Miloš Filipović

Sastav i mikrobiološke aktivnosti etarskih ulja nane (*Mentha piperita*) i ruzmarina (*Rosmarinus officinalis*)

Primenom gasne hromatografije ispitan je sastav etarskog ulja nane i etarskog ulja ruzmarina. Mikrobiološka aktivnost ulja ispitana je korišćenjem difuzione me tode na čistim kulturama sojeva bakterija Staphylococcus aureus, Escherichia coli i Pseudomonas aeruginosa. Nađeno je da etarsko ulje nane najviše sadrži mentol (34%) i menton (32%), a etarsko ulje ruzmarina 1.8-cineol (47%), kamfor (11%) i Ω -pinen (11%). Takođe je utvrđeno da ispitivana ulja pokazuju mikrobiološku aktivnost prema sojevima Staphylococcus aureus i Escherichia coli.

Uvod

Etarska ulja su prema definiciji ISO (International Standards Organization), u opštem slučaju, uljasti proizvodi intenzivnog mirisa, koji se dobijaju iz biljaka ili iz delova biljaka destilacijom vodenom parom, ili iz kora *citrus*–voća putem presovanja (Pekić 1983). Većina etarskih ulja su kompleksne smeše ugljovodonika, alkohola, ketona, aldehida, kiselina, estara i drugih alifatičnih, alicikličnih i heterocikličnih jedinjenja.

Ne postoje dve biljne vrste čija su etarska ulja identična. Čak i kod iste vrste postoje sorte sa različitim etarskim uljima. Osim toga, procentualni sastav pojedinih etarskih ulja varira zavisno od porekla biljne sirovine, godine i godišnjeg doba sakupljanja, načina čuvanja i postupka dobijanja (Pekić 1983; Ivanić i Vićentijević 1997).

Najčešći sastojci etarskih ulja su terpeni. Terpeni koji sadrže kiseonične frakcije nazvani su kamfori. Njima su vrlo srodna razna jedinjenja koja sadrže 15, 20, 30 i 40 ugljenikovih atoma. Zajednička karakteristika svih jedinjenja je da se njihovi ugljovodonični skeleti sastoje iz izoprenskih ili izopentadienskih jedinica.

Jedinjenja koja ulaze u sastav etarskih ulja ruzmarina i nane su iz grupe monoterpena, koji mogu biti derivati p-mentana ili mogu imati pinansku i kamfansku strukturu.

Miloš Filipović (1981), Bela Palanka, 1. maj bb, učenik 3. razreda Srednje medicinske škole u Leskovcu U grupu derivata p-mentana spadaju limonen, mentol (grupa zasićenih hidroksi p-mentana) i menton. Nezasićeni ugljovodonici α - i β -pinen su najvažniji predstavnici monoterpena sa pinanskom strukturom. Zasićeni keton kamfor je najvažniji predstavnik bicikličnih monoterpena sa kamfanskom strukturom. U ovu grupu jedinjenja ubraja se i borneol. 1.8-Cineol je supstanca veoma prijatnog mirisa (na kamfor) i nalazi se u mnogim etarskim uljima. Dobija se dehidratacijom terpina.

Za rutinsko ispitivanje etarskih ulja najčešće se primenjuje određivanje fizičkih i hemijskih konstanti. Od fizičkih konstanti uglavnom se određuju: specifična masa, specifična rotacija, indeks prelamanja, tačke mržnjenja i ključanja, a od hemijskih konstanti: kiselinski, saponifikacioni, estarski, acetilni i metilni broj. Poseban napredak u proučavanju hemijskog sastava etarskih ulja ostvaren je uvođenjem hromatografskih metoda. Hromatografija na koloni, kao i gasna hromatografija, koriste se i za preparativno izdvajanje čistih sastojaka etarskih ulja, kojima se, zatim, određuje hemijska struktura.

Cilj ovog rada je ispitivanje sastava etarskih ulja nane i ruzmarina kao i njihove mikrobiološke aktivnosti na sojevima bakterija *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, kako bi se uočila mogućnost njihove primene u lečenju bolesti izazvanih ovim bakterijama.

Od biljaka sa etarskim uljem veliku primenu imaju nana i ruzmarin. Pitoma nana (*Mentha piperita L.*) je višegodišnja zeljasta biljka sa snažno razvijenim sistemom rizoma. Kao droga se koristi list (*Menthae piperitae folium*), koji u sebi sadrži 0.5-4% etarskog ulja, 6-12% tanina, flavonoida, gorkih sastojaka i dr. Upotrebljava se kao stomahik, karminativ, holagog, antiseptik, spazmolitik, anestetik.

Ruzmarin (*Rosmarinus officinalis* L) je zimzeleni aromatični žbun, uspravnih ili delimično poleglih grana, kora mrka. Kao droga se koristi list (*Rosmarini folium*) koji u sebi sadrži 1-2.5% etarskog ulja, rozmarinsku kiselinu, diterpenske gorki sastojci, triterpenske kiseline, triterpenski alkohola, flavonoidi i dr. Upotrebljava se kao karminativ, stomahik, blag holeretik i začin.

Materijal i metode

U ispitivanjima su korišćena etarska ulja ruzmarina i nane dobijena destilacijom po *Unger*-u. Relativna gustina, indeks refrakcije i ugao rotacije određeni su metodama koje propisuje farmakopeja (Ph. Jug. IV).

Određivanje sastava ulja vršeno je na gasnom hromatografu HEW-LETT PACARD, kolona – CARBOWAX 20M (25 m \times 0.2 mm \times 0.2 m) uz azot kao noseći gas.

Kao unutrašnji standard kod analize etarskog ulja ruzmarina korišćen je fenhon, i para-anis aldehid za analizu etarskog ulja nane.

Radni uslovi ispitivanja etarskih ulja gasnom hromatografijom bili su sledeći:

- a) za etarsko ulje ruzmarina temperatura injektora 300°C; temperatura detektora 350°C; početna temperatura od 60°C se zadržava 1 minut, zatim se brzinom od 5° u minuti ide do 100°C, pa brzinom od 2° u minuti do temperature od 120°C koja se zadržava 1 minut, a zatim se brzinom od 10° u minuti ide do temperature od 190°C koja se zadržava 3 minuta.
- b) za etarsko ulje nane temperatura injektora 250°C; temperatura detektora 280°C; početna temperatura je 60°C i zadržava se 0.5 minuta, a zatim se brzinom od 4° u minuti ide do temperature od 190°C koja se zadržava 3 minuta.

Mikrobiološka aktivnost ispitana je na sledećim kulturama sojeva bakterija: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* korišćenjem difuzione disk metode. Za ispitivanje su korišćene gotove podloge i to hranljivi agar za *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, a krvi agar za *Staphylococcus aureus*.

Rezultati i diskusija

Rezultati određivanja fizičkohemijskih konstanti etarskog ulja ruzmarina i nane dati su u tabeli 1. Dobijene vrednosti su u saglasnosti sa literaturnim podacima (Ph. Yug. IV).

Tabela 1. Fizičkohemijske konstante etarskih ulja ruzmarina i nane

Konstanta	Vrednost	
	Etarsko ulje ruzmarina	Etarsko ulje nane
Relat. gustina d ²⁰	0.95	0.91
Indeks refrakcije n _o ²⁰	1.47	1.46
Ugao rotacije α_0^{20}	+0.75°	-22.10°

Analizom sastava etarskog ulja nane dobijeni su sledeći rezultati:

menton 32% mentol 34%

a za ruzmarin sledeći:

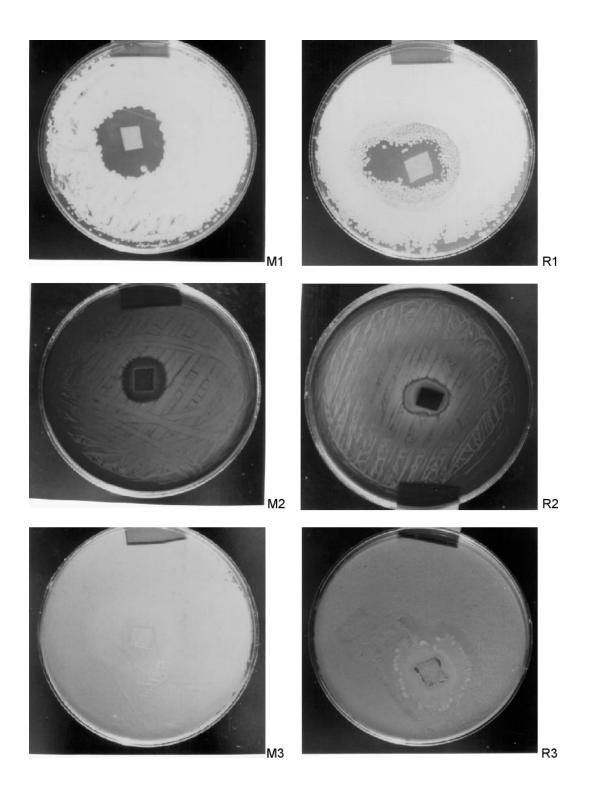
 pinen
 11%

 kamfen
 5%

 pinen
 7%

 limonen
 3%

 1.8 cineol
 47%



kamfor 11% borneol 4%

Iz dobijenih rezultata vidi se da etarsko ulje ruzmarina najviše sadrži 1.8-cineol, α-pinen i kamfor dok se etarsko ulje nane pretežno sastoji od mentola i mentona.

Rezultati mikrobiološke aktivnosti ulja prikazani su u tabeli 2 i slici 1 (M1-M3 za ulja nane i R1-R3 za ulja ruzmarina). Iz dobijenih rezultata se vidi da su sojevi *Staphylococcus aureus* (1) i *Escherichia coli* (2) osetljivi na ova ulja, a soj *Pseudomonas aeruginosa* (3) je rezistentan. Takođe se može zaključiti da etarsko ulje nane pokazuje jače izraženu aktivnost u odnosu na etarsko ulje ruzmarina. Poređenjem ovih rezultata sa ranijim radovima uočava se da etersko ulje nane deluje na *Staphilococcus aureus* podjednako kao penicilin (Ognjenović 1995).

Tabela 2. Prečnici zona inhibicija za etarsko ulje ruzmarina i etarsko ulje nane

Soj bakterija	Prečnik [mm]		
	Etarsko ulje ruzmarina	Etarsko ulje nane	
E. coli	29 mm	34 mm	
S. aureus	17.5 mm	20 mm	
P. aeruginosa	0	0	

Zaključak

Na osnovu sprovedenih ispitivanja može se zaključiti sledeće:

- analizom sastava etarskog ulja nane nađeno je da su od komponenata u najvećoj količini zastupljeni mentol i menton, dok etarsko ulje ruzmarina najviše sadrži 1.8-cineol, α-pinen i kamfor
- fizičko-hemijske konstante i koncentracije supstanci analiziranih ulja odgovaraju propisima (Ph. Yug. IV) i ukazuju na visok kvalitet ulja
- ispitivanjem mikrobiološke aktivnosti utvrđeno je da etarska ulja nane i ruzmarina pokazuju jako izraženo delovanje na *Staphylococ*cus aureus i *Escherichia coli*, s tim da etarsko ulje nane deluje jače od etarskog ulja ruzmarina.

Ovo otvara mogućnost dalje analize kako hemijskih faktora (detaljna analiza hemijskih konstanti), mikrobiološke aktivnosti (ispitivanje minimalnih koncentracija uja pri kojima ona još deluju), tako i mogućnost njihove primene u izradi preparata namenjenih za lečenje poremećaja izazvanih ovim bakterijama.

Slika 1 (naspramna strana).
Rezultati dejstva mentinog (M) i ruzmarinovog (R) ulja na sojeve
Staphylococus aureus (1), Esherichia coli (2) i Pseudomonas aureginosa (3).

Figure 1 (opposite page).

Microbiological activity of mint's (M) and rosmary's (R) ethereal oils on bacteria:

Staphilococcus aureus (1), Escherichia coli (2) and Pseudomonas aeruginosa (3).

Literatura

Cram D. Hammond G. 1973. Organska hemija. Zagreb: Školska knjiga.

Ivanić R. Vićentijević Lj. 1997. Farmakologija III razred medicinske škole. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva

Jančić R. 1997. Botanika za II razred medicinske škole. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva

Ognjenović V. 1995. Upoređivanje baktericidnog dejstva biljaka i antibi otika na Staphilococcus aureus, *Petničke sveske*, 41: 159

Pekić B. 1983. Hemija i tehnologija farmaceutskih proizvoda. Novi Sad: Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Ph. Jug. IV. Pharmacopoea Yugoslavica editio IV

Radulović Š. 1996. Mikrobiologija sa epidemiologijom za II razred medicinske škole. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva

Savić M. 1989. *Lekovite biljke SR Srbije*. Beograd: Srpska akademija nauka i umetnosti

Miloš Filipović

The investigation of quality and microbiological activity of mint's ethereal oil (*Mentha piperita*) and rosmary's ethereal oil (*Rosmarinus officinalis*)

In this work the content of mint's and rosmary's ethereal oil was investigated, together with their microbiological activity. The content of oils, which were obtained by destilation with Unger's apparatus, were determinated by gas chromatography. Microbiological activity of oils was determined by using a difusion method on pure cultures of bacteria *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The ethereal oil of rosmary was found to consist of 1.8-cyneol (47%), camphor (11%) and α -pynen (11%), the ethereal oil of mint of menthol (34%) and menthon (32%). It was also determinated that those investigated oils have shown microbiological activity on Staphilococcus aureus and Escherichia coli. The ethereal oil of mint has shown stronger activity than the ethereal oil of rosmary.

