



دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال چهارم، شماره‌ی ۱۴
بهار ۱۳۹۲، صفحات ۲۹-۳۵

بررسی مواد تشکیل دهنده اسانس‌های دو گونه مختلف از *Origanum*

محمد جلیل زاده هدایتی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

m.jalilzadeh@iau-ahar.ac.ir

راضیه وطن دوست

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

چکیده

مرزنجوش از گیاهان رایجی است که در نقاط مختلف دنیا به عنوان ادویه استفاده می‌شود. مرزنجوش جنسی از خانواده نعناع و دارای گونه‌های متعددی است. دو گونه کلی مرزنجوش منسوب به گونه اروپایی و مدیترانه‌ای خواص درمانی دارند. از این گیاه از قرن‌ها قبل به عنوان دارو برای درمان بیماری‌های گوارشی، سرما خوردگی، آلرژی‌های تنفسی، دیابت، التیام زخم‌ها و مهم‌تر از همه به عنوان آرام بخش استفاده شده است. گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدان و آنتی‌باکتریال قوی بر ضد پاتوژن‌های انسانی است. *Origanum* و *Origanum Vulgare L.* جزء مهم‌ترین گونه‌های مرزنجوش متعلق به خانواده‌ی نعناعیان می‌باشند. گونه‌های ذکر شده از مناطق حفاظت شده‌ی ارسباران- کوه‌های آینالو جمع‌آوری شدند. اسانس این دو گیاه به روش تقطیر با آب داغ با استفاده از دستگاه کلونجر به دست آمده، توسط سدیم سولفات بی‌آب رطوبت زدایی و با GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفتند.

کلید واژه‌ها: مرزنجوش، اسانس، جنس نعناع، طیف سنجی جرمی، فیتوکمیکالز.

مقدمه

گیاهان به عنوان ترکیبات طبیعی شناخته شده‌اند [۱]. امروزه اصطلاح ترکیبات طبیعی به صورت متداول برای اشاره به گیاهان، معجون‌های گیاهی، مکمل‌های غذایی گیاهی، داروهای سنتی و به طور کلی طب سنتی استفاده می‌شود [۲].

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی امروزه بیش از ۸۰٪ مردم جهان برای درمان بیماری‌ها هنوز از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند [۳]. تقریباً یک چهارم داروهای تهیه شده‌ی دنیا دارای منشاء گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شده‌اند یا بر اساس ترکیب‌های گیاهی سنتز شده‌اند [۴].

علی‌رغم تنوع گیاهان دارویی در کشور ما، مطالعات فیتوشیمیایی انجام شده بر روی این گیاهان بسیار محدود می‌باشد. در سال‌های اخیر مطالعات علمی بر روی اثرات درمانی گیاهان افزایش قابل توجهی یافته است و با توجه به این مطالعات، شناسایی ترکیبات موثر گیاهان ضروری به نظر می‌رسد. گیاهان آروماتیک منابع بسیار عالی از مواد مؤثر و ترکیبات بیواکتیو هستند [۵]. بنابراین با عنایت به اهمیت ترکیبات طبیعی مؤثر بر بیماری‌های مختلف و توسعه و تولید داروهای جدید، شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در منابع طبیعی از جمله گیاهان، حائز اهمیت است.

در این مقاله یکی از گیاهان *Origanum Vulgare L* و *Origanum majorana L* از خانواده نعناعیان مورد تحقیق و بررسی قرار می‌گیرند. گیاهان متعلق به جنس مرزنجوش از نظر ترکیبات معطر غنی می‌باشند. *O. Vulgare* بومی کشور ما بوده و گونه *O. majorana* به صورت گلخانه‌ای در کشور ما موجود می‌باشند. میزان اسانس بسته به زمان برداشت گیاه می‌تواند از ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر باشد. همین‌طور ترکیبات تشکیل دهنده نیز می‌توانند با توجه به عوامل مختلف تا حدی متغیر باشند.

گونه‌های مختلف این گیاه در یک طیف گسترده در صنایع غذایی، صنایع داروسازی، و هم‌چنین لوازم آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد [۶-۸]. در صنایع غذایی به عنوان

چاشنی، ادویه و نیز معطر کردن غذاها [۹-۱۳]، خصوصاً غذاهای دریایی و مدیترانه‌ای [۱۴] به کار برده می‌شود. در صنعت صابون‌سازی جهت معطر کردن و در فرآورده‌های آرایشی به دلیل مهار اکسیداسیون لیپید در سرتاسر جهان استفاده می‌شود [۹-۱۵].

ملگاری و همکاران در سال ۱۹۹۵ ترکیبات اسانس *Vulgare Origanum SSP.* را در چهار منطقه از کشور ایتالیا پس از آنالیز به صورت کموتایپ‌های بتا - کاریوفیلین (۱۷/۲٪)، تایمول (۳۹/۳٪)، ترپنین - ۴ - ال (۳۱/۳٪) و پارا - سایمن (۱۸/۹٪) معرفی کردند [۱۶].

ورا و همکارش در سال ۱۹۹۵ ترکیبات شیمیایی اسانس *Origanum majorana L* را از جزیره ریونیون واقع در اقیانوس هند با استفاده از طیف سنجی *FT-IR* و *MASS* مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. در میان ۴۵ ترکیب ثبت شده با کروماتوگرافی گازی، *GC-MS*، *FT-IR*، *GC*، چهل و سه ترکیب مشخص شد. ترکیبات غنی اسانس شامل: ترپنین - ۴ - ال (۳۸/۴٪)، سیس - ساینین هیدریت (۱۵٪) و پارا - سایمن (۷٪) و گاما - ترپنین (۶/۹٪) بودند [۱۷]. آلیگانیس و همکاران در سال ۲۰۰۱، ترکیبات اسانس به دست آمده از قسمت‌های هوایی *Origanum Scabrum* و *Origanum microphyllum* دو گونه‌ی بومی یونان را مورد بررسی قرار دادند، آنالیز توسط دستگاه *GC/MS* و حدود ۴۸ ترکیب را نشان داد. درصد روغن اسانس ۹۸/۵۹ و ۹۸/۶۶ درصد بود که ترکیبات اصلی به ترتیب شامل: کارواکرول، ترپنین-۴-آل، لینالول، ساینین، آلفا - ترپنین و گاما - ترپنین بودند. هر دو نمونه‌ی گیاهی فعالیت‌های ضد میکروبی جالبی را نشان دادند، و در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و سه قارچ بیماری‌زا مورد آزمایش قرار گرفتند [۱۸].

مواد و روش‌ها

گیاه *Origanum majorana L*، *Origanum Vulgare L* از مناطق ارسباران، ترازوی دیجیتالی مدل PCB 100-3 با دقت ۰/۰۰۱ گرم از شرکت KERN PCB آلمان،

میلی لیتر بر دقیقه و حجم تزریق نمونه ۱ میکرولیتر استفاده شد، خلوص گاز هلیوم ۹۹/۹۹۹ بوده است. شرایط دستگاه GC/MS برای تزریق اسانس، عرق و جوشانده: تزریق اسانس، عرق و جوشانده‌ی نمونه‌های هر دو گونه‌ی گیاهی *Origanum* و *Origanum Vulgare L* majorana به دستگاه GC-MS در شرایط زیر طبق جدول (۱-۳) انجام گرفت.

GC/MS مدل GC: 7890A MSD: G1370A از شرکت Agilent آمریکا، چیلر مدل F-100 از شرکت BUCHI سوئد، دستگاه شوف بالن از شرکت THERMO آلمان، آسیاب برقی از شرکت INDESIT ایتالیا، دستگاه کلونجر دست ساز مشخصات دستگاه GC-MS: از ستون BD₅ با گرادیان دما از ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد و در نهایت ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و با نسبت Split-Splitless یک به سه و گاز حامل هلیوم با سرعت ۱

جدول ۱- شرایط GC/MS برای تزریق اسانس، عرق و جوشانده

Rate (°C/min)	Value (°C)	Hold Time (min)
	۶۰	۰
۴	۱۴۰	۳
۲۰	۲۶۰	۲

Thermal Aux : 280
Solvent delay : 3 min
Post time : 5 min

اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب، با استفاده از دستگاه کلونجر بود که به طور جداگانه برای هر دو نمونه‌ی گیاهی انجام گرفت.

ابتدا حدود ۱۰۰ گرم از گیاه مزبور (اندام‌های هوایی شامل: ساقه- برگ- گل) را بعد از وزن کردن داخل ظرف آلومینومی قرار داده و بر روی آن ۲۵۰ سی‌سی نیتروژن مایع اضافه شد (جهت تخریب دیواره‌ی سلولی گیاه). بعد از گذشت نیم ساعت گیاه در داخل بالن دو لیتری ته‌گرد به همراه آب مقطر^۱ قرار داده شد. بالن بر روی هیتر حرارتی گذاشته شده و درجه‌ی حرارت آن تنظیم گردید، از طرف دیگر سر بالن به دستگاه کلونجر متصل شد. با گرم شدن دستگاه، اسانس موجود در گیاه همراه با بخار آب تبخیر شده و به لوله‌ی سرد کننده می‌رسد. در اثر سرد شدن با آب جاری در مبرد، بخار آب و اسانس به حالت مایع در می‌آیند و چون آب دارای دانسیته‌ی بیش‌تری است دوباره به بالن وارد می‌شود، اما اسانس به علت سبک و نامحلول بودن در

تهیه نمونه‌ی گیاهی

۱- گیاه *Origanum Vulgare L* در تیرماه سال ۱۳۹۲ از جنگل‌های ارسباران در شمال استان آذربایجان شرقی، در کوه‌های آینالو (قلب منطقه حفاظت شده ارسباران) جمع آوری و با نمونه هرباریومی آن مورد تطبیق قرار گرفته و شناسایی شد.

۲- گیاه *Origanum majorana L* در تیرماه سال ۱۳۹۲ از مزرعه تحقیقات اجرایی شرکت شفاپژوهان سبز، واقع در ۲۵ کیلومتری تبریز، اطراف خسروشهر جمع آوری و با نمونه‌ی هرباریومی آن مورد تطبیق قرار گرفته و شناسایی شد.

تهیه پودر گیاهی

ابتدا اندام‌های هوایی گیاه در هوای آزاد، دور از نور خورشید و در سایه، خشک شده و سپس به وسیله‌ی آسیاب برقی به پودر بسیار ریز تبدیل گردید. پودر حاصل از این مرحله بسیار سبک بوده و به عبارتی دارای دانسیته‌ی پایین می‌باشد.

تهیه اسانس

نمونه‌های گیاهی پس از خشک شدن جهت اسانس‌گیری آماده شد. روشی که برای تهیه اسانس به کار گرفته شد،

۱- آب مقطر بدون املاح است و تحت اثر حرارت روی اسانس تاثیر نمی‌گذارد.

بحث و نتایج

ترکیبات شناسایی شده از اسانس *Origanum Vulgare L*: بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه مزبور یک درصد (۱٪) به دست آمد و با استفاده از دستگاه GC-MASS مورد آنالیز قرار گرفت. با توجه به داده‌ها و نتایج حاصل از طیف GC-MASS و از طریق مطالعه طیف‌های جرمی و شاخص بازداری و درصد ترکیبات در اسانس استخراج شده از این گیاه سی و یک ترکیب شناسایی شد که در این میان ۱۸ ترکیب شناخته شده مشخص گردید که در مجموع ۸۹/۴۹ درصد از اجزای اسانس را تشکیل می‌دهد. فهرست کامل ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *Origanum Vulgare L* همراه با شاخص بازداری و درصد ترکیبات در جدول (۱) آورده شده است. هم‌چنین ترکیبات اصلی اسانس این گونه به ترتیب مقدار در جدول (۲) ذکر شده است.

بالای لوله می‌ماند. بدین ترتیب به مدت چهار ساعت اسانس‌گیری انجام پذیرفت. اسانس‌های حاصل پس از جداسازی از سطح آب توسط سدیم سولفات بی‌آب، رطوبت‌زدایی شدند و با کمک حلال هگزان تمام اسانس استخراج گردید. برای شناسایی ترکیبات موجود در نمونه اسانس‌های محلول در هگزان برای هر دو نمونه‌ی گیاه مورد مطالعه از دستگاه GC-MS استفاده شد.

شناسایی ترکیبات اسانس

شناسایی نهایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نمونه‌های گیاهی و تعیین ساختمان آن‌ها با استفاده از پارامترهای مختلفی مانند اطلاعات موجود در کتابخانه، رایانه، دستگاه GC-MS، شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد و ثابت اندیس کواتس‌های موجود از این ترکیبات در منابع و کتب مرجع گزارش شده صورت گرفت.

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده از اسانس *Origanum Vulgare L*

ردیف	ترکیب	(min) شاخص بازداری	(٪) درصد ترکیب
۱	α -Pinene	۴/۶۰۰	۲۷/۳۹
۲	Thujene	۵/۴۷۷	۱/۱۰
۳	β -Pinene	۵/۵۶۹	۲/۴۵
۴	β -Myrcene	۵/۸۶۱	۷/۵۷
۵	Tricyclene	۶/۳۸۴	۲/۸۲
۶	Sabinene	۶/۸۸۶	۱۳/۵۱
۷	β -Ocimene	۷/۰۹۵	۱/۹۴
۸	Delt-3-Carene	۸/۹۱۱	۳/۳۰
۹	Bicyclo[3,1,1]hept-2-ene-2,6,6-trimethyl	۱۱/۷۹۱	۳/۸۵
۱۰	Limonene	۱۳/۸۳۶	۱/۶۲
۱۱	Trans-9,10-dihydrocapsenone	۱۵/۰۵۴	۱/۴۰
۱۲	M-Mentha-6,8-diene	۱۶/۸۹۹	۲/۲۳
۱۳	Alfa-Copanene	۱۷/۷۴۳	۵/۰۷
۱۴	Trans-Alfa-Bergamotene	۱۹/۵۹۳	۱/۴۷
۱۵	Beta-Farnecene	۲۰/۲۳۸	۱/۷۸
۱۶	Clovene	۲۱/۰۵۰	۴/۲۹
۱۷	Delta-Cadinene	۲۲/۶۱۳	۵/۹۲
۱۸	Hexadecanoic Acid	۲۸/۱۶۰	۱/۷۸

جدول ۳- ترکیبات اصلی اسانس *Origanum Vulgare L*

ردیف	ترکیب	درصد ترکیب
۱	α - Pinene	۲۷/۳۹
۲	Sabinene	۱۳/۵۱
۳	β - Myrcene	۷/۵۷
۴	Delta-Cadinene	۵/۹۲
۵	Clovene	۴/۲۹

که ۲۷ ترکیب شناخته شده مشخص گردید، که در مجموع ۸۳/۸۶ درصد از اجزای این اسانس را تشکیل می دهد. فهرست کامل ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *Origanum Majorana* همراه با شاخص بازداری و درصد ترکیبات در جدول (۳) آورده شده است. ترکیبات اصلی اسانس این گونه نیز به ترتیب مقدار در جدول (۴) ذکر شده است.

ترکیبات شناسایی شده از اسانس *Origanum Majorana* : بازده اسانس حاصل از بخش های هوایی گیاه مزبور یک ونیم درصد (۱/۵٪) به دست آمد، که با استفاده از دستگاه GC-MASS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در اسانس استخراج شده از این گیاه چهل و پنج ترکیب شناسایی شد،

جدول ۴- ترکیبات شناسایی شده از اسانس *Origanum Majorana*

ردیف	ترکیب	(min) شاخص بازداری	(٪) درصد ترکیب
۱	3-Octanone	۵/۸۳۸	۰/۷۲
۲	Beta-Myrcene	۵/۹۵۸	۰/۳۶
۳	Cymene	۶/۸۳۹	۲/۸۲
۴	Limonene	۶/۹۵۴	۰/۲۸
۵	β -Ocimene	۷/۱۷۰	۱/۱۰
۶	Gamma-Terpinene	۷/۷۸۷	۶/۲۹
۷	Delta-3-Carene	۸/۹۶۴	۲/۵۳
۸	Sabinene	۱۱/۳۹۹	۰/۹۰
۹	Alfa-Pinene	۱۱/۸۲۰	۱/۰۸
۱۰	Pulegone	۱۳/۳۹۳	۰/۳۸
۱۱	Carvone	۱۳/۵۲۸	۰/۶۵
۱۲	Thymol	۱۵/۰۷۴	۲/۴۱
۱۳	Carvacrol	۱۵/۳۷۳	۰/۶۶
۱۴	Alpha-Cubebene	۱۷/۷۵۵	۰/۳۱
۱۵	Beta-Bourbonene	۱۸/۰۴۴	۰/۹۴
۱۶	Isocaryophyllene	۱۸/۷۳۹	۳/۳۹
۱۷	Trans-Caryophyllene	۱۹/۱۵۴	۱۹/۰۸
۱۸	Alfa-Humulene	۲۰/۱۶۵	۲/۹۷
۱۹	Germacrene D	۲۱/۰۷۱	۱/۷۸
۲۰	Germacrene B	۲۱/۶۱۱	۱/۵۷
۲۱	Trans-beta-Farnesene	۲۲/۰۶۳	۸/۶۵
۲۲	Delta-Cadinene	۲۲/۶۳۳	۲/۰۹

۲۳	Cycloisolongifolene-8,9-de hydro	۲۴/۳۰۸	۴/۵۱
۲۴	Gamma-Cadinene	۲۴/۴۲۷	۱۰/۹۱
۲۵	Apiol	۲۵/۱۵۷	۵/۶۲
۲۶	Alfa-Amorphene	۲۵/۵۸۳	۱/۵۴
۲۷	Hexadecanoic Acid	۲۸/۱۷۴	۰/۲۷

مقایسه ترکیبات شناسایی شده از اسانس *Origanum Majorana* و *Origanum Vulgare L*:

با مقایسه‌ی ترکیبات شناخته شده‌ی اسانس هر دو گونه‌ی گیاهی مورد مطالعه، ترکیبات مشابه و مشترک با درصدهای متفاوت دیده شد، که در جدول (۵) گردآوری شده است.

جدول ۵- ترکیبات اصلی اسانس *Origanum Majorana*

ردیف	ترکیب	درصد ترکیب
۱	Trans-Caryophyllene	۱۹/۰۸
۲	Gamma-Cadinene	۱۰/۹۱
۳	Trans-Beta-Farnesene	۸/۶۵
۴	Gamma-Terpinene	۶/۲۹
۵	Apiol	۵/۶۲

جدول ۶- ترکیبات مشترک اسانس *Origanum Majorana* و *Origanum Vulgare L*

ردیف	ترکیب
۱	Alfa-Pinene
۲	Beta-Myrcene
۳	Sabinene
۴	β -Ocimene
۵	Limonene
۶	Delta-Cadinene
۷	Hexadecanoic Acid

ترانس-کاروفیلین (۱۹/۰۸٪)، گاما-کادینن (۱۰/۹۱٪)، ترانس-بتا-فارنسن (۸/۶۵)، گاما-تریپنین (۶/۲۹٪) و آپی ال (۵/۶۲٪). با توجه به ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، سزکویی ترپن‌ها بیشترین درصد این اسانس را به خود اختصاص دادند.

نتیجه‌گیری کلی از تحقیقات انجام گرفته به شرح ذیل بیان می‌گردد:

۱- بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه *Origanum Vulgare L* یک درصد (۱٪) به دست آمد و در

در این تحقیق از آنالیز اسانس *Origanum Vulgare L* ترکیبات اصلی به ترتیب مقدار: آلفا-پینن (۲۷/۳۹٪)، ساینن (۱۳/۵۱٪)، بتا-مایرسن (۷/۵۷٪)، دلتا-کادینن (۵/۹۲٪) حاصل شدند. به طور کلی در هیچ‌جده ترکیب شناخته شده این اسانس، مونوترپن‌ها به عنوان غالب‌ترین ترکیبات می‌باشند.

در پژوهش حاضر از آنالیز اسانس *Origanum majorana L* ترکیبات اصلی و غنی عبارتند از:

10- Valnet, J., Duraffourd, C., Lapraz, J. C., 1987, The aromagram: new results and an attempt at interpretation of 68 clinical cases, *Plant. Med. Phytother*, 12 (1), 43-52.

11- Janssen, A. M., Chin, N. L., Scheffer, J. J. C., Baerheim Svendsen, A., 1986, Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique, *Statistics and correlation. Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, 8, 289-292.

12- Della, A., Paraskeva – Hadjichambi, D., Hadjichambis A. C., 2006. An ethnobotanical survey of wild edible plants of Paphos and Larnaca countryside of Cyprus, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 34.

13- Neffati, A., Bouhlel, I., Ben Sghaier, M. & et al., 2009, Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 187-194.

14- Viuda – Martos, M., Navajas, Y. R., Zapata, E. S., Fernandez – Lopez, I., & Perez – Alvarez, J. A., 2009, Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet, *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 13-19.

15- Zargari, A., 1987, *Iranian Medicinal Plants*, Tehran University Press, Tehran, Vol. 4, pp, 51- 9.

16- Melegari, M, Severi, F., Bertoldi, M., Benvenuti, S., Circetta, G., Morone F., Fortunato, I. & et al., 1995, Chemical characterization of essential Oils of some *Origanum vulgare* L. sub-species of various origins, *Rivista Italian EPPOS*, 6, 21-28.

17- Vera, R. R., chane-Ming, J., 1999, Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island, *Food Chemistry*, 66, 143-145.

18- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I. B., 2001, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49, 4168-4170.

مجموع ۱۸ ترکیب شناخته شده که ۸۹/۴۹ درصد از اجزای اسانس را تشکیل می‌دهد، شناسایی شد. با توجه به ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، مونوترپن‌ها به‌عنوان غالب‌ترین ترکیبات می‌باشند، البته مقادیر سزکویی‌ترین‌ها نیز قابل توجه‌اند.

۲- بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه *Origanum majorana* یک و نیم درصد (۱/۵٪) به‌دست آمد و در مجموع ۲۷ ترکیب شناخته شده مشخص گردید، که ۸۳/۸۶ درصد از اجزای این اسانس را تشکیل می‌دهد. با توجه به ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، سزکویی‌ترین‌ها غالب‌ترین ترکیبات و بعد از آن‌ها مونوترپن‌ها (ترین‌های ده کرپنه) بیش‌ترین درصد این اسانس را به خود اختصاص دادند.

منابع

۱- امید بیگی، ر، ۱۳۷۶، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، بی‌تا، انتشارات آستان قدس رضوی.

2- Schoental, R., 1965, Toxicology of natural products, *Food Cosmetics Toxicol.*, 620-609.(4)3.

3- Holt, G. A., Chandra, A., 2002, Herbs in the modern healthcare environment – An overview of uses, legalities, and the role of the healthcare professional, *Clin. Res. Regulatory Affairs (USA)*, 19, 83-107.

4- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z., 2005, Medicinal plants in therapy, *Bull WHO*, 63, 965-981.

5- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saravia, J. A., Nunes, M. L., 2013, Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil, *J. Sci. Food. Agric.*, 93, 2707- 2714.

6- Baricevic, D., Bartol, T., 2002, The biological/ pharmacological activity of the *Origanum* genus, In: Kintzios S. E., ed. *Oregano: the genera Origanum and Lippia*, London, New York: Taylor and Francis, 177-213.

7- Singletary, K., 2010, Oregano: overview of the literature on health benefits, *Nutrition Today* 45, 129-138.

8- Kuorwel, K. K., Cran, M. J., Sonneveld, k., Miltz, J., Bigger, S. W., 2012, Essential oils and their principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films, *Journal of Food Science* 76, 164-177.

9- Padulois, S., 1997, Oregano. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, Valenzano (Bari), Italy; IPGRI: Rome, Italy