

NADA V. ANIČIĆ<sup>1</sup>  
SUZANA DIMITRIJEVIĆ<sup>1</sup>  
MIHAILO S. RISTIĆ<sup>2</sup>  
SLOBODAN S. PETROVIĆ<sup>1,3</sup>  
SLOBODAN D. PETROVIĆ<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Tehnološko–metalurški fakultet,  
Beograd

<sup>2</sup>Institut za proučavanje  
lekovitog bilja "Dr Josif Pančić",  
Beograd

<sup>3</sup>Hemofarm koncern,  
Vršac

NAUČNI RAD

582.949.27:665.52/.54:615.281

## ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ETARSKOG ULJA *Melissa officinalis* L., Lamiaceae

U radu je ispitivana antimikrobna aktivnost etarskog ulja matičnjaka (*Melissa officinalis*) izolovanog destilacijom vodom i vodenom parom, pomoću uređaja SP–250. GC i GC–MS analizom određene su najzastupljenije komponente kod etarskog ulja *M. officinalis*, a za ispitivanje biološke aktivnosti korišćeni su različite bakterije, kvasac *Candida albicans*, i plesni. Primenjena je metoda difuzije u bunarčićima ili aromagram, kojom su određene zone inhibicije i zone smanjenog rasta. Nakon toga primenivan je bujon dilucioni postupak za određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Etarsko ulje *M. officinalis* pokazalo je jako antimikrobno dejstvo.

*Melissa officinalis* L. je aromatična, višegodišnja zeljasta biljka. Lišće oslobađa miris na limun kada se istrlja i zgnječi prstima. Matičnjak je jedna od retkih biljaka koja je istovremeno lekovita, mirisna, ukrasna, začinska, aromatična, medonosna i industrijska [1,2]. Od matičnjaka se beru list (*Melissae folium*) i herba tj. nadzemni deo biljke (*Melissae herba*). U svežem listu je prisutna veća količina ulja, ali tokom sušenja ulje delimično ispari ili se usmoli, tako da je najbolje da se koristi za dobijanje etarskog ulja kad je sirova. Sadržaj etarskog ulja iz sirove biljke može opasti za 30% od početne količine za 3 meseca. Sastav etarskog ulja zavisi od raznih faktora: genotipa, načina obrade biljnog materijala, metode dobijanja etarskog ulja, porekla i klime, i to da li je dobijeno iz lišća prve ili druge kosidbe takođe igra važnu ulogu [3–8]. Najvažniji lekoviti sastojak matičnjaka je vrlo lako isparljivo mirisno etarsko ulje–*Melissa aetheroleum*, koje se dobija destilacijom pomoću vodene pare iz sirove ili osušene herbe. List matičnjaka sadrži 0,02–0,3% etarskog ulja sa više od 70 različitih komponenti (monoterpenoidi čine više od 60% etarskog ulja, dok seskviterpenske strukture čine više od 35% etarskog ulja). Frakcije koje sadrže kiseonik su uglavnom (~90%) monoterpenoidi, dok su ugljovodonične frakcije uglavnom (~90%) seskviterpenske strukture [9]. Među glavnim monoterpenoidnim komponentama su citral a i b (geranial i neral) i citronelal, koji zajedno čine 40–75% etarskog ulja i nose aromu ulja. Ukupna količina ovih aldehida je promenljiva, ali je stalan njihov međusobni odnos u ulju (geranial:neral = 4:3) [10]. Prisutne su male količine sledećih monoterpenoida: metilcitronelat, geranialacetat, citronelol, geraniol, nerol, linalol,  $\alpha$ -terpineol, terpi-

nen–1–ol–4, neralacetat, cis– i trans–ocimen. Od jedinjenja seskviterpenske strukture dominantni su:  $\beta$ -kariofilen,  $\beta$ -kariofilen oksid i germakren–D, zajedno sa nešto germakra–1(10)E–dien–4–ol. Ostala važna jedinjenja seskviterpenske strukture su:  $\alpha$ -kubeben,  $\alpha$ -kopaen,  $\beta$ -bourbonen,  $\alpha$ -humulen, farnesol i kariofilenol [11–19].

Odnos monoterpenkih alkohola (nerol, geraniol, linalol, citronelol i dr.) i monoterpenkih aldehida (citral a i b, citronelal) karakteriše etarsko ulje matičnjaka i taj odnos iznosi oko 1:30 [20].

U listu matičnjaka, osim etarskog ulja prisutni su i heterozidi flavonoida (kvercitrin, ramnocitrin, derivati apigenina i luteolina kao npr. luteolin–7–glikozid), zatim fenolkarbonske kiseline (glikozidno vezane hlorogenska i kafena kiselina i naročito važna rozmarinska kiselina zvana 'tanin usnatica' (koje ima oko 4%), tanini, triterpeni (ursolna i oleanolna kiselina) i glikozidi od alkoholnih i fenolnih komponenti npr. glikozidi geraniola, nerola, eugenola, benzil alkohola,  $\beta$ -feniletil alkohola [21–30].

List i etarsko ulje matičnjaka se koriste kao fitopreparati u obliku infuza, ekstrakata i tinkture za različite vrste poremećaja (kod blagih nesanica i kod poremećaja varenja hrane, odnosno kod poremećene funkcije organa gastrointestinalnog trakta). Lekoviti preparati matičnjaka deluju sedativno, spazmolitično i antibakterijski. Matičnjakovo etarsko ulje se veoma ceni i ima veliku cenu u industriji parfema i kozmetike. Velike količine etarskog ulja matičnjaka, se utroše u industriji koncentrata i aroma i industriji likera (npr. pića Benediktin i Shar-trez) [29,31,32].

Etarsko ulje matičnjaka spada u grupu etarskih ulja sa najjačim antimikrobnim dejstvom, jer u njegovom sastavu dominiraju monoterpenki aldehidi. Poznato je inhibitorno dejstvo etarskog ulja matičnjaka protiv *Listeria monocytogenes* i *Mycobacterium tuberculosis*. Takođe, *in vitro* ispitivanjima, etarsko ulje je pokazalo antifungalno dejstvo prema *Microsporium gypseum* *Trichophyton equinum*, *T. rubrum*, *Collectotrichum species*, *Trichoderma viridae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium ochrochloron* [15,33–43].

\*Rad je saopšten na VI Simpozijumu "Savremene tehnologije i privredni razvoj", Leskovac, Oktobar 21–22, 2005.

Adresa autora: S.D. Petrović, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija i Crna Gora

Rad primljen: Septembar 23, 2005

Rad prihvaćen: Oktobar 4, 2005

U *in vitro* ispitivanjima, vodeni ekstrakti lišća matičnjaka pokazuju i dobro antivirusno dejstvo, prema različitim tipovima virusa [22,23,44–48]. Još uvek je pod diskusijom, da li je prisustvo polifenola uzrok za pokazivanje virustatičkog dejstva, ili je za osobinu virustatika odgovoran čitav kompleks supstanci (zajednički potencijal ili kombinovano delovanje svih sastojaka biljke). Pretpostavlja se da u reakciji između polifenola i virusa i proteina ćelijske membrane, polifenolne komponente matičnjaka, zauzmu virusne recipijente i usled toga sprečavaju adsorpciju virusa na ćelijski zid [9]. Ekstrakti matičnjaka i rozmarinska kiselina su takodje pokazali antivirusno dejstvo protiv HIV-a [33,49].

U ovom radu je ispitivan hemijski sastav etarskog ulja *Melissa officinalis* sa domaćeg podneblja i određivana je njegova antimikrobna aktivnost prema različitim vrstama bakterija kvasaca i plesni.

## MATERIJAL I METODE

### Etarska ulja

Biljni materijal sakupljen je na lokalitetu Bavanište u Banatu. Etarsko ulje *Melissa officinalis* izolovano je iz osušene herbe, postupkom destilacije vodom i vodenom parom, pomoću destilacionog uređaja SP-250.

### GC i GC/MS

Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskog ulja vršena je gasnohromatografski, uz korišćenje plameno-jonizujućeg (FID) i maseno-spektrometrijskog detektora (MSD). GC analiza je urađena na aparatu Hewlett Packard – 5890 Series II gasnom hromatografu, opremljenom split-splitless injektorom, kapilarnom kolonom sa HP 5 stacionarnom fazom (25 m x 0.32 mm; debljina filma 0.52  $\mu\text{m}$ ) i plameno-jonizujućim detektorom (FID). Rastvor etarskog ulja u etanolu injektiran je u split modu (1:30). Temperatura injektora iznosila je 250°C, detektora 300°C, dok je temperatura kolone linearno povećavana od 40–240°C (4°C/min). U slučaju GC/MSD hromatografisanje je vršeno na HP G-1800C Series II, po GSD analitičkom sistemu, na HP-5MS kapilarnoj koloni (30 m x 0.25 mm; debljina filma 0.25  $\mu\text{m}$ ) u već opisanom režimu. Noseći gas bio je helijum. Maseni spektri (tehnik jonizacije: EI, 70 eV) snimani su u opsegu m/z od 40–400. Identifikacija komponenti ulja vršena je masenospektrometrijski, poređenjem njihovih retencionih vremena, Kovats indeksa (RI) i masenih spektara sa referentnim supstancama i/ili jedinjenjima iz raspoložive kompjuterske datoteke (Wiley275, NIST/NBS) i literature (Adams). Kao osnova za kvantifikaciju uziman je procenat površine dobijen hromatografisanjem uz korišćenje plameno-jonizujućeg detektora.

### Mikroorganizmi

Kao indikatorski mikroorganizmi korišćene su različite vrste enteropatogenih bakterija: *Escherichia coli*

ATCC 25922, *Klebsiella sp.*, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sp.*, *Proteus vulgaris* ATCC 4307, potencijalno patogene bakterije: *Pseudomonas aeruginosa*, sojevi ATCC 27833, DV 2739, DV 2769, DV 5999, *Staphylococcus aureus*, sojevi ATCC 25923, DV 2678, ATCC 6538, VMA, *Corynebacterium sp.*, sporogene bakterije: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus*, nepatogene bakterije intestinalne mikroflore: *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4357, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, patogen izolovan iz hrane: *Listeria monocytogenes* IM 2000, plesni: *Aspergillus niger*, *Alternaria sp.*, patogeni kvasac: *Candida albicans*. Sve korišćene kulture su iz kolekcije laboratorije za mikrobiologiju TMF-a i iz mikrobiološke kolekcije Instituta za virusologiju i imunologiju – Torlak.

### Metode određivanja antimikrobnog delovanja

#### Aromatogram ili metoda difuzije u bunarčićima

Za pripremu agarne podloge korišćen je hranjivi agar (Torlak) za bakterije i Sabrou–maltozni agar (Torlak), za kvasce i plesni. Na sloj razlivenog agarne podloge sa odgovarajućim medijumom postavljene su cevčice prečnika 7 mm, na obeležene tačke. Agarna podloga sa postavljenim bunarčićima je prelivana soft agarom (odgovarajući medijum sa dodatkom 0,6% agara) koji je inokulisan sa odgovarajućim indikatorskim mikroorganizmom. Nakon očvršćavanja soft agara (15 minuta) sterilno su izvučene cevčice. U tako formirane bunarčice naneto je 20  $\mu\text{l}$  svakog od ispitivanih uzoraka (etarsko ulje matičnjaka i etanol). Petri ploče su termostahirane na temperaturi od 37°C za bakterijske kulture i na 30°C za kvasce i plesni. Inkubacija je trajala 24–48 časova za bakterijske kulture, i 48–72 časa za kvasce i plesni. Nakon inkubacije izmerene su širine (u mm) zona inhibicije (bistre) i/ili zona smanjenog rasta (difuzne) koje se obrazuju oko bunarčića.

#### Bujon dilucioni postupak

Kao hranjiva podloga korišćen se TSB (tripton soja–bujon – Torlak), kome je dodato 0,01% Tween 80–polioksietilen sorbitan monooleata i 0,6% kvasčevog ekstrakta. Pripremljena je serija razblaženja ispitivog etarskog ulja matičnjaka u hranljivoj podlozi. Zatim su bujoni inokulisani sa izabranim indikatorskim kulturama i inkubirani na odgovarajućim temperaturama (37°C za bakterije i 30°C za kvasce i plesni). Nakon 24 časa, očitavani su rezultati minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). To je najmanja koncentracija etarskog ulja pri kojoj mikroorganizmi ne rastu u bujonu, ali rastu presejani na čvrstu podlogu bez dodavanja etarskog ulja. Ova koncentracija uočava se u jednoj od epruveta – u seriji razblaženja, u kojoj nije došlo do zamućenja bujona, jer nema rasta mikroorganizma.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati kvalitativne i kvantitativne analize hemijskog sastava etarskog ulja *Melissa officinalis* L., *Lamiaceae* dati su u tabeli 1. Kod etarskog ulja *M. officinalis*, od identifikovane 42 komponente najzastupljeniji je geranial (17,30%), a zatim slede neral (14,70%), citronelal (10,70%), geranil acetat (5,53%),  $\beta$ -kariofilen (5,41%), kariofilen oksid (3,01%), metil citronelat (2,58%), 6-metil-5-hepten-2-on (2,18%), metil geranat (1,55%), geraniol (1,42%), karvakrol (1,10%), cis-hrizantemol (1,04%) i  $\beta$ -citronelol (1,02%), dok je pojedinačni sadržaj svih ostalih komponenti manji od 1%.

Tabela 1. Hemijski sastav etarskog ulja herbe *M. officinalis*  
Table 1. Chemical composition of the essential oil *M. officinalis*

Br	Komponenta	RI	%
1	1-okten-3-ol	962.1	0.50
2	6-metil-5-hepten-2-on	972.3	2.18
3	sabinen	975.8	0.11
4	$\beta$ -pinen	975.8	0.11
5	6-metil-5-hepten-2-ol	983.7	0.05
6	oktan-3-ol	986.9	0.02
7	<i>m</i> -cimen	1016.1	0.18
8	trans- $\beta$ -ocimen	1040.5	0.04
9	bergamal	1046.4	0.18
10	$\gamma$ -terpinen	1049.8	0.03
11	cis-linalol oksid	1065.4	0.03
12	rozefuran	1089.3	0.52
13	n-nonan-1-al	1097	0.12
14	6-metil-3,5-heptadien-	1100.2	0.02
15	cis-roze oksid	1103.2	0.13
16	hrizantemol	1141.2	0.79
17	citronelal	1147.91	0.70
18	cis-hrizantemol	1157.7	1.04
19	rozefuran epoksid	1168.4	0.41
20	metil salicilat	1186.2	0.02
21	safranal	1191.4	0.03
22	nerol	1224.0	0.63
23	$\beta$ -citronelol	1225.7	1.02
24	neral	1238.8	14.70
25	piperiton	1249.2	0.03
26	geraniol	1252.5	1.42
27	metil citronelat	1255.7	2.58
28	geranial	1270.6	17.30
29	karvakrol	1300.4	1.10
30	metil geranat	1318.9	1.55
31	citronelol acetat	1347.4	0.07
32	neril acetat	1358.5	0.05
33	geranil acetat	1378.5	5.53
34	$\beta$ -kariofilen	1411.2	5.41
35	$\alpha$ -humulen	1446.7	0.32
36	alo-aromadendren	1454.2	0.04
37	germakren D	1476.0	0.03
38	ar-kurkumen	1478.9	0.07
39	$\beta$ -ionon	1482.6	0.07
40	kariofilen oksid	1581.6	3.01
41	humulen epoksid	1607.4	0.13
42	heksahidrofarnezil aceton	1843.6	0.08

## Rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti

Metodom difuzije u bunarčiću utvrđeno je da je od 26 ispitivanih indikatorskih sojeva, bakterija *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pokazala najveću osetljivost prema etarskom ulju matičnjaka, dok je *Klebsiella sp.* bila rezistentna. Osetljive vrste su takođe, bakterije *Listeria monocytogenes*, zatim sojevi *Pseudomonas aeruginosa* DV2739 i *P. aeruginosa* DV2769, kvasac *Candida albicans* i plesan *Alternaria sp.*, kod kojih nije detektovan rast na Petri pločama. Kod *Escherichia coli* ATCC 25922 se uočava zona aktivacije tj. pojačanog rasta koja prelazi u zonu redukcije rasta dok se kod *Proteus vulgaris* javlja dvostruka zona redukcije (smanjenog rasta).

Rezultati dobijeni pomoću difuzione metode prikazani su u tabeli 2, kao širine zona inhibicije i zona smanjenog rasta (redukcija rasta). Kao kontrola korišćen je apsolutni etanol.

Tabela 2. Antimikrobna aktivnost etarskog ulja *Melissa officinalis*

Table 2. Antimicrobial activity of the essential oil *Melissa officinalis*

Indikatorski soj	Širina zone inhibicije (mm)			Etanol
	Melisa			
	I	AK	RR	
<b>Bakterije</b>				
<i>B. cereus</i>			6	*
<i>B. subtilis</i>	3.5			*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.5	1	11	*
<i>E. coli</i> TMF	6		3.5	*
<i>P. aeruginosa</i> DV 5999	4		na ivicama	*
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27833	0.1			*
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4307	0,5	3	7	*
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	16			4
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6			2.5 RR
<i>S. aureus</i> DV 2678	6		5	*
<i>S. aureus</i> VMA	8		3	*
<i>S. enitridis</i> ATCC 13076	1		10	*
<i>Shigella sp.</i>	1.5		7	*
<i>Corynebacterium sp.</i>	11			*
<i>Klebsiella sp.</i>	*			*
<i>Bifidobacterium sp.</i>	4		na ivicama	*
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4357	3		*	
<i>L. fermentum</i>	3.5			*
<i>L. plantarum</i>	3.5			*
<i>L. rhamnosus</i>	3.5			*
<i>Listeria monocytogenes</i> <i>P. aeruginosa</i> DV 2739 <i>P. aeruginosa</i> DV2769	nije detektovan rast na Petri pločama			
<b>Kvasci</b>				
<i>Candida albicans</i>	nije detek. rast na Petri pločama			
<b>Plesni</b>				
<i>A. niger</i>	5			*
<i>Alternaria sp.</i>	nije detek. rast na Petri pločama			

I – inhibicija, AK – aktivacija, RR – redukcija rasta, \* – nema zona inhibicije

Tabela 3. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) etarskog ulja *M. officinalis*Table 3. Minimal inhibiting concentration (MIC) of the essential oil *M. officinalis*

Indikatorski soj	MIC (µl/ml)
<b>Bakterije</b>	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.75
<i>L. monocytogenes</i> IM 2000	0.1
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4307	1.75
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27833	1.25
<i>P. aeruginosa</i> DV 5999	0.25
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	0.45
<i>Shigella</i> sp.	0.35
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.25
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0.25
<i>S. aureus</i> DV 2678	0.25
<b>Kvasci</b>	
<i>C. albicans</i>	0.45
<b>Plesni</b>	
<i>A. niger</i>	0.25
<i>Alternaria</i> sp.	0.30

Rezultati dobijeni dilucionom metodom (MIC) dati su u tabeli 3. Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) određene su za 13 odabranih indikatorskih sojeva koje su pokazale osetljivost u prethodnom ispitivanju.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 3, uočava se da etarsko ulje *Melissa officinalis* L., *Lamiaceae* pokazuje antimikrobnu aktivnost u opsegu koncentracija 0,1 µl/ml do 1,75 µl/ml. Najveću osetljivost prema etarskom ulju melise pokazala je bakterija *Listeria monocytogenes* (MIC = 0,1 µl/ml), a zatim sojevi *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* DV 2678 i *Pseudomonas aeruginosa* DV 5999 (MIC = 0,25 µl/ml), i plesni *Aspergillus niger* (MIC = 0,25 µl/ml) i *Alternaria* sp. (MIC = 0,3 µl/ml). Najmanju osetljivost prema etarskom ulju melise pokazao je *Proteus vulgaris* ATCC 4307 (MIC = 1,75 µl/ml) i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833 (MIC = 1,25 µl/ml).

## ZAKLJUČAK

Dobijeni rezultati ispitivanja kvalitativnog i kvantitativnog sastava etarskog ulja *M. officinalis* su u skladu sa brojnim literaturnim podacima. Ispitivano etarsko ulje matičnjaka pokazuje značajnu antimikrobnu aktivnost. Etarsko ulje *Melissa officinalis* L., *Lamiaceae* je pokazalo antimikrobnu aktivnost u opsegu koncentracija 0,1 µl/ml do 1,75 µl/ml. Jakom antimikrobnom dejstvu etarskog ulja *M. officinalis* doprinosi dominirajući udeo monoterpenih aldehida geraniala (17,30%), nerala (14,70%) i citronelala (10,70 %).

## LITERATURA

[1] R. Fritz Weiss, V. Fintelmann, Herbal Medicine, Thime, StuttgartNew York (2000) 266-267

- [2] B. Stepanović, Proizvodnja lekovitog i aromatičnog bilja, "Zadruga" (1983) 153-161
- [3] M. Sarić, Lekovite biljke SR Srbije, SANU, Beograd (1989) 369-371
- [4] M. Mihajlov, S. Tasić, D. Runjajić-Antić, Priručnik za sakupljanje lekovitog bilja, Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić", Beograd (1996)
- [5] V. Dim-Zajec, Experimental work in breeding medicinal plants. II. Lemon balm (*Melissa offic.*), Farm. Glasnik 4 (1948) 117-120
- [6] O. Dafert, W. Himmelbaur, K. Loidolt, Variations in the constituents of certain drug plants during the vegetative period, Scintia Pharmaceutica 6 (1935) 45-53
- [7] J. Macku, Influence of certain ions on the production of essential oils in medicinal plants, Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses Filiales 95 (1927) 797-198
- [8] A.S. Shalaby, S. El-Gengaihi, M. Khattab, Oil of *Melissa officinalis* L., as affected by storage and herb drying, Journal of Essential Oil Research 7(6) (1995) 667-669
- [9] N. Grainger Bisset, M. Wichtl, Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart (2001) 329-332
- [10] N. Kovačević, Osnovi farmakognozijske, Beograd (2000) 250-265
- [11] P. Franchomme, R. Jollois, D. Penoel, J. Mars, l'aromatherapie - exactement, Limoges (1996) 372
- [12] F. Enjalbert, Fitoterapia, 54 (1983) 59
- [13] N. Stankeviciene, Polez. Rast. Priblat. Respub. Beloruss., Mater. Nauch. Konf., 2 (1973) 264; through Chem. Abstr., 81 (1974) 111399d
- [14] S. Kapetanović, S. Dugumović, Acta Pharm. Jugosl., 18(304) (1968) 127; Chem. Abstr., 73 (1970) 63152d
- [15] F.W. Hefendehel, Arch. Pharm. (Weinheim), 303 (1970) 345
- [16] H. Wagner, L. Sprinkmeyer, Dtsch. Apoth. Ztg., 113 (1973) 1159
- [17] W. Schultze, A. Zaenglein, R. Klosa, K.H. Kubezcka, Melissa. Thin-layer chromatography of its essential oil, Deutsche Apotheker Zeitung 129(4) (1989) 155-163
- [18] I. Nykanen, Composition of the essential oil of *Melissa officinalis* L., Developments in Food Science, 10 (1985) 329-338
- [19] J. Pellecuer, F. Enjalbert, J.M. Bessiere, G. Privat, Study on essential oil of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*), Plantes Medicinales et Phytotherapie 15(3) (1981) 149-53
- [20] B. Klimek, T. Majda, J. Gora, J. Patora, Study of the essential oil from lemon catnip (*Nepeta cataria* L. Var *citriodora*) in comparison with the oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.), Herba Polonica 46(4) (2000) 226-234
- [21] H. Thieme, C. Kitze, Pharmazie, 28 (1973) 69
- [22] L.S. Kucera, E.C. Herrmann Jr., Antiviral substances in plants of the mint family (*Labiatae*). II. Tannin of *Melissa officinalis*, Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine, 124 (1967) 865-869
- [23] E.C. Herrmann Jr., L.S. Kucera, Antiviral substances in plants of the mint family (*Labiatae*). II. Nontannin polyphenol of *Melissa officinalis*, Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine, 124 (1967) 869-874
- [24] I. Morelli, Boll. Chim. Farm., 116 (1977) 334
- [25] U. Gerhardt, A. Schroeter, Fleischwirtschaft, 63 (1983) 1628
- [26] A. Mulkens, Pharm. Acta Helv., 60(9-10) (1985) 276, Chem. Abstr., 103 (1985) 211224j
- [27] M. Burgett, Bee World, 61(2) (1980) 44; Chem. Abstr., 93 (1980) 66820u
- [28] PDR for Herbal Medicines, Medicinal Economics Company, Montvale, New Jersey (2000) 461-462

- [29] Monographs On The Medicinal Uses Of Plant Drugs, E/S/C/O/P, European Scientific Cooperative On Phytotherapy (1997)
- [30] Who monographs on selected medicinal plants, volume 2, World Health Organization, Geneva (2002) 180–187
- [31] N. Kovačević, Osnovi farmakognozije, Beograd (2000) 250–265
- [32] S. Serizawa, A. Udagawa, A. Yokomaku, M. Sato, Cosmetics containing bactericides and plant extracts, Kokai Tokkyo Koho (2001) 9 pp
- [33] P. Gardiner, Lemon Balm, The Longwood Herbal Task (2000)
- [34] Grujić–Jovanović S., Simić A., Soković M., Vukojević J., Ristić M.S., Marin P.D., Antimikrobna aktivnost etarskog ulja *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), *Lekovite sirovine* **23**(23) (2003) 153–158
- [35] A. Mulkens, *Pharm. Acta Helv.* **60**(9–10), (1985) 276, *Chem. Abstr.*, **103** (1985) 211224
- [36] O. Motiejunaite, L. Kalediene, Antimicrobial activity of Lamiaceae plant essential oils on *Aspergillus niger* growth, *Biological Sciences* **51**(3) (2003) 237–242
- [37] N. Mimica–Dukić, B. Bozin, M. Soković, N. Simin, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**(9) (2004) 2485–2489
- [38] C. Araujo, M.J. Sousa, M.F. Ferreira, C. Leao, Activity of essential oils from Mediterranean Lamiaceae species against food spoilage yeasts, *Journal of food protection* **66**(4) (2003) 625–632
- [39] J.V. Larrondo, M. Agut, M.A. Calvo–Torrás, Antimicrobial activity of essences from labiates, Spain *microbios* **82**(332) (1995) 171–172
- [40] R. Firouzi, M. Azadbakht, A. Nabinedjad, Anti–listerial activity of essential oils of some plants, *Journal of Applied Animal Research* **14**(1) (1998) 75–80
- [41] S. Saigusa, Antimutagenic activity of herbal extracts. II, Mechanism and DNA–repair enhancement, *Mutation Research* **182** (1982) 375
- [42] O. Schimmer, An evaluation of 55 commercial plant extracts in the Ames mutagenicity test, *Pharmazie* **49** (1994) 448–451
- [43] A.G. Ponce, C.E. del Valle, S.I. Roura, Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables, *Lebensmittel–Wissenschaft und–Technologie* **37**(2) (2004) 199–204
- [44] G. May, G. Willuhn, Antiviral activity of aqueous extracts from medicinal plants in tissue cultures, *Arzneimittel–Forschung* **28** (1978) 1–7
- [45] A. Allahverdiyev, N. Duran, M. Ozguven, S. Koltas, Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type–2, *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology* **11**(7–8) (2004) 657–661
- [46] R.H. Wöbling, K. Leonhardt, Local therapy of herpes simplex with dried extract from *Melissa officinalis*, *Phytomedicine* **1** (1994) 25–31
- [47] D.A. Van den Berghe, Present status and prospects of plant products as antiviral agents, *Advances in medicinal plant research* **72** (1985) 659–661
- [48] B. König, J.H. Dustmann, The caffeoylics as a new family of natural compounds, *Naturwissenschaften* **72** (1985) 659–661
- [49] K. Yamasaki, M. Nakano, T. Kawahata, H. Mori, T. Otake, N. Ueba, I. Oishi, R. Inami, M. Yamane, M. Nakamura, H. Murata, T. Nakanishi, Anty HIV–1 activity of herbs in Labiatae, *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **21**(8) (1998) 829–833

## SUMMARY

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *Melissa officinalis* L., Lamiaceae

(Scientific paper)

Nada V. Aničić<sup>1</sup>, Suzana Dimitrijević<sup>1</sup>, Mihailo S. Ristić<sup>2</sup>, Slobodan S. Petrović<sup>4</sup>, Slobodan D. Petrović<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia and Montenegro;

<sup>2</sup>Institute for the Research of Medical Plants "Dr Josif Pancic" Belgrade;

<sup>3</sup>Hemofarm Koncern, Vršac;

The antimicrobial activity of the essential oil of *Melissa officinalis* was investigated in this paper. The essential oil was obtained by the principle of water and steam and analyzed by GC and GC–MS using FID and MSD. The main components of the oil of *Melissa officinalis* were geranial (17.30%), neral (14.70%) and citronellal (10.70%). The antimicrobial properties were tested against the following bacterial species: *B. subtilis*, *B. cereus*, *Bifidobacterium* sp., *Corynebacterium* sp., *E. coli*, *Klebsiella* sp., *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Listeria monocytogenes*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *Shigella* sp., *S. aureus*, and fungi *Candida albicans*, *Alternaria* sp. and *Aspergillus niger*. The diffusion technique was used for testing: the antimicrobial activity, and the MIC was determined by the broth dilution method. The essential oil of *M. officinalis* showed high antimicrobial activity.

Key words: *Melissa officinalis* • Essential oil • Antimicrobial activity •

Ključne reči: Matičnjak • Etarsko ulje • Antimikrobna aktivnost •