیلوس آنتراسیس، شیگلا سونه‌ای و اشرشیا کلی نیز نسبت به اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی حساسیت نشان داده‌اند. این حساسیتها که به صورت هاله‌های عدم رشد مشاهده می‌شوند به ترتیب در باکتری باسیلوس سرئوس ( $SD \pm 2$  mm,  $40$  mm)، باسیلوس آنتراسیس ( $SD \pm 1/5$  mm,  $25$  mm)، شیگلا سونئی ( $1$  mm,  $24$  mm) و در اشرشیاکلی ( $SD \pm 1/4$  mm,  $20$  mm) اندازه‌گیری شده است طبق نتایج بدست آمده

حساسیت باکتریهای گرم مثبت بسیار بیشتر از باکتریهای گرم منفی می‌باشد (نمودار شماره ۱).

تجزیه و شناسایی ترکیبیهای اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که عمدترين ترکیبیهای اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی عبارتند از: camphene (5%) ، $\alpha$  - pinene(5/5%) ، $\alpha$  -thujone (16/4%) ، $\beta$  pinene (16%)  
 $\alpha$  -humulene (5%) و globulol (9/3%)

### بحث

سیوروپولو و همکاران (1997) دریافتند که اسانس گیاه *Salvia fructicosa* تجزیه شده به وسیله GC و GC/MS نشان می‌دهد که میزان (47.48% thujone ، 1,8-cineole (47.48%) و (9.04%) و (11.93%) camphor در میان تمام ترکیبیهای اسانسی بیشترین مقدار را داشته است ترکیبیهای 1,8-cineole و thujone در مقابل باکتری *E.coli* به روش دیسک (Disk Diffusion Assay) فعالیت ضد باکتریایی دارند، در حالی که camphor در مقابل این باکتری غیرفعال و بی‌اثر است سیوروپولو و همکاران (1995) فعالیت ضدباکتریایی اسانس بعضی از گیاهان تیره نعناع را در مقابل باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. در این مطالعه نیز تأیید شد که فعالیتهای ضد میکروبی اسانس بر روی میکروارگانیسم‌ها متغیر است.

اختلاف اثر روغنهای فرار بر عوامل بیماریزا نشان دهنده ترکیب شیمیایی متفاوت آنها نسبت به عوامل بیماریزا است. به نظر می‌رسد که تأثیر میکروب‌کشی انسنهای در ارتباط با ترکیبیهای مونوترپنی باشد. ترکیبیهای اصلی در اسانس *Salvia* متواترین های کتونی شامل thujone, camphor می‌باشد (2002,Moretti MDL et al). اسانس *Salvia officinalis volatile* و *Salvia fructicosa* در مقابل رنج وسیعی از باکتریها از جمله *E.coli*, *Bacillus cereus* آزمایش شده و نشان دادند که دارای اثر ضد باکتریایی می‌باشند (2000, Final Report June) نتایج محققان نشان می‌دهد که وجود camphor ،

به میزان بالا موجب سمیت اسانس می‌شود. thujone به فعالیت ضد میکروبی پاسخ می‌دهد ([www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm](http://www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm)).

فعالیت ضد میکروبی اسانس در مقابل گونه‌های *Klebsilla ozanne*, *Salmonella*, *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* و *Shigella sonnei* تعیین شده است ([www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm](http://www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm)). همچنین اسانس *Salvia officinalis* فعالیت ضد قارچی نیز دارد ([www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm](http://www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm)). ترکیب‌های Salvin monomethyl ether و Salvin (ashburys.com/oil/eo-sage.htm) دارای فعالیت ضد میکروبی به خصوص در مقابل *Staphylococcus phenolic acids* است ([www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm](http://www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm)). محققان در بریتانیا با تحقیقات جدیدشان دریافتند که در *Salvia officinalis* ترکیب‌هایی وجود دارد که موجب جلوگیری و معالجه الزایمر می‌شود مطالعات انجام شده در آلمان نشان می‌دهد که مصرف این گیاه به صورت نوشیدنی در معده خالی موجب کاهش قند خون در بیماران دیابتی می‌شود (Faith, Gail E. February 2004).

تحقیقات Balchin و همکارانش (1997) نشان می‌دهد که 1,8 - cineole میکروب‌کشی نداشته و از طرفی دیگر خاصیت ضد میکروبی گیاهان حاوی  $\alpha$ -pinene را تأیید می‌کند. Tepe و همکاران (2003) فعالیت‌های ضد باکتریایی اسانس و عصاره‌های مтанولی دو گونه *Salvia cryptantha* و *Salvia muticaulis* را به روش دیسک پلیت و انتشار چاهک بر روی باکتریهای باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی آزمایش کردند و مشاهده کردند که اسانس و عصاره مтанولی این دو گونه اثر ضد باکتریایی مشتمی از خود نشان دادند وجود ترکیب‌های مانند borneol,  $\alpha$ - pinene, *Salvia officinalis* camphor, 1,8 - cineole در این دو گونه و همچنین در گونه camphor نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی را می‌توان به این ترکیبها نسبت داد. 1,8- cineole ترکیب‌های شیمیایی معروفی هستند که دارای توان ضد میکروبی می‌باشند.

$\alpha$ -pinene, Tzakov, et al.) ۱۹۹۷ و ۲۰۰۱ براساس یک گزارش، (هیدروکربن منوترپن) و borneole (اکسیژنات منوترپن) فعالیت کندی در مقابل میکروارگانیسم‌ها دارند (Dorman and Deans ۲۰۰۰). نتایج مقدماتی روی مواد تجاری به فعالیت قابل ملاحظه  $\alpha$ -pinene در مقابل مخمرها اشاره می‌کند (اطلاعات منتشر نشده). اثرات ضد میکروبی borneol همچنین در جای دیگری گزارش شده بود (Vardar-Unlu et al ۱۹۸۹, knobloch et al; ۲۰۰۱, Tabanca et al; ۲۰۰۳) بنابر نتایج این یافته‌ها، فعالیتهای ضد میکروبی اسانس *Salvia cryptantha*, *Salvia multicaulis* می‌تواند به ۱,8-cineole, camphor و مشتقات borneole نسبت داده شود. در این مطالعه نیز اسانس مریم گلی حاوی ( $\alpha$ -pinene ۵.۵%), ۱,۸ - cineole (۲%), camphen (۵%) و borneol (۹.۴%), camphor (2.۹%),  $\beta$ -pinene (16%) است. با توجه به اینکه اسانس توانسته است خاصیت باکتری کشی نسبت به باسیلوس سرئوس، باسیلوس آنتراسیس، شبگلا سونهای و اشرشیاکلی داشته باشد. می‌توان خاصیت باکتری کشی را در برابر ترکیب‌های منوترپنی استنباط نمود.

جدول شماره ۱- چند ترکیب عمدۀ شیمیایی موجود در اسانس

## سرشاخه گلدار گیاه مریم گلی

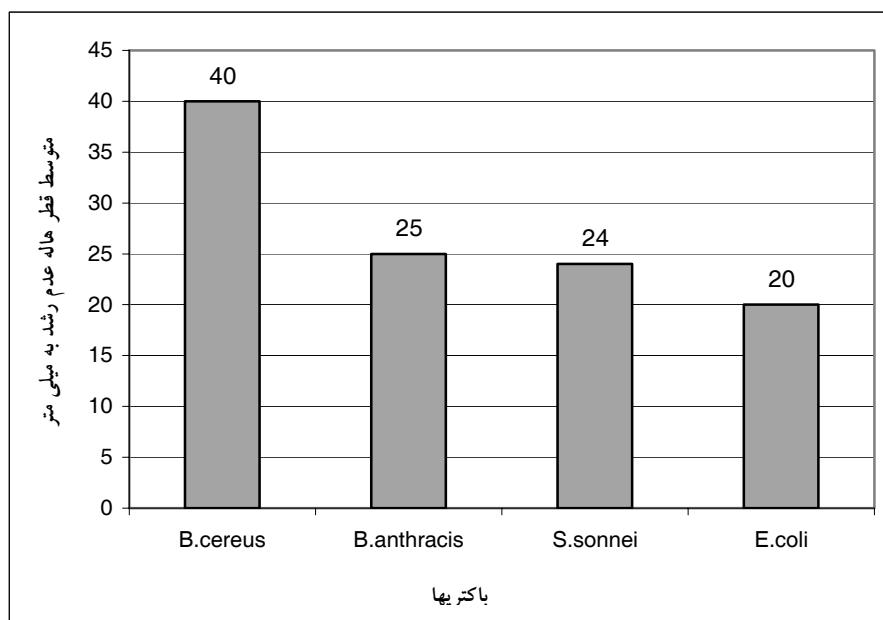
درصد	نام ترکیب	شاخص کواتس
۵/۵	$\alpha$ -pinene	۹۳۶
۵	Camphen	۹۴۶
۱/۶	$\beta$ -pinene	۹۷۴
۱/۷	Limonene	۱۰۲۶
۲	۱,۸ – cineole	۱۰۲۸
۷/۴	$\alpha$ - thujone	۱۱۰۳
۲/۹	Camphor	۱۱۴۱
۹/۴	Borneol	۱۱۶۵

۸/۴	$\alpha$ - humullen	۱۴۵۳
۹/۳	Globulol	۱۶۰۰

× شاخصهای بازداری با تزریق هیدروکربنها نرمال (C<sub>9</sub>-C<sub>25</sub>) با ستون DB-1 محاسبه شده‌اند.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شمال به منظور فراهم نمودن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق قدردانی بعمل می‌آید.



نمودار شماره ۱- تأثیر ضد باکتریایی اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی

#### منابع مورد استفاده

- احمدی، ل.، ۱۳۷۲. بررسی تأثیر مراحل مختلف رشد گیاه مریم گلی دارویی در تولید اسانس و ترکیبیهای شیمیایی آن، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر (۴)، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، شماره انتشار ۲۱۲-۱۳۷۲، تهران.

- زرگری، ع.، ۱۳۶۹. گیاهان دارویی، جلد چهارم، صفحه ۶۱-۹۵، انتشارات دانشگاه تهران.

- ملکزاده، ف.، ۱۳۶۸. اصول طب داخلی هاریسون (بیماریهای عفونی باکتریها)، چاپ یازدهم، انتشارات شرکت سهامی چهر.

- رسولی، ا.، رضایی، م. ب.، ۱۳۷۷. ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس آویشن (Heracleum persicum) و گلپر (ThymusX-porlock) مجله زیست‌شناسی ایران، جلد هفتم، شماره ۳ و ۴، چاپ ۷۹.

- Carata c. Morettim, D.L., & peana, A.T., 1996. Activity of the oil of *Salvia officinalis L.* Against *Botrytis cinerea*. J. Essen. oil Res., No8,399-404.
- Davies, N.W., 1998. Gas Chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl and carbowax 20 M phases., J.Chromatography, 503, 1-24.
- Dorman. H.J.D., and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88, pp. 308-316. Abstract - Medline Abstract- Geobase Abstract-Biotechnobase Abstract-Embase Abstract- Elsevier Biboase full text via CrossRef
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberi, B., Wegand H., and Weis, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essen. oil Res., 1, pp. 119-128.
- Lambert Ortiz, E., 1996. Encyclopedia of herbs, spices & Flavourings. Dorling Kinderslej, p 48-9
- Lis- Balchin, N., Deans.G., and Eaglesham. E.,1997. Relationship between bioactivity and chemical composition of commerical essential oils. Flavour and Fragr.J., 13: 98-104.
- Odymnimh.p.,1995. Complete medicinal herbal, Dorling Kindersley, p95.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji M., and Kole, C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essentialoils. Microbios 89, pp.39-46. Abstract-Medline
- Piccaglia, R., Marithi, M., & Dellaceae ,V., 1997. Effect of planting density & harvest date on yield & chemical composition of sage oil. J. Essen. oil Res., No 9, 187-191.
- Reineccius ,G., 1994. Source book of flavors, Chapman & hall.p 389.
- Roussis , V., 1996. Idetification and bacteriostatic activity of the essential oil of *Lamium garganicum L.* ssp. *Lavigatum Arcangeli*. J. Essen. oil Res.8: 291-293.

- Sandra, P.; Bicchi, C., 1987. Chromatographic method, capillary gas chromatography in essential oil analysis .,Chapter 8, Retention indices in essential oil analysis, p.259-274.
- Sivropolulov, A., Skokini, Thlanaros and Arsenakas. M., 1995. Antimicrobial activity of mint essential oil, j. Agric food chem. 43, 2334-2388.
- Tabanca, N., Krmer, B., Demiric F., and Baser, K.H.C., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils *Micromeria cristata* subsp. *Phrygia* and the enantiomeric Medline Full text via CrossRef - Tepe,B., - - Donmez, E., Unlu. M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., and Sokmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbretet Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl), Food Chemistry. P.519-525.
- Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou and Harvala C., 2001. Compision and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. Planta Medica 67, pp. 81-83. Abstract-Medline Abstract- Beilstein Abstracts Abstract-Elsevier Biobase Abstract- Embase full text via CrossRef
- Vardar -Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez E., and Tepe, B., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanole extracts of *Thymus pectinatus* Fish. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, pp.63-67. Abstract- Medline full text via CrossRef - www.ashburys.com/oil/eo- sage.htm.