بررسی تاثیر ارتفاع بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه *Rosmarinus officinalis* L. کشت شده در دو منطقه از استان مازندران

سیده‌مجیده محمدنژاد گنجی[1*]، حسین مرادی[2]، علی قنبری[3]، محمد اکبرزاده[4]

[1] کارشناس‌ارشد گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[2] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[3] کارشناس‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[4] مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۰

چکیده

رشد و عملکرد دارویی گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم، خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر ارتفاع از سطح دریا بر میزان و تنوع مواد موثره اسانس گیاه رزماری (*Rosmarinus Officinalis* L.) در دو رویشگاه (بهشهر: ۲۷۰۰ متر و بلده: ۳۲۱۵ متر) واقع در استان مازندران در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. برداشت اندام هوایی گیاه به‌صورت تصادفی، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و آنالیز مواد موثره اسانس با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی انجام گرفت. نتایج نشان داد بازده اسانس در رویشگاه‌های بهشهر و بلده به‌ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰۱ درصد و اجزای عمده اسانس در جمعیت بهشهر شامل: آلفا- پینن (۱٤/۲۸درصد)، ۱و ۸- سینئول (۱۳/۰٤ درصد)، بی‌سیکلو [3.1.1] هپتا-۳ (٦/٤٤ درصد)، بی سیکلو [2.2.1] هپتان-۲ (۵/۹۷ درصد)، کامفور (۵/۹۳ درصد) و ترانس-کاریوفیلن (۵/۵۱ درصد) و در جمعیت بلده به‌ترتیب: آلفا- پینن (۱۲/۸۰ درصد)، ۱و ۸- سینئول (۱۲/۰۸ درصد)، کامفور (۸/۲۰ درصد)، ترانس-کاریوفیلن (۷/۷۱ درصد) و بی‌سیکلو [3.1.1] هپتا-۳ (٦/٤٨ درصد) که از مهمترین ترکیبات اسانس بودند. یعنی تغییر در کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس رزماری، نشان‌دهنده تاثیر شرایط اقلیمی نظیر اختلاف ارتفاع از سطح دریا بر کمیت و کیفیت اسانس است.

واژگان کلیدی: اسانس، آلفا-پینن، بلده، بهشهر، رزماری، سینئول

*نویسنده مسئول: majidehganji@yahoo.com

مقدمه

گیاه رزماری یا اکلیل کوهی با نام علمی *Rosmarinus Offisinalis* L. متعلق به تیره Lamiaceae و یکی از تیره‌های بزرگ گیاهی است که حدود ۱۸۷ جنس و تقریباً ۳۰۰۰ گونه از آن بیشتر در مناطق مدیترانه‌ای در دنیا پراکنده شده‌اند. رزماری گیاهی بوته‌ای، همیشه سبز تا ارتفاع دو متر با شاخه‌های افراشته و یا گاهی خوابیده بر روی زمین است که به رنگ سبز و معطر می‌باشد. برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار گیاه، اندام داروئی گیاه رزماری هستند که زمان جمع‌آوری آنها در بهار و تابستان ذکر شده است (Wang et al., 2008). بیشترین ماده متشکله برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاه رزماری را روغن‌های فرار تشکیل می‌دهند که عمده‌ترین ترکیبات آن شامل ۱و۸ سینئول، بورنئول، بورنیل استات، کامفور، آلفا و بتا پینن می‌باشند (Wichtl, 1989؛ Chiej, 1988؛ Leung, 1996). سایر ترکیبات طبیعی موجود در رزماری شامل فلاونوئیدها مانند لوتئولین، اسیدهای فنولیک، دی و تری ترپن‌ها، تانن‌ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین و برخی از متابولیت‌های اولیه نظیر پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد (Chiej, 1988؛ Duke, 1989، Newall, 1996). مهمترین موارد مصرف گیاه رزماری به‌عنوان ضداسپاسم، ضد نفخ، اشتهاآور و آرام‌بخش می‌باشد. همچنین رزماری در برخی از فرآورده‌های موضعی مصرف می‌شود و در صنایع غذایی و آرایشی- بهداشتی نیز کاربرد وسیعی دارد (Duke, 1989، Newall, 1996؛ Chiej, 1988؛ Wichtl, 1989).

در نظر گرفتن ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت از عمده عواملی است که می‌تواند بر میزان اسانس و مواد موثره گیاهان تاثیر وافر داشته باشد. گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان گردیده است و همبستگی بالایی بین منشاء جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره نشان داده شده (Parnbam and Kesselring, 1985)، به‌طوری‌که عوامل محیطی سبب بروز تغییراتی در رشد گیاهان داروئی و همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره (آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و اسانس‌ها) می‌گردند (Bertome et al., 2007). یکی از این عوامل ارتفاع از سطح دریا می‌باشد که نقش اساسی در رشد و تولید گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف ایفا می‌نماید و از جمله عوامل مهم و تعیین کننده در کمیت و کیفیت گیاهان محسوب می‌شود (Omidbaigi, 2005). نتایج حاصله از آنالیز اسانس رزماری کشت شده در شهر کرمان (Moghtader and Afzali, 2009) نشان داد که پس از تجزیه شیمیایی اسانس رزماری، ٤١ ترکیب شناسایی شد که به‌ترتیب ترکیبات زیر بیشترین درصد را به خود دادند: آلفا پینن (۱۵/۵۲ درصد)، کامفور (۱۱/٦٦ درصد)، وربنون (۱۱/۱۰ درصد)، ۱و۸ سینئول (۱۰/٦۳ درصد)، بورنئول (۷/۲۹درصد)، و بورنیل استات (۵/٤۱ درصد) و کامفن (۹/۳۱ درصد). عصاره اسانس (*Salvia pisidica*) در شرایط آزمایشگاهی در ترکیه (Ozcan et al., 2010) مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت و ۳۱ ترکیب شناسایی شد که مهمترین آنها کامفور (۲۳/۷٦ درصد)، آلفا- توجن (۱٤/۲ درصد)، سابینول (۱۹/۲ درصد) و ۱و۸ -سینئول (۵/۸ درصد) بود. بسیاری از تحقیقات مشابه نشان می‌دهد که کمیت و کیفیت ترکیب‌های اسانس گیاه به شرایط فیزیولوژیکی و محیطی بستگی دارد. به‌عنوان مثال: در مطالعاتی بر روی گونه زوفایی (*Thymbra spicata*) در شرق مدیترانه و ناطق جنوب شرقی آناتولی از ترکیه، نتایج حاکی از تفاوت درصد اسانس این گونه در مناطق مختلف بوده است (Kizil, 2010). شناسایی و همچنین تجزیه و تحلیل ترکیب‌های اسانس گیاهان مختلف از موارد مورد توجه محققین جهت بررسی‌های فیتوشیمیایی می‌باشد (Midgley, 1988؛ Harborne,

1988؛ Havsteen, 1983؛ Hall, 1980) و با توجه به اهمیت فراوان این گونه در تامین اسانس حاوی ترکیبات مناسب در زمینه تولید داروهای گیاهی، ضرورت معرفی شرایط بهینه اکولوژیک در کشت و توسعه این گیاه آشکار می‌شود که هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر اختلاف ارتفاع از سطح دریا بر روی میزان و تنوع متابولیت‌های دارویی گیاه رزماری در استان مازندران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مناطق مورد مطالعه: هزار جریب بهشهر در ۸۰ کیلومتری شهرستان بهشهر و در مسیر جاده بهشهر- دامغان واقع شده است. طول جغرافیایی این منطقه ٥٤ درجه و ۹ دقیقه و ٤٠ ثانیه شرقی و عرض جغرافیایی آن بین ٣٦ درجه و ٢٦ دقیقه و ١٠ ثانیه می باشد. محدوده ارتفاعی آن بین ۲۰۰۰ تا ۲۷۰۰ متر از سطح دریا بوده و مرتفع‌ترین بخش منطقه هزار جریب بهشهر به شمار می‌رود. متوسط بارندگی سالیانه این منطقه ۳۸۳ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت سالانه ١٢/٤٤ درجه سانتی‌گراد می باشد. منطقه کوهستانی بلده نور واقع در شهرستان نور در حد فاصل ۵۳ کیلومتری جاده هراز و ۵۵ کیلومتری جاده چالوس و در ١٤٥ کیلومتری شهر نور قرار دارد. محدوده ارتفاعی این ناحیه ٧٠٦ تا ۳۲۱۵ متر از سطح دریا می باشد. طول جغرافیایی آن ۵۲ درجه و ۱۸ دقیقه و ۱۸ ثانیه و عرض جغرافیایی آن بین ٣٦ درجه و ٧ دقیقه و ٤٢ ثانیه ذکر گردیده است. متوسط بارندگی سالانه این منطقه ٤٦٣ میلی‌متر با متوسط درجه حرارت سالانه ۹/۵ درجه سانتی‌گراد می باشد.

روش تحقیق: برگ و سرشاخه‌های گیاه رزماری کشت شده در دو منطقه بلده نور و هزارجریب بهشهر در آبان‌ماه ۱۳۹۲ جمع‌آوری و نمونه‌ها با ۳ تکرار در زمان مناسب و در هوای آزاد (دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد) و دور از نور مستقیم آفتاب خشک گردیدند. نمونه خشک اندام هوایی آسیاب و ۷۰ گرم نمونه به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر ۳ ساعت بعد از جوش آمدن در آزمایشگاه پژوهشی علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اسانس‌گیری شد و بازده اسانس بر اساس وزن خشک نمونه محاسبه گردید (Mir hosseini, 2007).

درصد بازده اسانس: (وزن اسانس / وزن خشک گیاه) ×۱۰۰

دستگاه کروماتوگراف GC مدل ٦٨٩٠N مجهز به ستون HP-5، به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۵ میکرومتر، گاز حامل هلیوم و شدت جریان گاز حامل ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. دستگاه کروماتوگراف GC/MS مدل ٥٩٧٥B مجهز به ستون *HP*-5، به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیم با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت در طیف سنج جرمی کوپل شده با گاز کروماتوگراف استفاده شد. در هر مورد پس از تزریق مقادیر بسیار جزئی اسانس، کروماتوگرام حاصل و طیف‌های جرمی ترکیب‌های مختلف موجود در آن بررسی شد. همچنین با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هر یک از اجزای تشکیل شده اسانس تعیین شد (Adams, 2001).

نتایج

اسانس منطقه هزار جریب بهشهر حاوی ٣٤ ترکیب بوده که در مجموع ۹۷/۷۹ درصد از حجم اسانس را

تشکیل می‌دادند. از بین این ترکیب‌ها آلفا -پینن (۱۴/۲۸درصد)، ۱و۸ -سینئول (۱۳/۰۴ درصد)، بی سیکلو [3.1.1] هپتا-۳ (۶/۴۴ درصد)، بی‌سیکلو[2.2.1] هپتان-۲ (۵/۹۷ درصد)، کامفور (۵/۹۳ درصد) و ترانس کاریوفیلن (۵/۵۱ درصد) به‌عنوان ترکیبات عمده در اسانس‌ها شناسایی شدند. ۳۹ ترکیب نیز در اسانس منطقه بلده نور شناسایی شد که در مجموع ۹۸ درصد از حجم اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیب‌های آلفا -پینن (۱۲/۸۰درصد)، ۱و۸ -سینئول (۱۲/۰۸درصد)، کامفور (۸/۲۰ درصد)، ترانس کاریوفیلن (۷/۷۱ درصد) و بی‌سیکلو [3.1.1] هپتا-۳ (۶/۴۸ درصد) بیشترین مقدار ترکیب‌های اسانسی را به خود اختصاص دادند. قابل ذکر است تعدادی از ترکیبات اختصاصا در اسانس گیاه رزماری منطقه بهشهر شناسایی شد که از میان آنها می توان بتا- میرسن (۲/۵۹ درصد) و لینالول (۴/۶۲ درصد) را نام برد. همچنین ترکیبات کاریوفیلن-۳ (۲درصد)، ۳-سیکلوهگزن-۱-او ال (۱/۵۴ درصد) و اپی- بی‌سیکلو سزکوئی فلاندرن (۱/۴۶درصد) نیز فقط در اسانس منطقه نورشناسایی شدند (جدول۱).

جدول ۱: ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در دو منطقه مورد مطالعه در استان مازندران

ردیف	نام ترکیب	بهشهر	بلده
۱	tricyclene	۰/۵۶	۰/۷۱
۲	α-pinene	۱۴/۲۸	۱۲/۸۰
۳	camphene	۴/۲۱	۴/۴۹
۴	pinocarvone	–	۰/۴۴
۵	2-β-pinene	۲/۸۱	۲/۰۹
۶	1,3-hexadiene	–	۰/۵۸
۷	β-myrcene	۲/۵۹	–
۸	L-phellandrene	۰/۶۴	۰/۴۹
۹	α-terpinene	۱/۳	۱
۱۰	1,8-cineol	۱۳/۰۴	۱۲/۰۸
۱۱	gamma-terpinene	۱/۹۶	۱/۴۵
۱۲	3-cyclohexene-1-ol	–	۱/۵۴
۱۳	α- terpinolene	۲/۳	۱/۸۵
۱۴	filifolone	۰/۹۸	۱/۷۷
۱۵	linalool L	۴/۶۲	–
۱۶	chrysathenone	۳/۰۲	۲/۸۶
۱۷	camphor	۵/۹۳	۸/۲
۱۸	6,6-dimethyl-2-methylene bicyclo	۰/۶	–
۱۹	1,5-dimethyl bicyclo [3.2.1] octan	۰/۵۹	–
۲۰	bicyclo [3.1.1] hepta-3-en-2-one	۶/۴۴	۶/۴۸
۲۱	tricyclo [4.2.1.1(2,5)] decane	۰/۷۴	۰/۹۸
۲۲	1,6-octadien-3-ol	۳/۲۴	–
۲۳	bicyclo [2.2.1] heptan-2-ol	۵/۹۷	۴/۹۶
۲۴	5-isopropenly-2	۰/۵۵	۰/۴۵

۲۵	2,6-octadien-1-ol	۰/۹۲	–
۲۶	trans-caryophyllene	۵/۵۱	۷/۷۱
۲۷	4,7,10-cycloundecatrien	۱/٤۸	۲/۳۹
۲۸	caryophyllene Oxid	۲/۳۱	۳/۰۸
۲۹	caryophylla-3,8(13)- dien-5.beta-ol	۰/۹۱	–
۳۰	cyclandelat	۰/۵۵	–
۳۱	bis(2-ethylhexyl) phthalate	۰/۹۵	–
۳۲	benzene	۰/۷۳	–
۳۳	borneol L	٤/۱٤	۳/۸٤
۳٤	verbenene	۰/۸۱	۰/۹
۳۵	trans-sabinene hydrate	۰/٦۷	۰/۵۳
۳٦	3-octanone	۲/٤٤	۲/٦۹
۳۷	cyclohexene-1-methyl-3-(1-methyl)	–	۰/۸۹
۳۸	propanal	–	۱/۳۸
۳۹	10,10-dimethyl-2	–	۰/۸۳
٤۰	naphtalene	–	۰/٤۲
٤۱	2-cyclohexene-1-one	–	۰/٦۱
٤۲	B-bisabolene	–	۰/۵
٤۳	epi-bicyclosesquiphellandrene	–	۱/٤٦
٤٤	caryophylla-3	–	۲
٤۵	anymol	–	۰/۸۲
٤٦	4-(4-methyl-3-pentenyl)-3	–	۰/۵٦
٤۷	3,8-dimethoxy-(5ar,10bc)-5a	–	۰/٦۷
٤۸	3-diphenylphosphinpyl-3-methyl b	–	۰/۵۳
٤۹	1,2-benzendicarboxylic acid	–	۰/۹۷
	total	۹۷/۷۹	۹۸

بحث

بازده اسانس گیاه به‌ترتیب در منطقه بهشهر ۰/۰۲ درصد و در بلده ۰/۰۱ درصد بود نتایج بدست آمده، تنوع فیتوشیمیایی بالایی را در نوع و تعداد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه رزماری در دو منطقه مورد مطالعه نشان داد ولی در هر دو رویشگاه به ترتیب ترکیبات آلفا–پینن و ۱و۸–سینئول از بیشترین ترکیبات اسانس بودند. در مطالعات دیگر مشابه و در الجزایر، تعداد ۳٤ ترکیب در اسانس شناسایی شده و عمده ترکیبات به‌ترتیب شامل کامفور (۹/۳۱ درصد)، ۱و۸ سینئول (۷/۳۸ درصد)، بتا–کاریوفیلن (۱۰/۹ درصد)، بورنئول (۸/۳۷ درصد)، آلفا پینن (۱۰/٤٤ درصد) و کامفن (۷/۲ درصد) هستند (Djeddi et al., 2007) و در بررسی دیگر در مورد رزماری بومی هندوستان نیز به‌ترتیب کامفور (۲٦/٤ درصد)، ۱و ۸– سینئول (۲۳/٤ درصد) و آلفا–پینن (۹/۹٤ درصد) از مهمترین ترکیبات (Rahman et al.,2007) و در فرانسه تعداد ۳۷ ترکیب با غالبیت: کامفور (۱۹/۸۷ درصد) و آلفا–پینن (۱۹/٤۹ درصد) (Miladi et al., 2013; Derwich et al., 2011). Wang و همکاران (۲۰۱۲) نیز در بررسی اسانس گیاه

رزماری، ترکیبات اصلی را آلفا پینن (۱۹/۴۳)، ۱و۸-سینئول (۲۷/۲۳) و بتا-پینن (٦/۷۱) ذکر کردند. طبق گزارش Viuda-Martos و همکاران (۲۰۰۷) ترکیبات شیمیایی اصلی در اسانس گیاه رزماری بومی اسپانیا، آلفا-پینن (۳٦/٤۲)، کامفور (۱۵/۰۵)، بتا-پینن (۱۲/۷۵)، ۱ و ۸-سینئول (۱۲/۰۲) و کامفن (۱۱/۳۸) اعلام شدند. در تحقیق مشابه نیز که در رویشگاه‌های متفاوت کرمان انجام گرفت نشان داد که اختلاف کمیت و کیفیت موتد موثره اسانس گیاه در رویشگاه‌های مختلف معنی‌دار است (Jamshidi et al., 2009). بررسی نتایج این تحقیق و یافته‌های دیگران موید این مطلب است که تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی دارد. اما ذکر این نکته نیز ضروری است که روشن شدن تاثیر عوامل محیطی چیزی را از نقش عوامل ژنتیکی که خود نیز ممکن است تحت تاثیر محیط قرار گیرند کم نمی‌کند (Wichtl, 1989).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و یافته‌های مشابه در بررسی‌های دیگران مشخص شد که تولید متابولیت‌های ثانویه اسانس گیاهان از جمله گیاه رزماری در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی از کمیت و کیفیت متفاوتی برخوردار است و طبعاً به واسطه تنوع آن مواد از اثرات متفاوت بیولوژیکی و دارویی نیز برخوردار است. یعنی اینکه عوامل اکولوژیکی و استرس‌های محیطی نیز مانند عوامل ژنتیکی می‌توانند بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود و عملکرد دارویی گیاهان موثر واقع گردند.

منابع

1. Adams, R.P. 2001. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream IL: Allured Publishing Crop, 465 p.
2. Bertome J., Isabel Arrillage M., and Segura, J. 2007. Essential oil variation whit in and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Biochemical systematics and Ecology. 35:479-488.
3. Chiej R. 1988. The Macdonald Encyclopedia of medicinal Plants. London: Macdonald & Co. (Publishers) Ltd. 264.
4. Derwich, E., Benziane, Z., Chabir, R., and Taouil, R. 2011. In vitro antibacterial activity and GC/MS Analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 3(3): 89-95.
5. Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., and Skaltsa, H. 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. Chem. Nat. Compd. 43(4): 487-490.
6. Duke, J.A. 1989. CRC Handbook of Medicinal Herb. Boca Raton: CRC Press. 412-413.
7. Hall, I.H. Srarnes, Co, Lee, Kh. and Waddell, TG. 1980. Mode of action of sesquiterpene lactones as anti- inflammatory agents. J. Pharm Sci. 69(5): 537-543.
8. Harborne, J.B. 1988. The Flavonoids, Advances in Research since 1980. London: Chapman & Hall. 292-295: 479-500.
9. Havsteen, B.H. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacologic potency. Biochem pharmacol. 32(7):1141-1148.
10. Jamshidi, R., Afzali, Z., and Afzali, D. 2009. Chemical Composition of Hydro distillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries. American-Eurasian Journal. Agric. & Environ. Sci., 5(1): 78-81.
11. Kizil, S. 2010. Determination of essential olivariation of *Thymbra spicata* var, *spicata* L. Naturally growing in the flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey, Industrial Crops and Products, 32(3):593-600.
12. Leung, A.Y., and Foster, S. 1996. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used Food, Drugs and Cosmetics, 2nd ed. New York: John Witey & Sons, Inc. 446-448.

13.Midgley, J.M. 1988. Drug development, from sorcery to science. Pharm. J. 241:358-365.
14.Miladi, H., Slama, R., Mili, D., Zouari, S, Bakhrouf, A., and Ammar, E. 2013. Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. Natural Science. 5(6):729-739.
15.Mir-Hosseini, M. 2007. Effective extraction methods and devices, pharmaceutical and food industries, Zahedan Branch, Islamic Azad University Press, 170 p.
16.Moghtader, M., and Afzali, D. 2009. Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 5(3): 393-397.
17.Newall, C.A., Anderson, L.A., and Phillipson, J.D. 1996. Herbal Medicine, A Guide for Health- Care Professionals. London: The Pharmaceutical Press. 229-230.
18.Omidbaigi, R. 2005. Production and Processing of medicinal plants. Tehran University. 283pp.
19.Ozkan, M., Saghdic, O., Gokturk, S., Unal, O., and Albayrak, S. 2010. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from salvia pisidica, LWT-Food Science and Technology, 43(1): 186-190.
20.Parnbam, M.J., and Kesselring, K. 1985. Rosmarinic acid. Drugs of the Future. 10(9):756-757.
21.Rahman, L., Kukerja, A., Singh, S., Singh, A., Yadav, A. and Khanuja, S. 2007. Qualitative analysis of essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. cultivated in Uttaranchal Hills, India. Journal of Spices and Aromatic Crops. 16 (1):55–57.
22.Viuda-Martos, M., Navajas, R., Lopez, J.F., and Pérez, J.A. 2007. Chemical Composition of the Essential Oils ObtainedFrom Some Spices Widely Used in Mediterranean Region. *Acta Chim. Slov.* 54: 921–926.
23.Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., and Fu., Y.J. 2008. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to imain components. Food Chemistry. 108(3):1019–1022.
24.Wang, W, Li, N., Luo, M., Zu, Y., and Efferth, T. 2012. Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components. *Molecules*, (17): 2704-2713.
25.Wichtl, M. 1989. Teedrogen. Stuttgart: Wissen schaftliche Verlagsgesell schaft mbH. 405-407.