

بررسی تأثیر زمان برداشت و مدت اسانس‌گیری بر روی ترکیب‌های روغن اسانس

گیاه دارویی مرزنجوش *Origanum vulgare L.*

محمدباقر پاشازانوسی¹، مهدی رئیسی²، امیر روفچایی³، سید صابر میر کاظمی مقدم⁴

چکیده

گونه *Origanum vulgare L.* با نام فارسی مرزنگوش یا مرزنجوش، جایگاه ویژه‌ای را در میان گونه‌های دارویی دارد. به طوری که دارای خاصیت مدر، مقوی معده، مسکن اعصاب بوده و در درمان آسم، زردی، درد گلو مفید می‌باشد. در این تحقیق سرشاخه‌های گلدار مرزنجوش از رویشگاه طبیعی واقع در منطقه کجور شهرستان نوشهر در 3 نوبت زمانی صبح، ظهر، غروب در خرداد 1387 جمع‌آوری و تحت شرایط سایه خشک گردید. سپس اسانس گیاه به روش تقطیر با آب در دو زمان مختلف 2 و 4 ساعت، توسط دستگاه کلونجر استخراج و آنالیز مواد آن توسط دستگاه-های GC و GC-MS ارزیابی گردید. بر اساس وزن خشک گیاه، بازده اسانس نمونه‌های صبح، ظهر و غروب پس از 2 ساعت به ترتیب 1/00، 1/11، 1/01 درصد و پس از 4 ساعت 0/92، 0/86 و 0/80 درصد به دست آمد که نشان دهنده وجود بیشترین مقدار اسانس در نمونه صبح بود. از 35 ترکیب شناسایی شده در روغن اسانس این گیاه، تیمول، گاما- ترپینن، 1، 8- سینئول، بتا- سیمن و کارواکرول ترکیب‌های مهم گیاه در 2 ساعت اول، ترانس- کاریوفیلن، ژرماکرن- دی، بی سیکلو ژرماکرن و دکان از مهمترین ترکیب‌های روغن اسانسی در طول 4 ساعت شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: مرزنجوش، اسانس، زمان برداشت و زمان اسانس‌گیری

1- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس - گروه شیمی pashazanousi@gmail.com

2- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر و عضو باشگاه پژوهشگران جوان واحد چالوس

3- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

4- کارشناس مهندسی علوم دامی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس

مقدمه

کشور ایران با دارا بودن شرایط متنوع اقلیمی، خاکی و توپوگرافیک دارای یکی از متنوع‌ترین پوشش‌های گیاهی جهان می‌باشد. به طوری که بیش از 7500 گونه گیاهی شناخته شده که بسیاری از آنها را گونه‌های دارویی تشکیل می‌دهد.

Origanum vulgare L. با نام فارسی مرزنگوش یا مرزنجوش، جایگاه ویژه‌ای را در میان گونه‌های دارویی دارد. انتشار عمومی این گونه بیشتر در نواحی خشک، سواحل دریاها، دامنه کوهستان‌ها، جنگل‌های نواحی مختلف اروپا، نواحی جنوب غربی و مرکزی آسیا و در نواحی مختلف شمال ایران می‌باشد، [2، 1 و 3]. از نظر ریخت‌شناسی گیاهی است پایا، به ارتفاع 30 تا 60 سانتی‌متر، معطر و خودرو که ساقه راست، منشعب، پوشیده از کرک و به رنگ سبز مایل به قرمز دارد. برگ‌های آن بیضوی، به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرک در سطح تحتانی پهنک و در کناره‌های آزاد آن است. گل‌هایی مجتمع به رنگ‌گلی یا سفید که در خرداد تا مرداد ظاهر می‌گردد، دارد. هر یک از گل‌های آن دارای کاسه منتهی به 5 دندانه مساوی و جام بزرگتر از کاسه است [3]. ایکرام¹، (2000)، مهمترین ترکیبات اسانس مرزنجوش را شامل کارواکرول (25 تا 35 درصد) و تیمول (15 درصد) نشان داد. اومی و بنتس² (1993)، ضمن بررسی اسانس گیاه در ناحیه سیسیل ایتالیا معادل 44 درصد کارواکرول به دست آوردند. پانترو³ (1990)، از تقطیر گیاه در ناحیه سیسیل معادل 50 درصد از فنول‌ها (تقریباً ب طور کامل مرکب از تیمول) مشاهده کرد. بوزین⁴ و همکاران (2006)، در تحقیقات خود تأثیر خاصیت ضد اکسیدانی و ضد میکروبی را به دست آوردند. همچنین کرانوپولوس⁵ و همکاران (2004)، خاصیت ضد باکتریایی و ضد سرطانی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند. برازنده⁴ در تحقیق خود بر روی مرزنجوش اروپایی نشان داد که دو ترکیب لینالیل استات و سابینیل بیشترین مقدار اسانس را به خود اختصاص داده‌اند. موکوت⁶ و همکاران (2001)، در تحقیق خود در کشور استونی نشان دادند که ترکیبات اصلی این گونه شامل بتا-اسیمن، ژرماکرن-دی، بتا-کاریوفیلین و سابینین می‌باشد. در تحقیق دیگر روشن شد که پیکر رویشی این گیاه حاوی اسانس است که مقدار آن با توجه به گونه گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش متفاوت و بین 0/5 تا 1/5 درصد است. از ترکیبات عمده اسانس، می‌توان از کارواکرول (25 تا 35 درصد) و تیمول (15 درصد) نام برد. پیکر رویشی مرزنجوش همچنین شامل فلاونوئیدها، مواد تلخ و ترکیبات موسیلاژی است. «تیمول» خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارد [5 و 6]. اسانس مرزنجوش، به سهولت اکسیده شده و تغییر رنگ می‌دهد مخصوصاً اگر در ضمن تقطیر یا بعداً با ظروف آهنی تماس حاصل کند. رنگ آن در صورت اخیر، تا حد قرمز نیز تغییر می‌یابد. اسانس تصفیه شده مرزنجوش، پررنگ است ولی به زودی زرد می‌شود. وزن مخصوص آن در گرمای 15 درجه، بین 0/917 تا 0/940 می‌باشد [1 و 2]. مرزنجوش در طول رویش به نور فراوان نیاز دارد. این گیاه به لایه‌های کم عمق خاک و خاک‌های شنی که حاوی ترکیبات آهکی باشد، نیازمند است. این گیاه به آسانی قادر به تحمل خشکی است ولی برای افزایش

¹ Ikram

² Uomi and Benetes

³ Pantro

⁴ Bozin et al.

⁵ Chorianoopoulos et al.

⁶ Mockate et al.

عملکرد، گیاهان باید تحت آبیاری منظم و مناسب قرار گیرند. «pH» مناسب خاک برای کشت مرزنجوش، بین 4/5 تا 8/7 است [2و1]. اسانس مرزنجوش، اثر التیام دهنده و ضد عفونی کننده دارد. سرشاخه‌های گلدار این گیاه دارای اثر نیرودهنده است و در ردیف مقوی‌های تلخ قرار دارد. به علاوه این گیاه چون دارای خاصیت مدر، مقوی معده، مسکن اعصاب، قاعده‌آور و ملین است، در درمان بیماری‌های مختلف از آن استفاده می‌گردد. مصرف دم کرده آن برای درمان نزله‌های مزمن، آسم، زردی، درد گلو، سرفه، دردهای عصبی، آب آوردن انساج، تأخیر وقوع قاعدگی یا تسکین دردهای وقوع این حالت توصیه شده است. باید توجه داشت که مصرف زیاده از حد دم کرده اورینگان و یا دود کردن آن به صورت توتون، شدیداً قلب را تحریک می‌کند. اسانس آن نیز به همین صورت باید به مقادیر کم مورد استفاده‌های درمانی قرار گیرد [1و2]. اولیویرا¹ و همکاران (2009)، خواص ضد باکتریایی گونه *origanum vulgare l* را مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج حاصل بر نقش موثر ترکیبات موجود در اسانس گونه مورد مطالعه بر جلوگیری از رشد باکتری‌های عامل بیماری ورم ملتحمه پلک دلالت دارد. سکندامیس² و همکاران (2002)، در تحقیق خود مقادیر زیاد ترکیبات فنلی که باعث خاصیت ضد میکروبی گونه مورد مطالعه می‌شود را به دست آورده و تاثیر اسانس مرزنجوش را علیه باکتری سالمونلا تیفی موریوم در گوشت ذخیره شده در دمای زیر 50 درجه سانتی‌گراد را مورد بررسی قرار دادند. اولتی³ و همکاران (2000)، نقش ضد میکروبی ترکیب کارواکروول موجود در روغن اسانس گونه مورد مطالعه را علیه باکتری میله‌ای در برنج مورد ارزیابی قرار داده و در تحقیق دیگر [17] تاثیر ترکیب کارواکروول بر رشد و تولیدات سموم توسط *Bacillus cereus* مورد ارزیابی قرار گرفت. در تحقیقی دیگر بورت⁴ (2004)، خواص آنتی باکتریال و کاربردهای روغن اسانس مرزنجوش را در غذا و دارو مورد ارزیابی قرار داد. در این تحقیق ضمن اندازه‌گیری ترکیبات موجود در اسانس این گیاه، تاثیر زمان برداشت و مدت اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت ترکیب‌های روغن اسانس گیاه دارویی مرزنجوش مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف: جمع‌آوری گیاه و اسانس‌گیری

سرشاخه‌های گلدار گیاه مرزنجوش از رویشگاه طبیعی خود از استان مازندران (بخش کجور شهرستان نوشهر) در 3 نوبت زمانی ساعت 6 صبح، 12 ظهر و 8 غروب در خرداد 87 جمع‌آوری و پس از شناسایی، با نمونه‌های هرباریومی تحت شرایط سایه خشک گردید. سپس نمونه‌های گیاه به قطعات کوچک‌تر خرد و اسانس موجود به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر اصلاح شده در دو مدت زمانی 2 ساعت و 4 ساعت جمع‌آوری گردید. بازده اسانس بر حسب وزن خشک گیاه (W/W) محاسبه و اسانس‌ها توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی و تا زمان تزریق در یخچال نگهداری شدند.

¹ Olivera et al.
² Skandamis et al.
³ Ultee et al.
⁴ Burt

ب- شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های فوق با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (T_R)، شاخص بازداری کواتس (KI) و طیف جرمی و همچنین مقایسه این مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمی این ترکیب‌ها با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد.

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده:

۱- کروماتوگرافی گازی (GC)

از کروماتوگراف گازی شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A مجهز به دتکتور F.I.D و ستون DB-1 و بطول 30 متر و قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن 0/25 میکرومتر استفاده گردید. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از 60°C تا 190°C با سرعت 5 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و از 190°C تا 250°C با سرعت 15 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافته و از گاز هلیوم با سرعت 1/1 میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

۲- کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS)

از کروماتوگراف گازی Thermo quest- finnigan مدل Trace متصل به طیف سنج جرمی مجهز به ستون DB-1 بطول 30 متر و قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن 0/25 میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بوده و از گاز هلیوم با سرعت 1/1 میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. زمان اسکن برابر یک ثانیه و انرژی یونیزاسیون 70 الکترون ولت بوده است.

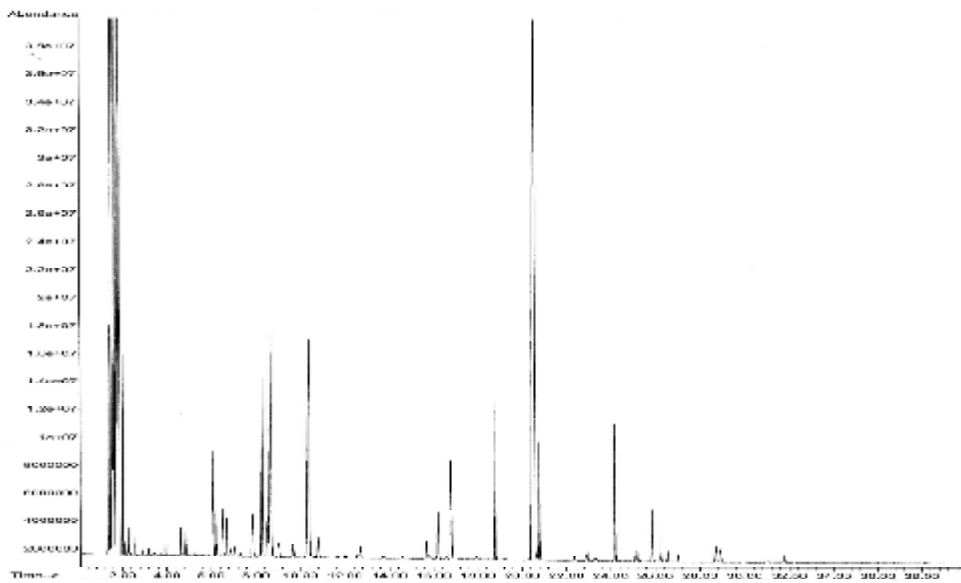
نتایج

ترکیبات شناسایی شده در اسانس *Origanum vulgare L.* با توجه به آنالیز کروماتوگرام‌های 1 تا 6، در جدول 1 آمده است. 35 ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی شده است که این ترکیبات به‌طور میانگین در 3 نوبت صبح، ظهر و غروب با توجه به مدت زمان اسانس‌گیری (2 ساعت و 4 ساعت) به ترتیب 96/52، 96/42، 94/38، 94/28، 97/21 و 92/28 درصد از کل اسانس را شامل می‌شوند. با توجه به داده‌های جدول، ترکیبات تیمول، گاما- ترپینن، 1، 8- سینئول، بتا- سیمن و کارواکرول ترکیب‌های اصلی در 2 ساعت اول و ترانس- کریوفیلین، ژرماکرن- دی، بی سیکلو ژرماکرن و دکان ترکیب‌های اصلی روغن اسانس این گونه در 4 ساعت را تشکیل می‌دهند.

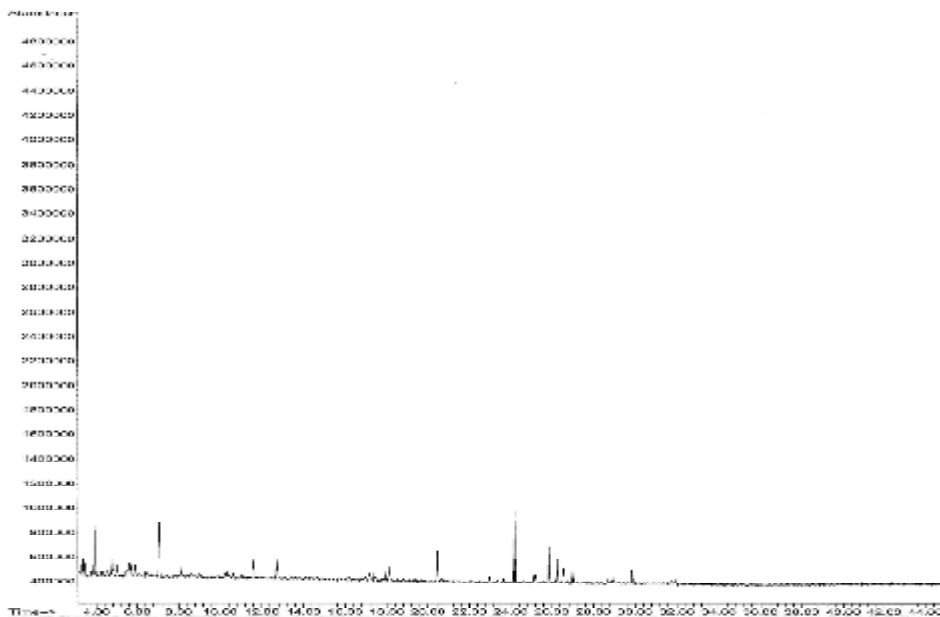
جدول 1- درصد ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس گونه *origanum vulgare* L.

ردیف	عنوان ترکیب	2 ساعت صبح %	4 ساعت صبح %	2 ساعت ظهر %	4 ساعت ظهر %	2 ساعت غروب %	4 ساعت غروب %	KI
1	octan	-	-	-	-	-	8/08	800
2	nonane	-	4/06	0/16	1/03	-	6/37	899
3	α -pinene	0/52	-	0/41	-	0/6	-	939
4	sabinene	2/81	-	1/96	-	2/72	-	976
5	β -pinene	1/24	-	0/97	-	1/35	-	983
6	octanone	1/4	-	0/84	-	1/05	-	986
7	β -myrcene	1/11	-	1/02	-	1/11	-	991
8	Decane	-	22/94	0/32	13/99	-	12/73	999
9	α -phellandrene	-	-	0/14	-	-	-	1005
10	α -teripenene	1/47	-	1/32	-	1/47	-	1018
11	β -cymene	7/28	-	4/65	-	4/83	-	1026
12	β -phellandrene	1/50	-	1/25	-	1/39	-	1031
13	1,8-cineole	9/22	-	6/85	-	7/68	-	1033
14	β -ocimene	-	-	0/68	-	0/29	-	1050
15	γ -terpinene	11/10	-	9/67	1/51	10/51	5/48	1062
16	transabinene Hydrate	0/75	-	-	-	0/85	-	1097
17	linalool	-	-	-	-	0/55	-	1098
18	undecane	-	9/52	-	8/91	-	8/50	1099
19	borneol	0/57	-	0/5	-	-	-	1165
20	terpinene-4-01	1/47	-	1/41	-	1/34	-	1177
21	α -terpineol	3/83	-	0/17	-	3/47	-	1189
22	β -fenchyl acetate	-	-	3/39	-	-	-	1234
23	carvacrol methyl ether	3/99	-	5/04	1/43	6/60	3/16	1244
24	thymol	36/26	8/72	37/93	13/83	35/67	7/94	1290
25	carvacrol	5/63	-	7/78	3/32	6/20	-	1298
26	α -copane	-	-	-	3/16	0/48	-	1376
27	trans-caryophyllene	3/44	23/30	2/70	14/91	2/92	12/50	1404
28	α -humulene	-	-	-	0/97	0/14	-	1454
29	trans- β -Farnesene	-	-	-	1/95	0/23	2/59	1458
30	germacrene-D	1/22	11/35	1/36	11/56	2/1	9/24	1480
31	bicyclogermacrene	0/64	9/10	0/98	9/31	2/13	8/80	1494
32	β -bisabolene	-	-	0/2	2/38	0/3	2/66	1509
33	γ - cadinene	-	-	0/27	3/73	0/34	4/24	1524
34	spatjulenol	0/57	4/43	0/91	-	0/51	-	1576
35	caryophyllene oxide	0/5	-	1/5	2/29	0/38	-	1581
36	Total	96/52	93/42	94/38	94/28	97/21	92/28	

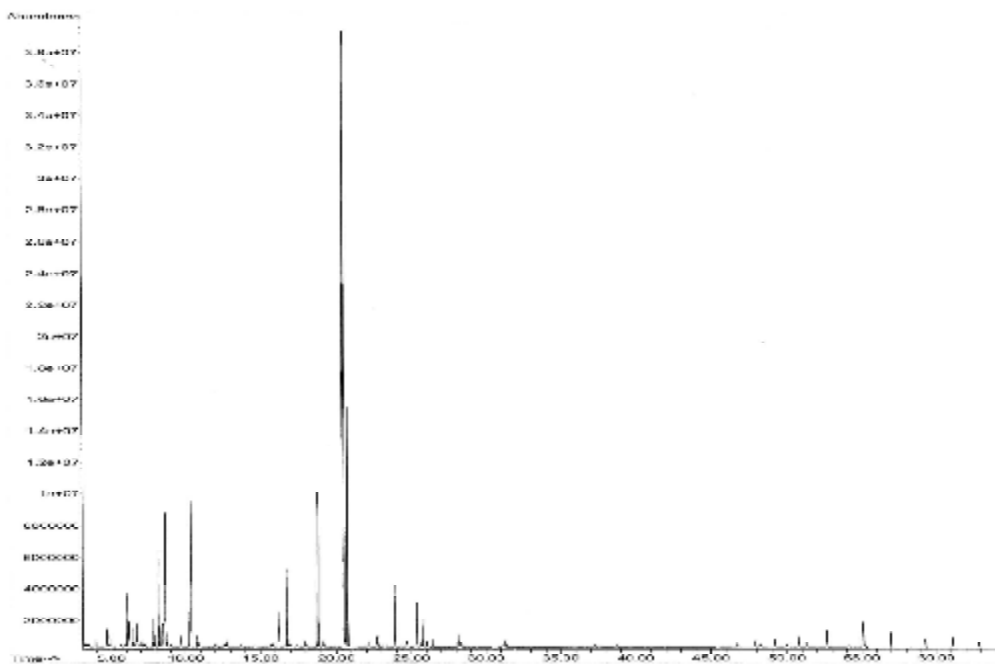
KI: شاخص بازداری



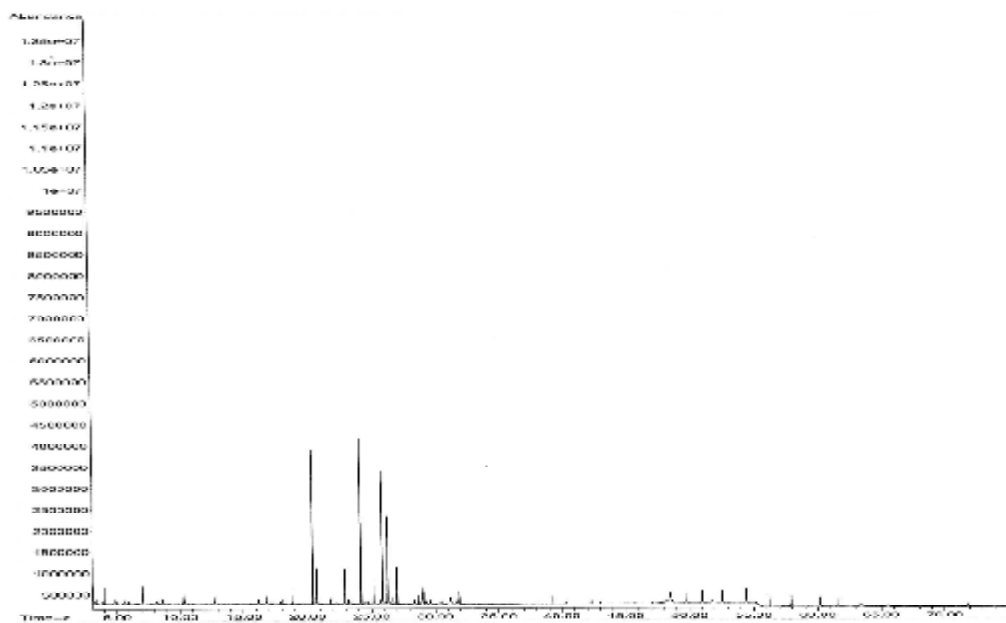
شکل 1- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 2 ساعت صبح



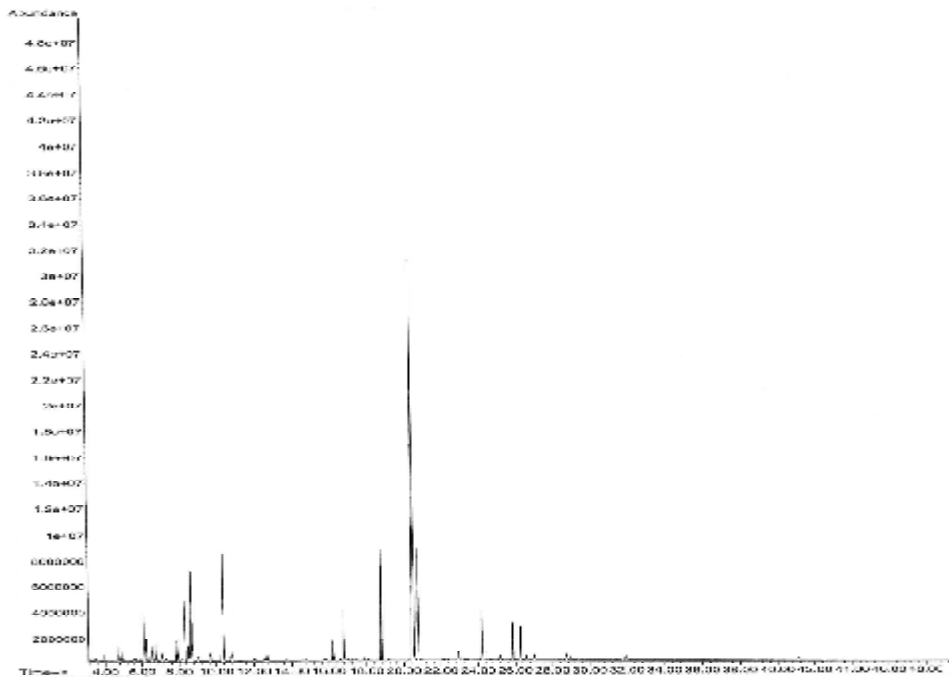
شکل 2- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 4 ساعت صبح



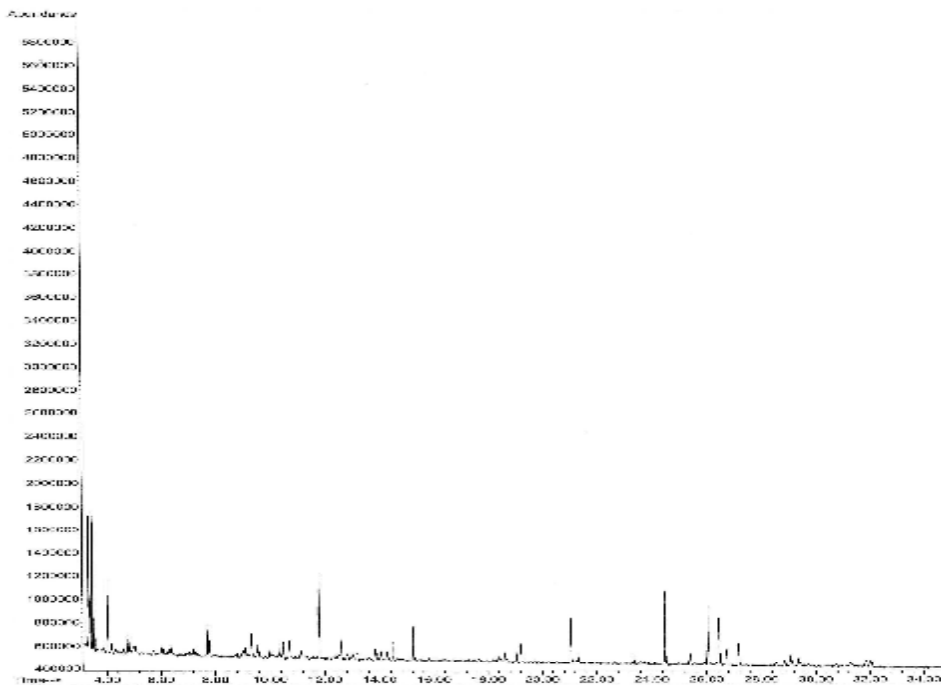
شکل 3- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 2 ساعت ظهر



شکل 4- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 4 ساعت ظهر



شکل 5- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 2 ساعت غروب



شکل 6- کروماتوگرام اسانس مرزنجوش - 4 ساعت غروب

بحث

بررسی دو فاکتور زمان برداشت و مدت زمان اسانس‌گیری بر نوع و درصد ترکیبات موجود در اسانس گونه *Origanum vulgare L.* بسیار حایز اهمیت است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، درصد ترکیب‌های استخراج شده از نمونه‌های جمع‌آوری شده در 3 نوبت صبح، ظهر و غروب متفاوت می‌باشد. به‌طوری‌که در 2 ساعت اول اسانس‌گیری تیمول که مهم‌ترین ماده در مراجع و تحقیقات بوده، در نمونه ظهر 37/93 درصد از کل اسانس را شامل شده که این ترکیب در نمونه صبح 36/26 درصد و در نمونه غروب 35/67 درصد می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج پانترو [11] که معادل 50 درصد از فنول‌ها تقریباً به طور کامل مرکب از تیمول بوده است مطابقت دارد. همچنین گاما- ترپینن، 1، 8- سینثول و بتا- سیمین در نمونه صبح در دو ساعت اول بیشترین و به‌ترتیب به میزان 11/10، 9/22 و 7/28 درصد می‌باشد که این ترکیبات در نمونه ظهر به ترتیب 9/67، 6/85 و 4/65 درصد و در نمونه غروب به ترتیب 10/51، 7/68 و 4/83 درصد می‌باشد. به‌طوری‌که 4 ترکیب فوق، اصلی‌ترین ترکیبات موجود در اسانس بوده که معادل 63/86 درصد اسانس در نمونه صبح، 59/1 درصد اسانس در نمونه ظهر و 58 درصد اسانس در نمونه غروب را تشکیل داده است. در ادامه اسانس‌گیری پس از 4 ساعت، با توجه به نتایج به‌دست آمده، ترانس- کاریوفیلین در نمونه صبح 23/30 درصد که این ترکیب در نمونه ظهر 14/91 درصد و در نمونه غروب 12/50 درصد می‌باشد. همچنین سه ترکیب دکان، ژرماکرن - دی و بی سیکلو ژرماکرن در نمونه غروب به ترتیب 12/73، 9/24 و 8/80 درصد که این سه ترکیب در نمونه‌های صبح 22/94، 11/35 و 9/10 درصد و در نمونه‌های ظهر 13/99، 11/56 و 9/31 درصد می‌باشد. به‌طوری‌که 4 ترکیب فوق‌الذکر اصلی‌ترین ترکیبات موجود در اسانس بوده که معادل 66/69 درصد وزن اسانس در صبح، 49/77 درصد اسانس در نمونه ظهر و 43/27 درصد اسانس در نمونه غروب را تشکیل داده است. به‌طوری‌که تحقیقات انجام شده توسط موکوت و همکاران (9 و 13)، اومی و بنتس (10) و پانترو (11)، حضور ترکیباتی نظیر کارواکرول، بتا-سیمین، کاریوفیلین، اوسیمین، تیمول، سابینن، ژرماکرن-دی را تایید می‌کنند. همچنین اولیویرا و همکاران (2009)، ضمن بررسی خواص آنتی باکتریال، وجود ترکیباتی نظیر میرسن، گاما-ترپینن، آلفا- ترپینن، پارا- سیمین، برنثول، تیمول، کارواکرول و بتا- کاریوفیلین را تایید نموده‌اند. در تحقیقاتی دیگر لامبرت¹ و همکاران (2001) و مارینو² و همکاران (2001)، تیمول و کارواکرول را به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس مرزنجوش گزارش نمودند.

¹ Lambert et al.

² Marino et al.

نتیجه‌گیری

مقایسه ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس مرزنجوش بر اساس پارامترهای زمان برداشت و مدت اسانس‌گیری نشان داده‌است که طول زمان اسانس‌گیری بر نوع ترکیبات استخراجی موثر بوده و می‌توان با توجه به نیاز به یک یا چند ترکیب خاص زمان اسانس‌گیری را به‌منظور جلوگیری از اتلاف وقت و توجیه اقتصادی تنظیم نمود. همچنین زمان جمع‌آوری نمونه‌ها نقش به‌سزایی در میزان و درصد ترکیبات مورد نظر در اسانس گونه‌های گیاهی دارد. به‌طوری‌که اگر هدف استخراج ترکیبی بنام تیمول باشد برداشت نمونه گیاهی در ظهر در اولویت بوده که در مدت زمان ۲ ساعت اسانس‌گیری به‌مقصد خواهیم رسید. و اگر هدف استخراج ترکیبی بنام ترانس- کاریوفیلین باشد جمع‌آوری نمونه در صبح با زمان اسانس‌گیری ۴ ساعت مطلوب می‌باشد. همچنین نتایج به‌دست آمده نشان داد که بیشترین درصد ترکیبات موجود در اسانس در ۲ ساعت اول در نمونه غروب به مقدار ۹۷/۲۱ درصد و در ۴ ساعت در نمونه ظهر به مقدار ۹۴/۲۸ درصد بوده و تیمول، گاما- ترپینن، ۱، ۸- سینثول، بتا- سیمن و کارواکول ترکیب‌های اصلی در ۲ ساعت و ترانس- کاریوفیلین، ژرماکرن- دی، بی‌سیکلو ژرماکرن و دکان از مهمترین ترکیب‌های روغن اسانس در طول ۴ ساعت شناسایی شدند.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر برگرفته از طرح پژوهشی با عنوان ((بررسی و اندازه‌گیری اسانس موجود در گونه‌های گیاهی افسنتین، گندواش، و مرزنجوش توسط دستگاه GC-MS)) با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس انجام شد. لذا بر خود واجب می‌دانم تقدیر و تشکر داشته باشم از ریاست محترم و مسوولان دانشگاه که با حمایت همه‌جانبه خود کمک فراوانی در به ثمر رسیدن آن نموده‌اند.

منابع

- 1- زرگری، ع. 1369، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، جلد سوم، ص 80.
- 2- امید بیگی، ر. 1384، تولید و فراورده‌های دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، جلد دوم، ص 290.
- 3- رضایی، م. ب. 1376، ترکیب‌های شیمیایی در گیاهان دارویی، انتشارات وزارت جهاد سازندگی، جلد اول، ص 163.
- 4- برازنده، م. م. 1378. شناسایی ترکیب‌های متشکله اسانس مرزنجوش اروپایی. جلد اول. انتشارات وزارت جهاد سازندگی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
- 5- Grainger, N., David Phillipson, J., 1983. British Herbal. Pharmacopoeia Bourmouth: HMSO, V(2). p:285- 289.
- 6- Seidil, P.R., 2000. Pharmaceuticals from natural products: current trends. Anais da Academia Brasileira de Ciências, V (74), p: 145-150,
- 7- Ikram , M., 2000. A Study of essential oil components in different Origanum species by GC and sensory analysis. planta Med, V(53), p:389-1987.
- 8- Bozin , B . Mimica – dkic , N ., 2006. characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spiece and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. J Agric Food chem, V(5) , p:1822-8.
- 9-Mockate , D . Bernotiene , G., 2001. The essential oil of origanum vulgare L. ssp vulgare growing wild in Vilnius district. The journal of phytochemistry, V(57),p:57-62.
- 10- Uomi, N., Benetes, H., 1993. Composition of the essential oil of origanum majorana L. Form Turkey. J. Essent. Oil Res, V(5), P: 577-579.
- 11- Pantro, N. W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methylsilicone and carbowax 20M phases. J. Chromatogr, V(503), P: 1-24.
- 12-Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis, E., Aligiannis, N. , 2004. Essential oils of satureja, Origanum, and Thymus species: chemical composition and antibacterial Activities foodborne pathogens. V(26). P:8261-7.
- 13- Mockutė, D., Bernotienė, G., Judpientienė, A., 2004. Chemical composition of essential oils of Origanum vulgare L growing in Lithuania. BIOLOGIJA, V (4), P: 44–49.
- 14- Olivera, j.l.t.m., diniz, M.D.F.M., Lima, E.D.O., Souza, E.L.D., Trajano, V.N., Santos, B.H.C., 2009. Effectiveness of Origanum vulgar L. and Origanum majorana L. Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Lsolated form the Patients with Conjunctivitis. braz. Arch. Technol. V(52), p:45-50
- 15- Skandamis, P.; Tsigarida, E. and Nichas, G.J.E., 2002. The effect of oregano essential oil on survival/death of Salmonella typhimurium in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions. Food Microbiology, V(19), P:97-108.

- 16- Ultee, A.; Slump, R.A.; Stechini, G. and Smid, E.J., 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*, V(63),p: 620- 624.
- 17- Ultee, A. and Smid, E.J., 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Journal of Food Microbiology*, V(64),p: 373-378.
- 18- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, V(94),p: 223-253.
- 19- Burt, S.A. and Reinders, R.D., 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, V(26),p: 162-167.
- 20- Lambert, R.J.W.; Skandamis, P.N.; Coote, P. and Nychas, G.J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol, and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, V(91), p:453-462.
- 21- Marino, M.; Bersani, C. and Comi, G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, V(67), p: 187-195.