

ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ETARSKOG ULJA *Melissa officinalis* L, Lamiaceae

Nada Aničić, Suzana Dimitrijević, M. Ristić²

S S. Petrović, S. D. Petrović¹

¹Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd,

²Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić", Beograd,

³Hemofarm koncern, Vršac

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 korišćene su različite bakterije, kvasac *Candida albicans*, i plesni. Primenjena je metoda difuzije u bunarčićima ili aromagram, kojim su određene zone inhibicije i zone smanjenog rasta. Nakon toga primenjivan 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 (mono-terpenoidi čine više od 60% etarskog ulja, dok seskviter-penske strukture čine više od 35% etarskog ulja). Frakcije koje sadrže kiseonik su uglavnom (-90%) mo-noterpenoidi, dok su ugljovodonične frakcije uglavnom (-90%) seskviterpenske strukture [9]. Među glavnim mo-noterpenoidnim 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 pro-menljiva, ali je stalan njihov međusobni odnos u ulju (geranial:neral = 4:3) [10]. Prisutne su male količine sledećih monoterpenoida: metilcitronelat, geranialace-tat, citronelol, geraniol, nerol, linalol, α -terpineol, terpinen-1-ol, neralacetat, cis- i trans-ocimen. Od jedinjenja seskviterpenske strukture dominantni su: (β -kariofilen, β -kariofilen oksid i germakren-D, zajedno sa nešto germakra-1(10)E-dien-4-ol. Ostala važna jedinjenja seskviterpenske strukture su: α -kubeben, α -kopaen, (β -bourbonen, α -humulen, farnezol i kariofilenol [11-19].

Odnos monoterpenkih alkohola (nerol, geraniol, linalol, citronelol i dr.) i monoterpenkih aldehida (cital 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, β -feniletal 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 Shartrez) [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 *Microsporum gypseum* *Trichophyton equinum*, *T. rubrum*, *Collectotrichum species*, *Trichoderma viridae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium ochrochloron* [15,33-43].

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 ispitan hemijski sastav etarskog ulja *Melissa officinalis* sa domaćeg podneblja i određivana je njegoa 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 gasnohromatografeki, uz korišćenje plameno-jonizujućeg (FID) i maseno-spektrometrijskog detektora (MSD). GC analiza je urađena na aparatu Hevvlett Pa-ckard - 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 μm) 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°/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 μm) u već opisanom režimu. Noseći gas bio je helijum. Maseni spektri (tehnika jonizacije: El, 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: *Bifido-bacterium 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 odredjivanja antimikrobnog delovanja

Aromatogram ili metoda difuzije u bunarčićima

Za pripremu agarne podloge korišćen je hranljivi agar (Torlak) za bakterije i Saburoumaltozni agar (Torlak), za kvasce i plesni. Nasloj razlivene 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 bunarčiće naneto je 20 µl svakog od ispitivanih uzoraka (etarsko ulje matičnjaka i etanol). Petri ploče su termostatirane 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 hranljiva podloga korišćen se TSB (tripton soja-bujon - Torlak), kome je dodato 0,01% Tween 80-poioksietilen sorbitan monooleata i 0,6% kvašćevog 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.

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 | β -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- β -ocimen | 1040.5 | 0.04 |
| 9 | bergamal | 1046.4 | 0.18 |
| 10 | γ -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 | β -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 | β -kariofilen | 1411.2 | 5.41 |
| 35 | α -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 | β -lonon | 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 |

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%), β -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 β -citronelol (1,02%), dok je pojedinačni sadržaj svih ostalih komponenti manji od 1%.

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. bi-la rezistentna. Osetljive vrste su takođe, bakterije *Listeria monocytogenes*, zatim sojevi *Pseudomonas aeruginosa* DV2739 i R *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.

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 μ l/ml do 1,75 μ l/ml. Najveću osetljivost prema etarskom ulju melise pokazala je bakterija *Listeria monocytogenes* (MIC = 0,1 μ l/ml), a zatim sojevi *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* DV 2678 i *Pseudomonas aeruginosa* DV5999 (MIC = 0,25 μ l/ml), i plesni *Aspergillus niger* (MIC = 0,25 μ l/ml) i *Alternaria* sp. (MIC = 0,3 μ l/ml). Najmanju osetljivost prema etarskom ulju melise pokazao je *Proteus vulgaris* ATCC 4307 (MIC = 1,75 μ l/ml) i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833 (MIC = 1,25 μ l/ml).

Tabela 2. Antimikrobna aktivnost etarskog ulja *Melissa officinalis*Table 2. Antimicrobial activity of the essential oil *Melissa officinalis*

| Indikatorski soj | Širina zone inhibicije (mm) | | | |
|--|--|----|------------|--------|
| | Melisa | | | Etanol |
| | I | AK | RR | |
| Bakterije | | | | |
| <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> AJCC 6538 | 6 | | | 2.5 |
| <i>S. aureus</i> DV 2678 | 6 | | 5 | * |
| <i>S. aureus</i> VMA | 8 | | 3 | * |
| <i>S. ennetritidis</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 | | | |
| Kvasci | | | | |
| <i>Candida albicans</i> | nije detek.. rast na Petri pločama | | | |
| Plesni | | | | |
| <i>A. niger</i> | 5 | | | * |
| <i>Alternaria sp.</i> | nije detek. rast na Petri pločama | | | |

I - inhibicija, AK - aktivacija, RR - redukcija rasta, * - nema zona

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) |
|----------------------------------|-------------|
| Bakterije | |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 0.75 |
| <i>L. monocytogenes</i> IM 2000 | 0.1 |
| <i>R vulgaris</i> ATCC 4307 | 1.75 |
| <i>P. aerugenosa</i> ATCC 27833 | 1.25 |
| <i>P. aerugenosa</i> DV 5999 | 0.25 |
| <i>S. enteritidis</i> ATCC 13076 | 0.45 |
| <i>Shigella sp.</i> | 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 |
| Kvasci | |
| <i>C. albicans</i> | 0.45 |
| Plesni | |
| <i>A. niger</i> | 0.25 |
| <i>Alternaria sp.</i> | 0.30 |

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 monoterpenskih aldehida geraniala (17,30%), nerala (14,70%) i citronelala (10,70%).

LITERATURA

- [1] R. Fritz VVeiss, V. Fintelmann, Herbal Medicine, Thime, StuttgartNevv 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. VVichtl, *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart(2001) 329-332
- [10] N. Kovačević, *Osnovi farmakognozije*, Beograd (2000) 250-265
- [11] R. 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. Hefendehl, *Arch. Pharm. (VVeinheim)*, 303 (1970) 345
- [16] H. VVagner, L. Sprinkmeyer, *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 113 (1973) 1159
- [17] W. Schultze, A. Zaenglein, R. Klosa, K.H. Kubeczka, *Melis-sa. Thin-layer chromatography of its essential oil*, *Deut-sche 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. Pellecier, 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 offici-nalis L)*, *Herba Polonika* 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 VWorld, 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/R European Scientific Cooperative On Phytotherapy (1997)
- [30] VVho monographs on selected medicinal plants, volume 2, VVorld Health Organization, Geneva (2002) 180-187
- [31] N. Kovačević, Osnovi farmakognozije, Beograd (2000) 250-265
- [32] S. Serizavva, A. Udagavva, A. Yokomaku, M. Sato, Cosmetics containing bactericides and plant extracts, Kokai Tokkyo Koho (2001) 9 pp
- [33] R Gardiner, Lemon Balm, The Longvwood Herbal Task (2000)
- [34] Grujić-Jovanović S., Simić A., Soković M., Vukojević J., Ristić M.S., Marin RD., 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* grovvnth, 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-Torras, 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 Re-search 182 (1982) 375
- [42] O. Schimmer, An evaluation of 55 commercial plant extracts in the Ames mutagenicity test, Pharmazie 49 (1994) 448-51
- [43] A.G. Ponce, C.E. del Valle, S.I. Roura, Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables, Lebensmittel-VVissenschaft und-Technologie 37(2) (2004) 199-204
- [44] G. May, G. VVilluhn, 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. VVolbling, K. Leonhardt, Local therapy of herpes simplex with dried extract from *Melissa officinalis*, Phytomedicine (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. Konig, J.H. Dustmann, The caffeoylics as a new family of natural compounds, Naturwissenschaften 72 (1985) 659-661
- [49] K. Yamasaki, M. Nakano, T. Kavvahata, 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 Labi-atae, Biological & Pharmaceutical Bulletin 21(8) (1998) 829-833

SUMMARY

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

(Scientific paper)

Nada Aničić¹, Suzana Dimitrijević¹, M. Ristić², S. S. Petrović⁴, S. D. Petrović^{1,3}

¹Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade

²Institute for the Research of Medical Plants "Dr Josif Pancic" Belgrade

³Hemofarm Konzern, 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•