

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Miloš M. Nikolić

Biološka aktivnost etarskih ulja odabranih  
aromatičnih biljaka na vrste rodova  
*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*,  
*Pseudomonas*, *Enterococcus* i *Candida* izolovane  
iz usne duplje čoveka

doktorska disertacija

Beograd, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Miloš M. Nikolić

Biological activity of essential oils of selected  
aromatic plants on species of the genera  
*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*,  
*Pseudomonas*, *Enterococcus* and *Candida* isolated  
from the human oral cavity

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

---

Dr Marina Soković, naučni savetnik, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“  
Univerziteta u Beogradu, mentor

---

Dr Jelena Vukojević, redovni profesor, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, mentor

---

Dr Dejan Marković, redovni profesor, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, član

---

Dr Jasmina Glamočlija, naučni savetnik, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“  
Univerziteta u Beogradu, član

---

Dr Tatjana Marković, viši-naučni saradnik, Instituta za lekovito bilje „Dr Josif Pančić“, u  
Beogradu, član

---

Dr Slaviša Stanković, vanredni profesor, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, član

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

*Ova disertacija urađena je u Odeljenju za fiziologiju biljaka Instituta za biološka istraživanja »Siniša Stanković« Univerziteta u Beogradu.*

*Doktorska disertacija rađena je pod mentorstvom dr Marine Soković i prof dr Jelene Vukojević, kojima se najiskrenije zahvaljujem na dragocenim savetima, posvećenosti, podršci i poverenju koje su mi pružili tokom ovog rada.*

*Veliku zahvalnost dugujem i članovima Komisije za ocenu doktorske disertacije dr Jasmini Glamočliji, prof dr Dejanu Markoviću, prof Slaviši Stankoviću i dr Tatjani Marković na svim korisnim sugestijama i pomoći.*

*Zahvaljujem se svojim kolegama iz Mikološke laboratorije dr Ani Ćirić, Jovani Petrović, Mariji Smiljković i Dejanu Stojkoviću na kolegijalnosti, otvorenosti, pomoći i podršci.*

*Hvala svim kolegama sa Odeljenja za Biljnu fiziologiju, Insituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ u Beogradu koji su imali, imaju i nadam se da će imati strpljenja da slušaju moje hvalospeve.*

*Milici Milutinović i Milošu Brkušaninu, koji su postali deo moje porodice, hvala na brojnim savetima i podršci.*

*Posebnu zahvalnost dugujem svojim prijateljima iz SD Karaburma, jer je izrada ove doktorske disertacije bila mnogo lakša i lepša u njihovom društvu.*

*Ogromnu zahvalnost na bezrezervnoj podršci i bezgraničnoj ljubavi u svakom trenutku dugujem mojoj mami i bratu. Iako pomešanih osećanja, dugujem jedno veliko hvala i tebi Milena.*

**Biološka aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka na vrste  
rodova *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*,  
*Enterococcus* i *Candida* izolovane iz usne duplje čoveka**

**Rezime**

Oralno zdravlje smatra se važnim delom opšteg zdravlja ljudi, ali je često zanemarena oblast, a razlozi tome su raznovrsni i kompleksni. Visoka učestalost oralnih oboljenja ima veliki socijalni i ekonomski uticaj. Najčešća oboljenja usne duplje su karijes, parodontalna oboljenja i oralne infekcije, dok su glavni uzročnici ovih oboljenja vrste rodova *Streptococcus mutans*-grupa, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* i *Candida*. Efikasan tretman i razvoj novih antiseptika koji poseduju antimikrobnu aktivnost je od velikog značaja za medicinu. Najčešće se koriste preparati koji sadrže hlorheksidin, povidon jod i cetilpiridinium hlorid, zatim sintetička sredstva kao što su penicilin, cefalosporini, tetraciklini i njihovi derivati, nistatin, amfoterecin B, flukonazol itd. Ovi agensi poseduju antimikrobno dejstvo i kontrolišu upalu desni, ali imaju ograničenu efikasnost i veliki broj negativnih posledica kao što su bojenja zuba, iritacije sluzokože usne duplje, pojave alergije, nefrotoksičnost i endokrinu toksičnost, a povezuju se i sa kancerom i drugim sekundarnim oboljenjima. Problem rezistencije prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji je najveća pretnja globalnom zdravlju čoveka. Jedna od alternativa koja je poslednjih decenija u žiži naučnih interesovanja jesu etarska ulja kao izvor biološki aktivnih jedinjenja.

U cilju dobijanja novih biološki aktivnih jedinjenja, koja neće biti toksična za humane i animalne ćelije, u ovoj disertaciji analiziran je hemijski sastav i biološka aktivnost *in vitro* 60 komercijalnih uzoraka etarskih ulja ekstrahovano iz 47 biljnih vrsta: *Cananga odorata*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, *Matricaria recutita*, *Achillea millefolium*, *Helichrysum italicum*, *Boswellia carterii*, *Canarium luzonicum*, *Commiphora myrrha*, *Juniperus communis*, *J. virginiana*, *Gaultheria procumbens*, *G. fragrantissima*, *Pelargonium graveolens*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavanulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *Satureja montana*, *Laurus nobilis*, *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*, *M. quinquenervia*, *Syzygium aromaticum*, *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii*, *Pinus silvestris*, *Piper nigrum*, *Cymbopogon martinii*, *Rosa centifolia*, *Citrus aurantium* spp. *aurantium* i *C.limon*. Cilj rada je ispitivanje biološke aktivnosti i uticaja

etarskih ulja i komponenti odabranih aromatičnih biljaka na mikroorganizme izolovane iz usne duplje čoveka i primena u prevenciji i lečenju oralnih bolesti i infekcija. Kvalitativna i kvantitativna analiza uzoraka etarskih ulja vršena je gasnohromatografski korišćenjem GC/MS i GC/FID procedura. Ukupno je identifikovano 342 komponente iz grupa jedinjenja oksidovanih monoterpena, monoterpenskih ugljovodonika, seskviterpenskih ugljovodonika, oksidovanih seskviterpena, fenilpropanoida, spiroetra, alifatičnih ketona, viših alkana, oksidovanih diterpena, alifatičnih ugljovodonika i oksidovana alifatična jedinjenja.

U periodu 2010-2011. godine izvršena je izolacija i identifikacija mikroorganizama iz usne duplje pacijena sa Klinike za dečju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Antibakterijska aktivnost testirana je na 8 kliničkih izolata (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterococcus faecalis*). Antifungalna aktivnost ispitana je na 58 kliničkih izolata (*Candida albicans*, *C. glabrata* i *C. krusei*) i dva referentna soja (*C. albicans* i *C. tropicalis*). Antimikrobna aktivnost etarskih ulja određivana je pomoću mikrodilucione i bioautografske metode na TLC pločama. Određivane su minimalne inhibitorne (MIK) i minimalne baktericidne i fungicidne (MBK/MFK) koncentracije. Kao pozitivne kontrole korišćeni su komercijalni antibiotici i mikotici (Ampicilin, Streptomycin i Flukonazol) i preparati za održavanje oralne higijene (Hexoral® i Curasept®), kao i koloidni rastvor srebrne vode i ozona.

Rezultati mikrodilucione metode su pokazali da etarsko ulje *T. serpyllum* poseduje najbolji antibakterijski potencijal, dok su ulja *M. recutita*<sup>1</sup> i *J. virginiana* pokazala najslabije dejstvo na ispitivane bakterije. Najbolji antifungalni potencijal pokazalo je etarsko ulje *S. montana*, dok je najslabiju aktivnost imalo etarsko ulje *H. italicum*<sup>2</sup>. Prema rezultatima korišćenja bioautografske metode na TLC pločama sva etarska ulja i izolovana jedinjenja pokazala su antimikrobnu aktivnost. Za potvrđivanje antimikrobne aktivnosti i ispitivanje mehanizma dejstva etarskih ulja i komponenti korišćena je skening elektronska mikroskopija (SEM), kojom je potvrđena njihova aktivnost na destabilizacije ćelijske membrane ćelija *C. albicans*. Korišćenjem kriterijuma jačine antimikrobne aktivnosti etarska ulja odabrana su za ispitivanje međusobne interakcije, antiquorum sensing, antibiofilm i citotoksičnog efekta/potencijala su bila *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *T. vulgaris*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha*. Međusobne interakcije etarskih ulja i njihovih komponenti testirane su na

reprezentativne kliničke izolate *S. mutans* i *C. albicans*. Rezultati ispitivanja pokazuju sinergističko, aditivno i antagonističko dejstvo. U okviru anti-quorum-sensing aktivnosti, ispitan je uticaj ulja na proces kretanja ćelija *P. aeruginosa* PAO1 (twitching i flagella test), produkciju piocijanina kao i sposobnost formiranja biofilma. Odabrana etarska ulja su se pokazala vrlo efikasnim u inhibiciji quorum-sensing zavisnih procesa i pokazala jak anti-quorum sensing potencijal. Testirane minimalne inhibitorne i sub-inhibitorne koncentracije etarskih ulja inhibirale su proces formiranja biofilma kod *S. mutans* i *C. albicans*, u odnosu na kontrolnu grupu. Citotoksičnost etarskih ulja ispitivana je pomoću sulforodamin B testa (Sr-B test) i test redukcije tetrazola (MTT test) na ćelijske linije MCF-7, NCI-H 46, HCT15, HeLa, HepG2, PLP2, LS-174, K562, A549, Fem-X i MRC-5. Kvantifikacijom stepena citotoksičnosti odabranih etarskih ulja, utvrđeno je da pokazuju dejstvo na tumorske ćelijske linije. Prikazana biološka aktivnost odabranih etarskih ulja na mikroorganizme iz usne duplje čoveka ukazuje na mogućnost izrade preparata na bazi etarskih ulja i njegove upotrebe u terapijske i profilaktičke svrhe.

**Naučna oblast:** Biologija

**Uža naučna oblast:** Mikologija

**UDK broj:** [582.28:616.31-083]:581.135.5:616-022.7(043.3)

**Ključne reči:** oralno zdravlje, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Candida*, etarska ulja, hemijski sastav, antibakterijska, antifungalna, TLC bioautografija, SEM, međusobna interakcija etarskih ulja i komponenti, quorum sensing, biofilm, citotoksičnost

**Biological activity of essential oils of selected aromatic plants in the species of the genera *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* and *Candida* isolated from the human oral cavity**

**Abstract**

Oral health is considered an important part of general health, but is often neglected area, and the reasons for this are diverse and complex. The high incidence of oral disease has a huge social and economic impact. The most common diseases of the oral cavity are dental caries, periodontal disease, and oral infections, while the main causal agents of these diseases are species of genus *Streptococcus mutans*-group, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* and *Candida*. Effective treatment and developing new drugs that have antimicrobial activity is of great significance for medicine. The most commonly used preparations containing chlorhexidine, povidone iodine and cetylpyridinium chloride, followed by synthetic drugs such as penicillin, cephalosporins, tetracyclines and their derivatives, nystatin, amphotericin B, fluconazole, etc. These agents possess antimicrobial activity and control gum inflammation, but have limited efficacy and a large number of negative effects such as tooth staining, mucosal irritation, allergy, nephrotoxicity and endocrine toxicity, and are also associated with cancer and other secondary illnesses. The problem of resistance to the World Health Organization is the biggest threat to global human health. One of the alternatives that in recent decades are in focus of scientific interest are essential oils as a source of biologically active compounds.

In order to obtain new biologically active compounds, which will not be toxic to human and animal cells, in this dissertation analysis of the chemical composition and biological activity *in vitro* of 60 commercial samples of essential oils extracted from 47 plant species were used: *Cananga odorata*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, *Matricaria recutita*, *Achillea millefolium*, *Helichrysum italicum*, *Boswellia carterii*, *Canarium luzonicum*, *Commiphora myrrha*, *Juniperus communis*, *J. virginiana*, *G. fragrantissima*, *Pelargonium graveolens*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavanulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *Satureja montana*, *Laurus nobilis*, *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*, *M. quinquenervia*, *Syzygium aromaticum*, *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii*, *Pinus silvestris*, *Piper nigrum*, *Cymbopogon martinii*, *Rosa centifolia*,



*Citrus aurantium* spp. *aurantium* and *C. limon*. The aim was to test their biological activity and the impact of essential oils and components from selected aromatic plants to microorganisms isolated from human oral cavity for the application in the prevention and treatment of oral diseases and infections. Qualitative and quantitative analysis of essential oils Gas chromatographic was performed using GC / MS and GC / FID procedures. A total of 342 compounds were identified belonging to different groups such as oxidized monoterpenes, monoterpeniskih hydrocarbons, sesquiterpene hydrocarbons, oxidized sesquiterpenes phenylpropanoids, spiro ethers, aliphatic ketones, higher alkanes, oxidized diterpenes, aliphatic hydrocarbons and oxidized aliphatic compounds.

In the period 2010-2011 the isolation and identification of microorganisms from the oral cavity were collected of patients who attend the Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, University of Belgrade. The antibacterial activity was tested on 7 clinical isolates of bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis*). Antifungal activity was investigated on 58 clinical isolates (*Candida albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei*) and two reference strains of fungi (*C. albicans* and *C. tropicalis*). The antimicrobial activity of essential oils was determined by microdilution and bioautography method on TLC plates. Determination of minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal and fungicidal (MBC / MFC) concentration were done. As a positive control we used a commercial antibiotics and antimycotics (Ampicillin, Streptomycin and Fluconazole), and preparations for oral hygiene (Hexoral® and Curasept®), as well as colloidal silver, and a ozone gas.

Results from the microdilution method showed that the essential oil of *T. serpyllum* has the best antibacterial potential, while oil *M. recutita*<sup>1</sup> and *J. virginiana* showed the lowest effect on the examined bacteria. Best antifungal potential was achieved by the essential oil of *S. montana*, while the lowest activity had essential oil of *H. italicum*<sup>2</sup>. According to the results of bioautography method used on TLC plates, all essential oils and isolated compounds showed antimicrobial activity. To confirm the antimicrobial activity and the potential mechanism of action of essential oils and components scanning electron microscope was used, which confirmed their activity on the cell membrane destabilisation to *C. albicans*. The essential oils with the best antimicrobial activity, as main criteria, were selected for further study as testing interactions, anti-quorum sensing, antibiofilm and cytotoxic effect / potential *C. limon*, *P. nigrum*<sup>3</sup> *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *T. vulgaris*, *G. fragrantissima*, *P.*

*graveolens*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* and *C. myrrha*. Mutual interactions of essential oils and their components are tested on a representative clinical isolates of *S. mutans* and *C. albicans*. The test results demonstrate the synergistic, additive and antagonistic effects. Within anti-quorum-sensing activities, the effects of the oils on the process of moving of *P. aeruginosa* PAO1 (twitching and flagella test), pyocyanin production, as well as the ability to form biofilms were investigated. Selected essential oils have proven very effective in the inhibition of quorum sensing dependent processes and showed strong anti-quorum sensing potential. Tested minimum inhibitory and sub-inhibitory concentrations of essential oils were found to inhibit the process of biofilm formation of *S. mutans* and *C. albicans* in comparison to the control group. The cytotoxicity of the essential oils was tested using a sulforhodamine B assay (Sr-B test) and the test of the tetrazole salt reduction (MTT assay) in the cell lines MCF-7, NCI-H 46, HCT15, HeLa, HepG2, PLP2, LS-174, K562, A549, Fem-X and MRC-5. The results of the quantification of cytotoxicity of the essential oils selected, it has been found to exhibit the effect on all tumor cell lines. Displayed biological activity of selected essential oils on microorganisms from the oral cavity as man point show the possibility of making preparations based on essential oils and their use in therapeutic and prophylactic purposes.

**Scientific field:** Biology

**Specific scientific field:** Plant Physiology

**UDC number:** [582.28:616.31-083]:581.135.5:616-022.7(043.3)

Key words: oral health, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Candida*, essential oils, chemical composition, antibacterial, antifungal, TLC bioautography, scanning electronic microscopy, mutual interaction of essential oils and components, quorum sensing, biofilm, cytotoxicity

## SKRAĆENICE

GC – gas chromatography  
MS – mass spectrometry  
FID – flame ionisation detector  
RI – retencioni indeks  
MIK – minimalna inhibitorna koncentracija  
MBK – minimalna baktericidna koncentracija  
MFK – minimalna fungicidna koncentracija  
TLC – thin layer chromatography  
SEM – skening elektronski mikroskop  
HIV – virus humane imunodeficijencije  
SAD – Sjedinjene Američke Države  
SZO – Svetska zdravstvena organizacija  
DNK – dezoksiribonukleinska kiselina  
RNK – ribonukleinska kiselina  
rRNK – ribozomalna ribonukleinska kiselina  
EM – ekstracelularni matriks  
MRSA – meticilin rezistentan *Staphylococcus aureus*  
SDA/SDB – sabourand dextrose agar/broth  
TSB/TSA – triptic soy agar/broth  
LBA – Luria-Bertani agar  
INT – jodonitrotetrazolijum  
FIK – frakciona inhibitorna koncentracija  
FIKI – frakcioni inhibitorni koncentracioni indeks  
DMSO – dimetil sulfoksid  
HMDS – heksametildisizilan  
RPMI – “Roswell park memorial institut”  
DMEM – “Dulbecco’s modified eagle medium”  
MO – mikroorganizmi  
AHL – acil homoserin laktoni

## Sadržaj:

1. Uvod.....	1
1.1. Oralno zdravlje.....	1
1.2. Bolesti usne duplje i glavni uzročnici.....	3
1.3. Prevencija i lečenje oralnih oboljenja.....	5
2. Etarska ulja.....	6
2.1. Istorijat.....	6
2.2. Opšte karakteristike etarskih ulja.....	7
2.3. Hemijski sastav etarskih ulja.....	7
2.4. Terapijski značaj etarskih ulja.....	8
2.5. Biološka aktivnost etarskih ulja.....	9
2.5.1. Antimikrobna aktivnost etarskih ulja.....	9
2.5.2. Antiquorum sensing aktivnost etarskih ulja.....	10
2.5.3. Antibiofilm aktivnost etarskih ulja.....	12
2.5.4. Međusobne interakcije između etarskih ulja i pojedinačnih komponenti.....	14
2.5.5. Dosadašnja ispitivanja etarskih ulja i primena u stomatologiji.....	14
2.6. Opis testiranih mikroorganizama.....	16
2.7. Opšte karakteristike biljnih vrsta čija su etarska ulja ispitivana.....	22
3. Ciljevi rada.....	48
4. Materijal i metode.....	49
4.1. Materijal.....	49
4.1.1. Mikroorganizmi.....	49
4.1.2. Podloge.....	49
4.1.3. Etarska ulja.....	50
4.2. Metode.....	52
4.2.1. Izolacija i identifikacija bakterija izolovanih iz usne duplje ( <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> spp.).....	52
4.2.2. Izolacija i identifikacija <i>Candida</i> spp. izolovanih iz usne duplje.....	55
4.2.3. Analiza etarskih ulja (GC/FID i GC/MS).....	56
4.2.4. <i>In vitro</i> testovi za ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja.....	56
4.2.5. Ispitivanje atimikrobne aktivnost ozona i srebrne vode.....	58
4.2.6. “ <i>Checkboard</i> ” metoda ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja.....	59
4.2.7. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod <i>Streptococcus</i> <i>mutans</i> i <i>Candida albicans</i> .....	59
4.2.8. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na ćelijama <i>Candida albicans</i> korišćenjem skening elektronske mikroskopije (SEM).....	60

4.2.9. Ispitivanje antiquorum sensing aktivnosti etarskih ulja.....	60
4.2.10. Ispitivanje citotoksične aktivnosti etarskih ulja.....	62
5. Rezultati i diskusija.....	64
5.1. Mikroorganizmi izolovani iz usne duplje čoveka.....	64
5.2. Analiza hemijskog sastava etarskih ulja odabranih vrsta aromatičnih biljaka.....	64
5.3. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka.....	122
5.4. Antifungalna aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka.....	154
5.5. Antimikrobna aktivnost ozona i srebrne vode.....	205
5.6. Mikromorfološke promene ćelija <i>C. albicans</i> izazvane etarskim uljima.....	208
5.7. Metoda bioautografije na TLC pločama.....	210
5.8. Ispitivanje međusobne interakcije odabranih etarskih ulja aromatičnih biljaka.....	214
5.9. Anti-quorum sensing aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka.....	218
5.10. Antibiofilm aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka.....	224
5.11. Citotoksična aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka.....	228
6. Opšta diskusija.....	231
7. Zaključci.....	241
8. Literatura:.....	245

## **1. Uvod**

Antimikrobni agensi uvedeni su u terapiju infektivnih oboljenja pre nešto više od 70 godina, proizvodnjom prvih antibiotika, što je predstavljalo najveće dostignuće u istoriji medicine. Ovim pronalaskom spašeni su milioni života. Porastom upotrebe antimikrobnih agenasa, koji je uslovljen sve većim brojem infekcija i oboljenja, došlo je i do povećanja rezistencije tj. pojave otpornosti mikroorganizama na tretman sintetičkim antimikrobnim agensima (Sa i sar., 2011). Sa početkom novog milenijuma, širom sveta, propagira se smanjenje upotrebe sintetičkih sredstava u što većoj meri (World Health Organisation, Geneve, 2002). Pojava rezistentnosti, poremećaj mikrozajednice konzumiranjem antibiotika širokog spektra, pojave preosetljivosti na lek, toksičnost kao posledica nepravilne i preterane primene, samo su neke od negativnih posledica upotrebe sintetičkih antimikrobnih agenasa.

### **1.1. Oralno zdravlje**

Oralno zdravlje smatra se važnim delom opšteg zdravlja čoveka. Međutim, često je zanemarena oblast, a razlozi za tako nešto su kompleksni i raznovrsni. Definicija opšteg zdravlja čoveka koja je usvojena 1948. godine od strane Svetske zdravstvene organizacije, podrazumeva zdravlje kao “stanje kompletnog fizičkog, mentalnog i socijalnog blagostanja, a ne samo odsustvo bolesti” (WHO, 1948). Oboljenjima usne duplje nije se pridavalo značaja i pripisivale su se neugodnom iskustvu bez po život opasnih posledica. Prema istraživanju Gerson, (1972) i Dunell i Cartwright, (1974) ističe se da oralna oboljenja predstavljaju sporedni problem, a ne bolest. U Srbiji je nakon reorganizacije stomatološke zaštite zakonom iz 2005. godine došlo do desetkovanja “državne” stomatologije (Ivanović i sar., 2011). Stomatološka zdravstvena zaštita dece i mladih do punoletstva, tj. do završetka školovanja (26 godina), kao i trudnica i osoba sa posebnim potrebama i socijalne kategorije prema pravilniku o sadržaju i obimu prava na zdravstvenu zaštitu iz obaveznog zdravstvenog osiguranja iz 2009. godine se finansira iz Republičkog zavoda za zdravstveno osiguranje. Stanje oralnog zdravlja dece u Srbiji je na nezadovoljavajućem nivou, na šta ukazuju poslednja istraživanja. Standardi u Srbiji uglavnom su usklađeni sa Evropskim standardima kadrovske obezbeđenosti za stomatološku zdravstvenu zaštitu.

Međutim, visoka učestalost oralnih oboljenja kao što su: karijes, parodontopatija, oralne infekcije, oralni karcinomi i dr. imaju veliki socijalni i ekonomski uticaj. Pristup kvalitetnoj oralnoj nezi je veliki problem, naročito u nerazvijenim zemljama i u zemljama u tranziciji.

Zemlje poput Nemačke i Britanije ulažu velika sredstva za održavanje oralne higijene stanovnika pa je tako na 1000 stanovnika angažovan jedan stomatolog. U nerazvijenim zemljama ili zemljama u razvoju, taj odnos je drugačiji, pa jedan stomatolog je zadužen za 50 000 ljudi, a u nekim afričkim zemljama odnos je 1:900 000 (Lancet, 2009). U Srbiji radi 1020 stomatologa, u dečjoj i preventivnoj zaštiti 845 i ortopediji 175. Na 1500 dece obezbeđen je jedan stomatolog, jedan specijalista ortodoncije na 7000 dece i jedan specijalista parodontopatije na 120 000 dece. Kada bi se računali i privatni stomatolozi koji rade u određenim regionima stomatološke zaštita po kadrovskoj obezbeđenosti, posebno u gradskim sredinama, može se reći da je veoma zadovoljavajuća. Generalno, najveći broj stomatologa je angažovan u velikim gradovima u kojima živi stanovništvo koje sebi može priuštiti lečenje, dok je u ruralnim područjima stanovništvo lišeno najosnovnije stomatološke zaštite. Karijes predstavlja najzastupljenije oboljenje usne duplje, a učestalost ovog oboljenja ide i do 100% u nekim regionima sveta. Posle karijesa parodontopatija je najrasprostranjenije oboljenje. Čak 90% stanovništva ima neki oblik parodontopatije. Procenat ljudi koji imaju problema sa nekom oralnom infekcijom je oko 40-50%, dok je oralni karcinom na osmom mestu najčešćih karcinoma na svetu. (Lancet, 2009). Procenat dvanaestogodišnjaka koji imaju jedan ili više karijesnih zuba iznosi 91%, a čak 97% kod petnaestogodišnjaka i 98% kod osamnaestogodišnjaka. Svaki stanovnik Srbije u proseku godišnje dobije po jedan obleo zub. Podaci o rasprostranjenosti parodontopatija i gingivitisa se dosta razlikuju, ali generalno ukazuje na visok nivo učestalosti, ali se težina i progresija smanjuje (Ivanović i sar., 2011). Prema podacima istraživanja stanja oralnog zdravlja stanovnika Republike Srbije iz 2013. godine, izdaci za posete stomatologu u državnoj praksi, u toku istraživanja zabeleženi su kod 2,1% stanovnika Srbije, što je niže nego 2006. godine (3,8%). Usluge privatnog stomatologa koristilo je 7% stanovnika, isto kao i 2006. godine. Privatna stomatološka praksa zastupljena je značajno češće među domaćinstvima koja imaju više prihode. Uprkos određenim projektima koji za cilj imaju promociju oralnog zdravlja, prema istraživanjima iz 2013. godine, samo 8.3% stanovnika uzrasta 25 godina i više imaju sve svoje zube. Lošu procenu svog oralnog zdravlja u visokom procentu imaju stanovnici nižeg obrazovnog i lošeg materijalnog statusa. Problem lošeg oralnog zdravlja u Srbiji posledica je slabe zdravstvene kulture, slabe oralne higijene, nepravilne ishrane i opšteg socijalno-ekonomskog stanja stanovništva. Faktori rizika koji uključuju pušenje, fizičku neaktivnost i konzumiranje alkohola značajno povećavaju rizik od obolevanja (Izveštaj 2013).

## 1.2. Bolesti usne duplje i glavni uzročnici

Usnu duplju čoveka naseljava preko 700 različitih vrsta mikroorganizama, od čega preko polovine, trenutno, nije moguće kultivisati u laboratorijskim uslovima. Oko 400 vrsta je izolovano iz parodontalnih džepova, dok je oko 300 vrsta izolovano sa jezika, mukozne membrane, karijesnih lezija, jezika i ostalih površina u usnoj duplji. Smatra se da u usnoj duplji svake individue živi negde oko 100-200 vrsta, tako da postoji veliki diverzitet mikroorganizama među ljudima tj. njihove oralne mikrozajednice (Paster i sar., 2006). Karijes je hronično oboljenje tvrdog tkiva zuba i dovodi do njegove demineralizacije i propadanja. Prema literaturnim podacima karijes počinje kao posledica prisustva kiseline na površinu gleđi zuba, gde dolazi do najveće akumulacije plaka (Lemos i sar., 2013). Plak predstavlja biofilm, tj skup mikroorganizama pričvršćen za podlogu (abiotičku i biotičku), sastavljen od jedne ili više vrsta i njihovih ekstracelularnih produkata (Dufour i sar., 2010). Dosadašnja istraživanja ukazuju na važnu ulogu kariogenih sojeva bakterija streptokoka u etiologiji karijesa (Nicolas i Lavoie, 2011). Kao najčešći uzročnici karijesa spominju se vrste *Streptococcus mutans*-grupe i *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. constellatus*, *S. parasanguinis*, *Lactobacillus* spp. i *Vellionella* spp. Vrste *Actinomyces* i nekariogeni sojevi streptokoka su uključeni u inicijalnim fazama nastanka karijesa, dok je *S. mutans* prisutan u kasnijim fazama (Paster i sar., 2006). Veliki broj faktora utiče na nastanak karijesa kod ljudi kao npr. doba starosti, nasledni činioci, način života, pol, ishrana, oralna higijena i sl. Patogeni acidofilni i acidogeni sojevi *S. nutans* u zreлом dentalnom plaku stvaraju mikrosredinu u kojoj pH pada ispod kritične vrednosti od 5.5-5.2, što dovodi do demineralizacionih procesa u gleđi. Kada ovakvi uslovi traju dovoljno dugo, proces demineralizacije dovodi do ireverzibilnih promena, do kavitacije gleđi i ovakvo stanje se naziva karijes (Loeshe, 1996).

Vrste rodova *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* takođe mogu uzrokovati patogena stanja u usnoj duplji. Pomenute bakterije su povezane sa razvojem periodontalnih bolesti (Slots i sar., 1990; Ccahuana-Vasquez i sar., 2007). *Staphylococcus aureus* se dovodi u vezu sa nekoliko patoloških stanja kao što su angularni stomatitis, parotitis i stafilokokni mukozitis (Smith i sar., 2003). Periodontitis apikalni, nekroza pulpe i pulpitis, samo su neka od oboljenja sa kojima se povezuje prisustvo *P. aeruginosa* u velikom broju u usnoj duplji (Barben i sar., 2008). Iako prisutne u maloj količini kod zdravih individua, vrste *Enterococcus* s najčešće nalaze kod hroničnih endodontskih infekcija (Sedgley i sar., 2005). Prevalenca *Enterococcus* spp. u parodontopatiji se kreće od 3.7-35% (Rams i sar., 1992), a prisutni su i u maloj količini kod peri-implantitisa i mukoznih lezija (Dahlen i sar., 2012).



Vrste roda *Candida* su prisutni u usnoj duplji kao komensali, međutim, usled smanjene otpornosti organizma mogu izazvati oboljenja i poremećaje kod ljudi i životinja. Oralna kandidijaza se manifestuje upalom sluznih površina usne duplje i u vidu beličastih naslaga, čije uklanjanje prati neprijatan miris. Oralna kandidijaza predstavlja najčešću infekciju humane populacije usne duplje sa stalnim trendom rasta poslednjih decenija (Martins i sar., 2014). Najčešći uzročnik ovog oboljenja je *Candida albicans*, ali usled neselektivne upotrebe sintetičkih antimikrobnih agenasa sve više su prisutne i vrste: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* i dr (Worthington i sar., 2002). Najčešći razlozi za postojanje infekcije su: prekomerna upotreba antibiotika širokog spektra, imunosupresivi (kortikosteroidi i citostatici), neodgovarajuće zubne proteze, loša oralna higijena i dr (Scully i sar., 1994). Tokom polovine dvadesetog i početkom dvadesetprvog veka zabeležen je porast broja infekcija vrstama roda *Candida*, naročito kod imunokompromitovanih pacijenata (HIV, dijabetes, kancer) (Albougy i Naidoo, 2002), što je izazvalo veliko interesovanje za proučavanje uzroka i lečenja infekcija koje mogu varirati od mukoznih lezija do životno veoma opasnih sistemskih infekcija. Invazivne kandidijaze se odlikuju groznicom i šokom, uključujući i nizak krvni pritisak, ubrzan puls, a ponekad i sistemski osip ili ljuštenje kože. U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) kandidemija je jedna od najučestalijih infekcija u bolnicama sa godišnjim troškovima lečenja preko 1 milijarde dolara i oko 10 000 umrlih godišnje (Kuhn i sar., 2004).

*C. albicans* je najčešća vrsta roda *Candida* izolovanih iz usne duplje, kod zdravih i bolesnih individua (60-80% slučajeva) (da Silva-Rocha i sar., 2014) i može se naći u kvasolikom obliku (u vidu ovalnih ćelija – blastospora, koje se razmnožavaju pupljenjem), kao izdužene elipsoidne ćelije (pesudohife) i u vidu prave hife sa paralelnim zidovima koje zajedno predstavljaju micelijsku formu (Jacobsen i sar., 2012). Prelaz iz kvasolike u micelijsku formu (poznat kao dimorfizam) i obrnuto, je regulisan kompleksnom mrežom puteva i prenosom signala, kao odgovor na stimuluse iz životne sredine. Opšte prihvaćena činjenica je da je micelijska forma invazivna, što je prikazano na većini histoloških preparata. S druge strane, retki su izveštaji o invaziji kvasolikih ćelija. Dimorfizam je od suštinskog značaja za formiranje biofilma sa drugim vrstama mikroorganizama koji je veoma otporan na tretman antimikrobnim agensima (Molero i sar., 1998).

### 1.3. Prevencija i lečenje oralnih oboljenja

Prevencija i lečenje, kao i razvoj novih sredstava za hemijsku kontrolu plaka koji imaju antimikrobnu aktivnost je od velikog značaja za medicinu (Stewart i sar., 2001). U kontroli zubnog plaka koriste se preparati koji sadrže hlorheksidin, povidon jod i cetilpiridinijum hlorid. Ovi agensi poseduju antimikrobno dejstvo i kontrolišu upalu desni, ali imaju ograničenu efikasnost u prevenciji karijesa. Obzirom da je karijes multikauzalno oboljenje, direktno zavisi od načina ishrane. Poznato je da korišćenje ovih agenasa može dovesti do bojenja zuba, iritacije sluzokođe usne duplje, pojave alergije i dr. (Cechini i sar., 2012). Pojedini preparati mogu da imaju visok sadržaj alkohola, što se dovodi u vezu sa nastankom kancera (Conway i sar., 2012). Neki od najčešće korišćenih klasa antibiotika u lečenju oralnih oboljenja su: penicilin, makrolidi, cefalosporini, tetraciklini i njihovi derivati, sulfonamidi i hinoloni. Između 1-10% pacijenata je alergično na tretman penicilinom (Costelloe i sar., 2010), dok su dijareja, povraćanje, mučnine i glavobolje česti neželjeni efekti primene ovih sredstava (Blaser, 2011). U lečenju oralne kandidijaze koriste se agensi iz grupe poliena (nistatin, amfoterecin B), azola (klotrimizol, flukonazol, mikonazol, ketokonazol), kaspofungin i flucitozin. Azoli, inače najčešći primenjivani u tretmanu kandidijaze, imaju fungistatično, ali ne i fungicidno dejstvo. Kao negativne posledice upotrebe azola se pored rezistencije navode i nefrotoksičnost i endokrina toksičnost (Ramage i sar., 2011).

Imajući u vidu prethodno navedeno, postoji izražena potreba za efikasnijim sredstvima za kontrolu oralnog biofilma kao i antimikrobnim sredstvima sa manje sporednih efekata, čija bi upotreba smanjila razvoj rezistentnih i po prihvatljivijoj ceni. Negativni efekti sintetičkih agenasa kao što su: neselektivnost, toksičnost, akumulacija u organima, slaba moć razgradnje, kao i nedostupnost u nerazvijenim zemljama značajno povećava potrebu za drugačijim pristupom. Razvila se i svest i potreba za korišćenje prirodnih sredstava u svim segmentima ljudskog života od ishrane do lečenja. Prema podacima Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO) najveća pretnja globalnom zdravlju čoveka je sve učestalija pojava rezistencije mikroorganizama na postojeće sintetičke antimikrobne agense (Goosens i sar., 2005). Ne samo da postoje teškoće pri lečenju, naročito izražene otpornošću biofilma, već i relativno male povrede i infekcije mogu postati opasne po život. Ako se u budućnosti ne bude pridavalo više pažnje upotrebi i zloupotrebi antimikrobnih agenasa dostignuća savremene medicine su pod velikim znakom pitanja. Jedna od ponuđenih alternativa, koja je poslednjih decenija u žiži naučnih interesovanja i koja će biti izložena u ovoj disertaciji je biološka aktivnost etarskih ulja biljaka i njihova potencijalna primena u oralnoj medicini. Ogromna strukturna raznolikost

prirodnih jedinjenja biljnog porekla pruža jedinstvenu priliku za dobijanje efikasnih medicinskih sredstava. Etarska ulja imaju dokazanu biološku aktivnost, koja je naučno potvrđena, što ih svrstava u idealne modele za proučavanje i primenu u prevenciji i lečenju oralnih oboljenja. Pored etarskih ulja u stomatologiji se već decenijama uspešno koriste sredstva na bazi ozona i srebra. Ovi agensi primenjuje se u terapiji karijesnih lezija, u endodontskoj terapiji za redukciju mikrobne zajednice korenskog kanala i ne deluje negativno na periapikalna tkiva čime se smanjuje rizik od postoperativnih komplikacija. Zbog baktericidnih, virocidnih i fungicidnih svojstava, ovi agensi se mogu primenjivati i u slučaju bolesti mekih tkiva usne duplje (Prskalo i sar., 2013).

## **2. Etarska ulja**

### **2.1. Istorijat**

Korišćenje lekovitog bilja u lečenju ljudi, vodi poreklo još iz daleke prošlosti. Arheološke iskopine pokazuju da su neke lekovite biljke bile poznate Vaviloncima (6000 pre nove ere) (Bakkali i sar., 2007). Sredinom XX veka mnogi naučnici počeli su da uviđaju značaj tradicionalne medicine, kao i to da podaci o korišćenju lekovitog bilja starih naroda uz primenu i potvrdu savremene nauke, mogu da se iskoriste u cilju dobijanja novih medikamenata (Hammeri sar., 1999). Uzimajući u obzir da biljke mogu proizvoditi stotine ili čak i hiljade metabolita, postoji veliko interesovanje za njihovo fitohemijsko ispitivanje (Rios i Recio, 2005). Poslednjih decenija, vrše se intenzivna biološka i fitohemijska ispitivanja sekundarnih metabolita biljaka (Betts i sar., 2001; Burt, 2004). Postoje brojni podaci iz *in vitro* i *in vivo* studija koji govore u prilog upotrebe etarskih ulja pri lečenju brojnih infekcija i oboljenja (Charles i sar., 2000; Gutierrez i sar., 2008; Scollard i sar., 2009; Javed i sar., 2012; Lu i sar., 2013). S obzirom na brojne prednosti koje etarska ulja imaju u odnosu na sintetičke agense kao što je netoksičnost, biodegradibilnost i smanjena mogućnost za pojavu rezistentnosti neosporno je da poslednjih decenija njihovo istraživanje i korišćenje nije samo interes već i potreba. Prednost jedinjenja biljnog porekla u odnosu na sintetička sredstva je, pre svega, u tome što biljke poseduju veći farmakološki kompleks pa mogu uticati na više različitih oboljenja. Dok su sintetički agensi dizajnirani da inhibiraju (ili stimulišu) jedan od puteva farmakoloških efekata prirodna jedinjenja mogu delovati na veći broj različitih puteva bez negativnih efekata.

Biljke su godinama služile kao izvor biološki aktivnih supstanci, što govori činjenica da je 40% svih medikamenata na biljnoj bazi. Od ukupno 250 000 cvetnica, samo 6% je testirano

na potencijalnu biološku aktivnost a 15% je podvrgnuto fitohemijskim analizama (Borris, 1996; De Smet, 1997; Heinrich i sar., 2014). Ovi podaci sugerišu da je ovo područje veoma neistraženo i prepuno potencijala. Prirodni produkti biljaka koriste se vekovima u svim kulturama širom sveta, a ogroman broj biljnih metabolita je zbog svoje biološke aktivnosti našao primenu u farmaceutskoj industriji i savremenoj medicini.

## **2.2. Opšte karakteristike etarskih ulja**

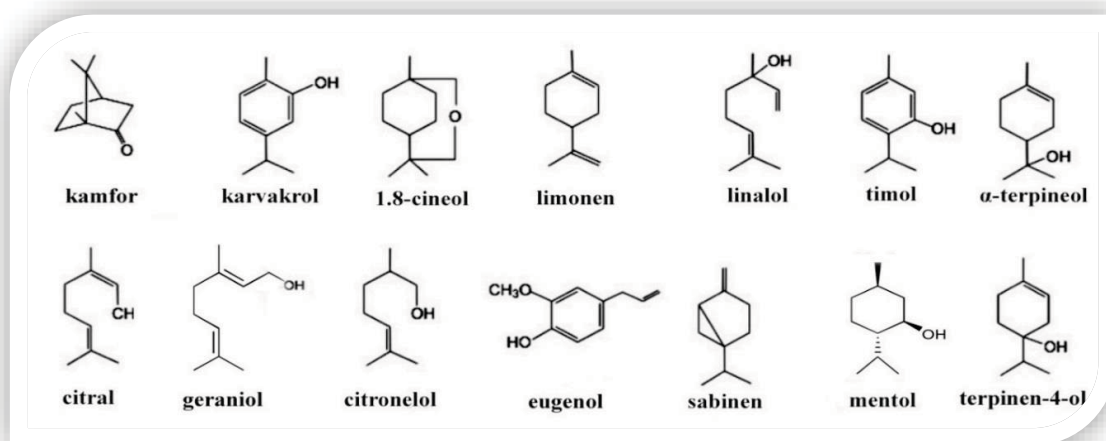
Etarska ulja su kompleksna smeša aromatičnih isparljivih komponenti koja nastaju kao produkti sekundarnog metabolizma biljaka. Predstavljaju smešu različitih jedinjenja: ugljovodonika, alkohola, ketona, aldehida, organskih kiselina, fenola i dr (Simon, 1990). Produkcija etarskih ulja se odvija naročito u listovima i cvetovima biljke, međutim mogu se naći i u korenu i rizomu, kori, drvetu, plodovima i semenu. Sastav etarskog ulja je veoma varijabilan u jednoj istoj biljci, kao što može da varira između različitih primeraka iste vrste (Kalemba i Kunicka 2003). Ovo zavisi od uslova sredine u kojoj biljka raste, pre svega klime ali i činjenice da većina biljaka koja se koristi za proizvodnju etarskog ulja, bilo kultivisane ili sakupljene u prirodi, ima brojne varijetete, podvarijetete, sorte, klonove i hibride tako da hemijski sastav ulja biti poprilično neujednačen usled genetičkog diverziteta biljaka (Bajpai i sar., 2008). Na osnovu dosadašnjih ispitivanja, prihvaćeno je mišljenje da je kvalitativni sastav etarskih ulja pod genetičkom kontrolom, dok su variranja u kvantitativnom sadržaju komponenti pod uticajem spoljašnjih faktora (Valmaa i sar., 2007; Bakkali i sar., 2008). Sinteza i sekrecija etarskih ulja u biljkama se odvija u specijalizovanim strukturama koje se mogu podeliti na spoljne (žlezdane dlake i osmofore) i unutrašnje (uljne ćelije, sekretorne šupljine, sekretorne kanale) (Kostić i sar., 2012).

Etarska ulja biljaka imaju biološku i ekološku funkciju koja se ogleda u zaštiti od preteranog zagrevanja prilikom intenzivne insolacije, u privlačenju polinatora svojim mirisima, odbijanju herbivora, smanjenjem kompeticije alelopatskim delovanjem koje je štetno za druge biljne vrste i ispoljavanju antimikrobne, antiviralne i insekticidne aktivnosti (Maia i sar., 2000; Marin, 2003).

## **2.3. Hemijski sastav etarskih ulja**

Etarska ulja su veoma složene mešavine koje mogu da sadrže od 20 do 60 komponenti u različitom kvantitativnom odnosu (Slika 1). Veoma često, u sastavu etarskih ulja ulaze 2-3 glavne komponente često u većem procentu (20-95%) u odnosu na ostale komponente koje su

prisutne u manjem procentu. Glavne komponente etarskih ulja su terpeni/terpenoidi i aromatična i alifatična jedinjenja male molekulske mase. Terpeni su derivati izoprena (2,metil-1,3-butadien) i u zavisnosti od broja izoprenskih jedinica koje se kondenzuju razlikujemo hemiterpene ( $C_5$ ), monoterpene ( $C_{10}$ ), seskviterpene ( $C_{15}$ ), diterpene ( $C_{20}$ ), triterpene ( $C_{30}$ ), tetraterpene ( $C_{40}$ ) i politerpene. U sastavu etarskih ulja najčešće ulaze mono i seskviterpeni. Hemiterpeni su najjednostavniji terpeni, sačinjeni iz jedne izoprenske jedinice, i retko ulaze u sastav etarskih ulja. Monoterpeni nastaju kondenzacijom dve izoprenske jedinice (tačka ključanja  $140-180^{\circ}C$ ), a seskviterpeni su građeni iz tri izoprenske jedinice (tačka ključanja je preko  $200^{\circ}C$ ), i jedni i drugi, na osnovu građe ugljeničkog skeleta, mogu biti aciklični, mono i biciklični. Svi terpeni sintetišu se prema biosintetskom izoprenskom pravilu prema kome svi terpeni u prirodi nastaju preko mavalonskog puta (iz mavalonske kiseline) iz nekoliko prostih acikličnih jedinjenja (Bakkali i sar., 2008).



Slika 1. Hemijske strukture odabranih komponenti etarskih ulja

## 2.4. Terapijski značaj etarskih ulja

Hipokrat, koji se smatra ocem medicine, pisao je o upotrebi aromatičnih biljaka (Guenther, 1948). Aromatične biljke koje sadrže etarska ulja, korišćene su od davnina za razne namene uključujući medicinske tretmane, kao konzervansi i začini. Etarska ulja su se primenjivala u medicini još u starim civilizacijama Egipta i Kine, o čemu postoje pisani podaci (Burt, 2004). Termin etarsko ulje je po prvi put upotrebljen u 16. veku u knjizi Paracelzusa van Hoanejma. U starom Egiptu etarska ulja su korišćena za prevenciju i lečenje različitih oboljenja. Kasnije, Grci i Rimljani su nasledili praksu korišćenja etarskih ulja u aromaterapiji i znatno proširili njihovu primenu (Bauer i sar., 2001). Cela jedna grana alternativne medicine – aromoterapija, se zasniva na lečenju organizma primenom različitih etarskih ulja za

otklanjanje bola, zaceljivanje povreda, lečenje i prevenciju infektivnih oboljenja (Lawless, 2001). Početak industrijske eksploatacije etarskih ulja počeo je u Francuskoj 1700. godine, a od 1800. do danas razvijeni su postupci za produkciju velikog broja ulja. Prema literaturnim podacima poznato je oko 3000 etarskih ulja, a oko 300 ima komercijalnu upotrebu (Shaaban i sar., 2012). Etarska ulja i njihove komponente se koriste u izradi parfema i kozmetičkih proizvoda, u stomatologiji i medicini, u poljoprivredi kao konzervansi i aditivi i kao prirodni medikamenti (Guenther, 1948).

## **2.5. Biološka aktivnost etarskih ulja**

Upotreba etarskih ulja i pojedinačnih komponenti se zasniva na njihovoj biološkoj aktivnosti. Dosadašnja istraživanja pokazuju da etarska ulja poseduju: antimikrobnu (Jeevan i sar., 2004; Alviano i sar., 2009; Kuete i sar., 2010), antioksidativnu (Babili i sar., 2011; Ennajar i sar., 2011; Rašković i sar., 2014), antiviralnu (Benencia i sar., 1999; Mimica-Dukić i Božin, 2008; Dunkić i sar., 2011), insekticidnu (Liu i sar., 2013; Huang i sar., 2014), citotoksičnu (Manosroi i sar., 2006; Zu i sar., 2010), antibiofilm (Zijnge i sar., 2010; Kerekes i sar., 2013), antiquorum sensing (Vasavi i sar., 2013; Koh i sar., 2013), antiinflamatornu (Riella i sar., 2012; Jeena i sar., 2013) aktivnost kao i mnoge druge aktivnosti.

### **2.5.1. Antimikrobna aktivnost etarskih ulja**

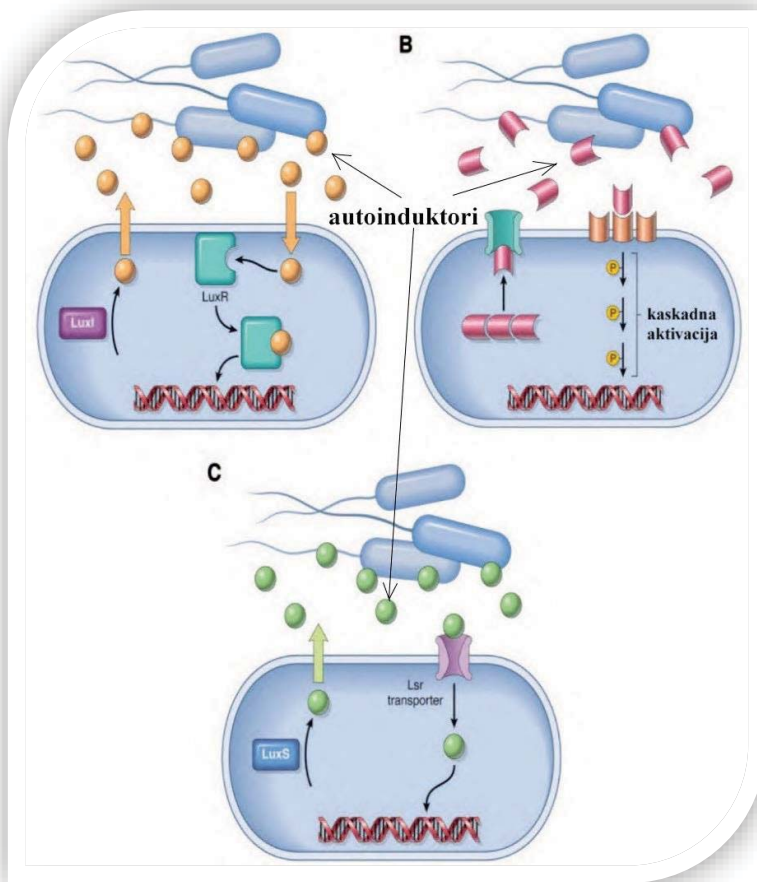
Sposobnost etarskih ulja da inhibiraju rast bakterija i gljiva naziva se antimikrobna aktivnost. Različita jedinjenja prirodnog porekla prvobitno su testirana uglavnom zbog njihove potencijalne primene u kontroli rasta mikroorganizama vezano za sa kvarenje hrane (Tajkarimi i sar., 2011). Etarska ulja deluju mikrobiostatički (inhibicija rasta) ili mikrobicidno (ubijanje mikroorganizama). Prvobitna istraživanja biološke aktivnosti etarskih ulja bila su bazirana na antibakterijskom potencijalu, dok je interesovanje za istraživanjem antifungalne aktivnosti počelo nešto kasnije. Veliki broj studija govori o aktivnosti etarskih ulja na patogene bakterije *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (Soković i sar., 2010; Sienkiewicz i sar., 2011; Tesch i sar., 2011). Mešavina etarskih ulja *T. serpyllum*, *O. vulgare* i *S. officinalis* poseduje jak inhibitorni efekat na rast *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* (Gutierrez i sar., 2008). U ispitivanju Kelly i sar. (1999) antibakterijske aktivnosti 36 etarskih ulja na bakteriju *Helicobacter pylori*, koja je glavni uzročnik gastritisa i čira na želudcu, pokazala su značajnu aktivnost. Najčešće ispitivana etarska ulja su poreklom iz vrsta rodova *Mentha*, *Origanum*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Salvia* (Soković, 2001). Kada je u pitanju ispitivanje antifungalne aktivnosti poznato je da visoke

koncentracije etarskih ulja inhibiraju rast gljiva, dok manje koncentracije mogu čak i stimulisati njihov rast (Soković, 2001). Naime, vrste rodova *Aspergillus* i *Rhizopus* imaju mogućnost biotransformacije etarskih ulja i njihovih komponenti (Moleyar i sar., 1987). Istraživanja potvrđuju antifungalnu aktivnost na gljive izazivače bolesti biljaka (Veres i sar., 2012), na vrste koje izazivaju kvarenje hrane (Ben Hsouna i sar., 2014) i one koje izazivaju mikoze kod čoveka (Pinto i sar., 2013). Najveći broj ispitivanja antimikrobne aktivnosti etarskih ulja poznat je iz eksperimenata *in vitro*. Najčešće metode koje se koriste u testiranju antimikrobne aktivnosti su difuziona, diluciona (mikro i makro) i bioautografska metoda (Soković, 2001). Ispitivanje etarskih ulja je otežano zbog njihovog lipofilnog karaktera, isparljivosti i kompleksnosti. Na sam ishod rezultata pored vrste testa, utiču i različiti faktori kao što su: metode ekstrakcije etarskog ulja, volumen inokuluma, faze rasta mikroorganizama, kulture koje se koriste, pH podloge, vreme inkubacije i temperatura (Casadevall i Fang, 2010).

### **2.5.2. Antiquorum sensing aktivnost etarskih ulja**

Etarska ulja biljaka su provobitno cenjena zbog svoje antimikrobne aktivnosti i primene u tradicionalnoj medicini, međutim novija istraživanja pokazuju njihovu ulogu u regulisanju komunikacije između mikroorganizama (Koh i sar., 2010). Ovaj vid komunikacije naziva se quorum sensing (QS) i predstavlja brojno-zavisnu komunikaciju putem malih molekula, autoinduktora, koji utiču na promenu genske ekspresije i ponašanje mikroorganizama (Raffa i sar., 2005). Autoinduktori su signalni molekuli koji se proizvode kao odgovor na promenu gustine ćelija. Kada gustina ćelija bakterija raste, povećava se i koncentracija autoinduktora. Pomoću enzima sintetaze bakterije sintetišu autoinduktore koji difunduju u spoljašnju sredinu, gde se vezuju za receptore koji se nalaze na površini ćelije i formiraju autoinduktor-receptor kompleks. Vezivanje autoinduktora za receptor pokreće seriju reakcija i aktivaciju transkripcionih faktora što rezultira ekspresijom određenih gena. Pod QS mehanizmom su regulisani procesi: formiranje biofilma, bioluminiscencija, faktori virulentnosti, produkcija antibiotika, sporulacija i drugi mehanizmi (Novick, 2005). Postoji tri tipa autoinduktora: acil-homoserinski laktone (AI-1) koji su karakteristični za Gram-pozitivne bakterije, dok su peptidi (AP) karakteristični za Gram-negativne bakterije i derivati furanona (AI-2) koji su pronađeni i kod Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija i smatra se da predstavljaju univerzalne autoinduktore (Koh i sar., 2010; Rutherford i Bassler, 2012; Dendekar i Greenberg, 2013).





Slika 2. Šematski prikaz do sada poznatih (A, B, C) quorum-sensing signalnih puteva (Xavier i Bassler, 2003).

Prema dosadašnjim ispitivanjima, veliki broj Gram-pozitivnih bakterija koristi tzv. LuxI/LuxR sistem QS regulacije (Zheng i sar., 2006). LuxI protein ima ulogu u sintezi AI-1 molekula iz masnih kiselina, dok LuxR ima ulogu u regulaciji transkripcije. AI-1 molekuli koji difunduju

u spoljašnju sredinu se vežu za LuxR receptore, i formiraju AI-1/LuxR kompleks koji aktivira transkripciju target gena (Slika 2 A). AP autoinduktore po hemijskom sastavu predstavljaju aminokiseline ili oligopeptide. Ovi molekuli se vežu za histidinske protein kinaze na površini ćelije, koje zatim aktiviraju fosforilacijom (dodavanje fosfatne ( $PO_4$ ) grupe na protein ili neki drugi organski molekul) regulatorne proteine zadužene za proces transkripcije jednog ili više target gena (Slika 2 B). Derivati furanona (AI-2), čija struktura još uvek nije razjašnjena nastaju usled aktivacije *luxS* gena. Vezivanjem za LuxP (homolog LuxR) i formiranjem AI-2/LuxP kompleksa dolazi do aktivacije uz pomoć fosforilacija kao kod prethodno navedenog primera (Slika 2 C).

QS inhibicija predstavlja potencijalno novu strategiju lečenja infektivnih oboljenja i koristi se u razvoju novih antimikrobnih agenasa. Zbog činjenice da veliki broj osobina mikroorganizama zavisi od QS, njegova inhibicija predstavlja novi način za kontrolu infekcija. Smatra se da se blokiranjem signalizacije i slabljenjem virulentnosti mikroorganizama ne nameće selektivni pritisak i razvoj rezistencije. Ovaj pristup se označava kao početak



postantibiotske ere i predstavlja veliki potencijal (Koh i sar., 2010). Smatra se da su evolucijom biljke stekle sposobnost sinteze antiquorum sensing molekula, kao poseban sistem odbrane od patogenih mikroorganizama. Posljednjih godina, otkriće QS antagonista biljnog porekla pokazuje trend rasta. Neke biljke poput *Pisum sativum* proizvode određena jedinjenja koja mogu da oponašaju aktivnost autoinduktora (Teplitski i sar., 2000). Veliki broj biljnih ekstrakata kao i etarska ulja pokazuju anti-QS aktivnost (Koh i sar., 2010). Furanokumarini iz biljaka izazivaju inhibiciju sinteze AI-1 i AI-2 grupe autoinduktora (Vikram i sar., 2010). Jedinjenje Malabirakon C izolovano iz biljke *Myristica cinnamomea* inhibira LasR i rhlR sistem kod *P. aeruginosa* PAO 1 (Teplitski i sar., 2000). Ekstrakti propolisa inhibiraju sintezu pigmenta violaceina, koji je značajan faktor virulentnosti, kod bakterije *Chromobacter violaceum* (Teplitski i sar., 2000). Prethodna istraživanja pokazuju da biljke imaju mogućnost sinteze određenih enzima koji izazivaju degradaciju autoinduktora i pri tome smanjuju virulentnost mikroorganizama (Daniels i sar., 2002).

### **2.5.3. Antibiofilm aktivnost etarskih ulja**

U prirodi je većina mikroorganizama organizovana u vidu biofilma, a prema istraživanjima čak 80% humanih infekcija je povezano sa razvojem biofilma (Zijngel i sar., 2010). Biofilm se često formira na biotičkim i abiotičkim površinama i u njegovom formiranju može učestvovati jedna ili više vrsta mikroorganizama. Većinski sastojak biofilma je voda (95%), a ostatak predstavlja ekstracelularni matriks (EM) (1-2%) i mikroorganizmi (2-5%). Ekstracelularni matriks, koji je u vidu gela, sastoji se od polisaharida, enzima, proteina i DNK i RNK molekula (Wimpenny i Colasanti, 1997). Formiranje biofilma se može podeliti u tri faze: pripajanje, sazrevanje i disperzija. U prvoj fazi pripajanja dolazi do reverzibilnog vezivanja mikroorganizama za površine bogate organskim materijama (supstrat). Nakon toga, dolazi do ireverzibilne adhezije mikroorganizama pomoću adhezina (pili, flagele, površinski proteini) za supstrat. Umnožavanje mikroorganizama i stvaranja polimernog matriksa koji čini najveću masu biofilma se dešava u fazi sazrevanja, a kao poslednja faza disperzija podrazumeva otpuštanje jedne ili više planktonskih ćelija i ima značajnu ulogu u širenju infekcije. Smatra se da postoji određeni balans između rasta i disperzije (Sauer i sar., 2002). U zavisnosti od velikog broja faktora, a pre svih količine dostupne hrane i fizičkih faktora sredine postoje tri tipa biofilma: heterogeni-mozaični tip, porozni tip-ispresecan vodenim kanalima i gusti-konfluentni tip (Tolker-Nielsen, 2014). Heterogeni-mozaični tip je karakterističan za uslove sa nedovoljno hranljivih materija, ogleda se u tankom i gustom sloju mikroorganizama od kojeg u okolinu polaze mikrokolonije u vidu stubića dugačkih i do 100 mikrometara. Porozni tip, građen je od

većih mikrokolonija koje su povezane sa supstratom preko tanjih traka ekstracelularnih polimera. Između mikrokolonija i veznih traka se provlače vodeni kanali koji dopremaju materije i nutrijente iz okoline do pojedinačnih bakterija. Ovaj tip se javlja u prirodi, najčešće je polimikroban i sadrži, ne samo različite vrste bakterija, nego i protozoe, gljive i diatomeje. Treći, gusti, konfluentni tip se nalazi na dentalnom plaku, građen je od različitih bakterijskih vrsta koje međusobno kooperiraju i razmenjuju hranjive materije. Iako se čini da u ovom tipu postoje ograničenja rasta zbog nutrijenata, ovakav tip biofilma može da dostigne najveću gustinu i debljinu (Tolker-Nielsen, 2014).

Infekcije uzrokovane biofilmom su znatno složenije jer se često radi o asimptomskim infekcijama ili umerenim simptomima i rezistencijom na konvencionalnu terapiju. Poznato je da su ćelije biofilma otpornije i do 1000 puta u odnosu na planktonske (Abdallah i sar., 2014). Otpornost biofilma na antimikrobne agense ima dva aspekta: toleranciju i rezistenciju. Pod tolerancijom se podrazumeva nemogućnost rasta mikroorganizama u prisustvu leka, dok rezistentnost omogućava rast mikroorganizmima u prisustvu leka (Tolker-Nielsen, 2014). Ovi aspekti biofilma omogućeni su pre svega zbog tridimenzionalne strukture, jer prisustvo nekoliko slojeva omogućava sporije prodiranje antimikrobnih agensa kroz matriks. Diferencijalni rast u okviru biofilma dokumentovan je u nekoliko publikacija (Quivey i sar., 2001; Burt i sar., 2004; Khan i sar., 2012), što ukazuje na postojanje određenih područja unutar biofilma čije ćelije su u stacionarnoj ili čak latentnoj fazi. Spoljašnji sloj biofilma sadrži eksponencijalno rastuće ćelije koje su osetljive na antimikrobna sredstva, dok se u centru nalaze ćelije sa usporenim metabolizmom koje su sposobne da razviju tolerantnost ili rezistenciju. Otpornost biofilma uslovljena je favorizovanjem anerobnog metabolizma, usporenim rastom zbog ograničenih koncentracija kiseonika i hranljivih materija, kao i prisustvom tzv. "persister" ćelija koje se odlikuju sporom deobom i time smanjuju efekat antimikrobnih sredstava čije dejstvo je usmereno na membranu ili neke procese kao što su replikacija, transkripcija, translacija i dr. (Werner i sar., 2004). Poznato je i da aktivnost efluksnih pumpi na ćelijskoj membrani bakterija i gljiva koje se nalaze bliže površini biofilma utiče na izbacivanje antimikrobnih sredstava u spoljašnju sredinu i time dodatno štiti ćelije u centru. Tako npr. aktivnost makrolida i tetraciklina je znatno smanjena na nižim pH vrednostima, dok je aktivnost aminoglukoziida u direktnoj srazmeri sa koncentracijom kiseonika u biofilmu (Walters i sar., 2003). Vezivanjem ekstracelularne DNK i RNK za antimikrobne medikamente i teške metale pokazalo je smanjenje efekta antibiotika tobramicina (Mulcahy i sar., 2008) kao i visoku toleranciju ćelija biofilma kod *P. aeruginosa* na cink, gvožđe i živu (Teitzel i sar., 2003).

Upotreba etarskih ulja u kontroli biofilma kao alternativa konvencionalnim medikamentima se pokazala vrlo efikasnom u brojnim *in vitro* i *in vivo* studijama (Saharkhiz i sar., 2012; Babu i sar., 2012; Lee i sar., 2013; Selim i sar., 2014). Antibiofilm aktivnost etarskih ulja je direktno povezana sa antimikrobnim potencijalom ulja (Saviuc i sar., 2015).

#### **2.5.4. Međusobne interakcije između etarskih ulja i pojedinačnih komponenti**

Etarska ulja predstavljaju kompleksne smeše različitih jedinjenja i njihovo delovanje je uglavnom posledica međusobne interakcije pojedinačnih komponenti. Smatra se da je oko 100 000 sekundarnih metabolita biljaka uključeno u odbrambeni mehanizam biljke (Wink, 1999). Interakcija sekundarni metaboliti kao što su tanini, terpenoidi, alkaloidi i flavonoidi može dovesti do sinergističkog, aditivnog, indiferentnog i antagonističkog delovanja (Karatzas i sar., 2001; Delaquis i sar., 2002). Aldehidi i fenoli, kao što su cinamaldehyd, citral, karvakrol, eugenol i timol su glavne komponente i nosioci antimikrobne aktivnosti etarskih ulja koja u većem sadržaju sadrže terpeneske alkohole (Bassole i sar., 2010). Etarska ulja koja sadrže ketone i estre, poseduju značajno slabiju antimikrobnu aktivnost od etarskih ulja koja sadrže terpeneske ugljovodonike (Dorman i sar., 2000; Inouye i sar., 2001; Carneriro i sar., 2009). Snažna aktivnost etarskih ulja vrsta rodova *Thymus* i *Origanum* se prepisuje fenolnim komponentama timolu, karvakrolu (Lambert i sar., 2001) i eugenolu kod pripadnika vrsta rodova *Syzygium* i *Ocimum* (Bassole i sar., 2010). Kod etarskog ulja *S. aromaticum* zabeležen je sinergistički efekat između eugenola i linalola (Shirazi i sar., 2014). Hidroksilna grupa fenola je pokazala mnogo snažniju antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost u poređenju sa metil eugenol grupom (Bassole i sar., 2010). Postoje podaci o međusobnoj interakciji etarskih ulja i antibiotika (Mulyaningsih i sar., 2010). Kombinacijom etarskih ulja koja pokazuju sinergistički efekat dovodi do smanjenja koncentracija za izazivanja željenog efekta. Sinergistički delovanjem cinamaldehyda i timola na *E. coli* dobija se smanjenje koncentracije od 25% u odnosu na pojedinačno dejstvo ovih komponenti (Bassole i Juliani, 2012). Praktična aplikacija ovakvog pristupa se ogleda u upotrebi etarskih ulja u što manjim koncentracijama, zbog isparljivosti koja može dovesti do promene ukusa i mirisa hrane. Primena sinergističkih kombinacija etarskih ulja i komponenti u industriji hrane (kao konzervanasa) ima veliki potencijal, jer njihov visok sadržaj nije poželjan (Pei i sar., 2009).

#### **2.5.5. Dosadašnja ispitivanja etarskih ulja i primena u stomatologiji**

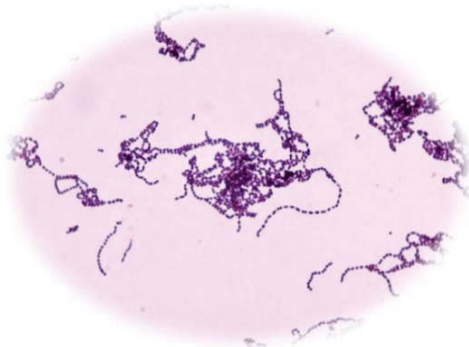
Antimikrobno dejstvo etarskih ulja na mikroorganizme iz usne duplje, naročito na one koje doprinose formiranju biofilma, ima važnu ulogu u prevenciji karijesa i parodontopatije

(Pastorius i sar., 2003). Iako etarska ulja pokazuju slab toksični potencijal i malu farmakološku aktivnost, postoji ograničen broj studija o njihovoj potencijalnoj upotrebi u stomatologiji (Dagli i sar., 2014). Velika potražnja za novim i efikasnijim agensima za suzbijanje i inhibiciju formiranja biofilma, dovela je do povećanja interesa za istraživanje etarskih ulja i njihovih pojedinačnih komponenti poslednjih godina. Pizzo i sar. (2008) su pokazali da ne postoji razlika u primeni fluorida i etarskih ulja na inhibiranje oralnog biofilma. Etarska ulja imaju inhibirajuće dejstvo na mikroorganizme uzročnike parodontopatije (Fine i sar., 2007; Morozumi i sar., 2013). Poznato je da se etarska ulja koriste kao anksiolitik. Rezultati istraživanja pokazuju da ulja *L. angustifolia* i *C. aurantium* smanjuju nervozu i menjaju emotivno stanje pacijenta (Lehrner i sar., 2005). Slična studija pokazuje smanjenje osećaja bola prilikom aplikacije injekcija uz korišćenje etarskog ulja u ordinaciji (Kim i sar., 2011). Rastvori za ispiranje usta pored natrijum bikarbonata i natrijum fluorida često sadrže etarska ulja i/ili njihove komponente (Pannuti i sar., 2003; Ozaki i sar., 2006). Etarska ulja se koriste i kod zubnih implantata. Prema rezultatima studije koju su sprovedi Al-Radha i sar. (2013), čišćenje dentalnih implantata etarskim uljima sprečilo je formiranje biofilma na njihovoj površini. Etarska ulja pokazuju jači antimikrobni potencijal nego metilparaben, koji se koristi kao konzervans u stomatološkim anestezijama (Herman i sar., 2013). Kod pacijenata koji su alergični na metilparaben, etarska ulja se mogu koristiti kao adekvatna zamena. Komparativnu studiju koju su sprovedi Groppo i sar. (2002), pokazala je da etarsko ulje *Melaleuca alternifolia* poseduje jače antimikrobno dejstvo u odnosu na hlorheksidin (koji predstavlja aktivnu komponentu komercijalnih preparata za higijenu usne duplje). Kombinacija etarskih ulja i fluora je dala pozitivne rezultate u remineralizaciji tvrdog tkiva zuba, prethodno oštećenim karijesom. Interesovanje za proučavanje etarskih ulja tokom poslednjih decenija raste. Prema dosadašnjim rezultatima, jasno je da etarska ulja i njihove komponente imaju lekovita svojstva. Međutim, odsustvo kliničkih studija i informacija o bezbednosti i toksičnosti su ozbiljna prepreka za njihovu primenu pri pravljenju stomatoloških sredstava/medikamenata zasnovanih isključivo na etarskim uljima i njihovim komponentama.

## 2.6. Opis testiranih mikroorganizama

### *Streptococcus pyogenes* Rosenbach 1884

Gram-pozitivne koke raspoređene u lance zbog ravni deobe koje se postavljaju paralelno (Slika 3). Pripada grupi A Streptokoka i obično stvara male zone hemolize  $\beta$  tipa. Hemoliza je pojam koji označava raspadanje crvenih krvnih ćelija (eritrocita). Bakterijske kulture imaju sposobnost da dovedu do hemolize kada se uzgajaju na krvnom agaru. Postoje



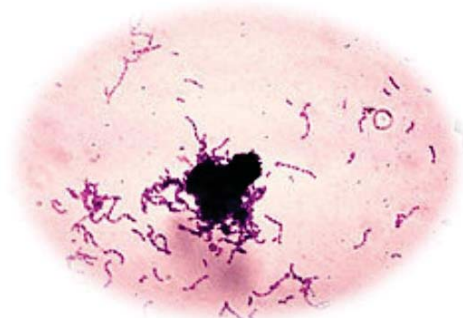
Slika 3. Izgled kolonije *Streptococcus pyogenes* nakon bojenja po Gram-u ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/Streptococcus\\_pyogen](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/Streptococcus_pyogen)

tri tipa hemolize koji pomažu razlikovanje streptokoka u mikrobiologiji, tako da se razlikuju  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  hemolitičke streptokoke. *S. pyogenes* je fakultativni anaerob (5–10% CO<sub>2</sub>), raste na 37°C i zahteva minimalne koncentracije nutrijenata tj. šećera i peptida. Na testivima katalaze i oksidaze negativna i poseduje sposobnost mlečne fermentacije (Gera i Mcvler, 2013). *S. pyogenes* izaziva oboljenja od blagih površinskih kožnih infekcija do oboljenja koja ugrožavaju život. Infekcije se najčešće javljaju u grlu ili na koži, to su faringitis (upala grla tj. upala sluznice ždrela),

gnojna angina i impetigo (zarazna infekcija kože) (Ruiz-Aragon i sar., 2010).

### *Streptococcus mutans* Clarke 1924

Fakultativni anerob, Gram-pozitivna koka najčešće se nalazi u usnoj duplji čoveka gde



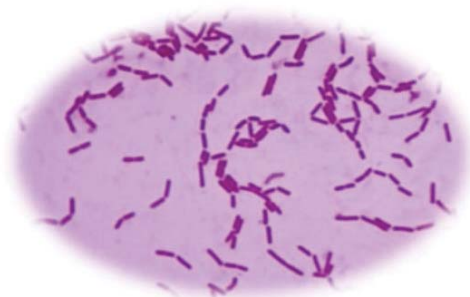
Slika 4. Izgled kolonije *Streptococcus mutans* nakon bojenja po Gram-u ([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/b8/Streptococcus\\_mutans\\_01.jpg/240px-Streptococcus\\_mutans\\_01.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/b8/Streptococcus_mutans_01.jpg/240px-Streptococcus_mutans_01.jpg))

je jedan od glavnih faktora nastajanja karijesa (Slika 4). Raste na temperaturi od 18-40°C. *S. mutans* ima sposobnost metabolisanja šećera pri tom kreirajući kiselu sredinu koja ima za posledicu demineralizaciju tvrdog tkiva zuba. Produkuje i u vodi nerastvorljive glukane, i mlečnu kiselinu. Prema istraživanju zdrava osoba ima oko 10 000 ćelija/ml *S. mutans* u usnoj duplji (Kuramitsu i sar., 1993). *S. mutans* ima sposobnosti da prijanja na glatku površinu zuba, stvaranju zubnih naslaga, kiselina i štetnog delovanja na zube. Ostale

bakterije imaju aktivnu ulogu u širenju karijesa nakon najverovatnije započetih aktivnosti *S. mutans*. Povećano prisustvo *S. mutans* ne znači i da će se razviti karijes ali se povećava rizik u zavisnosti od prisustva drugih faktora (Cvetković i Ivanović, 2006).

### ***Lactobacillus acidophilus* (Moro 1900) Hansen & Mocquot 1970**

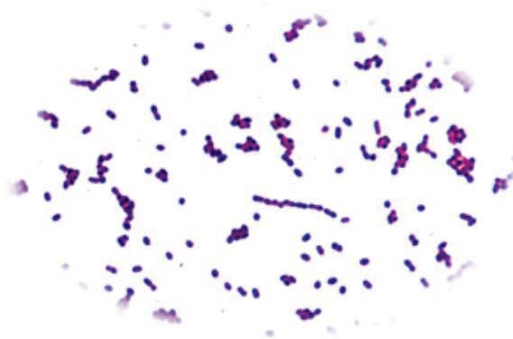
Gram-pozitivna bakterija, homofermentivnog metabolizma (metabolisanjem šećera stvara mlečnu kiselinu) (Slika 5). Spada u mikroaerofilne bakterije kojima su potrebne minimalne koncentracije kiseonika za rast. Za optimalan rast zahteva niske vrednosti pH (5.0) i 37°C. *L. acidophilus* se javlja u usnoj duplji i gastrointestinalnom traktu kod ljudi i životinja. Različiti sojevi se koriste u mnogim mlečnim proizvodima, jer proizvodi vitamin K i laktaze. Postoje dokazi da *L. acidophilus* ima pozitivne efekte u lečenju vaginalnih infekcija (Sanders i Klaenhammer, 2001). Iako se smatra da nema neželjena dejstva, povećan broj *L. acidophilus* u ustima može izazvati intestinalne probleme i slabljenje imuniteta ili prekomeran rast bakterija u crevima (Vercoe i sar., 2003; Chen i sar., 2005).



Slika 5. Izgled kolonija *Lactobacillus acidophilus* nakon bojenja po Gram-u (<http://s.hswstatic.com/gif/gross-body-6.jpg>)

### ***Streptococcus salivarius* Andrewes & Horder 1906**

Gram-pozitivna koka prosečne dužine 2 µm, koje su raspoređene u lance (Slika 6). Pripada *viridans* grupi streptokoka, koja naseljava usnu duplju i gornje respiratorne puteve (Burton i sar., 2006). Fakultativni je anerob i izaziva hemolizu α tipa. Na površini ćelije se nalaze fimbrije. Smatra se oportunističkim patogenom. U laboratorijskim uslovima *S. salivarius* fermentiše glukozu produkujući mlečnu kiselinu. Određeni sojevi *S. salivarius* imaju sposobnost produkcije antimikrobnih peptida koji sprečavaju kolonizaciju i prenamnožavanje patogenih bakterija (*S. pyogenes*), pa se koristi i kao probiotik (Wescombe i sar., 2012). Međutim, po najnovijim istraživanjima može izazvati po život opasne



Slika 6. Izgled kolonije *Streptococcus salivarius* nakon bojenja po Gram-u (<http://www.medschool.lsuhs.edu/microbiology/DMIP/sang.gif>)



infekcije nervnog sistema (meningitis). Broj slučajeva meningitisa uzrokovanih od strane *S. salivarius* je značajno porastao sredinom 20. veka (Wilson i sar., 2012).

### ***Streptococcus sanguinis* White and Niven 1946**

Gram pozitivna koka i pripadnik *viridans* grupe streptokoka (Slika 7). Izaziva hemolizu na krvnom agaru  $\alpha$  tipa i raste na temperaturi od 37<sup>0</sup>C. Fakultativni je anaerob i naseljava usnu duplju gde funkcioniše kao pionir kolonizacije zubnih površina formiranjem zubnog plaka, što



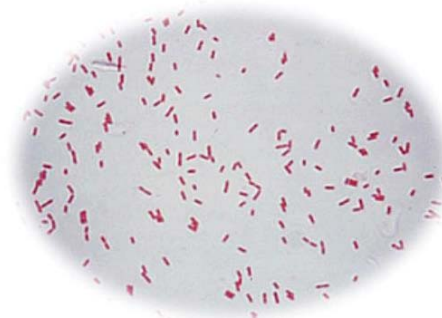
Slika 7. Izgled kolonije *Streptococcus sanguinis* nakon bojenja po Gram-u  
<http://www.medschool.lsuhs.edu/microbiology/DMIP/sang.gif>

dovodi do karijesa i paradontalne bolesti. *S. sanguinis* je blisko povezana vrsta sa infektivnim endokarditisom koji je često uzrokovan prodorom bakterije iz usne duplje u krvotok usled traume (Paik i sar., 2005). Posедуje manji kariogeni potencijal od *S. mutans*, pa je prema ispitivanjima odnos *S. sanguis*/*S. mutans* pokazatelj rizika od karijesa (De Stoppelaar i sar., 1969). Prema istraživanju Carlsson i sar., (1968) pokazuje da *S. sanguinis* kolonizuje usnu duplju tek pri pojavi prvih zuba i to pre *S.*

*mutans* (Xu i sar., 2007).

### ***Pseudomonas aeruginosa* (Schröter 1872) Migula 1900**

Gram-negativni striktni aerob, asporogen bacil dugačak 1,5-3,0 mikrometra (Slika 8). Brzo se kreće pomoću monopolarno raspoređenih flagela. Može se naći u zemljištu, vodi i na koži. Dobro uspeva na svim podlogama a neki sojevi proizvode pigmente koji difunduju u podlogu i njihove boje okružuju kolonije. *P. aeruginosa* je izrazito otporna bakterija. Ima brojne faktore virulencije, uključujući toksine i enzime. Oportunistički je patogen i kod čoveka može da izazove različita oboljenja. Infekcije mogu zahvatiti različite anatomske lokalizacije – kožu, potkožno tkivo, kosti, uho, oko, mokraćne puteve, pluća i srčane zaliske. Većina infekcija koje uzrokuje *P. aeruginosa* pojavljuje se u hospitaliziranim pacijentima, koji su najčešće imunokompromitovani. *P. aeruginosa* je drugi po učestalosti uzročnik infekcija u jedinicama intenzivne

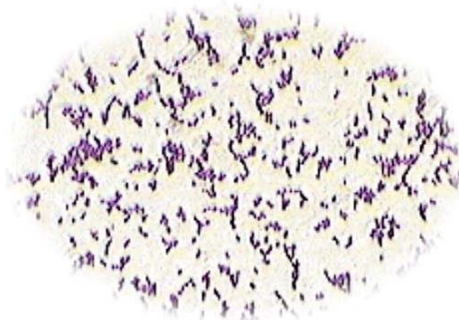


Slika 8. Izgled kolonija *Pseudomonas aeruginosa* nakon bojenja po Gram-u (<http://textbookofbacteriology.net/P.aeruginosa.jpeg>)

nege i čest je uzročnik pneumonije kod bolesnika na respiratoru. Osim nozokomijalnih infekcija, bolesnici s HIV-infekcijom imaju povećan rizik od infekcija uzrokovanih *P. aeruginosom* (Lister i sar., 2009; Gellatly i Hackcock. 2013; Sousa i Pereira, 2014).

### ***Enterococcus faecalis***

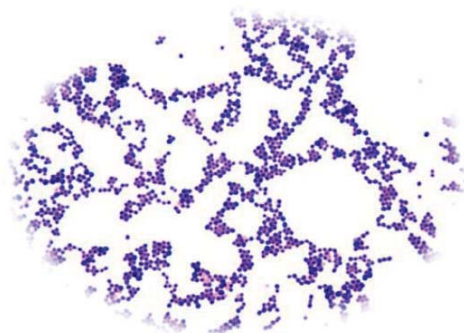
Gram-pozitivne koke povezane u dugačke lance (Slika 9). U prošlosti su mešane sa pripadnicima roda *Streptococcus*. Fakultativni anerob, raste na temperaturi od 0-44<sup>0</sup>C. Fermentiše glukozu bez produkcije gasa, na katalazu je negativna. *E. faecalis* je oportunistički patogen i može uzrokovati po život opasne infekcije (nozokomijalne, infekcije urinarnog trakta, endokarditis). Patogenost ove vrste povezana je sa proteinom Esp, koji ima ulogu u adheziji i procesu formiranja biofilma. Izuzetno je otporna vrsta na tretman antibioticima (cefalosporini, vankomicin, klindamicin). Često se nalazi u kanalu korena zuba (u 30-90% slučajeva) (Molander i sar., 1998; Kayaoglu i Orsavik, 2004; Vu i Carvalho, 2011).



Slika 9. Izgled kolonija *Enterococcus faecalis* nakon bojenja po Gram-u (<http://www.atsu.edu/faculty/chamberlain/website/lab/idlab/efgm.jpg>)

### ***Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884**

Stafilokoke su loptastog ili jajolikog oblika 0.8-1.0 mikrometra, raspoređene u nepravilne grozdaste gomilice (Slika 10). Nepokretne su, ne stvaraju spore ni kapsule. *S. aureus* je aerob ili fakultativni anerob i obilno se razmnožava na mnogim podlogama. Boja kolonija potiče od pigmenta i obično je zlatno-žuta, ali u tečnim podlogama ne proizvodi pigment tako



Slika 10. Izgled kolonija *Staphylococcus aureus* nakon bojenja po Gram-u ([https://classconnection.s3.amazonaws.com/229/flashcards/3132229/jpg/s\\_aureus\\_large-141059023C47A2FF31A.jpg](https://classconnection.s3.amazonaws.com/229/flashcards/3132229/jpg/s_aureus_large-141059023C47A2FF31A.jpg))

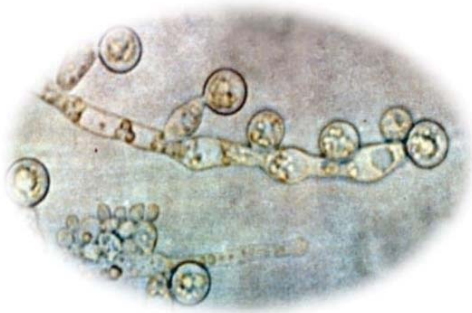
da je osrednje zamućuje. Izolovan je iz usnih i sluznih kanala i sa kože čoveka i životinja. Medicinski ovo je najvažnija stafilokoka jer je patogen i izaziva klinička oboljenja nazvanih jednim imenom stafilokokoze. Tonzilofaringitis, sinusitis, stafilokokni akutni enteritis ili razne epidemološke bolesti su neke koje su prouzrokovane ovom bakterijom. Prisustvo bakterije *S. aureus* na neoštećenoj koži kod većine ljudi ne izaziva nikakva oštećenja, dok prodor mikroorganizma ispod kože ili



u telo (npr. pluća) može izazvati ozbiljne zdravstvene probleme. U bolnicama širom sveta je povećana učestalost pojave oblika bakterije *S. aureus* koja je razvila specifičnu otpornost, najpre na delovanje penicilina, a posle i na delovanje antibiotika meticilina i sličnih medikamenata koji pripadaju grupi beta-laktamazama, i naziva se **Methicilin Resistant** (otporan) *S. aureus* (MRSA) (Liu, 2009; Plata i sar., 2009; Holland i sar., 2014).

### ***Candida albicans* (C.P.Robin) Berkhout (1923)**

*C. albicans* je diploidna, dimorfna vrsta koja se može naći u jednoćelijskom (kvasolika forma) ili višećelijskom obliku (u vidu pseudohifa i hifa) (Slika 11). Pod uticajem represora transkripcije održava se kvasolika forma, a pupljenjem ćelija bez razdvajanja formiraju se pseudohife na kojima se često obrazuju hlamidospore. Prelaz iz kvasolike u micelijsku formu zavisi i od spoljašnjih uslova i prvenstveno je uslovljen temperaturnim i pH promenama. Fenotipska varijabilnost, koja se ogleda u promeni boje i oblika kolonije, ima značajnu ulogu u procesu razmnožavanja i formiranja biofilma. *C. albicans* je uslovno patogena vrsta gljive koja se nalazi u usnoj duplji, digestivnom traktu, urogenitalnom traktu i na koži čoveka. U

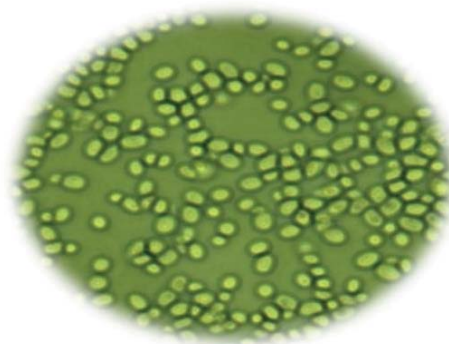


Slika 11. Izgled kolonije *Candida albicans* pod svetlosnim mikroskopom  
[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Candida\\_albicans\\_2.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Candida_albicans_2.jpg)

fiziološki, konstitutivno stabilnim organizmima pod kontrolom je telesnog odbrambenog mehanizma. Do prenamnožavanja tj. infekcije dolazi usled poremećene imunološke ravnoteže ili pod dejstvom spoljašnjih uticaja. Najčešći razlozi su: prekomerna upotreba antibiotika širokog spektra, kortikosteroida, imunosupresora itd. Kvasolika i filamentozna forma imaju različiti afinitet za različita tkiva. *C. albicans* je medicinski najznačajnija vrsta (Sudbery i sar., 2004; Nikolić i sar., 2014).

### ***Candida glabrata* (H.W.Anderson) S.A.Mey. & Yarrow (1978)**

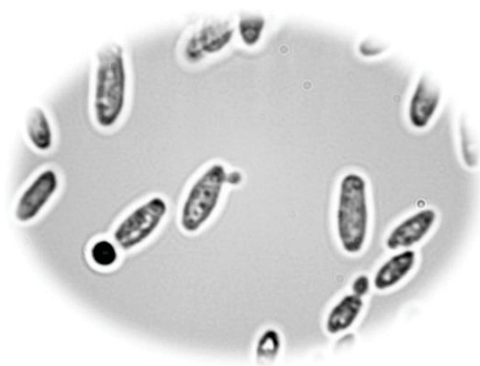
*C. glabrata* nema sposobnost dimorfizma, obrazuje jajaste, haploidne ćelije (Slika 12) koje pupe i blastokonidije (1-4  $\mu\text{m}$ ) koje su znatno manje nego kod *C. albicans* (4-6  $\mu\text{m}$ ) (Kucharikova i sar., 2011). Prisutna je u usnoj duplji i gastrointestinalnom traktu kao deo mikrozajednice. Ne formira pseudohife na temperaturima iznad 37<sup>0</sup>C. Na SDA podlozi *C. glabrata* formira bele, ovalne, mat kolonije koje se retko morfološki mogu razlikovati od *C. albicans*. Najveća razlika se ogleda u haploidnosti ćelija *C. glabrata* (*C. albicans* ćelije su diploidne) i malim subjedinicima rRNK (Fidel i sar., 1999). Iako se dugo smatrala za nepatogenu vrstu prisutnu kod zdravih individua, nedavna istraživanja pokazuju da je posle *C. albicans* najčešći uzročnik mukoznih i sistemskih kandidijaza, naročito kod imunokompromitovanih pacijenata (Katiyar i sar., 2006). Zbog svoje otpornosti na flukonazol, infekcije uzrokovane *C. glabrata* imaju visoki stepen mortaliteta (Hitchcock i sar., 1993; Brunke i Hube, 2013).



Slika 12. Kolonije *Candida glabrata* pod svetlosnim mikroskopom (<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7b/Glabrata.jpg>)

### ***Candida krusei* (Castellani) Berkhout**

Ćelije *C. krusei* su izdužene, kao zrno pirinča (Slika 13), suprotno jajastim ćelijama *C. albicans* i *C. glabrata*. Na hranljivim podlogama obrazuje belo-žute kolonije naborane površine. Može da raste na temperaturama do 45<sup>0</sup>C, dok je otpimalna 37<sup>0</sup>C, i jedna je od retkih



Slika 13. Kolonije *Candida krusei* pod svetlosnim mikroskopom (<http://enologyaccess.org/EA2/images/stories/Microbes/2518c%20cs5.jpg>)

vrsta koja može da raste u medijumu bez vitamina. Od ugljenih hidrata fermentiše samo glukozu. Može se naći u voću, zemljištu, hrani, vinu i pivu kao fakultativni saprob. Međutim, zbog preterane upotrebe antimikotika kod ljudi, poznata je i kao oportunistički patogen (Amaral-Lopes-Moura, 2012). Naime smatra se multi-rezistentnom vrstom zbog razvijene otpornosti na tretman flukonazolom i smanjene osetljivosti na flucitozin i amfoterecin B (Samaranayake i Samanarayake, 1994). Učestalost *C. krusei* kao uzročnika kandidijaza je u porastu i sa

jako visokim mortalitetom (30-60%), naročito kod imunikompromitovanih pacijenata. Osetljiva je na tretman vorikonazolom (Pfaller i sar., 2008).

## 2.7. Opšte karakteristike biljnih vrsta čija su etarska ulja ispitivana

### *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson – ilang ilang



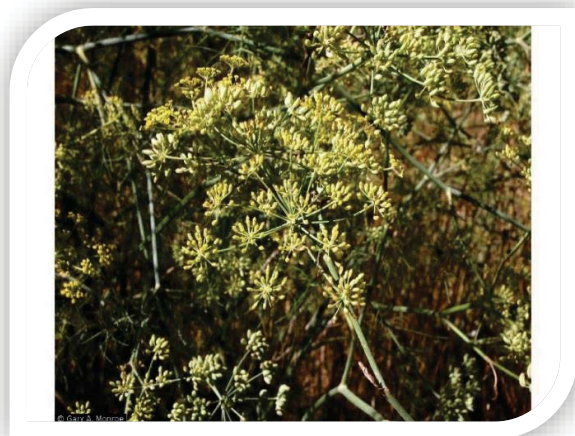
Slika 14. *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson – ilang ilang (Anonaceae)  
([http://plants.usda.gov/gallery/large/caod\\_003\\_lhp.jpg](http://plants.usda.gov/gallery/large/caod_003_lhp.jpg))

*C. odorata* je brzorastuća drvenasta biljka poreklom iz jugoistočne Azije i sa ostrva u Indijskom okeanu (Madagaskar i Komoro ostrvo). Zbog ekonomske vrednosti produkcije ulja, ova biljna vrsta je introdukovana na nekoliko kontinenata, uključujući Afriku i Ameriku. Etarsko ulje *C. odorata* se dobija hidrodestilacijom cvetova (Slika 14), žute je boje i poseduje karakterističan cvetni miris. U njemu

preovlađuju monoterpeni, terpeni i seskviterpeni alkoholi, seskviterpeni ugljovodonici i acetati i fenoli. Upotrebljava se za izradu parfema, šampona i losiona, a osim kozmetičke, ulje našlo primenu i u prehrambenoj industriji (sladoledi, slatkiši) i kao pojačivač ukusa (Gaydou i sar., 1986; Staschenko i sar., 1995).

### ***Foeniculum vulgare* Mill. – morač (Anonaceae)**

Višegodišnja zeljasta biljka koja vodi poreklo uz Sredozemlja a danas se gaji u mnogim zemljama južne Evrope, Azije, Afrike i Južne Amerke (Slika 15). Etarsko ulje ploda sadrži 2-6% ulja čiji je glavni sastojak anetol. Ono je bezbojne do žute boje, prijatnog, blagog mirisa i



Slika 15. *Foeniculum vulgare* Mill. – morač (Anonaceae)

([http://plants.usda.gov/gallery/large/fovu\\_003\\_1hp.jpg](http://plants.usda.gov/gallery/large/fovu_003_1hp.jpg))

2012; Rahimi i Ardekani, 2013).

### ***Pimpinella anisum* L. – anis (Apiaceae)**

Jednogodišnja biljka iz familije Apiaceae (Slika 16), čiji plod sadrži 2-3% etarskog ulja koje u visokom procentu sadrži anetol od koga potiče njegov karakterističan slatkasti miris i ukus. Anis je široko rasprostranjena vrsta koja vodi poreklo sa Mediterana i iz jugozapada Azije, a gaji se širom Evrope zbog svog medicinskog značaja. Plod anisa iz koga se ekstrahuje ulje upotrebljava se u prehrambenoj industriji, naročito za aromatizaciju alkoholnih pića ali i kao dodatak slatkisima, a koristi se i u lečenju problema sa varenjem, kod nadimanja, u lečenju gastričnog ulcera, poseduje laksativno, hemoprotektantsko i antidijabetično dejstvo (Orav i



Slika 16. *Pimpinella anisum* L. – anis (Apiaceae)  
(<http://earthmedicineinstitute.com/wp-content/uploads/2012/06/Anise-2-1024x760.jpg>)

slatkog ukusa. Pored anetola, za ovo ulje su karakteristične još neke komponente fenhon,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, limonen i felandren. Etarsko ulje morača se upotrebljava kod spazmodičnog kašlja, želudačnih tegoba, poremećaja u varenju. Koristilo se za poremećaje sa nadutošću i za ublažavanje dejstva teških purgativa. Svojim veoma prijatnim mirisom i ukusom, pre svega, služi za promenu ukusa medikamenata koji se, inače, nerado uzimaju zbog neprijatnog mirisa i ukusa (Marković, 2011; Rather i sar.,



sar., 2008). Etarsko ulje poseduje antioksidativnu, antikancerogenu, antimikrobnu, antiviralnu i antiamebičnu aktivnost (Shojai i Fard, 2012).

### ***Pastinaca sativa* L. – paškanat (Apiaceae)**



Slika 17. *Pastinaca sativa* L. – paškanat (Apiaceae)  
([http://plants.usda.gov/gallery/large/pasa2\\_008\\_lhp.jpg](http://plants.usda.gov/gallery/large/pasa2_008_lhp.jpg))

karacteriše visok sadržaj (preko 80%) terpinolena i miristicina (Lawrence, 1979; Stahl, 1981).

### ***Anethum graveolens* L. – mirođija (Apiaceae)**

Jednogodišnja biljka, poreklom je iz jugoistočne Azije, a gaji se širom sveta kao kulturna biljka (Slika 18). Zreli plodovi sadrže 3-4 % etarskog ulja. Ulje se ekstrahuje iz prethodno samlevenih plodova procesom hidrodestilacije. Sveže ulje je skoro bezbojna, lako pokretljiva tečnost prijatnog i jakog mirisa na mirođiju, zbog čega se koristi u industriji začina i hrane (Jirovetz, 2003). Glavnim komponentama ovog ulja se smatraju monoterpeni, d-limonen (do 70%) i d-karvon (min. 30%) (Jirovetz, 1994).



Slika 18. *Anethum graveolens* L. – mirođija (Apiaceae)  
(<http://www.tramil.net/fototeca/images/Anethum%20graveolensSTftk.jpg>)

### ***Matricaria recutita* L.- nemačka kamilica (Asteraceae)**



Slika 19. *Matricaria recutita* L.- kamilica (Asteraceae)

(<http://www.szepzold.hu/files/Image/Topor%20Erika%20%C3%9Aj/Kamilla%20vagy%20obsz%C3%A9kf%C5%B1%3F%20Ismerd%20meg%20%C5%91ket!/Chamomile.jpg>)

Jednogodišnja biljka, vrlo rasprostranjena i ima je u gotovo celoj Evropi i Aziji. Etarsko ulje se dobija iz cvetnih glavica (Slika 19) destilacijom vodenom parom, pri čemu prinos ulja varira od 0,2 do 2% (Marković, 2011). Ovo ulje ima prijatnu aromu (slabašna voćna nota) a njegova plavičasta boja potiče od hamazulena koji nastaju tokom samog procesa destilacije. U karakteristične komponente ovog ulja ubrajaju se *trans*- $\beta$ -farnezen,  $\alpha$ -bisabolol oksidi A i B, hamzaulen,  $\alpha$ -bisabolol (ISO19332:2007). Etarsko ulje nemačke kamilice se koristi u parfemima, losionima i preparatima za kosu (Marković, 2011).

### ***Achillea millefolium* L. – hajdučka trava (Asteraceae)**

Višegodišnja zeljasta biljka koja je rasprostranjena širom Evrope, u Sibiru, Himalajima, Kavkazu, severnoj Persiji, takodje introdukovana u Severnu Ameriku, Novi Zeland i južnu Australiju. Etarsko ulje koje se dobija destilacijom nadzemnog dela (Slika 20) ove biljne vrste (0,1 - 1%), plave je boje zbog prisustva azulena, a ostale komponente koje ga karakterišu su cineol, pinen, kamfor, limonen i borneol. Poznate su njegove brojne primene u medicinske, veterinarske i kozmetičke svrhe (Benedek i Kopp, 2007; Applequist i Moerman, 2011; Saeidnia i sar., 2011).



Slika 20. *Achillea millefolium* L. – hajdučka trava (Asteraceae)

([http://swbiodiversity.org/imglib/seinet/Asteraceae/photos/Achillea\\_millefolium\\_020207\\_1.jpg](http://swbiodiversity.org/imglib/seinet/Asteraceae/photos/Achillea_millefolium_020207_1.jpg))

***Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. (Asteraceae)**



Slika 21. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. (Asteraceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a0/Helichrysum\\_italicum\\_ssp\\_serotinum\\_3.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a0/Helichrysum_italicum_ssp_serotinum_3.jpg))

analgetičko i antialergensko delovanje, a često se koristi u preparatima za negu kože.

***Boswellia carterii* Flueck. – tamjan (Burseraceae)**

Listopadno drvo koje može dostići visinu od 2-8 m (Slika 22). Vodi poreklo iz Afrike, Indije i Bliskog Istoka. Poznato je po aromatičnoj smoli koja se koristi u religijskim obredima. Etarsko ulje tamjana dobija se najčešće hidordestilacijom smole. Sastav etarskog ulja zavisi od



Slika 22. *Boswellia carterii* Flueck. – tamjan (Burseraceae)  
([http://www.bbfactory.lv/components/com\\_virtuemart/shop\\_image/product/V\\_raka\\_Fankinc\\_4ac51a2062ae4.jpg](http://www.bbfactory.lv/components/com_virtuemart/shop_image/product/V_raka_Fankinc_4ac51a2062ae4.jpg))

Višegodišnja biljka široko rasprostranjena u mediteranskom delu Evrope (Slika 21). Etarsko ulje se dobija destilacijom zlatno žutihcvetova ove biljke, a njegov sadržaj je jako nizak 0,05%. Bledo žute je boje i jakog voćnog mirisa, sa notom čaja i meda. Komponente koje karakterišu ovo ulje su neril acetat, neril propanoat, pinen, geraniol i geranil-acetat (Viegas i sar., 2014). Ulje smilja poseduje mnoga lekovita svojstva od kojih se izdvajaju protivupalno, antimikrobno,

klimatskih uslova, a dominantne komponente u ulju su pinen, tujen i kamfen. Koristi se u lečenju rana, akni, ožiljaka, strija i bora. Terapija ulja tamjana povoljno deluje na respiratorni sistem i olakšava bronhitis, astmu, sinusitis i prehlade i alergije. U aromaterapiji se koristi za olakšanje stresa, napetosti, histerije i depresije. Istraživanja pokazuju da etarsko ulje tamjana može pomoći u lečenju karcinoma (Frank i sar., 2009; Wooley i sar., 2012).



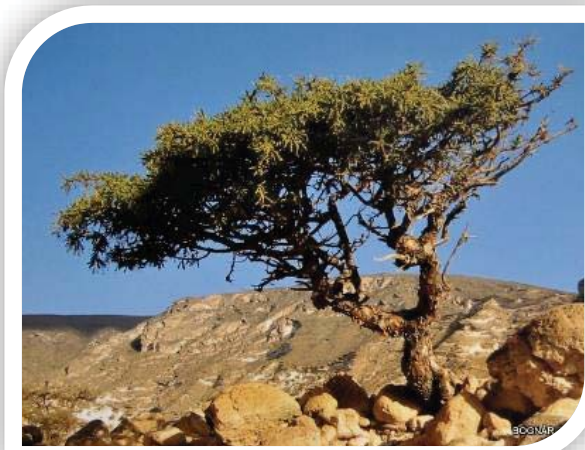
### ***Canarium luzonicum* (Blume) A.Gray – elemi (Burseraceae)**

Drvenasta biljka poreklom sa Filipina, koje raste do visine od čak 30 m. Listovi su u obliku pera, spiralno raspoređeni. U fazi opadanja listova izlučuje oleorezin (Slika 23), viskoznu tečnost polučvrste konzistencije, čijom hidrodestilacijom se dobija etarsko ulje. Glavne komponente etarskog ulja elemija su terpineol, elemicin, elemol, dipenten, felandren i lomonen. Koristi se u terapeutske svrhe kao analgetik, antiseptik i stimulans. Koristi se u lečenju respiratornih infekcija, bronhitisa, kašlja i odstranjivanje viška sluzi. Etarsko ulje elemija se koristi za masažu, kod kožnih infekcija i lečenju rana i posekotina (Mogana i sar., 2011).



Slika 23. *Canarium luzonicum* (Blume) A.Gray – elemi (Burseraceae) (<https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/736x/7b/b9/51/7bb951470aef2f1158fb1a8383d9466a.jpg>)

### ***Commiphora myrrha* (Nees) Engl. – mira (Burseraceae)**



Slika 24. *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. – mira (Burseraceae) (<http://essentialoilslondon.com/wp-content/uploads/2012/02/myrrh-commiphora-myrrha-tree.jpg>)

Trnovita žbunasta ili drvenasta biljka koja vodi poreklo sa Arabijskog poluostrva i iz istočne Afrike (Slika 24). Zarezivanjem grančica, ova biljna vrsta proizvodi oleogumirezine (mešavina smole gume i etarskog ulja). Destilacijom vodenom parom iz oleorezina se dobija gusto ulje bogato seskviterpenima  $\beta$ - i  $\delta$ -elemenima i  $\alpha$ -kopaenom, seskviterpenskimi furanima (kurzeren, furanoeudezmadien, lindestren) čiji sadržaj prelazi 50%. Mira etarsko ulje se u Bibliji spominje kao sastojak

svetog ulja koje su koristili Jevreji u svojim religioznim obredima. U Evropskoj uniji ovo ulje



je registrovano kao kao prirodni začinski ekstrakt za hranu. Jakog je antibakterijskog, antivirusnog i protivupalnog delovanja. Takođe se koristi u kozmetičkoj industriji u izradi parfema i krema, koristi se kod oboljenja desni i prevencije karijesa, u lečenju rana i infekcija, kod problema sa varenjem i kod bolnih menstruacija (Morteze-Semnani i Saeedi, 2003; Marongiu i sar., 2005; Auffray i sar., 2007).

### ***Juniperus communis* L. – kleka (Cupressaceae)**

Zimzeleno jednodomo ili dvodomo drveće ili grmovi, široko rasprostranjeno po celoj Evropi, Severnoj Aziji i Severnoj Americi (Slika 25). Stabla sadrže ili muške ili ženske šišarke, pri čemu se ženske šišarke razvijaju u plavkastocrne bobice. Etarsko ulje se dobija iz suvih ili delimično fermentisanih bobica kleke destilacijom sa vodenom parom, pri čemu je prinos ulja oko 1-3%. Ulje je bezbojno do svetlo žute ili zelenkaste boje, osvežavajućeg prijatnog mirisa, posebno ako potiču sa Balkana. Komponente koje su karakteristične za ovo ulje su  $\alpha$ -pinen, sabinen i mircen, a u manjoj meri su prisutne i  $\beta$ -pinen, limonen, 1-terpinen-4 ol,  $\beta$ -kariofilen,  $\alpha$ -humulen, germakren D i  $\delta$ -kadinen (ISO8897:2012). Ovo ulje se koristi u kulinarstvu kao začim i kao sirovina za proizvodnju alkoholnih pića. Koristi se uglavnom kao diuretik i urinarni antiseptik, i otklanja bolove u mišićima i zglobovima. Poseduje antimikrobno, antiseptičko, antiinflamatorno, antireumatično kao relaksirajućedejstvo (Marković, 2011).



Slika 25. *Juniperus communis* L. – kleka (Cupressaceae)  
(<http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/images/2011/juniperus-communis1.jpg>)

### ***Juniperus virginiana* L. – kedar (Cupressaceae)**

Zimzeleno drveće koje je široko rasprostranjeno u Americi, od jugoistočnog dela Viržinijedo istočnog Teksasa (Slika 26). Etarsko ulje se dobija hidrodestilacijom iz piljevine, fino iscepanog otpada nakon seče stabala kao i iz panjeva. Ulje je bezbojne do nežno žute boje. Karakterišu ga  $\alpha$ -cedren +  $\beta$ -funebren,  $\beta$ -cedren +  $\beta$ -kariofilen, tujopsen, cuparen, cedrol i vidrol (ISO4724:2004). Koristi se za lečenje iritacija kože, ekcema, dermatitisa i akni. Dosta se koristi u tretmanima hemoroida. Etarsko ulje kedrovog drveta ima blagotvorno dejstvo u primeni kod respiratornih infekcija i primenjuje se putem inhaliranja za redukovanje upale



pluća. Studija, na pojedincima pokazuju da primena ulja umanjuje potrebu za korišćenjem pumpica kod astmatičara (Marković 2011).

Slika 26. *Juniperus virginiana* L. – kedar (Cupressaceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Juniperus\\_virginiana\\_Maine.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Juniperus_virginiana_Maine.jpg))

### ***Gaultheria procumbens* L. – zimzelen (Ericaceae)**

*G. procumbens* je niska žbunasta biljka poreklom iz Amerike. Etarsko ulje se dobija destilacijom listova i obiluje metil-salicilatom (Slika 27). Ulje su upotrebljavali još i Indijanci. Obzirom da ima prijatan ukus, koristi se za aromatizovanje žvakaćih guma, slatkiša, pasta za zube i tečnosti za ispiranje usta, a kao deluje protivupalno i snažno analgetski, čest je sastojak ulja za masažu kod reumatskih tegoba, bolnih zglobova, artritisa i istegnuća mišića kao i u lečenju celulita i bakterijskih infekcija (Marković 2011), a pored antimikrobne, dokazano se da poseduje i antiinflamatornu i antioksidativnu aktivnost (Nikolić i sar., 2012).



Slika 27. *Gaultheria procumbens* L. – zimzelen (Ericaceae)  
(<http://www.srgc.org.uk/wisley/2007/241007/Gaultheria%20procumbens.jpg>)

### ***Gaultheria fragrantissima* L. indijski zimzelen (Ericaceae)**

Ugrožena vrsta žbunastog rasta, koja raste na istočnim Himalajima i Zapadnim Gatima na visinama od 1500-2500 m (Slika 28). Etarsko ulje se dobija hidrodestilacijom listova i jako je bogato je metil-salicilatom, što je karakteristika čitavog roda *Gaultheria*. Koristi se u lečenju tegoba kod reumatizma, artritisa, neuralgija. Zbog visokog procenta salicilata, etarsko ulje se koristi i kao biopesticid (Bantawa i sar., 2011).



Slika 28. *Gaultheria fragrantissima* L. indijski zimzelen (Ericaceae) (<http://www.flowersofindia.net/catalog/slides/Fragrant%20Wintergreen.jpg>)

### ***Pelargonium graveolens* L'Hér – geranijum (Geraniaceae)**

Zeljasta žbunasta aromatična kojaspontano raste u Južnoj Africi (Komorska ostrva), a zbog svoje ekonomske vrednosti gaji se u Rusiji, Egiptu, Alžiru, Maroku, Kongu, Japanu, Centralnoj Americi i Evropi. Ulje se dobija iz svežih ili prosušanih listova i / ili cvetnih drški (Slika 29) destilacijom parom, pri čemu prinos ulja varira 1-3 %. U zavisnosti od starosti, boja ulja varira od boje ćilibara do zelenkastožute boje, dok miris varira u zavisnosti od porekla čeka neka su osvežavajuća sa mirisom na limu i ružu dok su druga nežnija i više podsećaju na miris matičnjaka. Bez oobzira na različito

poreklo, karakterističnim komponentama ulja se smatraju cintronelol, geraniol, linalol, menton, izomenton, linalol, guaja-6,9-dien, citronelil format i geranilformat (ISO4731:2006). Ulje geranijuma se široko koristi u izradi parfema, kao i u prehrambenoj industriji radi davanja arome hrani i pićima. Ulje ispoljava antidepresivno dejstvo, deluje adstringentno i hemostatički, reguliše cirkulaciju i u kombinaciji sa



Slika 29. *Pelargonium graveolens* L'Hér – geranijum (Geraniaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8b/Pelargonium\\_graveolens\\_A1.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8b/Pelargonium_graveolens_A1.jpg))

diuretičkim svojstvima koje takođe ispoljava koristi se u borbi protiv celulita i zadržavanja tečnosti u organizmu. Zbog antiseptičkog dejstva koristi se u održavanju oralne higijene.



Takođe, ulje smiruje nervnu napetost i pozitivno deluje kod raznih problema sa kožom (Lawless, 2001; Marković, 2011).

### ***Hyssopus officinalis* L. – izop (Lamiaceae)**

Polužbunasta biljka (Slika 30), rasprostranjena u Mediteranskom području. Uglavnom se gaji radi produkcije ulja. Listovi ove biljne vrste su obostrano pokriveni žlezdama koje obiluju etarskim uljem, pri čemu njihovom destilacijom vodenom parom dobija ostvaruje



Slika 30. *Hyssopus officinalis* L. – hizopus (Lamiaceae)  
([https://www.horizonherbs.com/images/products/Hyssop\\_Hyssopus\\_officinalis.jpg](https://www.horizonherbs.com/images/products/Hyssop_Hyssopus_officinalis.jpg))

prinos 0,3-1%ulja prijatnog, balzamičnog mirisa nalik terpentinu. Karakteristične komponente ovog ulja su  $\alpha$ - i  $\beta$ -pineni, sabinen, limonen, mirtelil metil etar, pinokamfon, izo-pinokamfon,  $\beta$ -burbonen,  $\beta$ -kariofilen, allo-aromadendren, germakren D, elemol i spatulenol (ISO 9841:2007). Ulje se upotrebljava kao antiseptik i stimulans, a koristi se i u farmaciji, parfimeriji i kozmetici (Duke, 2000). Istraživanja potvrđuju pored antimikrobne i antiviralnu aktivnost na HIV virus (Fatemeh i Sanaz, 2014).

### ***Mentha x piperita* L. – pitoma nana (Lamiaceae)**

Ova zeljasta biljna vrsta predstavlja hibrid *Mentha aquatica* i *M. spicata* koji se gaji u mnogim zemljama uljučujući Francusku, Španiju, Italiju, Španiju, Nemačku, Mađarsku, Rusiju, Kinu, Japan, Severnu Ameriku, Kanadu, Južnu Australiju itd. Etarsko ulje se dobija hidrodestilacijom nadzemnog dela biljke (Slika 31) u cvetu (0,3-2%). Dobijeno ulje je bezbojno i bistro sa karakterističnim mirisom koji potiče od mentola. Sastav



Slika 31. *Mentha x piperita* L. – pitoma nana (Lamiaceae)  
(<http://www.gimnazijaso.edu.rs/gornje-podunavlje/biljke/korovi/slike/menta3.jpg>)

etarskog ulja varira u zavisnosti od varijeteta, a karakteristične komponente su mentol, menton, neomentol, 1,8-cineol, limonen, pulegon,  $\beta$ -kariofilen (ISO856:2006). Koristi se za smirenje, protiv povraćanja, grčeva u želudcu i materici, za lečenje gastritisa, pospešivanje cirkulacije, prehlade, promuklosti i kašlja. Posедуje antiseptičko, antiparazitsko i antiviralno dejstvo. Primenjuje se u kozmetici, u izradi žvakaćih guma i likera (Bremnes, 1994; Keifer i sar., 2007; Marković, 2011).

### ***Mentha pulegium* L. – barska nana (Lamiaceae)**

Trajna všegodišnja biljka (Slika 32) koja je ime dobila verovatno zato što raste u plavnim oblastima velikih reka, jezera i bara. Rasprostranjena je u Evropi, Severnoj Americi, Severnoj Africi i na Bliskom Istoku. Etarsko ulje barske nane dobija se destilacijom vodenom parom iz svežih ili delimično osušenih listova i cvetova (1%). Glavna komponenta etarskog ulja je pulegon. Koristi se kao stimulatívno sredstvo, protiv nadimanja, kao anispazmotik i za izazivanje menstruacije. U tradicionalnoj medicini bila je korišćena za regulisanje i normalizaciju menstrualnog ciklusa. Ulje *M. pulegium* se upotrebljavala za lečenje bronhijalnog trakta, poremećaja želuđca i mučninu, za prečišćavanje kontaminirane vode, za glavobolju, vrtoglavicu, otklanjanje glavobolja, za ublažavanje grčeva i slično. (Soares i sar., 2005; Marković 2011).



Slika 32. *Mentha pulegium* L. – barska nana (Lamiaceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7e/Gardenology.org-IMG\\_2751\\_rbgsl1jan.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7e/Gardenology.org-IMG_2751_rbgsl1jan.jpg))

### ***Lavandula angustifolia* Mill. – lavanda (Lamiaceae)**

Polužbunasta biljka koja spontano raste u Južnoj Evropi a gaji se širom sveta kao poljoprivredna kultura. Stoga postoji veliki broj varijeteta, podvarijeteta, sorti i hibrida. Etarsko ulje se dobija destilacijom vodenom parom iz vršnih delova biljke u cvetu, pri čemu je prinos ulja 0,5-1%. Ulje je bezbojno do svetložute boje, karakterističnog mirisa, i sadrži veliki broj komponenti od kojih su karakteristične linalol i linalilacetat, tepinen-4ol, lavandulil acetat, cis- i trans- $\beta$ -ocimeni i  $\alpha$ -terpineol (ISO3515:2002). Ulje se koristi u aromaterapiji za poboljšanje stanja kože, poseduje antispazmolitičku, sedativnu, hipotenzivnu i antiinflamatornu aktivnost. (Soković 2001; Marković 2011; Prusinowska i Smigielski, 2014).



Slika 33. *Lavandula angustifolia* Mill. – lavanda (Lamiaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Lavandula\\_angustifolia\\_01.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/Lavandula_angustifolia_01.JPG))

### ***Thymus algeriensis* Boiss. and Reut (Lamiaceae)**

Žbunasta endemična biljna vrsta koja spontano raste u Severnoj Africi (Tunis i Alžir). Etarsko ulje se dobija iz nadzemnih delova biljke u cvetu (Slika 34) destilacijom vodenom parom (1-2,3%). To je bistra tečnost, žute boje i karakterističnog mirisa, a karakterišu ga komponente timol, p-cimen, terpinen, bornil acetat i borneol. Etarsko ulje je pokazalo inhibitornu aktivnost prema enzimu angiotenzin-I, što ukazuje na potencijalnu antihipertenzivnu aktivnost (Ali i sar., 2010; Zouari i sar., 2012; Guesmi i sar., 2014).



Slika 34. *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut (Lamiaceae) ([http://www.biusante.parisdescartes.fr/sbf/diaporamas/tunisie2008/2%20-%202008-03-29/slides/60%20-%20Thymus%20algeriensis%20Boiss.%20&%20Reut.%20\(Lamiaceae\).JPG](http://www.biusante.parisdescartes.fr/sbf/diaporamas/tunisie2008/2%20-%202008-03-29/slides/60%20-%20Thymus%20algeriensis%20Boiss.%20&%20Reut.%20(Lamiaceae).JPG))

### ***Thymus vulgaris* L. – timijan (Lamiaceae)**

Vrlo razgranata, polužbunasta, široko rasprostranjena biljna vrsta koja spontano raste u Španiji, Maroku, Rusiji, Kini, i uopšte na Balkanu, kao i mnogim drugim delovima sveta. Etarsko ulje se dobija iz delimično suvih biljaka ili cvetova (Slika ) destilacijom vodenom parom, pri čemu daje prinos od 0.5-2%. Boja etarskog ulja varira od narandžaste, preko crvene do braon boje i ima karakterističan slatkast miris. Sastav ovog ulja takođe varira, mada su komponente koje ovo ulje karakterišu timol, cimen, karvakrol i limonen. Pojedinačne komponente, timol i karvakrol, se koriste u farmaceutskoj industriji kao sastojci rastvora za





održavanje oralne higijene, ulaze u sastav krema, parfema, sirupa protiv kašlja i za iskašljavanje. Ulje poseduje antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost, a koristi za dezinfekciju kože i lokalno lečenje gljivičnih oboljenja (Soković, 2001).

Slika 35. *Thymus vulgaris* L. – timijan (Lamiaceae)  
(<http://stripe.colorado.edu/~mitton/images/Thyme%20in%20Flower%20s.JPG>)

### ***Thymus serpyllum* L. – majčina dušica (Lamiaceae)**



Slika 36. *Thymus serpyllum* L. – majčina dušica (Lamiaceae)  
[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2b/Thymus\\_serpyllum\\_flowering\\_plants.jp](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2b/Thymus_serpyllum_flowering_plants.jp)

Višegodišnja žbunasta široko rasprostranjena biljna vrsta koja spontano raste u čitavoj Evropi i Severnoj Africi. Destilacijom vodenom parom nadzemnog dela biljke u cvetu (Slika 36) dobija se 0.5-1% etarskog ulja, čije su karakteristične komponente timol i karvakrol. Ulje je snažan antiseptik. Koristi se za lečenje infekcija organa za disanje i urogenitalnih organa, lečenje migrene, anemije, difterije, kijavice, nesаницe i reume (Raal i sar., 2004; Verma i sar., 2009).

### ***Rosmarinus officinalis* L. – ruzmarin (Lamiaceae)**

Vrlo razgranata žbunasta biljka koja spontano raste na Mediteranu ali i u severnijim klimatima. Spontano uspeva i na suvim, kamenitim uzvišenjima u Alžiru, Bugarskoj, Istočnoj Evropi, Francuskoj, Grčkoj, Italiji, Severnoj Africi. Etarsko ulje ruzmarina se dobija destilacijom vodenom parom grančica i vršnih izdanaka biljke u cvetu, pri čemu je prinos ulja 1-2%. Ulje je bistra tečnost, bezbojne do blede žućkaste boje ispecifičnog mirisa, a karakteristične komponente su  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, kamfen, mircen, limonen, 1,8-cineol, kamfor, bornil-acetat,  $\alpha$ -terpineol, borneol i verbenon (ISO1342:2000). Upotrebljava se kao aromatikum, stimulans, karminativum, antiseptikum i emanogog, a koristi se i u tretmanima tegoba kod reumatizma, glavogoblje, astme, duševne i telesne iznemoglosti i za ispiranje usne





duplje. *R. officinalis* se koristi i kao sredstvo za izbacivanje tečnosti, protiv nadimanja, epilepsije, hemoroida (Soković, 2001; Marković, 2011).

Slika 37. *Rosmarinus officinalis* L. – ruzmarin (Lamiaceae)

(<http://www.public.asu.edu/~camartin/plants/Plant%20html%20files/Rosmarinus%20officinalis%20upright.jpg>)

### ***Salvia lavandulifolia* Vahl. – španska žalfija (Lamiaceae)**

Višegodišnja žbunasta biljka, nativna na prostoru Španije i južnog dela Francuske. Etarsko ulje španske žalfije se dobija destilacijom vodenom parom nadzemnog dela biljke (Slika 38) u cvetu (0.5-2%). Ulje je bezbojno i oporog je mirisa. Karakteristične komponente ulja su kamfor, 1,8-cineol, limonen, borneol,  $\alpha$ -pinen, linalis-acetat,  $\alpha$ -terpinil acetat i sabinil acetat (ISO3526:2005). Koristi se u prehrambenoj industriji za aromatizovanje sladoleda, žvakaćih guma, peciva i pića (Marković, 2011). Obzirom da ispoljava antiseptičko dejstvo koristi se u tretmanima respiratornih i deigestivnih infekcija, a takođe je našlo primenu u izradi, sapuna, kupki, kremi i parfema. Primjenjuje se i kod bolova i grčeva u mišićima i kao stimulans kod anoreksije (Usano-Alemaný i sar., 2012).



Slika 38. *Salvia lavandulifolia* Vahl. – španska žalfija (Lamiaceae)

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/22/Salvia\\_lavandulifolia\\_1.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/22/Salvia_lavandulifolia_1.JPG))

### ***Salvia officinalis* L. – dalmatinska žalfija (Lamiaceae)**

Polužbunasta biljka koja potiče sa mediteranskog područja Hrvatske, Turske, Maroka, Engleske i Francuske i Italije. Etarsko ulje se dobija destilacijom parom listova biljke (Slika 39), pri čemu se ostvaruje prinos 0,5-2%. Ono je bezbojno do žute boje, karakterističnog mirisa na kamfor. Karakteristične komponente ulja su  $\alpha$ -pinen, kamfen, limonen, 1,8-cineol,  $\alpha$ - i  $\beta$ -



Slika 39. *Salvia officinalis* L. – dalmatinska žalfija (Lamiaceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5a/Salvia\\_officinalis0.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5a/Salvia_officinalis0.jpg))

tujoni, kamfor, linalol+linalil acetat, bornil acetat i  $\alpha$ -humulen (ISO9909:1997). Etarsko ulje *S. officinalis* je izolovano radi potreba industrije mirisa i kao polazni materijal koji se koristio za hemijske sinteze. Ulje se koristi i za lečenje promuklosti, čisti krv i jača nerve, reguliše gastrointestinalni trakt, pomaže kod prehlade, katarata i influence. Izvrstan je lek za čišćenje jetre, za bolesti bubrega i protiv noćnog znojenja, naročito tuberkuloznih. (Soković, 2001; Marković, 2011).

### ***Salvia sclarea* L. – muskatna žalfija (Lamiaceae)**

Zeljasta višegodišnja biljka krupnih listova i lepih belo-ljubičastih cvetova (Slika 40), koja spontano raste na Mediteranu, u Centralnoj Evropi do Irana. Etarsko ulje se dobija destilacijom vodenom parom nadzemnog dela biljke u cvetui daje prinos od 1-2% ulja. Ulje je bezbojne do žute boje, jakog mirisa. Karakteristične komponente ulja su linalol, linalil acetat, kariofilen, terpenol, geraniol, neril acetat i germakren-D. Etarsko ulje se koristi kao relaksant i poseduje antidepresivno, antispazmolitičko, antiseptičko, karminativno, digestivno, hipotenzivno i sedativno dejstvo. Koristi se i u proizvodnji sapuna, deterdženata, krema, pudera, parfema i losiona. U prehrambenoj industriji se koristi za aromatizovanje pića (Pena i sar., 1999; Soković, 2001; Džamić i sar., 2008, Marković, 2011).



Slika 40. *Salvia sclarea* L. – muskatna žalfija (Lamiaceae)  
(<http://www.imageflora.com/images/salvia-sclarea-mauve-flower-in-summer-34980.jpg>)

### ***Salvia triloba* L. – grčka žalfija (Lamiaceae)**

Višegodišnja zeljasta polužbunasta biljka, čiji listovi sadrže tri lobusa (Slika 41), po kojima je vrsta i dobila ime. Nativna je na teritoriji Grčke i raste na suvim i sušnim terenima.

Etarsko ulje grčke žalfije je bezbojno do žute boje, prinosa 1.5-3.5%, a u njemu dominiraju komponente 1,8-cineol, kamfor i cineol. Etarsko ulje ove biljke ima dugu tradiciju upotrebe zbog svojih medicinskih i kulinarskih vrednosti. Korsti se za dubok i miran san, opušta miškulaturu, stimuliše rast kose, odlično je sredstvo za negu kože, posebno inficirane. Koristi se za uspostavljanje balansa hormona, cirkulatorne promene i u lečenju hemoroida (Kosar i sar., 2005; Marković, 2011).



Slika 41. *Salvia triloba* L. – grčka žalfija (Lamiaceae)  
(<http://biodiversitysitia.gr/wpsitia/wp-content/uploads/2013/06/Salvia-triloba-1.jpg>)

#### ***Satureja montana* L. – rtanjski čaj (Lamiaceae)**

Višegodišnja žbunasta biljka nativna je u Južnoj Evropi i Sredozemlju. Često se gaji kao začinska biljka. Kompletno je prekrivena žlezdama koje sadrže etarsko ulje a koje se dobija destilacijom vodenom parom nadzemnog dela biljke u cvetu (Slika 42), pri čemu se ostvaruje



Slika 42. *Satureja montana* L. – rtanjski čaj (Lamiaceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Satureja\\_montana\\_1.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Satureja_montana_1.JPG))

prinos ulja 0.8-2%. Karakteristične komponente ovog ulja su karvakrol, cimen, terpinen, terpineol, borneol, linalol. Posедуje veoma jako antiseptičko dejstvo. Deluje imunostimulirajuće i tonizirajuće na celi organizam. Koristi se za lečenje plućnih infekcija, gastrointestinalnih i urogenitalnih infekcija, kod opšteg umora i nervoze, bolesti jetre, nadutosti i grčeva, a koristi se i za jačanje potencije (Damjanović-Vratnica i sar., 2011; Miladi i sar., 2013).



### ***Laurus nobilis* L. – lovor (Lauraceae)**

Zimzeleno drvo ili žbun, sjajnih aromatičnih listova. Raste kao samonikla u primorju, u zimzelenim šumama i makijama. Poreklom je iz male Azije, odakle se proširila po Sredozemlju, a gaji se u raznim delovima sveta kao začinska biljka (Slika 43). Etarsko ulje listova karakterišu komponente 1,8-cineol, eugenol, acetil-eugenol, pinen, linalol, geraniol i terpineol. Ono se koristi kao antiseptik, u tretmanima kožnih osipa, za omekšavanje potkožnih čireva i kvržica, za poboljšanje cirkulacije, kod bolova u mišićima i kod uganuća (Gupta i sar., 2012; Basak i sar., 2013).



Slika 43. *Laurus nobilis* L. – lovor (Lauraceae)  
([http://www.treeseedonline.com/uploads/1/0/2/3/10233208/s468003859194629765\\_p142\\_i4\\_w1677.jpeg](http://www.treeseedonline.com/uploads/1/0/2/3/10233208/s468003859194629765_p142_i4_w1677.jpeg))

### ***Leptospermum petersonii* F.M.Bailey – limunsko čajno drvo (Myrtaceae)**

Drvenasta ili žbunasta biljna vrsta, nativna na istočnoj obali Australije (Slika 44), a gaji se zbog etarskog ulja na plantažama u Keniji, Južnoj Africi i Gvatamali. Etarsko ulje se dobija



Slika 44. *Leptospermum petersonii* F.M.Bailey (Myrtaceae)  
(<http://cdn.lifestyle.com.au/cache/616x306/plants/thumbnails/Leptospermum-petersonii-main.jpg>)

iz listova destilacijom vodenom parom, a karakteristične su komponente citronelal, citral, geraniol i estri. Ulje se koristi se kao aromatik i antiseptik (zbog čega se često upotrebljava za lečenje kožnih infekcija i rana), kaodiuretik, poseduje antiinflamatornu, antiviralnu, antibakterijsku i antifungalnu aktivnost, a deluje i sedativno (Hood i sar., 2010; Heather i Hassan, 2012).

### ***Leptospermum scoparium* J.R. Forst. et G. Forst. – manuka (Myrtaceae)**

Drvenasta ili žbunasta biljka sa lisatom korom i ovalnim šiljatim listovima i roze-belim cvetovima, visine 2-5 m (Slika 45). Vodi poreklo sa Novog Zelanda i jugoistočne

Australije. Etarsko ulje manuke se dobija iz listova destilacijom vodenom parom, a za njega su karakteristične komponente leptospermon, iso-leptospermon, flaveson, kao i pinen, mircen, cimen, 1,8-cineol, linalol i amorfen. Ulje poseduje antimikrobnu, antiinflamatornu aktivnost i koristi se za lečenje kožnih infekcija, iritacija, ekcema i akni (Porter i Wilkins, 1998; Lis-Balchin i sar., 2000).



Slika 45. *Leptospermum scoparium* J.R. Forst. et G. Forst. – manuka (Myrtaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/36/Leptospermum\\_scoparium1.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/36/Leptospermum_scoparium1.jpg))

#### ***Eucalyptus citriodora* W. I. Hooker – limunski eukaliptus (Myrtaceae)**

Drvenasta biljna vrsta koja vodi poreklo sa priobalnog područja južnog Kvinslenda. Zbog produkcije etarskog ulja gaji se u Australiji, centralnoj Africi, južnoj Americi, istočnoj Evropi i Indiji, mada se Kina smatra vodećim proizvođačem u svetu. Etarsko ulje se dobija iz listova i grančica (Slika 46), destilacijom vodenom parom (1,5-2%). Ulje je blede žuta tečnost sa karakterističnim limunskim mirisom koji potiče od karakterističnih komponenti, citronelala i citronelola, a kvalitet ulja određuje i prisustvo neo-isopulegola i isopulegola (ISO3044:1997). Etarsko ulje se koristi u industriji parfema i sapuna, poseduje terapijska svojstva i koristi se za inhaliranje za olakšavanje kongestije i upale disajnih puteva (prehlada, grip, polenska groznica), kao antiseptik, kod kožnih infekcija, rana, kao i za mentalno opuštanje (Lis-Balchin i sar., 2000; Marković, 2011).



Slika 46. *Eucalyptus citriodora* W. I. Hooker – limunski eukaliptus (Myrtaceae) ([http://australianseed.com/persistent/catalogue\\_images/products/eucalyptus-citriodora.jpg](http://australianseed.com/persistent/catalogue_images/products/eucalyptus-citriodora.jpg))

### ***Eucalyptus globulus* Labill. – eukaliptus (Myrtaceae)**

Drvenasta biljna vrsta koja vodi poreklo iz Australije i Tasmanije, pa se odatle proširila u razne delove sveta gde je topla klima. Etarsko ulje se dobija iz listova i grančica (Slika 47) destilacijom vodenom parom (1-3%). Ovo ulje je žute boje, aromatičnog i karakterističnog mirisa na cineol koji je u ulju zastupljen u visokom procentu. Osim 1,8-cineola, ostale karakteristične komponente ula su  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -felandren, limonen, p-cimen, trans-pinokarveol, aromadendren i globulol (ISO770:2002). U narodnoj medicini mirisna antiseptična isparenja ovog ulja su od velike pomoći kod groznice, za lečenje infektivnih bolesti, kod problema sa spavanjem, ispiranje usta i grla, kašlja. Ulje se još koristi u izradi parfema i krema (Marković, 2011; Singh i sar., 2012).



Slika 47. *Eucalyptus globulus* Labill. – eukaliptus (Myrtaceae) ([http://www.australiaplants.com/Eucalyptus\\_globulus\\_JackieAllison.jpg](http://www.australiaplants.com/Eucalyptus_globulus_JackieAllison.jpg))

### ***Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel – čajno drvo (Myrtaceae)**

Drvenasta biljna vrsta nativna na području reka Klarens i Ričmond u Australiji. Niz varijeteta se gaji širom sveta u Australiji, Severnoj Americi, Kini i Južnoj Africi. Etarsko ulje



Slika 48. *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel – čajno drvo (Myrtaceae) (<http://deelish.ie/wp-content/uploads/2012/03/melaleuca-alternifolia.jpg>)

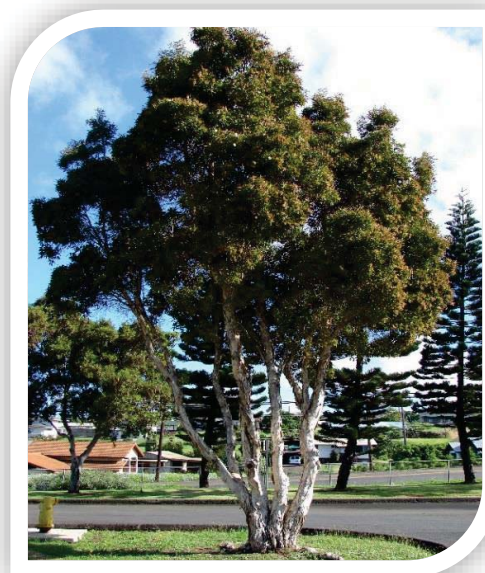
se dobija destilacijom vodenom parom iz listova i grančica (Slika 48), a koje sadrže od 1,5% do 3% ulja. Ovo ulje je bistra do bledo žuta tečnost. U sastav ulja ulazi komponenta terpinen-4-ol koja svojim visokim procentom definiše istoimeni hemotip ulja, a uz nju su karakteristične još i komponente  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ - i  $\gamma$ - terpineni, limonen, p-cimen, terpinolen,  $\alpha$ -terineol, aromadendren, viridifloren,  $\delta$ -kadinen, globulol i viridiflorol (ISO4730:2004). U tradicionalnoj medicini ulje *M. alternifolia* se koristi za inhalaciju u terapiji glavobolje, prehlade i gripa, kod



bakterijskih i gljivičnih infekcija kože. Ovo ulje se Australiji koristi kao kućni lek za atletsko stopalo, posekotine, ogrebotine, razjede, rane, herpes, čireve, gingivitis, bolno grlo, ujede insekata, akne, opekotine i bolove u mišićima. Posедуje antimikrobnu, antiinflamatornu, antioksidativnu, antiviralnu i antiprotozalnu aktivnost a velikim brojem kliničkih studija potvrđen je veliki potencijal ovog ulja (Carson i sar., 2006; Marković, 2011).

#### ***Melaleuca quinquenervia* (Cav.) Blake – niaoli (Myrtaceae)**

Drvenasta biljna vrsta koja raste u priobalju istočne Australije, najčešće na močvarnom zemljištu. Etarsko ulje se dobija iz listova i grančica (Slika 49) destilacijom vodenom parom, a komponente koje su karakteristične za ovo ulje su E-neralidol, viridiflorol, 1,8-cineol, terpineol i linalol. Etarsko ulje poseduje analgetsko, antireumatsko, antiseptičko, baktericidno, insekticidno i stimulatívno dejstvo. U tradicionalnoj medicini ulje se koristi za lečenje kožnih i infekcija respiratornih puteva, kašlja, prehlade, gripa, tuberkuloze. Kao dezinficijens se koristi za čišćenje rana, akni i posekotina (Conde, 1979; Ramanoelina i sar., 1994).



Slika 49. *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) Blake – niaoli (Myrtaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/27/Starr\\_061206-1983\\_Melaleuca\\_quinquenervia.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/27/Starr_061206-1983_Melaleuca_quinquenervia.jpg))

#### ***Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry – karanfilić (Myrtaceae)**

Drvenasta, zimzelena tropska biljka koja raste na Molučkim ostrvima, Filipinima, zapadnoj Indiji i Brazilu, a najveći uzgajivač je Zanzibar. Etarsko ulje se dobija destilacijom vodenom parom iz osušanih cvetnih pupoljaka (Slika 50). Komponente koje su karakteristične za ovo ulje su eugenol,  $\beta$ -kariofilen i eugenol acetat (ISO3142:1997). Ovo ulje poseduje aniseptičko, analgetsko, karminativno, antiinfektivno, insekticidno, stimulatorno i tonično dejstvo, a koristi se i u vodicama za posle brijanja i čest je sastojak orijentalnih parfema (Marković, 2011; Gaylor i sar., 2014).





Slika 50. *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry – karanfilić (Myrtaceae) (<http://tropical.theferns.info/plantimages/5cb4c61f1ebab45a9e35d64f377eb30d40169744.jpg>)

### ***Abies procera* Rehder – plemenita jela (Pinaceae)**

Drvenasta zimzelena biljka rasprostranjena na severu SAD, na nadmorskim visinama od 300 do 1500 m. Listovi ove biljne vrste su u vidu četkastih, mekih iglica plavičasto-zelene boje (Slika 51), i koriste se zajedno sa grančicama za dobijanje etarskog ulja, destilacijom vodenom parom. Karakteristične komponente ovog ulja su  $\alpha$ -,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -felandren i bornil acetat. Ovo ulje se koristi pri izradi sapuna, deterdženta, osveživača, sveća, vodice za ispiranje usta, parfema, aromaterapiji, sprejeva, losiona, krema, proizvoda za negu kože, kozmetike i slično (Hunt, 1993).



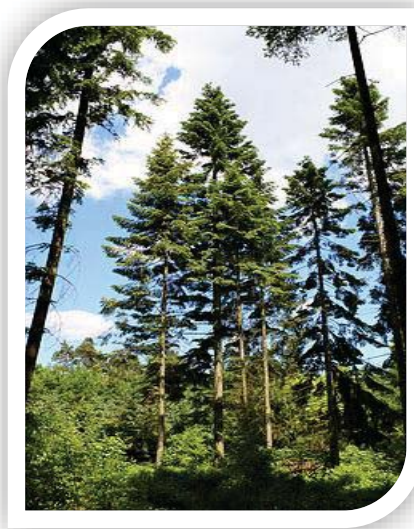
Slika 51. *Abies procera* Rehder – plemenita jela (Pinaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Abies\\_procera\\_'Glauca'\\_-\\_20101120-02.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Abies_procera_'Glauca'_-_20101120-02.jpg))

### ***Abies grandis* (Douglas ex D. Don) Lindley – džinovska jela (Pinaceae)**

Brzorastuća zimzelena drvenasta biljka koja spontano raste na teritoriji severozapada i juga Severne Amerike na nadmorskoj visini od 1800 m. Za dobijanje etarskog ulja destilacijom vodenom parom koriste se iglice i grančice (Slika 52). Karakteristične komponente ulja su  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -felandren i bornil acetat. Etarsko ulje *A. grandis* su koristili još stari Grci i Rimljani u lečenju respiratornih infekcija, kašlja, prehlada, gripa. Upotrebljava se kao osveživač

prostorija, u izradi parfema i losiona, za smirivanje upale mišića i zglobova, kao stimulans, tonik, sredstvo za dezinfekciju i dezodorans (Hunt, 1993).

Slika 52. *Abies grandis* (Douglas ex D. Don) Lindley – džinovska jela (Pinaceae)  
([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/0/02/Abies\\_grandis\\_Rog%C3%B3w\\_6.jpg/240px-Abies\\_grandis\\_Rog%C3%B3w\\_6.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/0/02/Abies_grandis_Rog%C3%B3w_6.jpg/240px-Abies_grandis_Rog%C3%B3w_6.jpg))



### ***Abies alba* Mill. – jela (Pinaceae)**



Slika 53. *Abies alba* Mill. - jela (Pinaceae)  
([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b6/Young\\_Abies\\_alba\\_Zwardo%C5%84.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b6/Young_Abies_alba_Zwardo%C5%84.jpg))

Drvenasta zimzelena biljna vrsta koja je nativna u planinama Evrope, od Pirineja do Normandije, istočno do Alpa i Karpata. Etarsko ulje jele ima veoma prijatan karakterističan miris a dobija se destilacijom vodenom parom iz listova i grančica (Slika 53). Karakteristične komponente ulja su limonen i  $\alpha$ -pinen. Ulje *A. alba* se vekovima koristi širom evropskog kontinenta za lečenje groznice, artritisa, reumatizma, bolova u mišićima i respiratornih problema. *A. alba* poseduje antiseptičko i antimirkobno dejstvo, a koristi se i u aromaterapiji (Bageci i sar., 1996; Yang i sar., 2009).

### ***Pseudotsuga douglasii* (Sabine ex D. Don) Carrière – duglazija (Pinaceae)**

Drvenasta zimzelena biljna vrsta, nativna na zapadu Severne Amerike. Etarsko ulje se dobija destilacijom vodenom parom iz listova i grančica (Slika 54). Karakteristične komponente ulja su  $\alpha$ -,  $\beta$ -pinen, sabinen, terpinolen,  $\delta$ -3-karen. Ulje se koristi kao pojačivač ukusa, žvakaćim gumama, bombonama. U tradicionalnoj medicini se koristi kao anitireumatik, antiseptik, za lečenje rana i kožnih oboljenja. Plemena u Severnoj Americi su upotrebljavali u tretmanima problema sa varenjem, infekcije bubrega i bešike, polnih bolesti i ispiranje usta (Barton, 1972; MacKinnon i sar., 1992).



Slika 54. *Pseudotsuga douglasii* (Sabine ex D. Don) Carrière – duglazija (Pinaceae) (<http://www.derly.fr/images/produit/normal/1994-Pseudotsuga-Douglasii-Menziesii-1366904143.jpg>)

### ***Pinus sylvestris* L. – beli bor (Pinaceae)**

Beli bor spontano raste u Rusiji i baltičkim zemljama, a ima ga i u većini Evropskih zemalja. Listovi su igličasti, plavičaste boje, a kroz njih se pružaju smolni kanali (Slika 55). Etarsko ulje se nalazi u mladim, crvenkastim izdancima (0,4-0,6%). Etarsko ulje je bezbojno do žute boje, ponekad sa zelenkastom notom. Ono deluje moćno na zdravlje ljudi (naročito je okrepljujuće za osobe koje imaju tegobe sa respiratornim organima), koristi se kao antiseptičko sredstvo i sredstvo za iskašljavanje kod hroničnog laringitisa i bronhitisa, za utrljavanje, kao sastojak melema i masti kod reumatizma, uganuća i srodnih stanja, a posebno je popularno u kupkama (Marković, 2011).



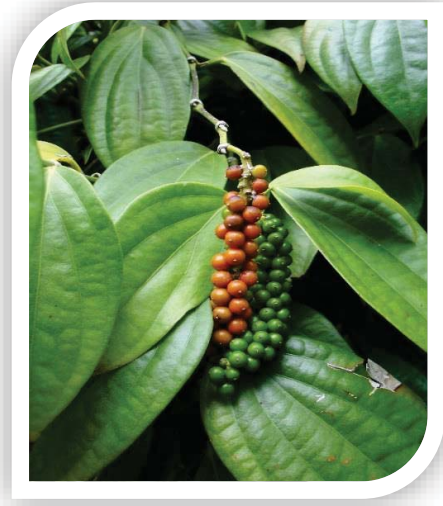
Slika 55. *Pinus sylvestris* L. – beli bor (Pinaceae) ([http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/88/Pinus\\_sylvestris\\_branch.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/88/Pinus_sylvestris_branch.jpg))

### ***Piper nigrum* L. – biber (Piperaceae)**

Drvenasta zimzelena biljka puzavica (), koja se u prirodi penje i uvijaju oko raznog drveća. Poreklo ove biljne vrste je Indija, međutim danas zbog komercijalnog značaja gaji se u drugim tropskim krajevima. Plod joj je bobica i u zavisnosti od načina sušenja razlikuje se crni biber (kuvan i osušen, nezreo plod), zeleni biber (osušen nezreo plod) i beli biber (osušena zrela semenka). Etarsko ulje bibera je bistra tečnost, bezbojna do jako obojena (zeleno, žuto ili



plava) i dobija se destilacijom vodenom parom. Variranje boje i sadržaja mono i seskviterpena se preprisuje varijetetu, načinu čuvanja i prerade komercijalnih bibera. Karakteristične komponente za ulje crnog bibera su  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\delta$ -3-karen, limonen,  $\delta$ -elemen,  $\alpha$ -kopaen,  $\beta$ -kariofilen, germakren D,  $\alpha$ - i  $\beta$ -salineni i kafiofilen oksid (ISO3061:2008). Inhalacija pare etarskog ulja bibera ublažava simptome odvikavanja od pušenja. Ulje bibera koristi se za lečenje kašlja, gripa i bronhitisa, poboljšava cirkulaciju, za masažu za ispiranje grla, za astmu, zubobolju i grčeve zbog nedostatka kalcijuma i smatra se da ublažava vrtoglavicu (Marković, 2011; Ahmad i sar., 2012).



Slika 56. *Piper nigrum* L. – biber (Piperaceae)  
(<http://tropical.theferns.info/plantimages/PiperNigrumFruits.jpg>)

#### ***Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. – palmorosa (Poaceae)**

Višegodišnja trava, nativna u Indiji, a spontano raste na Sejšelima, Indoneziji, Javi, Madagaskaru, Africi i Južnoj Americi. Etarsko ulje se dobija destilacijom vodenom parom iz nadzemnih delova biljke u cvetu (Slika 57) (0,1-0,2%). Karakteristične komponente ovog ulja su geraniol, limonen, linalol, geranil-acetat, farnesol, terpinen, kariofilen, nerolidol, nerol, trans- $\beta$ -Ocimen (ISO4727:1988). Ulje poseduje jako antibakterijsko, antifungalno i antivirusno dejstvo. Koristi za lečenje kožnih infekcija, upala, osipa, akni, ekcema, za ožiljke, bore, u izradi parfema, krema, sapuna i aromatičnih materija. Dominantna komponenta ovog ulja, geraniol, se koristi kao osnovni materijal za proizvodnju širokog dijapazona mirišljavih hemikalija (Prashara i sar., 2003; Marković, 2011).



Slika 57. *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. – palmorosa (Poaceae)  
(<https://havenessence.com/wp-content/uploads/2012/06/palmarosa-300x180.jpg>)

### ***Rosa x centifolia* L. – majska ruža (Rosaceae)**

Žbunasta biljna vrsta koja se komercijalno gaji u Bugarskoj, južnoj Francuskoj, istočnom Kavkazu i Bengalima. Etarsko ulje se dobija iz cvetnih latica pri čemu je prinos ulja oko 1%. Komponente koje karakterišu ovo ulje su geraniol, linalol, citronelol, fenil-etanol, karvon. Etarsko ulje *R. centifolia* poseduje antiseptičko, antivirusno, antimikrobno, laksativno dejstvo, deluje umirujuće na nervni sistem, napetost, stres. Koristi se u lečenju problema sa menstrualnim ciklusom, menopauze, kod glavobolja, migrene. Koristi se i u aromaterapiji jer stimuliše i hidrira kožu, a upotrebljava se i u izradi parfema, krema, losiona, šampona (Lawless, 2001; Jitendra i sar., 2012).



Slika 58. *Rosa x centifolia* L. – majska ruža (Rosaceae)  
(<http://pics.davesgarden.com/pics/2012/01/26/saya/fd54ef.jpg>)

### ***Citrus aurantium* spp. *aurantium* L. – neroli i petitgrein gorke pomorandže (Rutaceae)**

*Citrus aurantium* spp. *aurantium* – gorka pomorandža, raste kao zimzeleno drveće u toplim predelima Severne Afrike, Tunisa, Maroka, Alžira i Libije, Južne Evrope (Slika 59). Etarsko ulje cveta ove biljne vrste se naziva neroli. To je bistra do svetložuta tečnost, koja se dobija destilacijom parom (1-3,6%). Komponente koje karakterišu ovo ulje su linalol, limonen,  $\beta$ -pinen, *trans*- $\beta$ -ocimen,  $\alpha$ -terpineol i linalil acetat (ISO3517:2002). Ovo ulje se upotrebljava u aromaterapiji, kao balag sedativ kod psihosomatskih poremećaja, nesanicice i neroveze, za smanjenje krvnog pritiska, kod kožnih infekcija, protiv slabog varenja. Ono takođe poseduje širok spektar antimikrobne aktivnosti, inhibirajući veliki broj bakterija i gljiva (Soković, 2001; Marković, 2011).

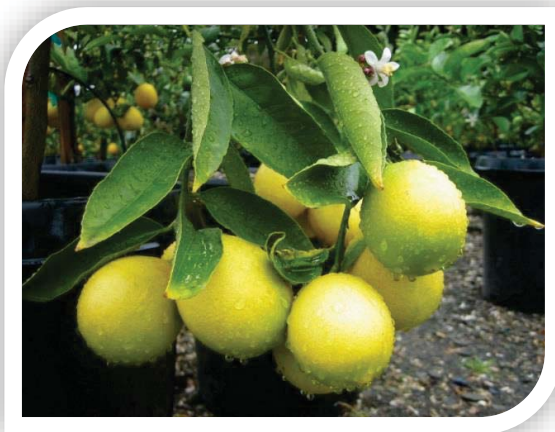
Etarsko ulje lista *Citrus aurantium* spp. *aurantium* naziva se petitgrein gorke pomorandže se dobija i destilacijom lista velikog broja varijeteta i hibrida gorke pomorandže koji spontano rastu u mnogim zemljama Južne Evrope, Afrike, Južne Amerike. Razlikuju se dva tipa ovog ulja, jedno koje se dobija iz listova vrste *C. aurantium* ssp. *amara* iz Paragvaja i drugo iz lista *C. aurantium* koja se gaji uglavnom na Mediteranu. Ulje je bistra tečnost,



Slika 59. *Citrus aurantium* spp. *aurantium* L. – neroli (Rutaceae) (<https://leslitseescitronnees.files.wordpress.com/2013/12/64835938.jpg>)

### ***Citrus limon* (L.) Burm. – limun (Rutaceae)**

Spontano raste kao žbun ili drvo (Slika 60), uglavnom u Argentini, Italiji, Brazilu, na Kipru, Obali Slonovače, Južnoj Africi i SAD, a gaji se u subtropskim krajevima sveta. Etarsko ulje limuna se dobija iz sveže kore procesom hladnog ceđenja pri čemu se dobija od oko 2.5% ulja. Generano postoje tri tipa ulja, u zavisnosti od njegovog porekla, američki, mediteranski i ekvatorijalni tip. Ovo ulje je bistra tečnost, boje koja u zavisnosti od porekla može da varira od svetlo žute do tamno zelene, a komponente koje ga karakterišu su limonen,  $\beta$ - i  $\alpha$ - pineni,  $\gamma$ -terpinen, sabinen,  $\alpha$ -terpineol, neral, geranial, neril- i geranil acetati (ISO855:2003). Ulje se koristi kao sredstvo protiv nadimanja, u kozmetičkim preparatima, sapunima, parfemima, lečenju celulita, povećava funkciju limfe, leukocita, kao osveživač vazduha i vode. Smanjuje nivo holesterola, deluje antiseptičko, stimuliše kožu (Soković, 2001; Marković 2011).



Slika 60. *Citrus limon* (L.) Burm. (Rutaceae) – limun (<http://faroutflora.files.wordpress.com/2010/05/four-winds-growers03.jpg>)

bezbojna do svetlo žute boje, karakterističnog osvežavajućeg mirisa koji podseća na cvet pomorandže a potiče od linalil acetata i linalola koji dominiraju u ovom ulju, a ostale komponente koje ga karakterišu su  $\alpha$ -terpineol, geraniol, mircen, *trans*- $\beta$ -ocimen, neril- i geranil acetat (ISO3064:2000). Ulje je našlo široku primenu u proizvodnji parfema, kozmetike i sapuna (Soković 2001; Marković, 2011).

### 3. Ciljevi rada

Sintetička antimikrobna sredstva, uprkos svom značaju u lečenju, imaju i širok spektar ograničavajućih faktora. Pojava rezistentnosti predstavlja najveći problem u očuvanju opšteg zdravlja ljudi. U cilju prevazilaženja ovog problema, potrebno je pronaći antimikrobna sredstva veće efikasnosti, sa manje neželjenih efekata, a veće biorazgradljivosti. Etarska ulja predstavljaju ogroman potencijal u procesu dobijanja novih medikamenata s obzirom na viševjekovnu primenu u medicini, farmaciji, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji.

Cilj ove disertacije je izolacija i identifikacija mikroorganizama iz usne duplje čoveka glavnih uzročnika oralnih oboljenja, ispitivanje biološke aktivnosti i uticaja etarskih ulja i komponenti odabranih aromatičnih i lekovitih biljaka na izolovane mikroorganizme, određivanje antimikrobnog mehanizma dejstva ispitivanih prirodnih produkata na *S. mutans*, *C. albicans* i *P. aeruginosa* kao model sisteme.

Radi ostvarivanja cilja, postavljeni su sledeći zadaci:

- izvršiti izolaciju i identifikaciju sojeva bakterija i gljiva iz materijala poreklom iz usne duplje pacijenata,
- ispitivanje hemijskog sastava etarskih ulja odabranih aromatičnih i lekovitih biljaka,
- određivanje minimalnih inhibitornih i minimalnih baktericidnih/fungicidnih koncentracija etarskih ulja i komponenti,
- ispitivanje antimikrobne aktivnosti ozona i srebrne vode,
- ispitivanje mehanizma dejstva etarskih ulja pomoću elektronskog mikroskopa,
- ispitivanje međusobne interakcije odabranih etarskih ulja
- ispitivanje antiquorum sensing potencijala odabranih etarskih ulja
- ispitivanje antibiofilm potencijala odabranih etarskih ulja
- ispitivanje citotoksičnosti odabranih etarskih ulja

Dobijeni rezultati predstavljali bi osnovu za primenu razjašnjenih mehanizama dejstva određenih etarskih ulja i komponenti kao i potencijal za dalja istraživanja primene istih u prevenciji i lečenju oralnih bolesti i infekcija, kao i eventualno dizajniranje preparata na bazi etarskih ulja.



## 4. Materijal i metode

### 4.1. Materijal

#### 4.1.1. Mikroorganizmi

U istraživanju su korišćene sledeće vrste bakterija: *Streptococcus pyogenes* (IBR S003), *Streptococcus mutans* (IBR S001), *Lactobacillus acidophilus* (IBR L001), *Streptococcus salivarius* (IBR S006), *Streptococcus sanguis* (IBR S002), *Pseudomonas aeruginosa* (IBR P001), *Enterococcus faecalis* (IBR E001) i *Staphylococcus aureus* (IBR ST001). Za istraživanje antifungalne aktivnosti u *in vitro* uslovima korišćeno je 58 kliničkih izolata vrste roda *Candida* (pedeset pet *C. albicans*, dva *C. glabrata* i jedan *C. krusei*) i dva referentna soja (*C. albicans* ATCC 10231 i *C. tropicalis* ATCC 750). Svi mikroorganizmi su deponovani u Mikoteci Mikološke laboratorije, Odeljenja za biljnu fiziologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu. Uzorkovanje mikroorganizama rađeno je u saradnji sa Klinikom za dečiju i preventivnu stomatologiju, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Prelaženjem sterilnog brisa preko sluzokože usne duplje vršeno je uzorkovanje mikroorganizama iz usne duplje pacijenata. Izolacija i identifikacija bakterija i *Candida* spp. odrađena u Mikološkoj laboratoriji, Odeljenja za biljnu fiziologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“.

#### 4.1.2. Podloge

##### **Triptic Soya Agar/Broth**

kazein pepton.....15g  
soja pepton.....5g  
natrijum hlorid.....5g  
agar.....15g  
destilovana voda.....1l  
pH=7.3±0.2 (reguliše se uz pomoć 1N NaOH)

##### **Luria Bertani Broth/Agar**

tripton.....10g  
ekstrakt kvasca.....5g  
NaCl.....10g  
destilovana voda....1l  
pH=7.0±0.2 (reguliše se uz pomoć 1N NaOH)

### Sabouran Dextrose Agar/Broth

glukoza.....40g  
pepton.....10g  
agar.....15g  
destilovana voda....1l  
pH=5.6±0.2 (reguliše se uz pomoć 1N NaOH)

### Yeast Pepton Agar/Broth

pepton.....10g  
ekstrakt kvasca.....5g  
dekstroza.....20g  
agar.....15g  
destilovana voda....1l  
pH=7.0±0.2 (reguliše se uz pomoć 1N NaOH)

### 4.1.3. Etarska ulja

Ispitivano je 60 komercijalnih etarskih ulja izolovanih iz 47 aromatičnih biljaka iz nekoliko različitih familija (Tabela 1).

Tabela 1. Spisak etarskih ulja aromatičnih biljaka korišćenih u istraživanju

Familija	Vrsta	biljni deo iz koga se ulje dobija	Poreklo / Proizvođač
Annonaceae	<i>Cananga odorata</i> (Lam.) Hook.f. & Thomson	cvet	Thomson
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	plod	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Pimpinella anisum</i> L.	plod	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Pastinaca sativa</i> L.	koren	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Anethum graveolens</i> L.	plod	ILB "dr Josif Pančić"
Asteraceae	<i>Matricaria recutita</i> L. <sup>1</sup>	cvet	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Matricaria recutita</i> L. <sup>2</sup>	cvet	Herba d.o.o.
	<i>Achilea millefolium</i> L. <sup>1</sup>	herba	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Achilea millefolium</i> L. <sup>2</sup>	herba	Elmar
	<i>Helychrysum italicum</i> (Roth) G. Don fil. <sup>1</sup>	cvet	Elmar
	<i>Helychrysum italicum</i> (Roth) G. Don fil. <sup>2</sup>	cvet	Ljubinja
Burseraceae	<i>Boswellia carterii</i> Flueck. <sup>1</sup>	smola	Holandija

	<i>Boswellia carterii</i> Flueck. <sup>2</sup>	smola	Sensient essential oils, Nemačka
	<i>Canarium luzonicum</i> (Blume) A.Gray	oleorezin	Sensient essential oils, Nemačka
	<i>Commiphora myrrha</i> (Nees) Engl.	oleorezin	Sensient essential oils, Nemačka
Cupressaceae	<i>Juniperus communis</i> L. <sup>1</sup>	bobice	Ljekobilje Trebinje
	<i>Juniperus communis</i> L. <sup>2</sup>	bobice	Elmar organic
	<i>Juniperus communis</i> L. <sup>3</sup>	bobice	Prirodno bilje
	<i>Juniperus communis</i> L. <sup>4</sup>	bobice	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Juniperus virginiana</i> L.	piljevina	Belgija
Ericaceae	<i>Gaultheria procumbens</i> L.	list	Kina
	<i>Gaultheria fragrantissima</i> L.	list	Oshadhi, Nemačka
Geraniaceae	<i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér	cvet	Herba d.o.o.
Lamiaceae	<i>Hyssopus officinalis</i> L.	list	Herba d.o.o.
	<i>Mentha x piperita</i> L. <sup>1</sup>	herba	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Mentha x piperita</i> L. <sup>2</sup>	herba	Amerika
	<i>Mentha pulegium</i> L.	list i cvet	Grčka
	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	herba	Ljubinje Hercegovina
	<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. and Reut	herba	Libija
	<i>Thymus vulgaris</i> L.	list i cvet	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Thymus serpyllum</i> L.	herba	Grčka
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	herba	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl.	herba	Beolab d.o.o.
	<i>Salvia officinalis</i> L.	list	Ljekobilje Trebinje
	<i>Salvia sclarea</i> L.	herba	SAD
	<i>Salvia triloba</i> L.	herba	Grčka
	<i>Satureja montana</i> L.	herba	Elmar organic
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L. <sup>1</sup>	list	Panorama
	<i>Laurus nobilis</i> L. <sup>2</sup>	list	Elmar
Myrtaceae	<i>Leptospermum petersonii</i> F.M.Bailey	list	Bergland, Nemačka.
	<i>Leptospermum scoparium</i> J.R. Forst. et G. Forst.	list	Holandija
	<i>Eucalyptus citriodora</i> W. I. Hooker	list i grančice	Oshadhi, Nemačka

	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	list i grančice	Herba d.o.o.
	<i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden & Betche) Cheel <sup>1</sup>	list i grančice	Nemačka
	<i>Melaleuca alternifolia</i> organic (Maiden & Betche) Cheel <sup>2</sup>	list i grančice	Nemačka
	<i>Melaleuca quinquenervia</i> (Cav.) Blake	list	Belgija
	<i>Melaleuca quinquenervia</i> (Cav.) Blake	list	Madagaskar
	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & Perry	cvet	Beolab d.o.o.
Pinaceae	<i>Abies procera</i> Rehder	list i grančice	Rusija
	<i>Abies grandis</i> (Douglas ex D. Don) Lindley	list i grančice	Prirodno bilje
	<i>Abies alba</i> Mill.	list i grančice	Elmar organic
	<i>Pseudotsuga douglasii</i> (Sabine ex D. Don) Carrière	list i grančice	Prirodno bilje
	<i>Pinus silvestris</i> L.	list i grančice	Elmar organic
Piperaceae	<i>Piper nigrum</i> L. <sup>C</sup> crni biber	plod	ILB "dr Josif Pančić"
	<i>Piper nigrum</i> L. <sup>Z</sup> zeleni biber	plod	ILB "dr Josif Pančić"
Poaceae	<i>Cymbopogon martinii</i> (Roxb.) Wats.	herba	Herba d.o.o.
Rosaceae	<i>Rosa x centifolia</i> L.	latice cveta	Maroko
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> spp. <i>aurantium</i> L. <sup>N</sup> neroli	cvast	Italija
	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.	kora	Scents & Sensibility ltd, SAD
	<i>Citrus aurantium</i> spp. <i>aurantium</i> L. <sup>PG</sup> petitgrein	list i grančice	Herba d.o.o.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Izolacija i identifikacija bakterija izolovanih iz usne duplje (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* spp.)

#### 4.2.1.1. Identifikacija vrste roda *Staphylococcus*

Uzorak se zasejava u epruvete sa slanim bujonom. Zasejane epruvete bujona inkubiraju se 24 časa na 37°C. Posle inkubacije slanog bujona zasejanog sa 1 ili 0,1 g, uzorak se ezom presejava na površinu ETGP agara po Baird-Parkeru. Zasejana podloga inkubira se 24 do 48

časova na 37°C. Izrasle kolonije, karakteristične za koagulazu pozitivne stafilokoke, proveravaju se na sposobnost koagulisanja plazme, odnosno na prisustvo fermentata koagulaze.

Testom se utvrđuje otpornost *S.aureus* na selektivne reagense: glicin, litijum i telurit. Redukcija telurita i proteolitička aktivnost koriste se za dokazivanje prisustva *S.aureus*. Pripremi se obogaćena kultura kao što je opisano. Preseje se na odgovarajuću podlogu kao što su ploče podloge (Baird-Parker agar) i inkubira se na 35°C do 37°C 24 h do 48 h. Crne kolonije Gram-pozitivnih koka često okružene bistrim zonama mogu ukazati na prisustvo *S. aureus*. A za katalaza pozitivne koke, potvrda se može uraditi pomoću testova koagulaze i dezoksiribonukleaze. Proizvod prolazi test ukoliko se opisane kulture ne pojave ili ukoliko su biohemijski testovi negativni.

- a) Katalaza test se sastoji u nanošenju 3% vodonik peroksida na ezom uzete velike količine ćelija sa čvrste podloge i posmatra reakcija. Ako bakterije poseduju katalazu doći će do burne reakcije oslobađanja mehurića. *S. aureus* daje katalaza pozitivnu reakciju.
- b) Koagulaza test. Neki infektivni organizmi produkuju koagulazu i na taj način se štite indukujući koagulaciju u okolnom tkivu i time inhibiraju svoju destrukciju fagocitima i antitelima. Test se sastoji u inokulaciji 0,5ml krvne plazme kunića ili konja tretirane antikoagulansom (da bi se sprečila normalna koagulacija, najčešće EDTA) sa većom količinom kulture sa čvrste podloge. Suspenzija treba da bude jako zamućena. Potrebna je i kontrolna epruveta samo sa plazmom. Epruvete zatvoriti sa parafilmom. Inkubacija se vrši na 37°C i posmatra se pojava koaguluma na 24h. Najčešće vreme pojave koaguluma je za 30minuta. *S.aureus* dovodi do pojave koaguluma.
- c) DNK-aza test. Ovo je test koim se detektuje pojava termostabilne DNK-aze. Test se izvodi zagrevanjem kulture na 100°C, 15min i stavljanjem u bunarčiče napravljene u TDA agaru razlivenom na predmetno staklo. Posle 2h inkubacije na 37°C pozitivna reakcija se vidi po pojavi roza boje oko bunarčiča. Bakterijske kolonije koje luče DNK-azu će hidrolizovati DNK iz podloge na manje fragmente. Dalja deteminacija bi trebalo da obuhvata određivanje fermentacije manitola (pozitivna reakcija) i osetljivost na novobiocin.



#### 4.2.1.2. Identifikacija vrste roda *Streptococcus*

Uzorak se zasejava na bujon za beta streptokoke koji se inkubira 18 do 24 časa na 37°C. Posle inkubiranja, kap bujona se prenese na površinu krvnog agara za beta streptokoke i staklenim štapićem pažljivo razmaže. Posle toga se ploče krvnog agara inkubiraju 24 časa na 37°C. Kolonije vrsta roda *Streptococcus* na krvnom agaru stvaraju potpunu hemolizu. Sumnjive kolonije proveravaju se mikroskopski, a zatim se odredi serološka pripadnost grupama A, C i G, precipitacijom ili aglutinacijom. *Streptococcus pyogenes* na krvnom agaru daje reakciju β-hemolize, daje PYR (pyrrolidonyarlamidase) pozitivnu reakciju. *S. mutans*, *S. salivarius* i *S. sanguis* spadaju u tzv. grupu viridans streptokoka. One pokazuju uglavnom α-hemolizu na krvnom agaru i uglavnom nisu osetljive na optohin niti rastvorljive u žučnim solima (neki sojevi su delimično rastvorljivi). Imaju A, C, G ili F antigen, ili uopšte nemaju antigene, ne mogu rasti u 6,5% rastvoru NaCl, daju negativnu Pyr-reakciju (pyrrolidonyarlamidase). *Streptococcus salivarius*: za dokazivanje ove vrste streptokoka dominantan je Urea test na tzv. Christensen's urea agar-u gde se dokazuje sposobnost hidrolize uree. *Streptococcus sanguinis* na krvnom agaru daje reakciju alfa-hemolize, Voges-Proskauer Test (VP) negativna tj. ne rastvara glukozu

Tabela 2. Osnovne biohemijske odlike pojedinih streptokoka

Vrsta	Arginin	Eskulin	VP test	manitol	Sorbitol	Urea
<i>S. mutans</i>		+	+	+	+	-
<i>S. salivarius</i>	-	+	+	-	-	V
<i>S. sanguinis</i>	+	+	-	-	V	-

Hidroliza arginina i eskulina, VP-test (razgradnja glukoze), acidifikacija manitola i sorbitola, hidroliza uree

#### 4.2.1.3. Identifikacija *Lactobacillus acidophilus*

Za dokazivanje prisustva ove bakterije u nekom uzorku prime njuju se: test za bojenje po Gramu (Gram negativna bakterija), test na pokretljivost, pozitivan katalaza i karbohidrat fermentacioni test (podloga sadrži različite šećere: arabinoza, sukroza, maltoza, laktoza, sorbitol i glukoza, a promena boje podloge ukazuje na pozitivnu reakciju).

#### **4.2.1.4. Identifikacija *Pseudomonas aeruginosa***

Tip selektivne podloge i inkubaciona temperatura su supresivni za ostale predstavnike roda *Pseudomonas*. Da bi se izolovala ova vrsta iz pratećih populacija mikroorganizama određuje se tolerancija suspektnih kolonija na cetrimid i njegova sposobnost da raste na temperaturi od 42°C. Inokuliše se bujon kazeina i sojinog zrna sa uzorkom koji se ispituje i inkubira na 35°C do 37°C 24 h do 48 h. Preseje se na ploču podlogu (Cetrimid agar) i inkubira na 35°C do 37°C 24 h do 48 h. Ukoliko se ne pojavi rast mikroorganizama, proizvod prolazi test. Ukoliko se javi rast kolonija gram-negativnih štapića, obično zelene fluorescentne boje, uradi se test oksidaze i testira rast u podlozi (bujon kazeina i sojinog zrna) na 42°C. Proizvod prolazi test ukoliko se opisane kulture ne pojave ili ukoliko je biohemijski test negativan. Na komad filter papira natopljenog sa 2-3 kapi reagensa (po Kovaču) ezom se prenese deo kolonije koja se ispituje, što se može ponoviti više puta ili se može upotrebiti više kolonija. Ako bakterije sadrže oksidazu, indikator pokazuje ljubičasto – smeđu boju čim se deo kolonije stavi na papir.

#### **4.2.1.5. Identifikacija vrsta roda *Enterococcus***

Biohemijske reakcije kojima se identifikuje ova vrsta su: manitol pozitivna-formira kiselinu u bujonu manitola (javljaju se povremeni izuzeci, <3% sojeva ispoljava neuobičajene reakcije), sorboza negativna (ne formira kiselinu u bujonu sorboze), pokazuje varijabilne reakcije u bujonu sorbitola, vrši hidrolizu arginina, pozitivna u VP (Voges Proskauer) testu tj. rastvara glukozu uz stvaranje (pored ostalih jedinjenja) acetilmetilkarbinol, toleratna na 0.04% telurit, koristi piruvat, raste u 6,5% rastvoru NaCl pri temperaturi od 45°C.

#### **4.2.2. Izolacija i identifikacija *Candida* spp. izolovanih iz usne duplje**

Uzorci su inokulisani u aseptičnim uslovima na neselektivnu podlogu Sabourand Dextrose Agar (SDA, Torlak, Srbija). Suspektne kolonije su nakon mikroskopskog pregleda podvrgnute identifikaciji pomoću diferencijalne podloge CHROMagar (Liofilchem, Italija), fenotipske metode (Germ tube test) i biohemijskog API 32C (Biomerix, Francuska) testa. CHROMagar podloga se koristi za identifikaciju tri vrste roda *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei*) na osnovu boja kolonija i specifičnost identifikacije iznosi 99% (Odds i sar., 1994). Potvrda identifikacije urađena je primenom germ-tube testa, koji uključuje indukciju rasta hifa u prisustvu seruma. Kolonija se ezom prenese u ependorf sa serumom (500 µl) i inkubirane na 37° C 2-3 sata. Za proučavanje mikroskopskih karakteristika *C.*

*albicans* pravljene su privremeni mikroskopski preparati i posmatrani optičkim mikroskopom radi utvrđivanja prisustva/odsustva hifa (Leika, type 020-518.500 DM LS, Nemačka). Oko 95% *C. albicans* izolata produkuje hife ili pseudohife (Sheppard i sar., 2008). API 32C test koji se bazira na asimilaciji ugljenih hidrata korišćen je za identifikaciju *Candida* spp (Williams, 2000). Svi izolati gajeni su na hranljivim podlogama: LBA (Torlak, Srbija) TSBA, (Torlak, Srbija) za bakterije i SDA i YPDA, (Torlak, Srbija) za *Candida* spp., pri temperaturi od 37° C. Presejavanje je vršeno nakon 30 dana. Prekonoćne kulture izolata čuvane su u 40% glicerolu na -80°C.

#### **4.2.3. Analiza etarskih ulja (GC/FID i GC/MS)**

Kvalitativna i kvantitativna analiza uzoraka etarskih ulja vršena je gasnohromatografski uz korišćenje dva tipa detektora. Za potrebe klasične analitičke gasnohromatografske analize rađeno je na Agilent Technologies gasnom hromatografu, model 7890A, opremljenom split-splitless injektorom povezanim sa HP-5 kolonom (30 m • 0,32 mm, debljine filma 0,25 µm) i plameno-jonizujućim detektorom (FID). Kao noseći gas korišćen je vodonik (1 ml/min/210°C). Temperatura injektora iznosila je 250°C, detektora 280°C, dok je temperatura kolone menjana u linearnom režimu temperaturskog programiranja od 40-260°C (4°/min).

Isti analitički uslovi korišćeni su i za potrebe GC/MS analize rađene na HP G 1800C Series II GCD analitičkom sistemu, s tim što je tu rađeno sa HP-5MS kolonom (30 m • 0,25 mm • 0,25 µm) i što je kao noseći gas korišćen helijum. Temperatura transfer linije iznosila je 260°C. Maseni spektri snimani su u EI režimu (70 eV), u opsegu m/z 40-400. U svim slučajevima etanolni rastvori uzoraka etarskih ulja (1 µl) injektirani su u split-režimu (1:30).

Identifikacija pojedinačnih komponenti vršena je masenospektrometrijski i preko Kovačevih indeksa, uz korišćenje različitih baza masenih spektara (NIST/Wiley), različitih načina pretrage (PBM/NIST/AMDIS) i raspoloživih literaturnih podataka (Adams). Procenti površine pikova dobijeni integracijom sa odgovarajućih hromatograma (GC/FID) uzeti su kao osnov za knatifikacione svrhe.

#### **4.2.4. *In vitro* testovi za ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja**

Antimikrobna aktivnosti etarskih ulja testirana je *in vitro* korišćenjem mikrodilucione metode (Hänel i Raether, 1988; EUCAST 2002) i bioautografske metode na TLC pločama (Horvath i sar., 2010).

#### **4.2.4.1. Mikodiluciona metoda**

Za ispitivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja, korišćena je mikrodiluciona metoda sa ciljem određivanja minimalnih inhibitornih (MIK) i minimalnih baktericidnih koncentracija (MBK) i minimalnih fungicidnih koncentracija (MFK). Prekonoćne kulture bakterija su gajene na 37<sup>0</sup> C u TSB podlozi, dok su gljive inkubirane na 37<sup>0</sup> C u SDB medijumu. Čelijske suspenzije su standardizovane primenom denzitometra DEN1B (Biosan, Litvanija) i iznosile su 1,0 x 10<sup>6</sup> ćelija/ml za bakterije i 1,0 x 10<sup>5</sup> ćelija/ml za *Candida* spp. Inokulumi su čuvani na hladnom (+4<sup>0</sup> C) do upotrebe. MIK, MIK/MFK određivane su serijskim razblaženjima etarskih ulja biljaka u TSB/SDB medijumu u mikrotitar pločama sa ravnim dnom, 96 sistem (Spektar, Čačak). Zbog lakše vizualizacije rezultata u bunarčice je dodato po 40 µl *p*-jodonitrotetrazolijum (INT, I 8377–Sigma, SAD) boje (Tsukatani, 2012). Minimalne inhibitorne koncentracije su predstavljene kao najmanja koncentracija na kojoj nije bilo vidljivog rasta bakterija i gljiva. Dodatno, minimalne baktericidne/fungicidne koncentracije su određivane reinokulisanjem po 10 µl u 100 µl sterilnog medijuma u mikrotitracionim pločama i inkubirane još 24 časa na 37<sup>0</sup> C. Koncentracija koja ubija 99,5% bakterija/gljiva u odnosu na kontrolnu grupu smatrana je za MBK tj. MFK. Za testiranje su korišćeni komercijalni antimikrobni lekovi: Streptomycin (Sigma, SAD) i Flukonazol (Sigma, SAD), kao i komercijalni proizvodi za dezinfekciju usne duplje, Curasept (ADS, Švajcarska) i Hexoral (Hemofarm, Vršac).

#### **4.2.4.2. Metoda bioautografije na TLC pločama**

Metodom bioautografije ispitana je antimikrobna aktivnost odabranih etarskih ulja i pojedinačnih komponenti. U eksperimentima korišćene su već pripremljene, komercijalne ploče za tankoslojnu hromatografiju (TLC) sa silika gelom na aluminijumu sa fluorescentnim indikatorom debljine 1 mm (Merck, Nemačka). Pre upotrebe ploče su izložene temperaturi od 120<sup>0</sup> C u periodu od 3 sata. Etarska ulja (5 µl/ml) i pojedinačne komponente (5 µl/ml) nanošene su na TLC ploče, a kao mobilna faza korišćen je toluen:etil acetat (93:7, v/v). Nakon separacije TLC ploče su sušene u termostatu 5 min na 90<sup>0</sup> C. Evaluacija separacije određena je pomoću UV lampe na 254 nm. Tako osušene TLC ploče su prskane suspenzijom mikroorganizama i inkubirane u termostatu na 37<sup>0</sup> C 18 sati. Zatim, su ploče prskane rastvorom INT boje (I 8377–SIGMA) u koncentraciji 0.3 mg/ml dH<sub>2</sub>O, i ponovo inkubirane u termostatu. Nakon 3 sata na ploče je nanešen 70% etanol, da bi se zaustavio rast mikroorganizama. Rezultati su očitavani

kao zone inhibicije rasta mikroorganizama u poredelu TLC ploča oko razdvojenih komponenti etarskih ulja kao i standardnih jedinjenja koja su korišćena u analizi (Horvath, 2010).

#### **4.2.5. Ispitivanje atimikrobne aktivnost ozona i srebrne vode**

##### **4.2.5.1. Antimikrobna aktivnost ozona**

Utvrdjivanje antimikrobnog dejstva ozona na mikroorganizme iz usne duplje, rađeno je po metodi Johansson i sar., (2008) sa određenim modifikacijama. U eksperimentu je korišćen generator ozona O<sub>3</sub> Intensive (LAH d.o.o, Hrvatska). Epruvete sa 1 ml suspenzije spora mikroorganizma finalne koncentracije 1.0 x 10<sup>4</sup> ćelija/ml su izlagane dejstvu ozona u trajanju od 30s, 60s i 120s, što je ekvivalentno 0.50, 1,05 i 1,24 mg/ml O<sub>3</sub>. Vreme ekspozicije je kontrolisano pomoću monitora na generatoru ozona. Po završenom tretmanu i vorteksovanju radi homogenizacije suspenzije, 100 µl suspenzije je naneto na čvrste hranljive podloge (TSA i SDA) i inkubirano 24 sata na 37<sup>0</sup> C u termostatu. Nakon inkubacije određen je broj formiranih kolonija. Na osnovu dobijenog broja kolonija stepen inhibicije broja bakterija i gljiva pod uticajem ozona, korišćenjem formule:

$$\% \text{ Inhibicije} = 100((O_k - O_u)/O_k)$$

gde O<sub>k</sub> označava broj formiranih kolonija iz rastvora sa kontrolnim uzorkom, a O<sub>u</sub> broj formiranih kolonija iz rastvora sa ispitivanim uzorkom. Eksperiment je ponovljen tri puta i rezultati su prikazani u vidu procenta inhibicije.

##### **4.2.5.2. Antimikrobna aktivnost srebrne vode**

Mikrodilucionom metodom u mikrotritracionim pločama (96 sistem) (Hanel i Raether, 1998) ispitana je antimikrobna aktivnost srebrne vode. Komercijalno dostupan rastvor srebra (Eko Solar, Srbija) je korišćen u koncentraciji od 5 mg/ml na pet vrsta test mikroorganizama (*S. mutans*, *S. salivarius*, *S. aureus*, *C. albicans* i *C. krusei*.) kao i u prethodnom eksperimentu sa ozonom. Prekonoćne kulture bakterijskih vrsta su kultivisane na 37<sup>0</sup> C u TSB podlozi, dok su gljive inkubirane u SDB medijumu, na 37<sup>0</sup> C. Ćelijske suspenzije su standardizovane primenom denzitometra i njihova koncentracija je iznosila 1,0 x 10<sup>6</sup> ćelija/ml za bakterije i 1,0 x 10<sup>5</sup> ćelija/ml za *Candida* spp. MIK i MBK/MFK određivane su serijskim razblaženjima etarskih ulja biljaka u TSB/SDB medijumu u mikrotitracionim pločama sa ravnim dnom. Rezultati su određivani dodavanjem 40 µl INT boje (Tsukatani, 2012) u bunarčice. Minimalne inhibitorne koncentracije su predstavljene kao najmanja koncentracija na kojoj nije bilo vidljivog rasta mikroorganizama. Minimalne baktericidne/fungicidne koncentracije su



određivane reinokulisanjem po 10 µl u 100 µl čistog medijuma u mikrotitracionim pločama i inkubirane još 24 časa na 37<sup>0</sup> C. Ukoliko nije bilo rasta tj. koncentracija koja ubija 99,5% bakterija/gljiva u odnosu na kontrolnu grupu smatrana je za MBK tj. MFK. Sintetički antibiotik Ampicilin i fungicid Nystatin su korišćeni kao pozitivne kontrole.

Za ispitivanje međusobne interakcije, antibiofilm, antiquorum sensing i citotoksičnog efekta/potencijala kao i morfoloških promena na ćelijama izolovanih sojeva mikroorganizama, korišćena su etarska ulja koja su pokazala najbolju antimikrobnu aktivnost u prethodnim istraživanjima.

#### 4.2.6. “*Checkboard*” metoda ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja

Ispitivanje sinergističkog/antagonističkog potencijala mešavine etarskih ulja u *in vitro* uslovima izvedeno je korišćenjem „*checkerboard*“- metoda šahovske table (Jacqueline i sar., 2005). Finalna koncentracija inokulama bila je 1,0 x 10<sup>6</sup> ćelija/ml za bakterije i 1,0 x 10<sup>5</sup> ćelija/ml za vrste roda *Candida*. Minimalne inhibitorne vrednosti korišćene su kao početne za dalja ispitivanja u mikrotitaracionim pločama. Kombinacija etarskih ulja dodata je testiranim mikroorganizmima u mikrotitracionim pločama 24h na 37<sup>0</sup> C. U cilju ispitivanja interakcija rezultati su izraženi kao Frakcioni Inhibitorni Koncentracioni Indeks (FIKI) koji se izračunava pomoću formule:

$$FIKI = FIK1^0 / MIK1^0 + FIK2^0 / MIK2^0$$

gde su FIK1<sup>0</sup> i FIK 2<sup>0</sup> MIK dobijene vrednosti u prisustvu kombinacije etarskih ulja, a MIK1<sup>0</sup> i MIK2<sup>0</sup> su MIK vrednosti za etarska ulja pojedinačno. Na osnovu vrednosti FIKI, interakcija između etarskih ulja je interpretirano na sledeći način: FIK ≤ 0.5 sinergizam, > 0.5 < 2 aditivno dejstvo, ≥ 2 < 4 indiferentno dejstvo i FIK > 4 antagonizam.

#### 4.2.7. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod *Streptococcus mutans* i *Candida albicans*

Uticaj odabranih etarskih ulja na proces formiranja biofilma *S. mutans* i *C. albicans* određen je mikrodilucionom tehnikom Huang i sar. (2012) i Pierce i sar., (2008) sa modifikacijama. Prekonoćne kulture mikroorganizama su standardizovane denzitometrom na finalnu koncentraciju od 1,0 x 10<sup>6</sup> ćelija/ml za bakterije i 1,0 x 10<sup>5</sup> ćelija/ml za gljive. Biofilm je formiran u mikrotitar pločama sa adhezivnim dnom (Sarsted, SAD) dodatkom 100 µl ćelijske suspenzije ispitivanih mikroorganizama i 100 µl subinhibitornih koncentracija etarskih ulja i inkubirane 24 sata za *S. mutans* i 48 sati za *C. albicans* na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije je sadržaj

ploče odstranjen pipetiranjem, a svaki bunarčić tri puta ispran puferom. Adherirane ćelije su fiksirane sušenjem na vazduhu. Posle sušenja u svaki bunarčić je pipetirano 100 µl boje kristal violet iz seta za bojenje po Gramu (Bio-Merieux, Francuska). Bojenje je trajalo 15 minuta, nakon čega su ploče tri puta isprane i osušene na vazduhu. Da bi se resuspendovala boja, u svaki bunarčić je dodato po 100 µl 96% etanola (Zorka, Šabac). Inhibicija je očitana na automatizovanom Elisa čitaču na talasnoj dužini od 570 nm. Procenat inhibicije računat je po sledećoj formuli:

$$[(\text{OG kontrola} - \text{OG uzorak}) / \text{OG kontrola}] \times 100.$$

OG-optička gustina ili apsorbanca

#### **4.2.8. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na ćelijama *Candida albicans* korišćenjem skening elektronske mikroskopije (SEM)**

Ćelije *C. albicans* ( $1,0 \times 10^6$  ćelija/ml) su gajene 24h na 37<sup>0</sup> C u mikrotitracionim pločama sa 24 bunarčića na čijem dnu su postavljene staklene pokrovne pločice (Thermo Scintific glass coverslips, SAD) u cilju formiranja biofilma. Nakon formiranja biofilma, medijum je uklonjen zajedno sa ćelijama kojima ne ulaze u sastav biofilma. Razblaženja etarskih ulja (MIK vrednosti) su dodata u svaki bunarčić i ploče su inkubirane 6 i 24 sata na 37<sup>0</sup> C. Sve tretirane i kontrolne ćelije su postavljene (24 sata) u fiksativ koji sadrži 2.5% glutaraldehida (Merck, Nemačka). Uzorci su isprani u PBS-u i serijski dehidrirani u rastućoj koncentraciji etanola (25, 50, 75, 95, 100%). Pre mikroskopiranja, uzorci su tretirani hexametildisilazanom-om (HMDS, Polyscienca Europe GmbH, Nemačka), montirani na aluminijumske stubiće i presvučeni slojem zlata u jonskom neparivaču. Tako pripremljeni uzorci su posmatrani na skening elektronskom mikroskopu JOEL JSM5300.

#### **4.2.9. Ispitivanje antiquorum sensing aktivnosti etarskih ulja**

Kao test mikroorganizam odabran je izolat *P. aeruginosa* PAO1 koji se često koristi za ispitivanje *quorum sensing* aktivnosti. Ovaj soj se nalazi deponovan u Mikoteci Mikološke laboratorije, Odeljenja za biljnu fiziologiju, Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na *quorum sensing* aktivnost ispitana je testovima pokretljivosti *twitching* i *swimming* testa i inhibicije sinteze zelenog pigmenta piocijanina, kojeg proizvodi *P. aeruginosa*.

#### **4.2.9.1. Testovi pokretljivosti (*Twiching i flagella test*)**

Testovi pokretljivosti koji obuhvataju “twiching i flagela” test rađeni su po metodi Sandy i Foong-Yee, (2012) sa modifikacijama. U petri kutijama sa 10 ml medijuma dodate su subMIK koncentracije odabranih etarskih ulja. Vršena je inokulacija (1  $\mu$ l) prekonoćnom kulturom *P. aeruginosa* PAO1 (1,0 x 10<sup>8</sup> ćelija/ml) i petri kutije su inkubirane 3 dana na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije opisivane su morfološke karakteristike kolonija (ivice kolonija) i merena zona pokretljivosti pomoću svetlosnog mikroskopa (Leika, type 020-518.500 DM LS, Nemačka).

#### **4.2.9.2. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na inhibiciju sinteze piocijanina kod *Pseudomonas aeruginosa* PAO1**

Ispitivanje uticaja etarskih ulja na sintezu piocijanina vršeno je primenom metode koju su razvili Sany i Foong-Yee (2012) sa modifikacijama. Epruvete sa prekonoćnom kulturom *P. aeruginosa* PAO1 (5 ml), standardizovanoj na OD<sub>600nm</sub>=0,2 dodate su različite koncentracije etarskih ulja rastvorenih u 5% DMSO ( $\leq$ MIK) i inkubirane na 24 h na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije, tretirane kulture su ekstrahovane hloroformom (3 ml) uz dodatak čiste hlorovodonične kiseline (1 ml). Apsorbanca ekstrahovanog organskog sloja, koji predstavlja ekstrahovan pigment piocijanin, merena je spektrofotometrijski na 520 nm (Shimadzu UV1601, Japan). Rezultati su izraženi kao procenat inhibicije sinteze piocijanina dobijeni pomoću formule: (OD<sub>520</sub>/OD<sub>600</sub> x 100). Eksperiment je ponovljen tri puta, a kao pozitivna kontrola korišćen je Streptomycin.

#### **4.2.9.3. Ispitivanje uticaja etarskih ulja na inhibiciju procesa formiranja biofilma kod *Pseudomonas aeruginosa* PAO1**

Ispitivanje uticaja etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1 rađeno je po metodi Stepanović i sar. (2000) sa modifikacijama. Prekonoćna kultura je standardizovana denzitometrom na finalnu koncentraciju od 1,0 x 10<sup>6</sup> ćelija/ml. Biofilm je formiran u mikrotitar pločama sa adhezivnim dnom, dodatkom 100  $\mu$ l ćelijske suspenzije ispitivanih mikroorganizama i 100  $\mu$ l subinhibitornih koncentracija etarskih ulja i inkubirane na 24 sata na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije je sadržaj ploče odstranjen pipetiranjem, a svaka rupica tri puta isprana puferom. Adherirane ćelije su fiksirane sušenjem na vazduhu. Posle sušenja u svaki bunarčić je pipetirano 100  $\mu$ l boje kristal violet iz seta za bojenje po Gramu (Bio-Merieux, Francuska). Bojenje je trajalo 15 minuta, nakon čega su ploče tri puta isprane i osušene na vazduhu. Da bi se resuspendovala boja, u svaki bunarčić je dodato po 100  $\mu$ l 96% etanola (Zorka, Šabac). Inhibicija je očitana na automatizovanom Elisa čitaču na 570 nm talasnoj dužini. Procenat inhibicije računat je po sledećoj formuli:

$$[(\text{OG kontrola} - \text{OG uzorak}) / \text{OG kontrola}] \times 100.$$

OG-optička gustina ili apsorbanca

#### **4.2.10. Ispitivanje citotoksične aktivnosti etarskih ulja**

Citotoksičnost etarskih ulja ispitivana je sulforodamin B testom (Sr-B test) i testom redukcije tetrazola (MTT test). Za ispitivanje citotoksičnosti korišćemo je 11 ćelijskih linija (MCF-7-ćelijska linija kancera dojke, NCI-H460-ćelijska linija kancera pluća, HCT15-ćelijska linija kolorektalnog adenokarcinoma, HeLa-ćelijska linija kancera grlića materice, HepG2-ćelijska linija karcinoma jetre, LS-174-ćelijska linija kancera debelog creva, K562-ćelijska linija humane eritroleukemije, A549-ćelije humanog adenokarcinoma pluća, Fem-X-ćelijska linija melanoma, PLP2- kontrolne ćelije zdrave svinjske jetre i MRC-5-kontrolna ćelijska linija fibroblasta pluća).

##### **4.2.10.1. Ispitivanje citotoksičnosti etarskih ulja Sr-B metodom**

SrB testom (Calhelha i sar., 2014) ispitana je vijabilnost i citotoksičnost sledećih ćelijskih linija: MCF-7, NCI-H 46, HCT15, HeLa, HepG2, PLP2. Ćelije su rutinski održavane u "Roswell Park Memorial Institut mediumu" (RPMI) medijumu koji sadrži 10% inaktiviranog fetalnog govedeg seruma (FGS, Sigma, SAD) (MFK-7, NCI-H 46 i HCT15) i 2 mM glutamina u "Dulbecco's Modified Eagle Medium" (DMEM) medijumu suplementovanom sa 10% FGS, 2 mM glutamina i 100 U/ml penicilina i 100 mg/ml streptomicina (HeLa, HepG2 i PLP2) na 37<sup>0</sup> C u CO<sub>2</sub> inkubatoru (5% CO<sub>2</sub>). Ćelije su postavljene u količini od 7,5 x 10<sup>3</sup> ćelija/bunarčiću za MCF-7, NCI-H460 i HCT15 i 1,0 x 10<sup>4</sup> ćelija/bunarčiću za HeLa, HepG2 i PLP2 u mkrolitarskim pločama. Ćelije su tretirane rastućim koncentracijama etarskih ulja i inkubirane 48h na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije, ćelije su fiksirane 10% trihlosirćetnom kiselinom i inkubirane 60 min na 4<sup>0</sup> C. Mikrotitracione ploče su isprane dejonizovanom vodom i osušene; sulforodamin B rastvor (0,1% u 1% sirćetnoj kiselini) je dodat u svaki bunarčić i ploče inkubirane još 30 min na sobnoj temperaturi. Višak boje je uklonjen i nakon sušenja ploče dodat je pufer hidrosimetil aminometan (Tris) i čitana je apsorbanca na 540 nm na ELX800 čitaču (Bio-Tek Instruments, SAD). Rezultati su izraženi kao IK<sub>50</sub> tj. koncentracija koja dovodi do inhibicije rasta od 50% ispitivanih ćelija. Eksperiment je ponovljen tri puta, a kao pozitivna kontrola korišćen je elipticin.

#### 4.2.10.2. Ispitivanje citotoksičnosti etarskih ulja MTT-testom

Određivanje citotoksičnosti korišćenjem (Supino, 1995) testa 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolijum bromid (MTT test) urađena je na sledeće ćelijske linije: LS-174, K562, A549, Fem-X i MRC-5. Ćelije su gajene u RPMI medijumu sa dodatkom penicilina (192 U/ml), streptomicina (200 mg/ml), 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina (HEPES) (25 mM), L-glutaminom (3 mM) i 10% inaktiviranim fetalnim serumom na 37<sup>0</sup>C u CO<sub>2</sub> inkubatoru (5% CO<sub>2</sub>). Ćelije su postavljene u količini od 7,0 x 10<sup>3</sup> ćelija/bunarčiću (LS-174), 5,0 x 10<sup>3</sup> ćelija/bunarčiću (FemX, A549, MRC-5, K562) i 3,0 x 10<sup>3</sup> ćelija/bunarčiću (HeLa). Ćelije su tretirane rastućim koncentracijama etarskih ulja i inkubirane 48 sati na 37<sup>0</sup> C. Nakon inkubacije, u svaki bunarčić je dodato po 20 µl MTT rastvora (5 mg/ml). Nakon 4 sata inkubacije na 37<sup>0</sup> C, pažljivo je uklonjen medijum koji sadrži MTT i dodato je 100 µl natrijum dodecil sulfata po bunarčiću radi rastvaranja produkta formazana. Nakon 24h pristupilo se očitavanju apsorbance na Multiskan EX200-240V (Thermo, SAD) čitaču na talasnoj dužini od 574 nm. Rezultati su izraženi kao IK<sub>50</sub> tj. koncentracija koja dovodi do smrti 50% ispitivanih ćelija. Eksperiment je ponovljen tri puta, a kao pozitivna kontrola korišćen je hemoterapijski lek *cis*-diamindihloroplatina (CDDP).



## 5. Rezultati i diskusija

### 5.1. Mikroorganizmi izolovani iz usne duplje čoveka

Brisevi iz usne duplje uzeti su od 93 pacijenta koji su posetili Kliniku za dečju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu u periodu od 2010-2011. godine. Od ukupno broja uzoraka 93, 66 uzoraka bilo je pozitivno na *Candida* spp (70.96%), od kojih je identifikovano 60 sojeva *C. albicans*, 3 soja *C. glabrata*, 2 soja *C. krusei* i *C. tropicalis*. Pored navrste *Candida*, 32 uzorka (34.41%) bilo je pozitivno na vrste bakterija iz rodova *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*. Vrste ovih rodova su najčešće prisutne od aerobnih bakterija u usnoj duplji (Brauncajs i sar., 2004). Svi mikroorganizmi su deponovani u mikoteci Mikološke laboratorije, Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković". Nalaz *C. albicans* ne mora biti indikator oboljenja, pošto je nalaz ovog kvasca u usnoj duplji evidentan u 20-75% slučajeva bez vidljivih kliničkih simptoma (Fong i sar., 1997). Incidenca vrsta *Candida* u usnoj duplji čoveka se kreće od 45% kod novorođenčadi, 45-65% kod zdrave dece, 30-45%, zdravih odraslih osoba, 50-65% kod ljudi koji nose proteze, 65-88% kod pacijenata koji provode duže vreme u bolnicama, 90% kod pacijenata sa akutnom leukemijom i 95% pacijenata sa HIV-om (Akpan i Morgan, 2002). Najčešće izolovana vrsta je *C. albicans* (Mohandas i Ballal, 2011), međutim, poslednjih decenija raste broj vrsta kao što su *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilopsis*, *C. dubliniensis* (Namkinga i sar., 2005; Kantheti i sar., 2012).

### 5.2. Analiza hemijskog sastava etarskih ulja odabranih vrsta aromatičnih biljaka

Rezultati analize hemijskog sastava ulja primenom gasne hromatografije sa masenom spektrofotometrijom 60 etarskih ulja poreklom iz sledećih 47 biljnih vrsta *Cananga odorata*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, *Matricaria recutita*, *Achillea millefolium*, *Helichrysum italicum*, *Boswellia carterii*, *Canarium luzonicum*, *Commiphora myrrha*, *Juniperus communis*, *J. virginiana*, *Gaultheria procumbens*, *G. fragrantissima*, *Pelargonium graveolens*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavanulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *Satureja montana*, *Laurus nobilis*, *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*, *M. quinquenervia*, *Syzygium aromaticum*, *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii*, *Pinus silvestris*, *P. nigrum*, *Cymbopogon martinii*, *Rosa centifolia*,

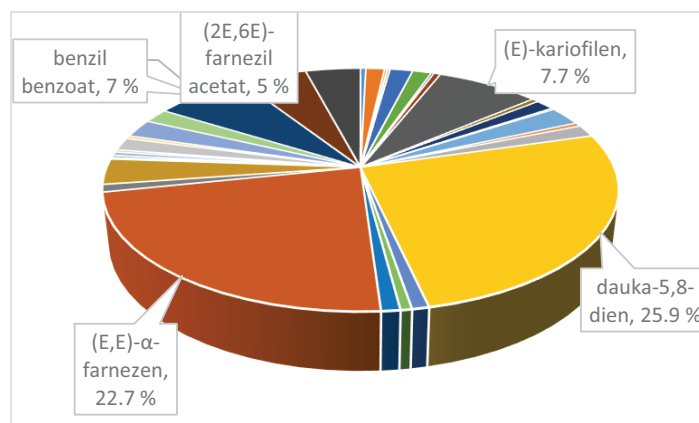
*Citrus aurantium* spp. *aurantium* i *C.limon* prikazani su u tabelama. Etarska ulja odabrana su pre svega zbog njihove tradicionalne upotrebe i na osnovu prethodnih ispitivanja.

Analizom hemijskog sastava etarskog ulja *C. odorata* iz familije Annonaceae identifikovano je ukupno 33 jedinjenja koji čine 99,82% ulja (Tabela 3). Najzastupljenija grupa jedinjenja su seskviterpenski ugljovodonici (72,95%). Dominantne komponente u ulju *C. odorata* su: dauka-5.8-dien (25,9%) i  $\alpha$ -farnezen (22,7%), benzil benzoat (7,0%) i (2E.6E)-farnezil acetat (5,0%) (Slika 61). Prema literaturnim podacima, tipičan hemijski sastav etarskog ulja *C. odorata* podrazumeva prisustvo seskviterpenskih ugljovodonika, alkohola, estra, fenola i aldehida (Burdock i Carabin, 2008). Hongratanaworakit i Buchbauer, (2004) kao glavne komponente ulja izdvajaju metil benzoat (34%), 4-metilanizol (19,82%), benzil benzoat (18,97%), *izo*-kariofilen (9,28%) i garmakren D (8,15%). Brokl i sar., (2013) su identifikovali ukupno 161 jedinjenje u etarskom ulju *C. odorata*, od toga 75 novih jedinjenja koja su po prvi put opisana za ovo ulje.

Tabela 3. Hemijski sastav etarskog ulja iz familije Annonaceae (%)

Komponente	RI	<i>C. odorata</i>
$\alpha$ -pinen	927	0,4
linalol	1098	1,4
$\delta$ -elemen	1327	0,2
$\alpha$ -kubeben	1339	0,2
$\alpha$ -kopaen	1365	1,7
geranil acetat	1378	1,4
$\beta$ -lemen	1382	0,2
ciperen	1387	0,5
( <i>E</i> )-kariofilen	1408	7,7
$\beta$ -duprezianen	1413	0,5
$\beta$ -kopaen	1418	1,4
<i>cis</i> -muurol-3,5-dien	1439	0,2
$\alpha$ -humulen	1442	2,5
<i>cis</i> -muurol-4(14),5-dien	1452	0,5
muurolen	1467	1,6
dauka-5,8-dien	1471	25,9
<i>trans</i> -muurol-4(14),5-dien	1480	0,9
$\gamma$ -amorfen	1484	0,6
$\alpha$ -muurolen	1490	1,0
( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farnezen	1500	22,7
$\gamma$ -kadinen	1502	1,0
$\delta$ -kadinen	1513	3,4
$\alpha$ -kadinen	1527	0,2

Komponente	RI	<i>C. odorata</i>
guaiol	1588	0,3
junenol	1606	0,5
1- <i>epi</i> -kubenol	1617	0,3
<i>epi</i> - $\alpha$ -murolol( $\tau$ -Muurolol)	1631	1,7
$\alpha$ -muurolol(Torreyol)	1636	0,4
$\alpha$ -kadinol	1644	2,4
<i>E</i> -nerolidil acetat	1713	1,9
benzil benzoat	1755	7,0
(2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-farnezil acetat	1832	5,0
benzil salicilat	1859	4,1
<hr/>		
<i>monoterpenski ugljovodonici</i>		0,44
<i>oksidovani monoterpeni</i>		13,95
<i>seskviterpenski ugljovodonici</i>		72,95
<i>oksidovani seskviterpeni</i>		12,47
<hr/>		
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		99,82
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		33



Slika 61. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Cananga odorata*

Kod etarskih ulja *F. vulgare*, *P. anisum*, *P. sativa*, *A. graveolens* iz familije Apiaceae identifikovano je ukupno 52 komponente koji čine 99,80%, 99,89%, 99,93% i 100,00% ulja (Tabela 4). Najzastupljenija grupa jedinjenja su fenilpropeni, izuzev kod ulja *A. graveolens* kod kojeg dominiraju oksidovani monoterpeni (50,41%). Glavne komponente etarskog ulja *F. vulgare* su *trans*-anetol (65,1%) i fenhon (25,6%) (Slika 62). Najzastupljenija komponenta u etarskom ulju *P. anisum* je takođe, *trans*-anetol (80,8%) i metil havikol (6,3%) (Slika 63). Kod *P. sativa* dominiraju terpinolen (39,8%) i miristicin (Slika 64), dok ulje *A. graveolens* za dominantne komponente ima karvon (40,2%), limonen (32,0%),  $\alpha$ -felandren (14,2%) i dietil etar (6,7%) (Slika 65). U literaturi postoje brojni podaci o hemijskom sastavu etarskih ulja iz familije Apiaceae (Christensen i sar., 2006). Prema prethodnim istraživanjima etarsko ulje *F.*

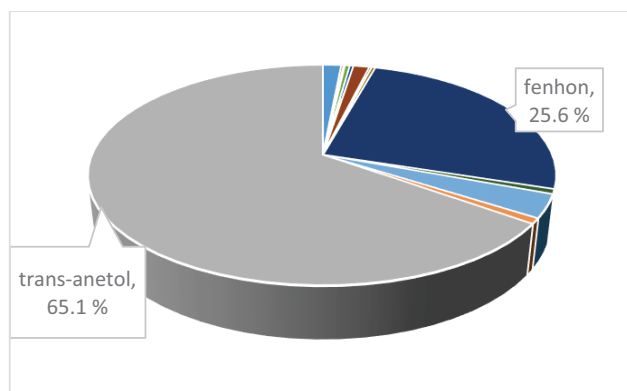
*vulgare* i *P. anisum* je bogato *trans*-anetolom (31-93,7%), mada zastupljenost varira u zavisnosti od dela biljke koji je korišćen za ekstrakciju (Orav i sar., 2008; Miguel i sar., 2010). Etarsko ulje *P. sativa* je poznato po varijabilnom hemijskom sastavu (Stahl, 1981), mada Stahl-Biskup (2010) u svom radu navode terpinolen i miristicin kao glavne komponente ulja korena što je u skladu sa našim rezultatima. Jirovetz i sar. (2003) su utvrdili prisustvo *D*-karvona i *D*-limonena kod ulja *A. graveolens*, dok su Singh i sar., (2005) identifikovali karvon, limonen i dietil apiol kao glavne komponente. Neke od ovih jedinjenja su prisutni i u našem uzorku.

Tabela 4. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Apiaceae (%)

Komponente	RI	<i>F. vulgare</i>	<i>P. anisum</i>	<i>P. sativa</i>	<i>A. graveolens</i>
triciklen	918	-	-	0,1	0.1
$\alpha$ -tujen	923	-	0,6	0,4	0.6
$\alpha$ -pinene	924	1,5	-	-	-
kamfen	938	0,2	-	-	-
sabinen	966	*	-	3,2	-
$\beta$ -pinen	967	0,1	-	-	-
mircen	983	*	-	0,7	0.4
$\alpha$ -felandren	995	0,4	-	0,4	14.2
$\delta$ -3-karen	1003	*	-	-	-
$\alpha$ -terpinen	1008	-	-	0,1	-
<i>p</i> -cimen	1016	0,3	-	0,1	2.0
limonen	1020	1,3	-	2,0	32.0
1,8-cineol	1023	0,2	4,7	-	-
<i>cis</i> - $\beta$ -ocimen	1031	-	-	0,7	-
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1041	-	-	0,2	-
$\gamma$ -terpinen	1050	0,3	-	0,2	-
fenhon	1080	25,6	-	-	-
terpinolen	1086	-	-	39,8	-
linalol	1096	-	1,5	-	-
1,3,8- <i>para</i> -mentatrien	1103	-	-	0,2	-
<i>allo</i> -ocimen	1123	-	-	0,3	-
<i>izo</i> -3-tujanol	1130	-	-	0,1	-
kamfor	1135	0,7	-	-	-
menton	1146	-	-	-	0.4
<i>izo</i> -menton	1156	-	-	-	0.2
<i>neo</i> -mentol	1166	-	-	-	0.3
terpinen-4-ol	1169	-	0,6	0,1	-
dietil etar	1176	-	-	-	6.7
<i>p</i> -cymen-8-ol	1178	-	-	0,9	-
$\alpha$ -terpineol	1186	-	0,8	-	-
<i>cis</i> -dihidro-karvon	1189	-	-	-	1.3

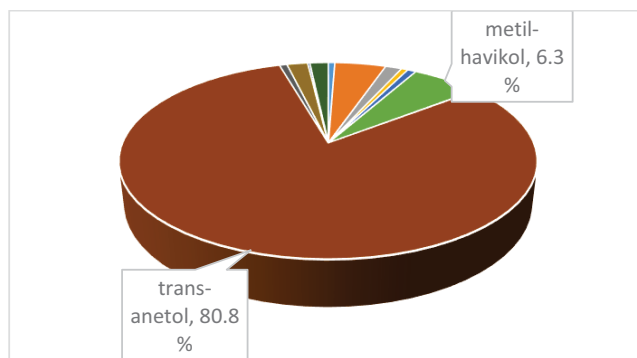
Komponente	RI	<i>F. vulgare</i>	<i>P. anisum</i>	<i>P. sativa</i>	<i>A. graveolens</i>
metil-havikol	1192	3,4	6,3	-	-
<i>trans</i> -dihidro-karvon	1196	-	-	-	1.0
<i>izo</i> -dihidro-karveol	1210	-	-	-	0.1
<i>cis</i> -verbenol acetat	1217	-	-	0,1	-
<i>neoizo</i> -dihidro-karveol	1223	-	-	-	0.3
karvon	1238	-	-	-	40.2
<i>cis</i> -anetol	1247	0,8	0,1	-	-
<i>trans</i> -anetol	1283	65,1	80,8	-	-
<i>trans</i> -verbenil acetat	1291	-	-	0,1	-
$\alpha$ -kopaen	1366	-	0,7	-	-
anisil metil keton	1390	-	1,9	-	-
$\beta$ -longipinen	1396	-	0,2	-	-
<i>cis</i> - $\beta$ -kariofilen	1407	-	-	0,1	-
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1425	-	-	0,2	-
6,9-guaiadien	1440	-	-	0,1	-
amorfa-4,11-dien	1449	-	-	0,3	-
dauka-5,8-dien	1470	-	-	-	0.2
$\gamma$ -himahalen	1476	-	1,7	-	-
$\beta$ -himahalen	1498	-	-	0,3	-
miristicin	1515	-	-	49,0	-
elemecin	1553	-	-	0,3	-
<i>monoterpenski ugljovodonici</i>		4.13	0,59	48,30	49,35
<i>oksidovani monoterpeni</i>		29.83	15,84	1,31	50,41
<i>seskviterpenski ugljovodonici</i>		0.00	2,59	0,95	0,24
<i>oksidovani seskviterpeni</i>		0.00	0,00	0,00	0,00
<i>fenilpropeni</i>		65.85	80,88	49,37	0,00
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		99.80	99,89	99,93	100,00
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		13	12	26	16

\*-u tragovima

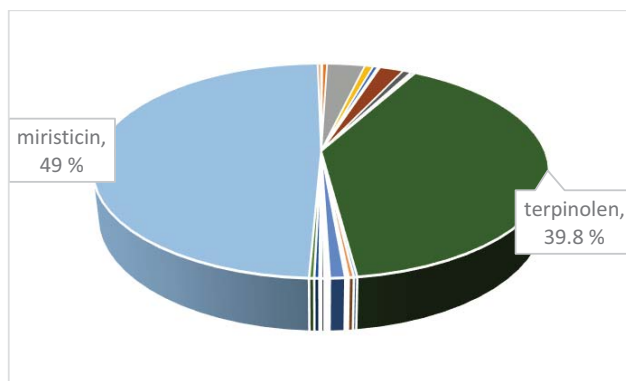


Slika 62 Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Foeniculum vulgare*

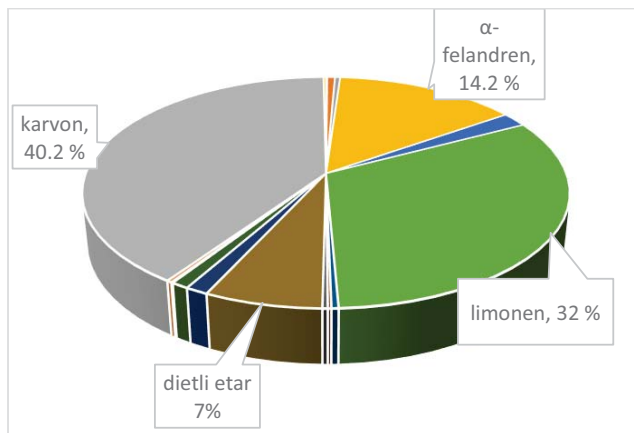




Slika 63. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Pimpinella anisum*



Slika 64. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Pastinaca sativa*



Slika 65. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Anethum graveolens*

Ukupno 100 jedinjenja je identifikovano analizom hemijskog sastava etarskih ulja *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *H. italicum*<sup>1</sup>, *H. italicum*<sup>2</sup> iz familije Asteraceae koji čine 97,57% do 99,96% ulja (Tabela 5). Najzastupljenija grupa jedinjenja kod *M. chamomilla*<sup>1</sup> i *M. chamomilla*<sup>2</sup> su seskviterpeni (61,47% i 65,42%), dok su kod etarskih ulja *A. millefolium*<sup>1</sup> i *A. milefolium*<sup>2</sup> su oksidovani monoterpeni (62,48% i 69,57%), dok kod ulja *H. italicum*<sup>1</sup> i *H. italicum*<sup>2</sup> dominiraju seskviterpenski ugljovodonici (61,4% i 73,4%). Glavne komponente ulja *M. chamomilla*<sup>1</sup> su *trans*-β-farnezen (46,7%), bisabolol-oksidi B (8,1%),

bisabolol oksid (7,4%), hamazulen (6,2%) i bisabolol-oksidi A (5,9%) (Slika 66). Sličan sastav odlikuje i etarsko ulje druge vrste *M. recutita*<sup>2</sup> gde su najzastupljenije komponente *trans*- $\beta$ -farnezen (41,2%), bisabolol-oksidi B (8,8%), bisabolol-oksidi A (8,6%) i hamazulen (7,3%) (Slika 67). Najzastupljenije komponente etarskog ulja *A. millefolium*<sup>1</sup> su *cis*- $\beta$ -ocimen (22,3%), kamfor (8,4%), *cis*-tujon (7,0%), *cis*-jasmon (6,8%) i  $\delta$ -2-karen (5,7%) (Slika 68). Preovlađujuća komponenta etarskog ulja *A. millefolium*<sup>2</sup> je kamfor (42,7%) (Slika 69). Glavne komponente etarskog ulja *H. italicum*<sup>1</sup> su  $\alpha$ -pinen (21,9%),  $\gamma$ -kurkumen (10,9%),  $\alpha$ -ilangen (9,3%),  $\beta$ -akoradien (9,2%),  $\beta$ -hamigren (8,5%), izoitalicen (5,6%) i karvakrol (5,3%) (Slika 70), dok kod *H. italicum*<sup>2</sup> dominiraju sledeće komponente:  $\gamma$ -kurkumen (17,2%),  $\beta$ -selinen (11,4%),  $\alpha$ -pinen (10,7%), kariofilen (9,2%) i arkurkumen (6,0%) (Slika 71). Srivastava i sar. (2010), navode prisustvo sledećih komponenti kod vrste *M. recutita*  $\alpha$ -pinen (22,11%), kamfen (10,8%), sabinen (4%), limonen (5,64%) i 1,8-cineol (6,45%). Ranija istraživanja hemijskog sastava ulja kamilice pokazala su da su uglavnom zastupljeni seskviterpeni, flavonoidi i kumarini (Singh i sar., 2011). Orav i sar., (2010) su identifikovali preko 120 komponenti ulja kamilice uključujući 28 terpenoida, 36 flavonoida i 52 dodatne komponente sa potencijalnim farmakološkim potencijalom. Sabinen (17,58%), 1,8-cineol (13,04%), borneol (12,41%), bornil acetat (7,98%),  $\alpha$ -pinen (6,28%),  $\beta$ -pinen (6,26%), terpinin-4-ol (6,17%) i hamazulen (5,28%) su dominantne komponente ulja *A. millefolium* iz Indije (Nadim i sar., 2011). Dosadašnja fitohemijska istraživanja etarskog ulja hajdučke trave pokazala su da komercijalni i uzorci iz prirode pokazuju isti hemijski sastav, ali je očigledna razlika u procentualnoj zastupljenosti određenog broja komponenti (Dias i sar., 2013). Prema dosadašnjim istraživanjima hemijski sastav ulja *H. italicum* je u skladu sa literaturnim podacima (Mastelic i sar., 2005). Cristofari i sar. (2012) izdvajaju oksidovane monoterpeone kao najzastupljeniju grupu i neril acetat kao dominantnu komponentu u ulju *H. italicum*. Izvesne razlike u hemijskom sastavu objašnjavaju se postojanjem nekoliko karakterističnih hemotipova za ovo ulje (monoterpenski, geraniol i geranil-acetat i seskviterpenski hemotip) (Angioni i sar., 2003).

Tabela 5. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz porodice Asteraceae (%)

Komponente	RI	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>1</sup>	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>2</sup>	<i>A.</i> <i>millefolium</i> <sup>1</sup>	<i>A.</i> <i>millefolium</i> <sup>2</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>1</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>2</sup>
santolina trien	902	-	-	0,6	-	-	-
triciklen	917	-	-	-	0,4	-	-
$\alpha$ -tujen	923	-	0,1	0,1	-	-	-
$\alpha$ -pinen	924	-	-	4,2	3,2	21,9	10,7
$\alpha$ -fenhen	941	-	-	-	-	0,3	-
kamfen	938	-	-	1,2	4,5	0,3	0,3
sabinen	968	0,1	0,2	5,2	1	-	-

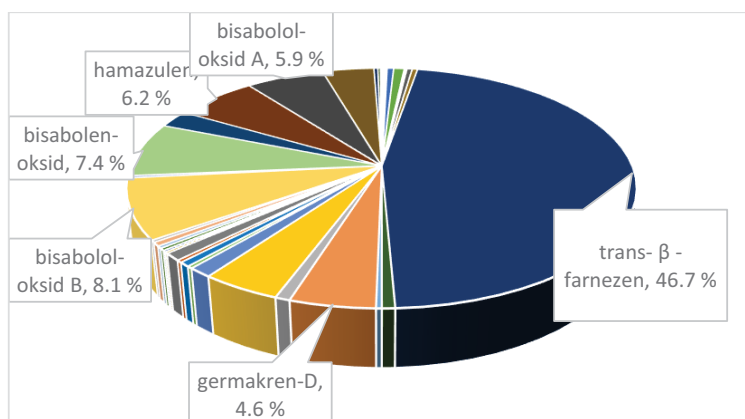
Komponente	RI	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>1</sup>	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>2</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>1</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>2</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>1</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>2</sup>
<i>β</i> -pinen	966	-	-	1,6	4,2	0,3	0,2
dehidro-1,8-cineol	983	-	-	0,8	-	-	-
jomogi alkohol	999	0,1	-	0,2	0,2	-	-
<i>δ</i> -2-karen	1009	-	-	5,7	-	-	-
<i>α</i> -terpinen	1010	-	0,1	-	0,1	0,1	-
<i>p</i> -cimen	1019	0,1	0,2	2,6	0,7	0,3	0,2
<i>β</i> -felandren	1020	-	-	-	-	-	-
limonen	1021	-	0,5	0,6	0,3	2,3	1,3
<i>1,8-cineol</i>	1026	0,1	-	-	3	0,7	0,2
<i>cis-β</i> -ocimen	1033	-	0,2	22,3	-	-	-
<i>trans-β</i> -ocimen	1044	0,5	0,2	-	-	-	-
<i>γ</i> -terpinen	1051	-	1,2	2	-	-	-
izobutil angelat	1053	-	-	-	-	0,2	0,3
artemisia keton	1058	0,8	1,7	0,2	1,5	-	-
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1060	-	-	0,6	-	-	-
artemizia alkohol	1077	-	-	0,5	-	-	-
terpinolen	1080	-	-	0,3	-	-	-
<i>α</i> -terpinolen	1081	-	-	-	-	0,7	0,2
<i>trans</i> -sabinen hidrat	1091	-	-	1,2	-	-	-
linalol	1095	-	-	1,6	-	-	0,5
<i>cis</i> -tujon	1097	-	-	7	0,8	0,8	-
endo-fenhol	1113	-	-	-	-	0,2	-
<i>trans</i> -tujon	1108	-	-	3,4	1,7	-	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1131	-	-	-	-	0,2	-
hrizantenon	1117	-	-	1,4	0,3	-	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1130	-	-	0,8	-	-	-
kamfor	1134	-	-	8,4	42,7	1	0,5
menton	1146	-	-	0,8	-	-	-
<i>izo</i> -amil tiglat	1153	-	-	-	-	0,2	-
pinokarvon	1154	-	-	2,7	0,6	-	-
<i>cis</i> -hrizantenol	1164	-	-	-	3	-	-
borneol	1157	-	-	0,4	5,2	0,2	-
mentol	1166	-	-	1,8	-	-	-
terpinen-4-ol	1176	-	-	-	1,1	0,8	-
<i>α</i> -terpineol	1183	-	-	2,1	0,6	0,3	-
mirtenal	1194	-	-	-	0,4	-	-
verbenon	1203	-	-	0,3	-	-	-
<i>trans</i> -hrizantenil acetat	1227	-	-	0,3	-	-	-
askaridol	1230	-	-	0,9	-	-	-
<i>cis</i> -hrizantenil acetat	1247	-	-	0,5	2,7	-	-
linalil acetat	1249	-	-	0,6	-	-	-
<i>cis</i> -verbenil acetat	1253	-	-	0,9	-	-	--
izobornil acetat	1277	-	-	0,6	1,6	-	0,3

Komponente	RI	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>1</sup>	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>2</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>1</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>2</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>1</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>2</sup>
bornil acetat	1283	-	-	-	3	-	-
lavandulil acetat	1284	-	-	1,8	0,6	-	0.2
<i>trans</i> -sabinil acetat	1285	-	-	0,5	-	-	-
<i>trans</i> -pinocarvil acetat	1286	-	-	0,6	-	-	-
karvakrol	1299	-	-	-	-	5,3	0.2
$\delta$ -elemen	1327	-	1,1	-	-	-	-
bicikloelemen	1332	0,1	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -karvil acetat	1338	-	-	-	0,3	-	-
$\alpha$ -terpinil acetat	1341	-	-	0,5	-	-	-
neril acetat	1360	-	-	-	-	0,3	4.1
ciklosativen	1361	-	-	-	-	0,5	-
<i>cis</i> -karvil acetat	1363	-	-	-	0,3	-	-
$\alpha$ -kopaen	1365	-	-	0,3	0,3	-	-
$\alpha$ -ylangen	1370	-	-	-	-	9,3	0.3
$\alpha$ -kopaen	1371	-	-	-	-	1,2	3.9
$\beta$ -bourbonen	1379	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -izokomen	1380	0,1	0,1	-	1,2	-	-
$\beta$ -elemen	1387	0,4	0,8	-	-	-	-
7- <i>epi</i> -seskvi tujen	1388	-	-	-	0,3	-	-
<i>trans</i> -jasmon	1392	-	-	0,4	-	-	-
<i>cis</i> -jasmon	1393	-	-	6,8	-	-	-
izo-italicen	1398	-	-	-	-	5,6	-
italicen	1399	-	-	-	-	-	4.5
$\alpha$ - <i>cis</i> -bergamoten	1411	-	-	-	-	1,1	0.9
( <i>E</i> )-kariopfilen	1412	-	-	-	-	3,6	9.2
<i>trans</i> - $\beta$ -kariofilen	1413	0,4	0,3	2,5	2,6	-	-
$\beta$ -kopaen	1424	-	-	-	0,2	-	-
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1432	-	-	-	-	0,7	0.8
$\alpha$ -humulen	1442	-	-	0,3	0,5	0,5	3.9
neril propanoat	1451	-	-	-	-	0,3	0.7
aloaromadendren	1451. 1	-	-	-	-	0,4	0.7
<i>trans</i> - $\beta$ -farnezen	1455	46,7	41,2	-	-	-	-
$\alpha$ -akoradien	1459	-	-	-	-	1,7	0.2
$\beta$ -akoradien	1460	-	-	-	-	9,2	0.3
dihidro-seskvicineol	1465	0,7	0,3	-	-	-	-
dauka-5,8-dien	1470	-	3,9	2,1	0,6	-	-
$\beta$ -hamigren	1472	-	-	-	-	8,5	1.9
$\gamma$ -murolen	1475	0,3	-	-	4,1	-	-
germakren-D	1476	4,6	-	-	-	-	-
$\gamma$ -kurkumen	1477	-	-	-	-	10,9	17.2
ar-kurkumene	1480	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -selinen	1481	0,8	0,2	-	-	4,6	6
$\beta$ -selinen	1482	-	-	-	-	0,4	11.4

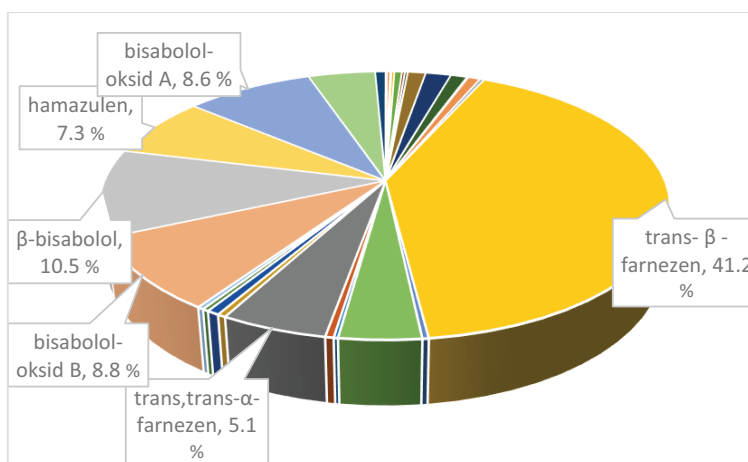
Komponente	RI	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>1</sup>	<i>M.</i> <i>recutita</i> <sup>2</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>1</sup>	<i>A.</i> <i>milefolium</i> <sup>2</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>1</sup>	<i>H.</i> <i>italicum</i> <sup>2</sup>
$\gamma$ -amorfen	1488	4,3	-	-	-	-	-
biciklogermakren	1491	1,3	0,4	-	-	-	-
$\alpha$ -selinen	1492	-	-	-	-	0,9	5,3
$\alpha$ -muurolen	1496	-	-	-	-	0,4	0,7
<i>trans,trans</i> - $\alpha$ - farnezen	1499	-	5,1	-	-	-	-
$\gamma$ -kadinen	1502	-	0,4	-	-	-	-
$\delta$ -amorfen	1503	-	-	-	-	-	0,7
$\gamma$ -kadinen	1504. 2	-	-	-	-	0,5	0,7
$\beta$ -kurkumen	1509	-	-	-	0,2	1,1	1,3
seskvi cineol	1510	-	-	-	1,2	-	-
$\delta$ -kadinen	1516	-	-	-	-	0,4	2,2
$\alpha$ -kadinen	1520	0,3	0,6	-	0,8	-	0,2
<i>trans</i> -1,4-dien-kadina	1529	-	-	-	-	0,5	-
$\alpha$ -kalakoren	1540	-	-	-	-	-	0,7
<i>trans</i> -nerolidol	1559	0,6	0,3	-	-	-	0,7
kariolan-8-ol	1564	-	-	-	0,1	-	-
<i>trans</i> -dendrolasin	1568	0,3	-	-	-	-	-
spatulenol	1572	1	0,3	-	-	-	-
kariofilen-oxid	1577	0,2	-	0,4	1	0,3	0,5
glenol	1582	-	-	-	-	-	0,2
salvial-4(14)-en-1-on (mint keton)	1587	0,2	-	-	-	-	-
$\alpha$ -guaiol	1589	-	-	-	-	0,2	0,2
viridiflorol	1599	-	-	-	0,6	-	-
ledol	1600	-	-	-	0,8	-	-
5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - $\alpha$ - eudezmol	1605	-	-	-	-	-	0,5
guaia-6,10(14)-dien- 4 $\beta$ -ol	1606	0,3	-	-	-	-	-
eudesm-5-en-11-ol	1607	-	-	-	-	0,5	1
helifolen-12-al	1611	0,3	-	-	-	-	0,2
<i>epi</i> - $\alpha$ -murolol	1626	-	-	-	1	-	-
nerolidol-oxid	1627	0,5	-	-	-	-	0,3
izospatulenol	1633	0,3	-	-	-	-	0,2
$\beta$ -eudezmol	1639	-	-	0,1	-	-	-
bisabolol-oxid B	1656	8,1	8,8	-	-	-	-
izoaromadendren- epoksid	1659	0,3	-	-	-	-	-
bisabolen-oxid	1674	7,4	-	-	-	-	1,3
$\beta$ -bisabolol	1680	-	10,5	-	-	-	0,3
$\alpha$ -bisabolol (Levomenol)	1684	2,4	-	-	-	-	0,2
hamazulen	1727	6,2	7,3	-	0,5	-	-
bisabolol-oxid A	1749	5,9	8,6	-	-	-	-
<i>cis</i> -spiroetar	1879	3,9	4,5	-	-	-	-
<i>trans</i> -spiroetar	1890	0,3	0,7	-	-	-	-



1,4-dimetil-7-(1-metiletil)-azulen-2-ol	1945	0,2	-	-	-	-	0,2
n-trikozan	2292	0,1	-	-	-	-	-
<i>monoterpenski ugljovodonici</i>		0.68	2,7	24,8	17,47	26,4	13,1
<i>oksidovani monoterpeni</i>		1.03	1,67	62,28	69,57	10,5	6,5
<i>seskviterpenski ugljovodonici</i>		65.42	61,47	5,11	11,27	61,4	73,4
<i>oksidovani seskviterpeni</i>		26.17	28,84	0,47	4,67	1	6,1
<i>spiroetri</i>		4,2	5,13	-	-	-	-
<i>alifatični ketoni</i>		-	-	7,2	-	-	-
<i>viši alkani</i>		0.07	-	-	-	-	-
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		97.57	99,81	99,82	99,96	99,3	99,1
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		37	29	47	44	46	52

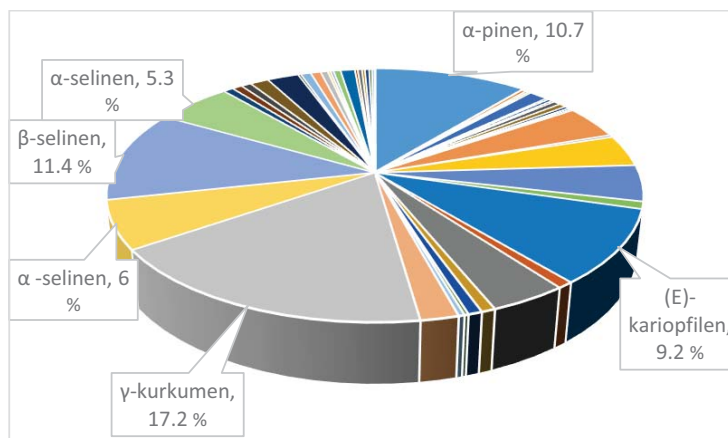


Slika 66. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Matricaria recutita*<sup>1</sup>



Slika 67. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Matricaria recutita*<sup>2</sup>





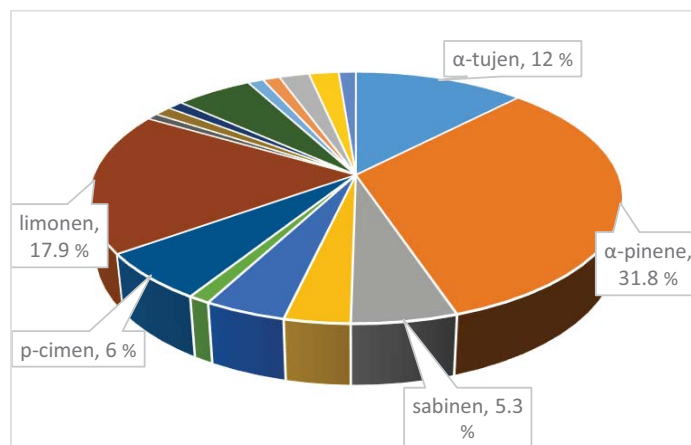
Slika 71. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Helichrysum italicicum*<sup>2</sup>

Analizom etarskih ulja *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum* i *C. myrrha* iz porodice Bursecaceae identificirano je ukupno 39 komponenti koji čine od 94,89% do 97,89% ulja (Tabela 6). Najzastupljenija grupa jedinjenja čine monoterpenski ugljovodonici (81,69%, 45,83% i 59,57%), dok kod *C. luzonicum* etarskog ulja najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani seskviterpeni (86,38%). Dominantne komponente ulja tamjana<sup>1</sup> su:  $\alpha$ -pinen (31,8%), limonen (17,9%) i *trans*-kariopfilen (5,4%) (Slika 72). Sličan hemijski sastav ima i drugo ulje tamjana<sup>2</sup>, gde su glavne komponente:  $\alpha$ -pinen limonen i *trans*-kariopfilen zastupljene u drugačijem odnosu (23,0%, 10,9%, 8,3%) (Slika 73). Najzastupljenije komponente etarskog ulja *C. luzonicum* su: limonen (45,6%), elemol (21,4%), elemecin (6,2%), i  $\alpha$ -filandren (6,0%) (Slika 74). Curzeren (34,7%), furanoeudeznanol 1,3-diene (32,8%) i lindestren (10,2%) su dominantne komponente etarskog ulja *C. myrrha* (Slika 75). Rezultati prethodnih istraživanja, kao i rezultati dobijeni u okviru ispitivanja u ovoj disertaciji, ukazuju na sličnosti u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu etarskog ulja tamjana (Hanuš i sar., 2008; Baser i sar., 2009). Prema podacima iz literature glavne komponente etarskog ulja elemi su elemol, elemecin i  $\alpha$ -felandren i čine 79,2% ukupnog ulja (Villanueva i sar., 1993). Od sekundarnih metabolita koji su najčešće prisutni u ulju *C. luzonicum* su terpeni (mono, di, tri i seskviterpeni), karboksilne kiseline, kumarini, furani, lipidi i fenoli (Mogana i sar., 2011). Marongiu i sar. (2005) su u etarskom ulju mire utvrdili prisustvo furanoeudeznanol-1,3-diena (34,9%), lindestrena (12,9%), curzerena (8,5%) i germakrena (5,8%). U studiji Mohamed i sar. (2014) kao najdominantnije komponente ulja *C. myrrha* izdvojene su  $\alpha$ -elemen (12,86%), 7-izo-propil-1.4-dimetil-2-azulenol (12,22%), kurzeren (11,64%) i germakra-1(10)7,11-trien-15-oik (6,20%). Sve ove komponente su prisutne i uzorku ulja ispitivanom u ovom radu.

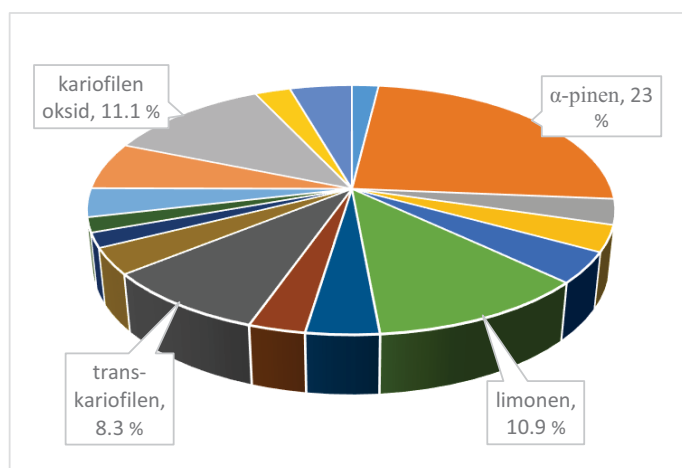
Tabela 6. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz porodice Bursecaceae (%)

Komponente	RI	<i>B. carterii</i> <sup>1</sup>	<i>B. carterii</i> <sup>2</sup>	<i>C. luzonicum</i>	<i>C. myrrha</i>
$\alpha$ -tujen	919	12,0	1,8	*	-
$\alpha$ -pinene	925	31,8	23,0	-	-
sabinen	964	5,3	3,1	4,49	-
$\beta$ -pinen	966	3,3	*	-	-
mircen	984	4,1	3,2	*	-
$\alpha$ -felandren	996	1,1	*	6,0	-
<i>p</i> -cimen	1017	6,0	3,8	2,9	-
limonen	1021	17,9	10,9	45,6	-
1,8-cineol	1023	-	-	1,1	-
$\gamma$ -terpinen	1052	-	-	0,5	-
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1061	-	-	0,8	-
terpinen-4-ol	1169	0,8	*	0,7	-
$\alpha$ -terpineol	1183	-	-	4,4	-
$\delta$ -elemen	1328	-	-	-	0.9
$\alpha$ -kopaen	1365	1,2	3,6	-	-
$\beta$ -elemen	1382	1,1	2,8	*	4.3
<i>cis</i> -kariofilen	1407	-	-	0,7	0.7
<i>trans</i> -kariofilen	1408	5,4	8,3	-	-
$\gamma$ -elemen	1423	-	-	-	3.6
$\alpha$ -humulen	1442	1,1	3,2	*	-
allo-aromadendren	1449	*	1,8	-	-
$\gamma$ -himahalen	1475	*	1,8	-	-
$\beta$ -selinen	1475	-	-	-	0.7
kurzeren	1489	-	-	-	34.7
$\gamma$ -kadinen	1503	1,2	3,5	-	*
$\delta$ -kadinen	1513	2,1	5,8	-	*
elemol	1541	-	-	21,4	-
germakren B	1545	-	-	-	0.9
elemecin	1550	-	-	6,2	-
<i>epi</i> -kurzerenon	1568	-	-	-	0.7
furanoeudezma-1,3-dien	1617	-	-	-	32.8
kariofilen oxid	1571	2,1	11,1	-	-
globulol	1581	*	2,4	-	-
lindestren	1622	-	-	-	10.2
$\gamma$ -eudesmol	1639	-	-	0,9	-
2-metoxifurano-dien, izomer I	1631	-	-	0,6	1.5
valerianol	1654	1,2	4,2	-	-
elemol acetat	1680	-	-	-	1.8
2-metoxifuran-dien, izomer II	1710	-	-	-	4.8
<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>		81,69	45,83	59,57	0.00
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		0,83	0,00	6,95	0.00
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		12,07	30,81	0,66	10.91
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		3,30	17,73	29,15	86.38
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		97.89	94,37	96,34	97,29
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		17	17	14	13

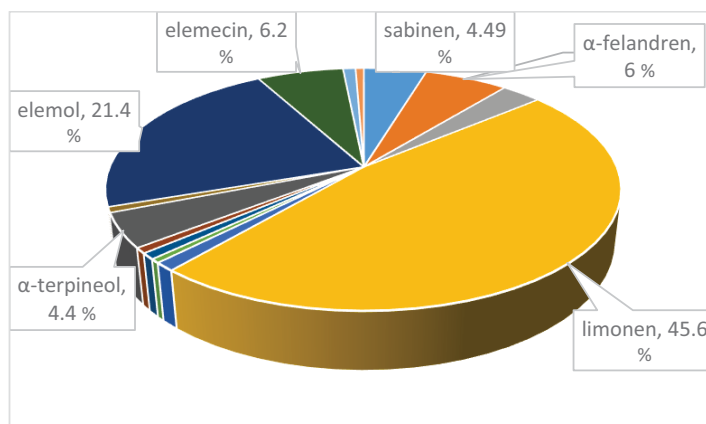
\* jedinjenje prisutno u tragovima



Slika 72. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Boswellia carterii*<sup>1</sup>

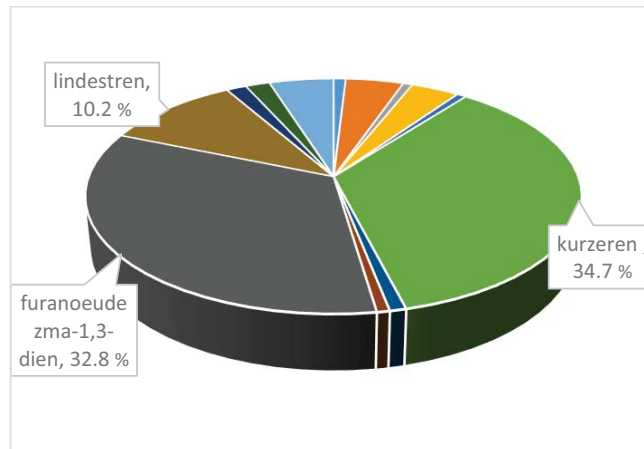


Slika 73. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Boswellia carterii*<sup>2</sup>



Slika 74. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Canarium luzonicum*





Slika 75. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Commiphora myrrha*

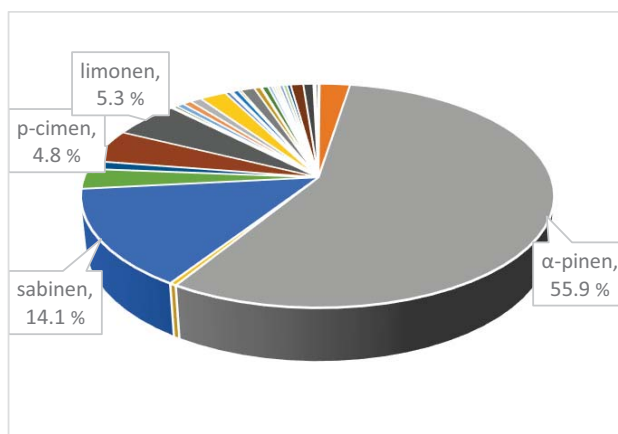
Analizom hemijskog sastava etarskih ulja biljaka *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. communis*<sup>4</sup> i *J. virginiana* iz familije Cupressaceae identifikovano je ukupno 88 komponenti koje čine od 99,56%, do 100,00% ulja (Tabela 7). Najzastupljenija grupa jedinjenja kod ulja *J. communis* su monoterpenski ugljovodonici (74,70%, 78,70%, 86,28% i 87,20%), dok kod ulja *J. virginiana* najzastupljeniji su seskviterpenski ugljovodonici (74,21%). Generalno, etarska ulja kleke, analizirana u ovom radu, pokazuju sličan hemijski sastav pa su tako glavne komponente ulja *J. communis*<sup>1</sup>  $\alpha$ -pinen (55,9%), sabinen (14,1%) i limonen (5,3%) (Slika 76), dok su glavne komponente ulja *J. communis*<sup>2</sup>  $\alpha$ -pinen (35,3%), mircen (27,1%), limonen (8,3%) i geranil (6,4%) (Slika 77). Najzastupljenije komponente u ulju *J. communis*<sup>3</sup> su:  $\alpha$ -pinen (43,5%), sabinen (15,5%) i mircen (14,0%) (Slika 78), dok su dominantne komponente ulja *J. communis*<sup>4</sup>  $\alpha$ -pinen (55,2%) i sabinen (10,5%) (Slika 79). Glavne komponente u etarskom ulju *J. virginiana* su: tujopsen (23,7%), kedrol (21,7%),  $\alpha$ -kedren (20,6%) i logifolem (11,8%) (Slika 80). Dobijeni rezultati pokazuju da etarska ulja kleke pripadaju  $\alpha$ -pinen hemotipu, što je u skladu sa literaturnim navodima drugih istraživača (Butkiene i sar., 2009; Sela i sar., 2012). U literaturi postoje brojni podaci o hemijskom sastavu isparljivih komponenti etarskog ulja kleke (Glišić i sar., 2007; Angioni i sar., 2011; Hoferl i sar., 2014). Prema Lesjak (2011) etarsko ulje poreklom iz šišarke *J. communis* ima složeniji sastav u odnosu na etarsko ulje dobijeno iz iglica. Ispitivajući promene sastava i količine ulja *J. virginiana* tokom vremena, Schmidt i sar., (2013) utvrdili su  $\beta$ -pinen kao dominantnu komponentu uzoraka ovog ulja, ističući uticaj različitih ekoloških faktora na njegov hemijski sastav.

Tabela 7. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Cupressaceae (%)

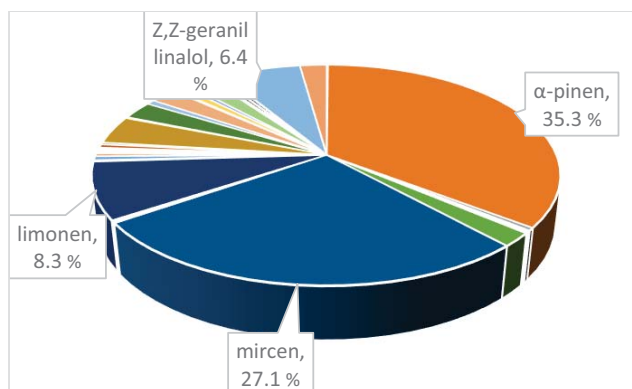
Komponente	RI	<i>J. communis</i> <sup>1</sup>	<i>J. communis</i> <sup>2</sup>	<i>J. communis</i> <sup>3</sup>	<i>J. communis</i> <sup>4</sup>	<i>J. virginiana</i>
triciken	917	0,1	0,1	0,1	-	-
$\alpha$ -tujen	923	2,4	-	1,8	1,8	-
$\alpha$ -pinen	930	55,9	35,3	43,5	55,2	-
kamfen	943	0,4	0,4	0,3	0,4	-
tuja-2,4(10)-dien	949	-	0,2	-	-	-
sabinen	970	14,1	0,2	15,5	10,5	-
$\beta$ -pinen	972	2,9	2,0	2,6	3,0	-
mircen	990	1,2	27,1	14,0	0,6	-
$\alpha$ -felandren	1002	-	0,1	0,1	-	-
$\alpha$ -terpinen	1014	-	0,1	0,6	-	-
<i>p</i> -cimen	1022	4,8	0,2	0,9	3,6	-
limonen	1025	5,3	8,3	4,8	3,6	-
1,8-cineol	1028	0,1	-	0,1	-	-
$\gamma$ -terpinene	1056	0,1	0,2	1,1	-	-
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1061	-	-	-	0,7	-
terpinolen	1085	-	0,6	1,1	-	-
<i>cis</i> -tujon	1103	0,3	-	-	-	-
<i>trans</i> -tujone	1114	0,6	-	-	-	-
$\alpha$ -kamfolenal	1126	-	0,4	-	1,4	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1130	-	-	-	2,3	-
<i>trans</i> -verbenol	1138	-	-	-	0,6	-
kamfor	1141	0,7	0,2	0,1	-	-
borneol	1165	0,9	0,2	-	-	-
terpinen-4-ol	1176	2,1	0,2	1,1	1,4	-
$\alpha$ -terpineol	1187	-	0,1	-	2,5	-
$\gamma$ -terpineol	1187	-	-	-	-	0,3
verbenon	1210	0,4	-	-	1,1	-
karvakrol, metil etar	1238	-	-	-	-	0,3
izobornil acetat	1277	-	-	-	0,7	-
bornil acetat	1283	0,2	0,2	0,2	0,5	-
$\alpha$ -kubeben	1337	0,5	0,5	0,6	0,6	-
$\alpha$ -longipinen	1338	-	-	-	-	0,3
ciklosativen	1356	-	-	-	-	0,5
longiciklen	1358	-	-	-	-	0,2
$\alpha$ -kopaen	1371	0,2	0,3	0,2	2,2	-
2- <i>epi</i> - $\alpha$ -funebren	1372	-	-	-	-	0,6
$\alpha$ -duprezianen	1373	-	-	-	-	0,3
$\beta$ -elemen	1388	1,1	-	1,3	1,2	-
sativen	1388	-	-	-	-	0,4
$\alpha$ -hamipinen	1389	-	-	-	-	0,7
longifolen	1393	-	-	-	-	11,8

Komponente	RI	<i>J. communis</i> <sup>1</sup>	<i>J. communis</i> <sup>2</sup>	<i>J. communis</i> <sup>3</sup>	<i>J. communis</i> <sup>4</sup>	<i>J. virginiana</i>
$\alpha$ -kedren	1401	-	-	-	-	20,6
<i>trans</i> -kariofilen	1414	0,5	4,1	1,8	-	-
$\beta$ -kedren	1418	-	-	-	-	4,9
$\beta$ -duprezianen	1419	-	-	-	-	0,3
<i>cis</i> -tujopsen	1420	-	-	-	-	23,7
$\beta$ -kopaen	1425	0,1	0,2	0,2	0,7	-
izobrazen	1425	-	-	-	-	0,2
$\gamma$ -elemen	1430	-	-	1,7	-	-
$\alpha$ -himahalen	1437	-	-	-	-	0,8
$\alpha$ -humulen	1447	0,5	2,6	1,5	-	-
9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-kariofilen	1447	-	-	-	-	1,1
$\beta$ -akoradien	1455	-	-	-	-	0,4
$\beta$ -hamigren	1465	-	-	-	-	0,3
<i>cis</i> -muurola-4(14),5-dien	1466	-	-	-	0,5	-
$\gamma$ -muurolen	1473	0,3	0,7	0,3	-	-
ar-kurcumen	1474	-	-	-	-	1,1
germakren D	1477	-	2,2	2,6	-	-
$\beta$ -selinen	1482	0,2	-	0,2	-	-
$\gamma$ -himahalen	1482	0,2	0,2	0,3	-	-
$\beta$ -alasken	1484	-	-	-	-	0,3
pseudowidren	1487	-	-	-	-	1,5
$\alpha$ -hamigren	1491	-	-	-	-	0,8
$\alpha$ -muurolen	1494	0,2	0,8	0,2	-	-
kuparen	1494	-	-	-	-	2,4
$\alpha$ -alasken	1501	-	-	-	-	0,9
$\gamma$ -kadinen	1510	0,3	0,5	0,3	2,5	-
$\delta$ -kadinen	1520	0,3	1,9	0,7	-	-
dehydro-ar- $\gamma$ -himahalen	1520	-	-	-	-	0,2
$\alpha$ -kalakoren	1541	-	0,1	-	-	-
germakren B	1553	0,3	0,2	0,1	-	-
kariofilen oxid	1580	1,0	0,4	-	2,0	-
tujopsan-2- $\alpha$ -ol	1580	0,8	0,1	-	-	-
widrol	1590	-	-	-	-	0,4
kedrol	1591	-	-	-	-	21,7
humulen epoxid II	1606	0,1	0,4	-	-	-
$\beta$ -himahalen oxid	1606	-	-	-	-	0,3
$\alpha$ -akorenol	1623	-	-	-	-	0,3
$\beta$ -akorenol	1624	-	-	-	-	0,3
<i>epi</i> - $\alpha$ -kadinol( $\tau$ -cadinol)	1640	0,1	0,1	-	-	-
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -eudezmol	1649	-	-	-	-	0,2
8-kedren-13-ol	1678	-	-	-	-	0,4

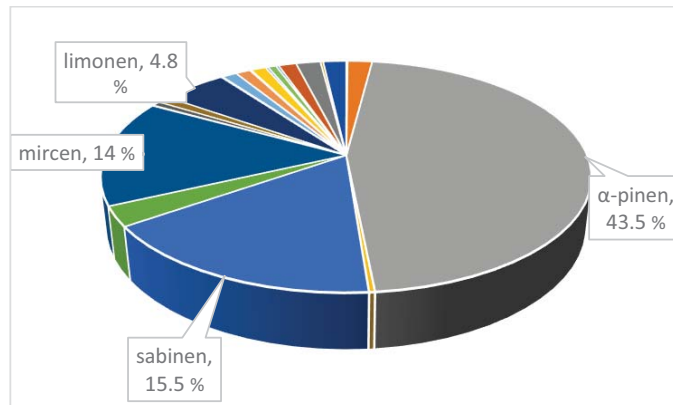
Komponente	RI	<i>J. communis</i> <sup>1</sup>	<i>J. communis</i> <sup>2</sup>	<i>J. communis</i> <sup>3</sup>	<i>J. communis</i> <sup>4</sup>	<i>J. virginiana</i>
majuron	1694	-	-	-	-	0,3
longifolol	1699	-	-	-	-	0,4
tujopsenal izopropil tetradekanoat	1699	-	-	-	-	0,4
tetradekanoat	1818	-	-	-	-	0,2
Z,Z-geranil linalol	1949	0,2	6,4	-	-	-
E,Z-geranil linalol	1986	-	2,2	-	-	-
<hr/>						
<i>Monoterpenski ugljovodnici</i>		87.20	74.70	86.28	78.70	0.00
<i>Oksidovani monoterpenni</i>		5.28	1.42	1.52	11.18	0.54
<i>Seskviterpensi ugljovodnici</i>		4.79	14.27	12.04	7.80	74.21
<i>Oksidovani seskviterpenni</i>		2.09	1.04	0.00	2.00	25.05
<i>Oksidovani diterpenni</i>		0.19	8.57	0.00	0.00	0.00
<hr/>						
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		99.56	100.00	99.84	99.68	99.80
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		36	38	32	24	37



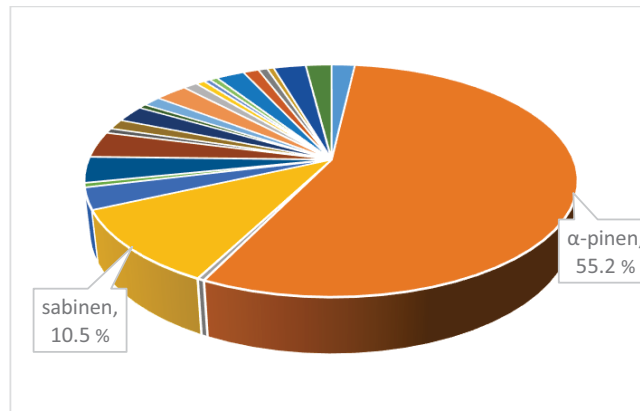
Slika 76. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Juniperus communis*<sup>1</sup>



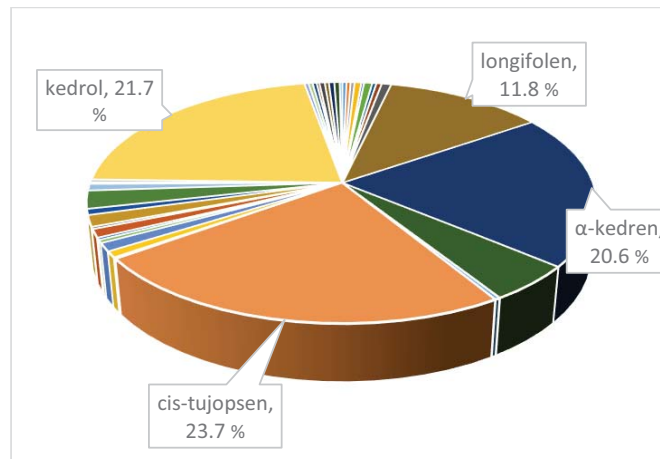
Slika 77. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Juniperus communis*<sup>2</sup>



Slika 78. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Juniperus communis*<sup>3</sup>



Slika 79. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Juniperus communis*<sup>4</sup>



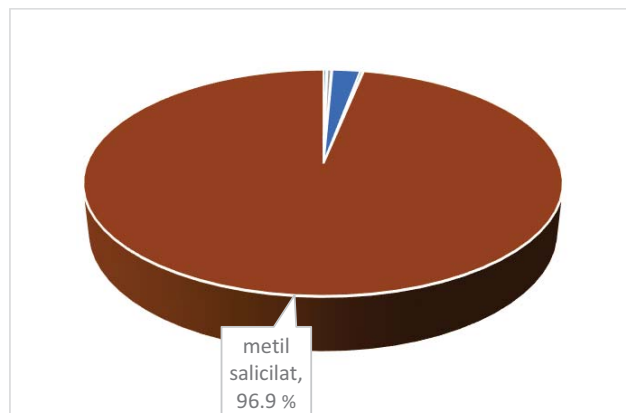
Slika 80. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Juniperus virginiana*

U etarskim uljima *G. procumbens* i *G. fragrantissima* iz familije Ericacee identificirano je ukupno 9 komponenti koje čine 99,98% i 100,00% ulja (Tabela 8). Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni tj. estri salicilne kiseline (96,90% i 99,97%). Glavna komponenta etarskih ulja *G. procumbens* i *G. fragrantissima* je metil salicilat (96,9% i 99,8%) (Slika 81-82). Podaci o fitohemijskim istraživanjima *G. procumbens* su retki, međutim prema

dostupnim literaturnim podacima glavne komponente etarskih ulja biljaka iz roda *Gaultheria* su derivati metil salicilata, organske kiseline, terpenoidi i steroidi (Liu i sar., 2013). Vergnes i sar. (2014) su u istraživanju biopotencijala vrste *G. procumbens*, koristeći model biljku *Arabidopsis thaliana* potvrdili, da je glavna komponenta ulja zimzelena metil salicilat (>96,0%). Seo i sar. (2010) ispitivajući nematocidnu aktivnost etarskog ulja *G. fragrantissima* potvrdili prisustvo metil salicilata i etil salicilata kao karakterističnih komponenti ovog ulja.

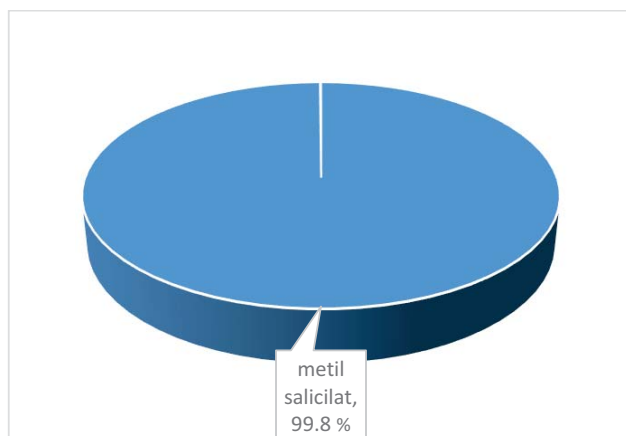
Tabela 8. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Ericaceae (%)

Komponente	RI	<i>G. procumbens</i>	<i>G. fragrantissima</i>
$\alpha$ -pinen	928	0,2	-
sabinen	968	0,1	-
$\beta$ -pinen	970	0,3	-
$\beta$ -mircen	988	0,1	-
limonen	1023	2,2	0,0
fenhon	1084	0,2	-
menton	1150	0,1	-
metil salicilat	1198	96,9	99,8
etil salicilat	1269	-	0,1
<i>monoterpenski ugljovodonici</i>		2,81	0,01
<i>oksidovani monoterpeni</i>		0,29	0,00
<i>oksidovani monoterpeni (estri salicilne kiseline)</i>		96,90	99,97
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		100,00	99,98
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		8	3



Slika 81. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Gaultheria procumbens*





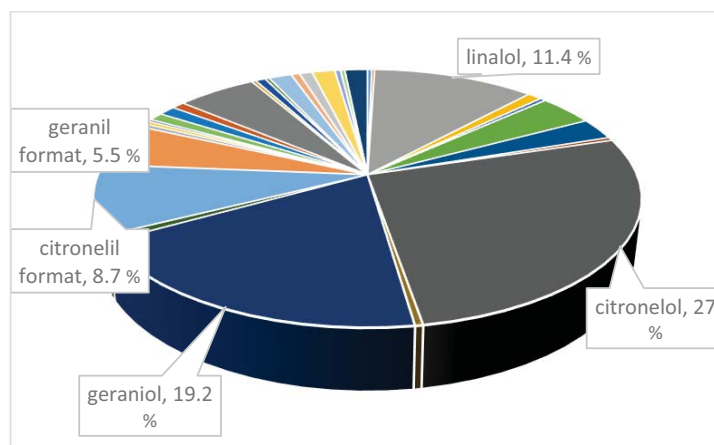
Slika 82. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Gaultheria fragrantissima*

Tridesetjedna komponenta je identifikovana u etarskom ulju *P. graveolens* iz porodice Geraniaceae koje čine 100,00% ulja (Tabela 9). Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (82,1%). Glavne komponente etarskog ulja *P. graveolens* su: citronelol (27,0%), geraniol (19,8%), linalol (11,4%), citronelil format (8,7%), 6,9-guiadiene (5,6%) i geranil format (5,5%) (Slika 83). Za etarsko ulje *P. graveolens* je karakteristično postojanje više hemotipova (geraniol, citronelol, kariofilen oksid itd.) (Mallavarapu i sar., 1993). Evidentno je da etarsko ulje geranijuma u našoj studiji pripada citronelol hemotipu. Boukhatem i sar. (2013) su identifikovali 45 jedinjenja iz etarskog ulja geranijuma poreklom iz Alžira i potvrdili prisustvo citronelola kao glavne komponente tog ulja. Takođe, u sličnoj studiji Džamić i sar. (2014) su dobili kvantitativno slične podatke našim podacima za komponente ovog ulja. Prema istraživanju Verma i sar. (2010) uzorci etarkog ulja geranijuma iz Indije, najbolji odnos komponenti citronelol/geraniol je dobijen u ulju biljaka zasejanih u periodu januar-februar.

Tabela 9. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz porodice Geraniaceae (%)

Komponente	RI	<i>P. graveolens</i>
$\alpha$ -pinen	925	0,3
<i>cis</i> -linalol oksid	1067	0,2
linalol	1094	11,4
<i>cis</i> -roze oksid	1104	1,0
<i>trans</i> -roze oksid	1120	0,4
menton	1145	3,9
izo-menton	1156	2,7
$\alpha$ -terpineol	1186	0,4
citronelol	1224	27,0
neral	1236	0,4
geraniol	1250	19,2
geranial	1266	0,7
citronelil format	1269	8,7

Komponente	RI	<i>P. graveolens</i>
geranil format	1295	5,5
citronelil acetat	1349	0,5
$\alpha$ -kopaen	1365	0,4
$\beta$ -burbonen	1374	0,3
$\beta$ -elemen	1382	1,0
Z-kariofilen	1408	1,2
$\alpha$ -guaien	1428	0,9
6,9-guaiadien	1432	5,6
aromadendren	1438	0,3
geranil propanoat	1468	0,7
geranil izobutanoat	1506	0,3
$\delta$ -kadinen	1513	1,6
citronelil butanoat	1520	0,6
geranil butanoat	1554	0,9
2-fenil etil tiglata	1584	1,6
geranil izovalerat	1594	0,4
E-citronelil tiglata	1658	0,3
geranil tiglata	1693	1,6
Monoterpenski ugljovodonici		0,3
Oksidovani monoterpeni		82,1
Seskviterpenski ugljovodonici		11,4
Oksidovani seskviterpeni		6,2
Ukupno identifikovano (%)		100,0
Broj identifikovanih komponenti		31



Slika 83. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Pelargonium graveolens*

Analizom hemijskog sastava etarskih ulja *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavanulifolia*, *S. montana*, *S. officinalis*, *S. sclarea* i *S. triloba* iz familije Lamiaceae identifikovano je ukupno 146 komponenti koji čine od 95,6% do 100,00% ulja (Tabela 10).

Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (59,2%, 63,3%, 63,9%, 65,9%, 66,9%, 67,2%, 68,6%, 72,0%, 74,9%, 77,3%, 81,9%, 90,6%, 92,2%, 92,7%) Najzastupljenije komponente u etarskom ulju *H. officinalis* su *cis*-pinokamfon (34,4%), *trans*-pinokamfon (23,3%) i  $\beta$ -pinen (11,3%) (Slika 84). Etarska ulja *M. piperita*<sup>1</sup> i *M. piperita*<sup>2</sup> pokazuju sličan sastav, u smislu, da su glavne komponente mentol (35,1% i 47,5%), menton (21,7% i 23,5%) i izomenton (6,6% i 7,4%) (Slika 85-87). Dominantne komponente u ulju *M. pulegium* su pulegion (68,7%) i piperiton (14,7%) (Slika 86). U etarskom ulju *L. angustifolia* u većoj količini prisutni su linalol (40,3%), borneol (13,1%), linalil acetat (11,4%) i limonen (5,9%) (Slika 88). Glavne komponente ulja *T. algeriensis* su: timol (56,0%), karvakrol (14,0%) i *p*-cimen (6,3%) (Slika 89), dok su kod *T. vulgaris* prisutni timol (49,1%) i *p*-cimen (20,0%) (Slika 90). U etarskom ulju *T. serpyllum* najzastupljenije komponente su timol (38,5%), *p*-cimen (8,9%),  $\gamma$ -terpinen (7,2%), bornil acetat (7,0%) i *cis*-pinokamfon (6,0%) (Slika 91). Najzastupljenije komponente u etarskom ulju *R. officinalis* su 1,8-cineol (43,8%), kamfor (12,5%),  $\alpha$ -fenhen (11,5%) i  $\beta$ -pinen (8,2%) (Slika 92). Dominantne komponente ulja *S. lavandulifolia* su kamfor (29,1%), 1,8-cineol (20,3%),  $\alpha$ -pinen (8,2%), kamfen (7,9%),  $\beta$ -pinen (5,1%) i limonen (5,1%) (Slika 93). Procentualno najzastupljenije komponente u etarskom ulju *S. montana* su timol (44,6%), *p*-cimen (13,4%) i karvakrol (6,2%) (Slika 97). U etarskom ulju *S. officinalis* dominiraju *cis*-tujon (32,7%), kamfor (17,2%), 1,8-cineol (10,1%),  $\alpha$ -pinen (8,6%), *trans*-tujon (7,7%) i kamfen (7,3%) (Slika 94). Glavne komponente u ulju *S. sclarea* su linalil acetat (74,6%) i linalol (10,9%) (Slika 95), a u ulju *S. triloba* 1,8-cineol (49,3%), kamfor (12,1%),  $\alpha$ -pinen (9,3%) i kamfen (7,5%) (Slika 96). Hemijski profil našeg ulja izopa je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima (Glamočlija i sar., 2005; Antony i sar., 2011; Fatemeh i sar., 2011). Salma i sar. (2002) su identifikovali 47 komponenti u ulju *H. officinalis*, od kojih je najviše zastupljeno  $\beta$ -pinena, pinokamfona i kamfora. U literaturi postoje mnogobrojni podaci o hemijskom sastavu etarskog ulja pitome nane (Chachat i sar., 2011; Saharkhiz i sar., 2012; Joshi, 2013), i generalno su komercijalni uzorci ovog ulja bogati karvonom i dihidrilkarvonom (Kokkini i Vokou, 1989), mada je evidentno da uzorak ulja nane u ovoj studiji pripada hemotipu pulegon-menton-izomenton. Ghazghazi i sar. (2013) navode prisustvo mentona, *cis*-izopulegiona i izomentona u ulju *M. pulegium* dok su Mahboubi i sar. (2008) utvrdili prisustvo piperitona, piperitonona,  $\alpha$ -terpinola i pulegiona. Na osnovu pregleda literaturnih podataka naš uzorak ulja *M. pulegium* pripada pulegon hemotipu (Hajlaoui i sar., 2009). Zapaža se da hemijski sastav etarskog ulja lavande, analiziran od strane više autora (Dauria i sar., 2005; Hassiotis i sar., 2010a; Jianu i sar., 2013) odgovara rezultatima našeg uzorka ulja lavande. Međutim, kod ovog ulja se uočavaju velika variranja u sadržaju

dominantnih komponenti (Hassiotis i sar., 2010b). Što se tiče sastava etarskog ulja *T. algeriensis*, iz dostupne literature karakterističan je veliki hemijski polimorfizam, čak i među uzorcima prikupljenim sa istih lokaliteta (Hazzit i sar., 2009). Ova grupa autora je utvrdila da postoji nekoliko hemotipova ovog ulja (linalolni, karvakrolni, geranil acetatni i terpinil acetatni hemotip). Uzorak ulja iz naše studije pripada timol hemotipu, koji je karakterističan za severnoafričko podneblje (Houssain i sar., 2013). Ranija istraživanja su pokazala da postoji više hemotipova ulja *T. vulgaris* (Rota i sar., 2008; Shabnum i sar., 2011; Fachini-Queiro i Wagay, 2012), a hemijska analiza je pokazala da naš uzorak pripada timol hemotipu. Ghasemi i sar. (2013) takođe uzdvajaju timol kao glavnu komponentu. Hemijski sastav etarskog ulja *T. serpyllum* je u potvrđen sa prethodnim ispitivanjima (Soković i sar., 2008; Verma i sar., 2009; Amiri i sar., 2012). Međutim, hemijska analiza koju su sprovedi Sfaei-Ghomi i sar. (2009) izdvaja  $\alpha$ -pinen i karvakrol kao dominantne komponente ulja. U studiji Thompson i sar. (2003) timol je druga, a u radu Rasooli i Mirmostafa (2002) treća komponenta po zastupljenosti. Etarsko ulje ružmarina su do sada analizirali mnogi autori, pa tako Ulbricht i sar., 2013 za dominantne komponente izdvajaju kamfor,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kamfen, linalol, borneol i *p*-cimen (Begum i sar., 2013). Santoyo i sar. (2005) su kao dominantne komponente ovog ulja navode  $\alpha$ -pinen, 1,8-cineol, kamfor, verbenon i borneol. Savaley i sar. (2003) su iz etarskog ulja *S. lavandulifolia* izolovali botneol,  $\alpha$ -pinen, bornil acetat, linalol i kariofilen oksid. U poređenju sa rezultatima našeg uzorka ovog ulja ove komponente su prisutne u znatno manjem procentu. S druge strane u studiji Mathe i sar. (2007) dominiraju 1,8-cineol i kamfor, što je u skladu sa našim rezultatima i sa važećim standardom kvaliteta za ovo ulje (ISO 3526:2005). Rezultati hemijske analize našeg uzorka ulja *S. montana* su u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima (Mastelić i Jerković, 2003, Damjanović-Vratnica i sar., 2011). Međutim, zabeležena su i odstupanja pa je u studiji Radonić i Miloš (2003) i Čevar i sar. (2008), karvakrol najzastupljenija komponenta ovog ulja. Prema Miladi i sar., (2013), sadržaj karvakrola i timola u etarskom ulju *S. montana* je uslovljen pre svega, ekološkim faktorima pa su tako veće koncentracije timola zabeležene u biljci pre faze cvetanja, dok koncentracija timola u ulju izolovanom nakon faze cvetanja znatno opada. U literaturi postoje mnogobrojni podaci o hemijskom sastavu etarskog ulja *S. officinalis* (Oniga i sar., 2010). Taarit i sar. (2010) su iz ulja žalfije identifikovali 58 komponenti, od kojih su  $\alpha$ -tujon, kamfor, 1,8-cineol, viridoflor i  $\alpha$ -humulen izdvojene kao dominantne. *Cis*-tujon je najzastupljenija komponenta (32.7%) u našem uzorku ulja. Poznato je da kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja *S. officinalis* zavisi od velikog broja faktora, a među najvažnijim su: ekološki faktori, metoda ekstrakcije (Santo-Gomez i Ferreira, 2001), fenološko stanje biljke i genetičke razlike (Rioba i sar., 2015).

Peana i sar. (1999, Soković, 2001) su analizom utvrdili visok sadržaj monoterpenkih estara (linalin acetat i  $\alpha$ -terpenil acetata) i nizak sadržaj alkohola iz etarskog ulja *S. sclarea* iz Italije. Dobijeni rezultati u ovoj doktorskoj disertaciji za ispitivanja hemijskog sastava etarskog ulja *S. sclarea* su u saglasnosti sa istraživanjem koje su sproveli Marin i sar. (2008). U ispitivanjima Pierozan i sar. (2009) etarskog ulja *S. triloba* iz Brazila identifikovano je 17 komponenti što je predstavljalo 81,6% ukupne mase ulja. Dominantne komponente su bile linalol (29,4%), linalil acetat (18,4%), and  $\alpha$ -terpineol (11,2%). Rezultati nekih prethodnih istraživanja (Kosar i sar., 2005; Al-Kaladeh i sar., 2010) su u saglasnosti sa sadržajem 1,8-cineola kao najzastupljenije komponente etarskog ulja *S. triloba*.

Tabela 10. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Lamiaceae (%)

Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
<i>cis</i> -salven	861	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-
<i>trans</i> -salvene	868	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
tricitlen	917	-	-	-	0.1	-	0.1	-	0.1	0.2	0.5	0.2	-	-	0.4
$\alpha$ -tujen	923	0.6	-	-	0.3	0.9	1.9	1.1	1.1	0.1	0.1	-	-	0.6	-
$\alpha$ -pinen	927	1.2	0.8	1.5	0.1	1.1	1.2	2.0	2.0	11.5	8.2	8.6	-	1.9	9.3
$\alpha$ -fenhen	941	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kamfen	942	-	-	0.4	-	0.5	0.9	2.4	2.4	4.6	7.9	7.3	-	0.9	7.5
sabinen	968	-	-	-	0.5	-	0.7	0.8	0.8	0.1	1.5	-	1.5	-	-
$\beta$ -pinen	969	11.3	0.9	1.2	0.2	0.4	0.4	0.2	0.2	8.2	5.1	1.2	-	1.4	3.1
1-okten-3-ol	976	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-
miircen	985	0.8	-	0.4	-	0.4	1.3	1.3	1.3	1.0	1.0	0.8	-	1.3	4.3
3-oktanol	999	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -felandren	1001	-	-	-	-	-	0.3	-	0.2	0.2	0.1	-	-	0.2	0.1
<i>p</i> -menta-1(7),8-diene	1004	-	-	-	4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-
$\delta$ -3-karen	1005	-	-	-	0.2	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinen	1013	-	-	-	0.1	1.6	0.8	1.1	1.1	0.1	-	0.2	-	1.8	0.2
<i>p</i> -cimen	1019	0.3	0.9	0.2	0.5	0.4	20.0	8.9	8.9	1.2	1.1	1.1	-	13.4	1.4
limonen	1023	-	0.9	2.3	2.7	5.9	0.6	0.6	0.6	2.8	5.1	2.1	-	-	1.9
$\beta$ -felandren	1023	2.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-
1,8-cineol	1025	0.7	4.6	0.2	4.5	-	0.7	0.9	0.4	43.8	20.3	10.1	0.6	0.5	49.3
<i>trans</i> - $\beta$ -ocimen	1041	-	-	-	-	2.6	1.4	0.1	0.1	-	0.3	-	-	0.2	-
izobutilangelat	1053	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -terpinen	1053	-	-	-	0.4	0.4	4.8	4.2	7.2	0.9	0.4	0.4	-	4.7	0.1
<i>cis</i> -linalol	1064	-	-	-	-	1.3	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-
oksid															



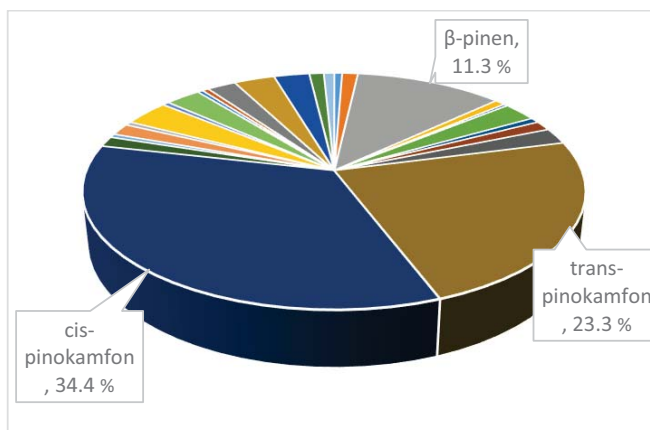
Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
<i>cis</i> -sabinen hidat	1064	-	1.4	-	0.2	-	0.4	-	0.5	-	-	-	-	0.4	-
<i>trans</i> -linalol oksid	1081	-	-	-	-	1.2	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-
$\alpha$ -terpinolen	1086	-	-	-	0.1	-	0.2	-	0.2	0.2	0.2	0.3	-	-	-
linalol	1097	1.3	0.5	-	0.2	40.3	1.3	0.8	2.4	0.5	4.2	-	10.9	2.5	-
<i>cis</i> -tujon amid	1103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32.7	-	-	1.3
izovalerat	1103	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
endo-fenhol	1113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -tujon	1115	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.7	-	-	0.8
<i>trans</i> -pinokarveol	1131	2.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kamfor	1140	-	-	0.2	-	3.7	1.1	0.2	0.7	12.5	29.1	17.2	-	-	12.1
<i>cis</i> -hrizantenol	1139	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -pulegol	1141	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
menton	1151	-	21.7	1.5	23.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -amil tiglat	1153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -borneol	1155	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.8	-	-	-	-
<i>trans</i> -pinokamfon	1156	23.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -menton	1160	-	7.4	0.8	6.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-tujanol	1165	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
borneol	1165	-	-	0.2	-	13.1	0.6	1.7	6.0	3.0	3.5	2.4	-	2.8	1.4
<i>cis</i> -pinokamfon	1167	34.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mentol	1173	-	47.5	-	35.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -izocitral	1174	-	-	2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
terpinen-4-ol	1176	-	1.5	-	1.6	4.3	0.5	2.0	0.7	0.6	0.2	0.4	-	2.1	0.4
<i>izo</i> -mentol	1179	-	1.3	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpincol	1187	-	0.4	-	0.4	0.6	-	-	0.1	1.5	-	-	1.0	0.6	1.1
heksil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
butanoat	1187	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
<i>cis</i> -dihidrokarvon	1190	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
mirtenol	1190	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -terpineol	1196	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,2	-	-	-	-
<i>cis</i> -karveol	1228	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -bornil-format	1230	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mentil-format	1232	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
timol, metil eter	1233	-	-	-	-	-	-	0,3	3,8	-	-	-	-	1,9	-
heksil 2-metil butanoat	1235	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pulegon	1241	-	1,2	68,7	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
karvakrol, metil eter	1242	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-
<i>trans</i> -2-hidroksi-pinokamfon	1242	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
linalil acetat	1249	1,6	-	-	-	11,4	-	-	-	-	3,4	-	74,6	-	-
karvenon	1254	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
piperiton	1269	-	0,3	14,7	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neo-mentil acetat	1270	-	0,9	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neozo-3-tujanol acetat	1279	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
izobornil acetat	1282	-	-	0,7	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
bornil acetat	1285	-	-	-	-	-	-	-	7,0	1,1	1,4	1,2	-	-	0,2
lavandulil acetat	1286	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -sabinil acetat	1290	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6	0,1	-	-	-
mentil acetat	1291	-	3,5	-	6,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
timol	1293	-	-	-	-	-	56,0	49,1	38,5	-	-	-	-	44,6	-
karvakrol	1299	-	-	0,1	-	-	14,0	3,5	4,7	-	-	-	-	6,2	-
izomentil acetat	1303	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

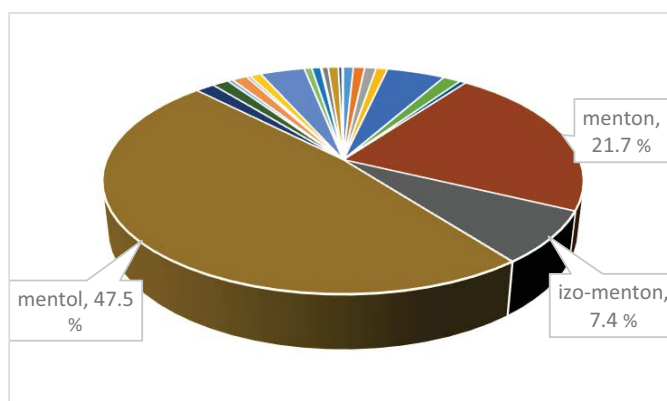
Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
dihidrokar	1308	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
vil acetat															
mritenil	1318	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
acetat															
<i>trans</i> -karvil	1334	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,1	-	-
acetat															
<i>neozio</i> -															
karvometil	1345	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-
acetat															
$\alpha$ -terpinil	1348	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	0,6
acetat															
timol acetat	1352	-	-	0,2	-	-	0,4	2,8	-	-	-	-	-	0,6	-
neril acetat	1360	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ciklosativen	1361	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
karvakrol	1365	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-
acetat															
$\alpha$ -ylangen	1370	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -kopaen	1371	-	-	0,2	-	-	-	-	-	0,1	-	-	0,8	-	-
$\beta$ -burbonen	1386	3,5	0,6	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-
$\beta$ -elemen	1386.3	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>izo</i> -italicen	1398	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
italicen	1399	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
longifolen	1399	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
( <i>Z</i> )-kariofilen	1408	-	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-
$\alpha$ -gurjunen	1408	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -cis-															
bergamoten	1411	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )-															
kariofilen	1412	2,7	0,7	0,1	-	1,0	0,5	3,7	1,3	3,9	1,4	0,9	-	3,7	2,9
$\beta$ -kopaen	1431	0,4	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ - <i>trans</i> -															
bergamoten	1432	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
aromadendren	1435	-	-	-	0,2	-	0,1	-	0,1	-	-	-	-	0,2	0,6
$\alpha$ -humulen	1446	0,5	-	0,2	0,3	-	0,1	0,4	-	0,4	0,3	3,5	-	0,2	0,4

Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
neril	1451	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
propanoat	1451	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)- $\beta$ -farnazan	1451.1	2,2	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1
aloanomadendren	1459	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -akoradien	1460	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -akoradien	1469	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dauca-5,8-dien	1480.1	3,1	-	-	0,6	-	-	0,4	-	0,1	-	-	1,3	-	-
germakren D	1482	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
$\beta$ -selinen	1492	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,1
viridifloren	1492	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -selinen	1496	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -muuroolen	1498	2,7	-	-	1,8	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
biciklogerma kren	1502	-	-	-	-	-	4,0	-	1,0	-	-	-	-	3,7	-
$\beta$ -bisabolen	1503	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lavandulil	1503	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
izovalerat	1503	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -amorfen	1504.2	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	0,1	-	-	0,2
$\gamma$ -kadinen	1509	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -kurkumen	1516	-	-	-	0,5	-	0,1	2,3	0,2	0,1	-	-	-	0,4	0,2
$\delta$ -kadinen	1526	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-
trans- $\gamma$ -bisabolen	1540	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
elemol	1545	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-nerolidol	1571	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
longipinanol	1572	0,8	0,5	-	0,7	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-
spatulenol	1574	-	0,8	0,2	1,0	-	1,0	-	0,4	-	-	-	1,8	0,7	-
kariofilen oksid	1582	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glenol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

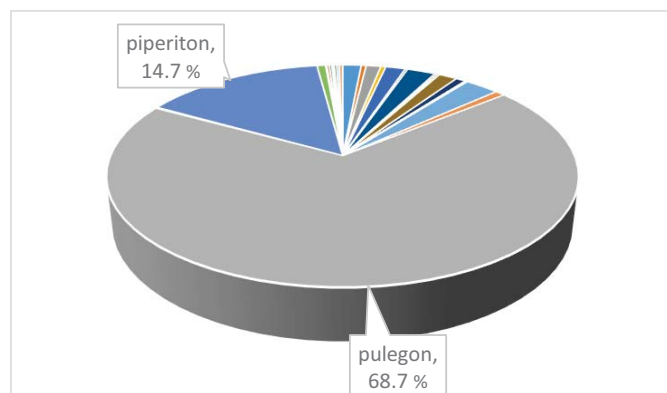
Komponente	RI	<i>H. officinalis</i>	<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>	<i>M. pulegium</i>	<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgare</i>	<i>T. serpyllum</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. lavandulifolia</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. triloba</i>	<i>S. montana</i>
globulol	1583	-	0,3	-	0,8	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-
$\alpha$ -guaiol	1589	-	-	-	-	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
5-epi-7epi- $\alpha$ -eudezmol	1605	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
humulen	1605	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
epoksid II	1630	-	-	-	-	-	0,9	-	0,1	-	-	-	-	-	-
T-kadinol	1638	-	-	-	-	1,1	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -eudezmol	1647	-	0,1	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -kadinol	1678	-	-	-	-	0,5	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
eudesm-3-en-6-ol	2204	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	-	-
sklareol															
<i>Monoterpenski ugljovodnici</i>		16,7	3,5	6,0	4,0	16,0	18,7	33,4	26,3	31,2	31,4	22,9	1,8	27,2	28,3
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		65,9	92,2	92,7	81,9	77,3	74,9	59,2	68,6	63,9	66,9	72,0	90,6	63,3	67,2
<i>Seskviterpenski ugljovodnici</i>		15,5	1,4	0,6	10,4	1,4	1,6	6,8	2,0	4,8	1,7	4,6	3,7	5,0	4,5
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		1,8	1,7	0,5	2,9	0,9	3,6	0,0	1,7	0,0	0,0	0,6	1,8	0,7	0,0
<i>Oksidovani diterpeni</i>		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		99,9	98,8	99,8	99,2	95,6	98,8	99,4	98,6	99,9	100,0	100,0	98,8	96,2	100,0
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		25	24	26	38	29	32	25	45	29	27	25	16	30	27



Slika 84. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Hyssopus officinalis*

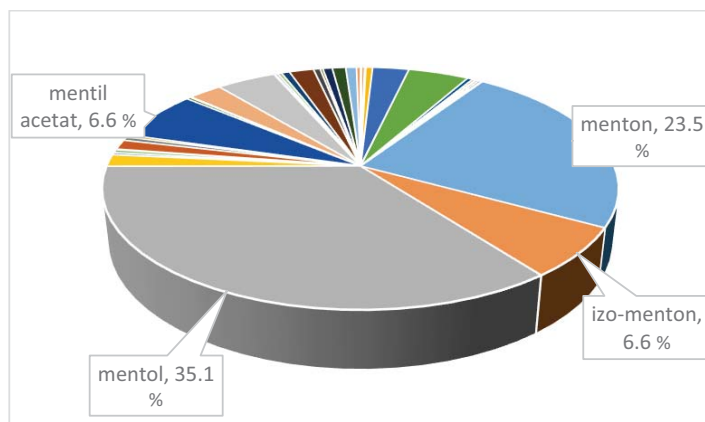


Slika 85. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Mentha piperita*<sup>1</sup>

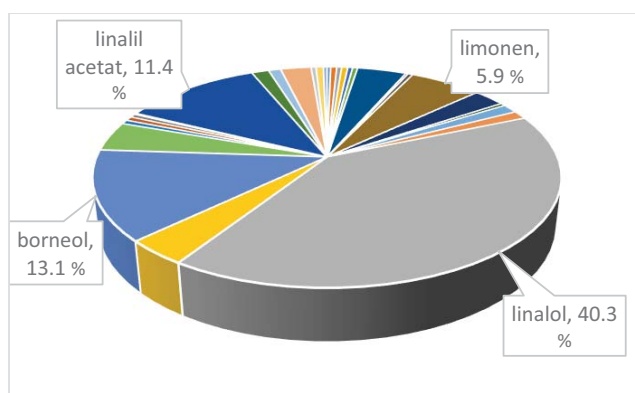


Slika 86. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Mentha pulegium*

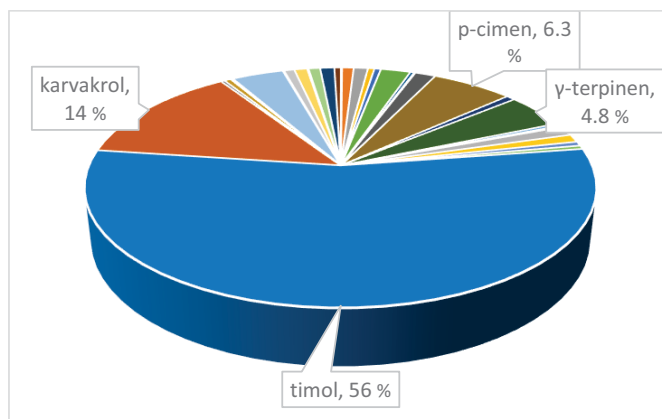




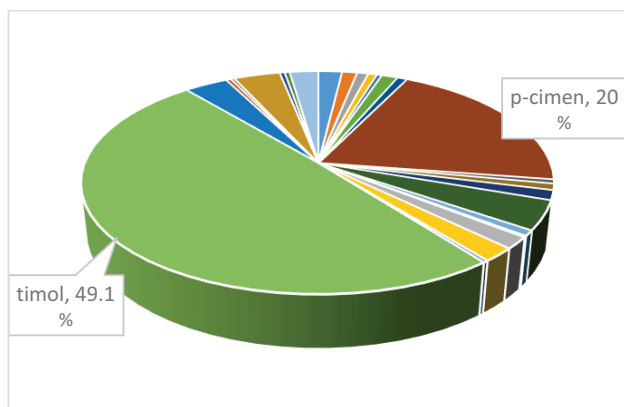
Slika 87. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Mentha piperita*<sup>2</sup>



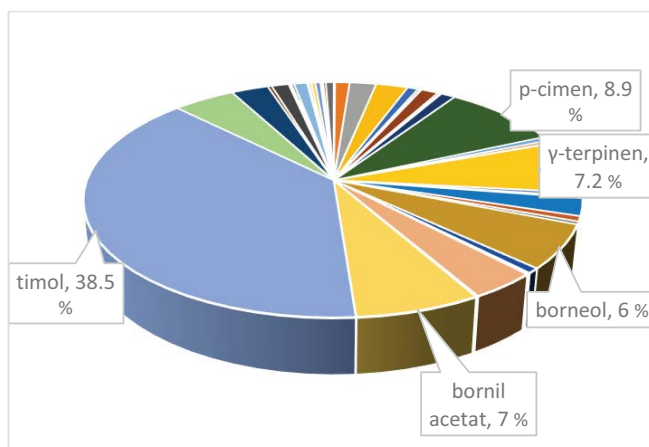
Slika 88. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Lavandula angustifolia*



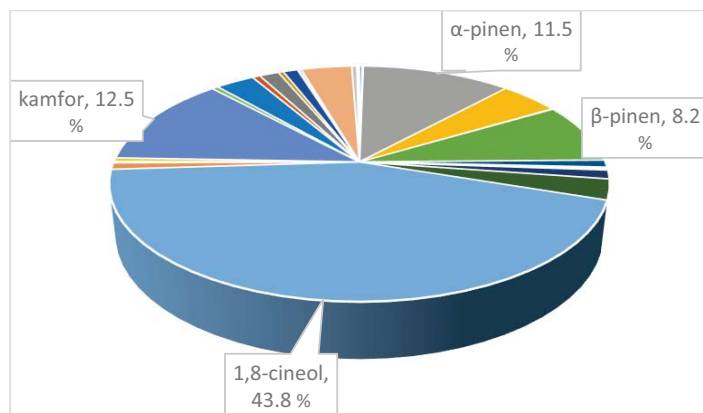
Slika 89. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Thymus algeriensis*



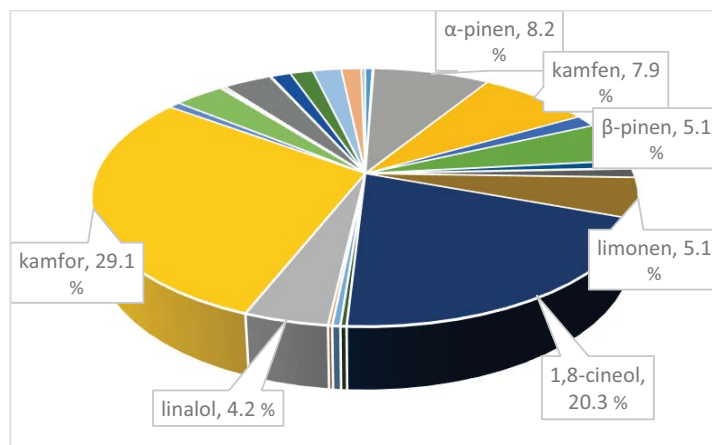
Slika 90. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Thymus vulgaris*



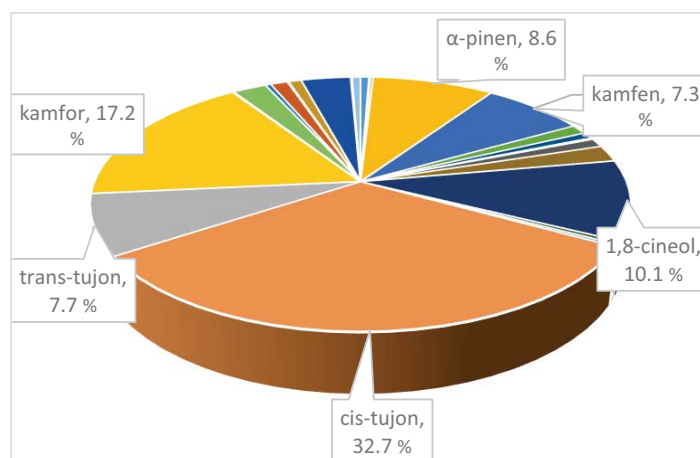
Slika 91. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Thymus serpyllum*



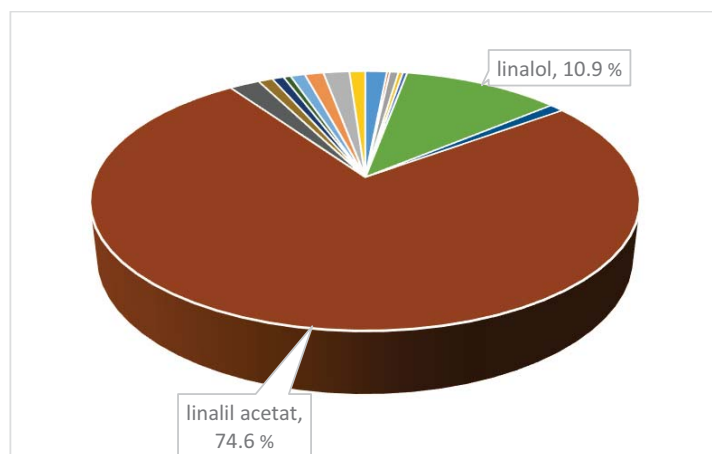
Slika 92. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Rosmarinus officinalis*



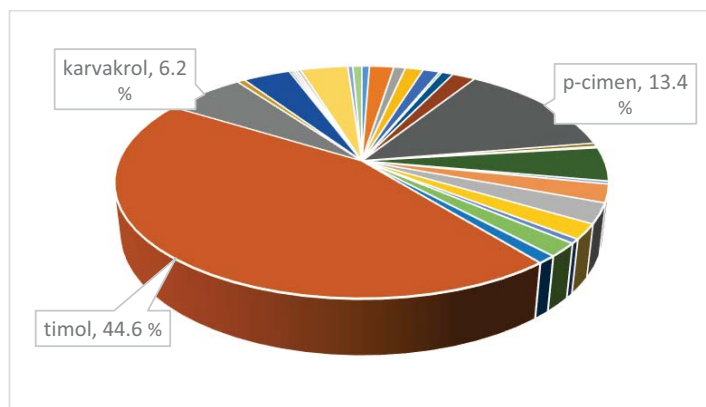
Slika 93. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Salvia lavandulifolia*



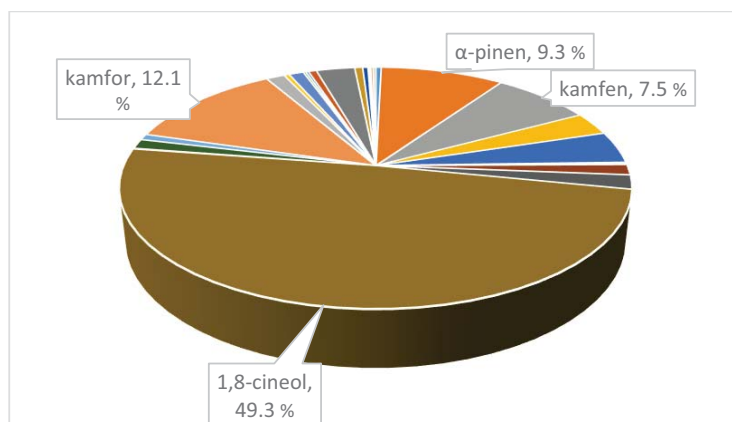
Slika 94. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Salvia officinalis*



Slika 95. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Salvia sclarea*



Slika 96. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Salvia triloba*



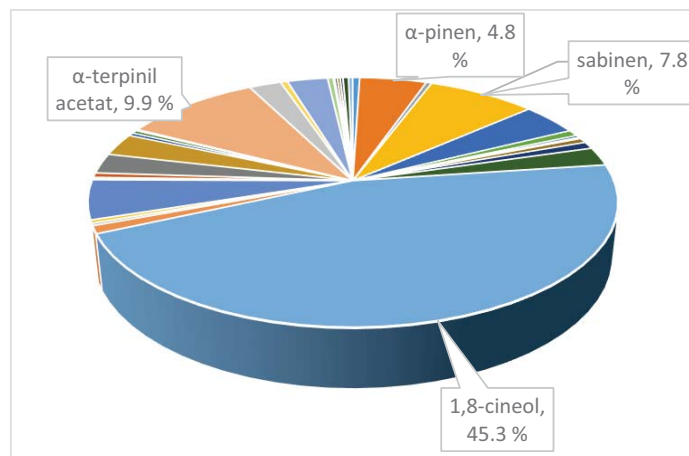
Slika 97. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Satureja montana*

Kvantitativnom i kvalitativnom analiza etarskih ulja *L. nobilis*<sup>1</sup> i *L. nobilis*<sup>2</sup> iz familije Lauraceae identifikovano je ukupno 37 komponenti koji čine 100,00% ulja (Tabela 11). Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (68,9% i 71,8%). Glavne komponente u etarskom ulju *L. nobilis*<sup>1</sup> su 1,8-cineol (45,3%), linalol (5,1%),  $\alpha$ -terpenil acetat (9,9%) i sabinen (7,8%) (Slika 98), dok su dominante komponente ulja *L. nobilis*<sup>2</sup> 1,8-cineol (48,4%),  $\alpha$ -terpenil acetat (9,1%), sabinen (8,3%), linalol (8,0%) i  $\alpha$ -pinen (5,3%) (Slika 99). Rezultati hemijskog sastava oba uzorka ulja lovora su u skladu sa istraživanjem koje su sproveli Sangun i sar. (2006), koji su analizirali populacije *L. nobilis* sa nekoliko lokaliteta u Turskoj, a koji su utvrdili da su glavne komponente ovog ulja 1,8-cineol, sabinen i  $\alpha$ -terpenil, dok su druge komponente ( $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -felandren i *trans*- $\beta$ -osimen bile zastupljene u manjoj meri. U jednoj drugoj studiji, Mediouni i sar. (2012) su komparativnom analizom ulja lovora poreklom iz Tunisa, Alžira i Marokoa utvrdili prisustvo 1,8-cineola, linalola i izovaler-aldehida kao najzastupljenijih komponenti u ulju.

Tabela 11. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Lauraceae (%)

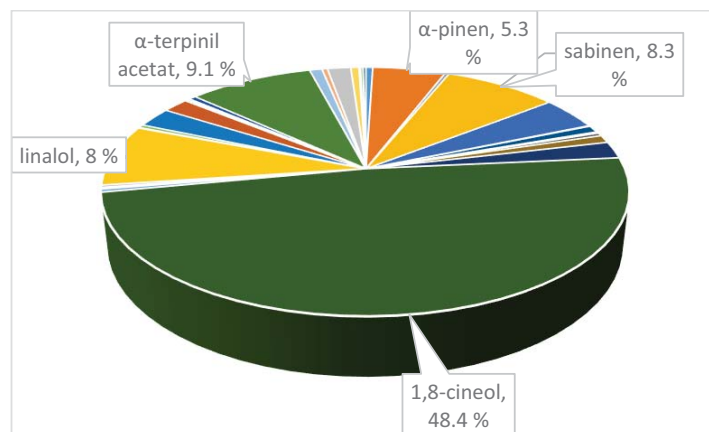
Komponente	RI	<i>L. nobilis</i> <sup>1</sup>	<i>L. nobilis</i> <sup>2</sup>
$\alpha$ -tujen	923	0,5	0.5
$\alpha$ -pinen	929	4,8	5.3
kamfen	943	0,4	0.3
sabinen	969	7,8	8.3
$\beta$ -pinen	971	4,1	4.3
dehidro-1,8-cineole	988	0,8	0.1
mircen	990	0,3	0.9
$\alpha$ -felandren	1002	0,1	0.2
$\delta$ -3-karen	1007	0,1	-
$\alpha$ -terpinen	1014	0,6	0.4
<i>p</i> -cimen	1022	0,9	1.0
$\beta$ -felandren	1025	2,4	2.2
1,8-cineol	1029	45,3	48.4
$\gamma$ -terpinen	1056	1,0	0.4
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1067	0,3	0.2
terpinolen	1086	0,4	0.3
linalol	1101	5,1	8.0
kamfor	1141	0,1	0.1
$\delta$ -terpineol	1167	0,2	0.4
<i>iso</i> -mentol	1173	0,6	-
terpinen-4-ol	1176	2,6	2.6
$\alpha$ -terpineol	1191	2,9	1.9
linalil acetat	1256	0,4	0.2

Komponente	RI	<i>L. nobilis</i> <sup>1</sup>	<i>L. nobilis</i> <sup>2</sup>
izobornil acetat	1283	0,4	0.2
$\delta$ -terpinil acetat	1315	0,2	0.5
$\alpha$ -terpinil acetat	1348	9,9	9.1
eugenol	1364	2,3	0.9
$\beta$ -elemen	1389	0,5	0.4
metil eugenol	1407	2,9	1.7
<i>trans</i> -kariofilen	1414	0,4	0.6
$\alpha$ -humulen	1449	0,1	-
biciklogermakren	1492	-	0.1
<i>trans</i> -muurola-4(14),5-dien	1510	0,2	-
$\gamma$ -kadinen	1510	0,2	-
$\delta$ -kadinen	1520	0,2	0.2
spatulenol	1577	0,4	0.2
kariofilen oksid	1579	0,3	
<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>		23,6	24,0
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		68,9	71,8
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		1,5	1,3
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		0,8	0,2
<i>Fenilpropeni</i>		5,2	2,6
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		100,0	100,0
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		36	31



Slika 98. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Laurus nobilis*<sup>1</sup>





Slika 99. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Laurus nobilis*<sup>2</sup>

GC/MS i GC/FID analizom hemijskog sastava etarskih ulja *L. petersonii*, *L. scoparium*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup> i *S. aromaticum* iz familije Myrtaceae, identifikovano je ukupno 80 komponenti koji čine od 99,16% do 99,82% ulja (Tabela 12). Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (57,42%, 68,13%, 85,37%, 88,08%, 95,09%, 95,19%), zatim monoterpenski ugljovodonici (46,45% i 55,34%). Kod ulja *L. scoparium* najzastupljenija grupa jedinjenja su seksviterpenski ugljovodonici sa 47,17%. Glavne komponente etarskog ulja *L. petersonii* su geranial (32,9%), neral (22,2%), citronelal (21,1%) i citronelol (8,5%) (Slika 100). Dominantne komponente u ulju *L. scoparium* su  $\alpha$ -pinen (11,7%), kariofilen (9,9%),  $\beta$ -selinen (9,3%), kalamen (7,8%), gurjen (7,4%), 1,8-cineol (6,0%), linalol (5,8%) i  $\beta$ -eudezmanol (5,1%) (Slika 101). Najzastupljenije komponente u etarskom ulju *E. citradora* su citronelal (73,5%), neo-izopulegol (8,0%) i citronelol (5,4%) (Slika 102). U etarskom ulju *E. globulus* dominantna komponenta je 1,8-cineol (88,1%) (Slika 103), što potvrđuje i međunarodnim standardima za ovo ulje (ISO770 i ISO3065). Etarska ulja *M. alternifolia*<sup>1</sup> i *M. alternifolia*<sup>2</sup> pokazuju sličan sastav tako da su glavne komponente terpinen-4-ol (30,0% i 38,6%),  $\gamma$ -terpinen (21,5% i 21,7%),  $\alpha$ -terpinen (9,1% i 9,9%) (Slika 104-105). Takođe, sličan sastav pokazuju i etarska ulja *M. quinquenervia*<sup>1</sup> i *M. quinquenervia*<sup>2</sup> gde su glavne komponente 1,8-cineol (46,05% i 51,1%),  $\alpha$ -terpineol (8,5% i 12,6%) i *trans*-nerolidol (10,0% i 12,1%) (Slika 106-107). Kod etarskog ulja *S. aromaticum* dominiraju eugenol (83,1%) i *trans*- $\beta$ -kariofilen (12,1%) (Slika 108). Po literaturnim podacima hemijski sastav ulja *L. petersonii* podložan je sezonskoj varijaciji. Prema Demuner i sar., (2011) nivo dominantnih komponenti može da varira za geranial u intervalu od 29,3 do 32,8%, cintronelal od 26,5 do 33,9% i neral od 22,7% do 23,5%. Ova grupa autora je ispitivanjem hemijskog sastava ulja *L. scoparium* utvrdila prisustvo eudezma-4(14)-11-dien-a,  $\alpha$ -selinena i (*E*)-metil cinamata, pri čemu su iste

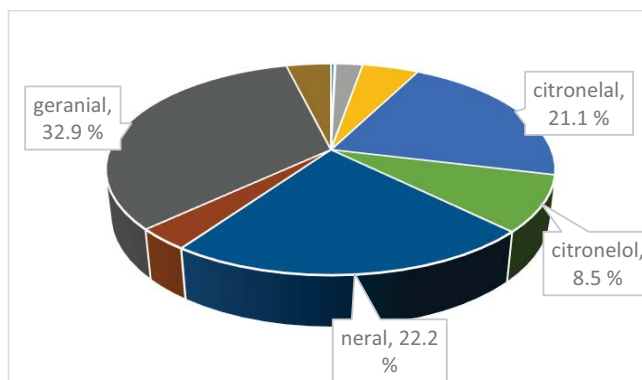
ove komponente identifikovane i u našem uzorku ovog ulja. Prema literaturnim podacima, postoje nekoliko hemotipa ulja *L. scoparium* triketon, seskviterpen (>60%),  $\alpha$ -pinen, linalol i eudezmol hemotip (Porter i sar., 1998). Prema dobijenim rezultatima naš uzorak pripada  $\alpha$ -pinen hemotipu. Visok sadržaj monoterpenoida citronelala (73,5%) u etarskom ulju *E. cutradora* je u saglasnosti sa dosadašnjim istraživanjima (Batish i sar., 2006). Singh i sar., 2012 su identifikovali 43 komponente u ovom ulju od čega su najzastupljenije komponente bile citronelal 60,66%,  $\beta$ -citronelol 12,58% i izopulegol 8,19%, ukupno čineći 81,43% ulja. Sastav etarskog ulja *E. globulus* u našim ispitivanjima je u skladu sa rezultatima ispitivanja koji pokazuju prisutnost visokog sadržaja 1,8-cineola u ulju eukaliptusa (Balacs, 2003; Ait-Quazzou i sar., 2011). Chalcat i sar. (1995) su analizom uzoraka ulja *E. globulus* poreklom iz Crne Gore i Španije takođe potvrdili dominantno prisustvo 1,8-cineola. Etarsko ulje *E. globulus* poreklom iz Alžira za glavnu komponentu ima  $\gamma$ -terpinen (Djenane i sar., 2011). U literaturi postoje brojni podaci o hemijskom profilu etarskog ulja *M. alternifolia* (Brophy i sar., 1989). Najveći broj radova o ovoj biljci potiče od grupe autora iz Australije (Carson i sar., 2006). Rezultati analize ulja prikazanih u ovoj disertaciji su u saglasnosti sa međunarodnim standardom za ovo ulje (ISO 4730, 2004) koji propisuje sadržaj terpinen-4-ol- bude viši od 30% (30,0% i 38,6%) i nivo 1,8-cineol-a niži od 15% (4,0% i 3,5%). Visok sadržaj terpinen-4-ol je obavezan, jer se smatra glavnom aktivnom komponentom ulja, dok se 1,8-cineol smatra potencijalnim iritantom kože pa mu se stoga ograničava udeo u ulju (Hammer i sar., 1996). U desetogodišnjoj studiji Ramaneolina i sar. (2008) koja uključuje 159 uzoraka poreklom sa Madagaskara dominantne komponente etarskog ulja *M. quinquenervia* su:  $\alpha$ -pinen (0.1–17%), limonen (0.0–12%), 1,8-cineol (0.0–71%),  $\alpha$ -terpineol (0.0–12%), (*E*)-nerolidol (0.0–95%) i viridiflorol (0.1–36%). Ova grupa autora je izdvojila tri hemotipa: 1,8-cineol, viridiflorol i (*E*)-nerolidol hemotip. Prema dobijenim rezultatima oba naša uzorka ulja *M. quinquenervia* pripadaju cineol hemotipu. Kvantitativna i kvalitativna analiza etarskog ulja *S. aromaticum*, koja pokazuje visok procenat eugenola (83,1%), u saglasnosti je sa velikim brojem publikovanih rezultati (Alma i sar., 2007; Miguel i sar., 2010; Mansourian i sar., 2014). U studiji Ranasigne i sar. (2002) navode pored dominantne komponente eugenola (79,2%) i visoko učešće eugenil acetata (10,4%) i  $\beta$ -kariofilena (7,5%) u ulju.

Tabela 12. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Myrtaceae (%)

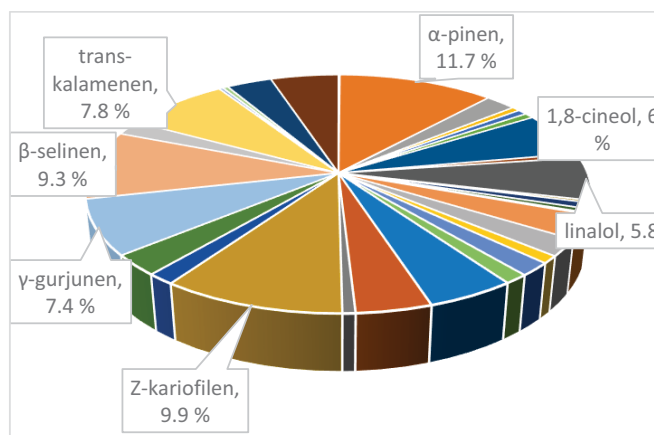
Komponente	RI	<i>L. petersonii</i>	<i>L. scoparium</i>	<i>E. citradora</i>	<i>E. globulus</i>	<i>M. alternifolia<sup>1</sup></i>	<i>M. alternifolia<sup>2</sup></i>	<i>M. quinqueornervia<sup>1</sup></i>	<i>M. quinqueornervia<sup>2</sup></i>	<i>S. aromaticum</i>
$\alpha$ -tujen	924	-	0,1	0,1	2,8	1,0	0,8	-	-	-
$\alpha$ -pinen	925	0,3	11,7	0,9	-	2,6	2,6	4,0	5,4	-
kamfen	939	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
sabinen	965	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-
$\beta$ -pinen	966	-	2,3	0,9	0,6	0,8	0,7	0,6	1,6	-
dehidro-1,8-cineol	984	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
mircen	991	-	-	-	-	0,9	0,9	-	-	-
$\alpha$ -felandren	1002	-	-	0,1	-	0,5	0,4	-	-	-
$\alpha$ -terpinen	1010	-	0,6	-	-	9,9	9,1	-	-	-
$p$ -cimen	1018	-	0,7	0,3	2,1	3,1	3,5	0,9	0,8	-
limonen	1021	-	0,7	0,3	4,1	-	-	2,2	4,3	-
$\beta$ -felandren	1022	-	-	-	-	1,7	1,9	-	-	-
1,8-cineol	1025	-	6,0	0,8	88,1	4,0	3,5	51,1	46,0	-
$\gamma$ -terpinen	1052	-	0,6	0,4	-	21,5	21,7	-	-	-
$p$ -menta-3,8-dien	1068	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
terpinolen	1088	-	-	0,1	-	3,6	3,5	-	-	-
linalol	1094	2,3	5,8	-	-	-	-	0,1	-	-
<i>cis</i> -tujen	1098	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -rose oksid	1111	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
hrisantenon	1117	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-
allo-ocimen	1122	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1131	-	-	-	-	-	-	0,5	0,3	-
kamfor	1135	-	0,5	0,1	-	-	-	0,7	-	-
<i>trans</i> -verbenol	1139	4,8	-	-	-	-	-	0,9	0,2	-
neo-allo-ocimen	1141	-	-	-	-	9,5	1,2	-	-	-
citronelal	1147	21,1	-	73,5	-	-	-	-	-	-
neo-izopulegol	1156	-	-	8,0	-	-	-	-	-	-
izoborneol	1157	-	-	-	-	-	-	0,3	0,2	-

Komponente	RI	L. <i>petersonii</i>	L. <i>scoparium</i>	E. <i>citradora</i>	E. <i>globulus</i>	M. <i>alternifolia</i> <sup>1</sup>	M. <i>alternifolia</i> <sup>2</sup>	M. <i>quinquernervia</i> <sup>1</sup>	M. <i>quinquernervia</i> <sup>2</sup>	S. <i>aromaticum</i>
izo-izopulegol	1168	-	-	4,7	-	-	-	-	-	-
terpinen-4-ol	1170	-	0,2	-	-	30,0	38,6	0,3	0,8	-
<i>neozo-</i>	1175	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
izopulegol	1185	-	3,2	-	-	2,8	2,8	12,6	8,5	-
$\alpha$ -terpineol	1195	-	-	-	-	0,1	0,0	-	-	-
$\gamma$ -trepineol	1224	8,5	-	5,4	-	-	-	-	-	-
citronelol	1235	22,2	-	-	-	-	-	-	-	-
neral	1240	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
pulegon	1251	3,3	-	-	-	-	-	-	-	-
geraniol	1265	32,9	-	-	-	-	-	-	-	-
geranial	1273	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-
izopulegil acetat	1317	-	2,3	-	-	-	-	-	-	-
mirtenil acetat	1318	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
metil geranat	1339	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
8-hydroxy-neo-mentol	1340	-	1,8	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -kubeben	1341	-	-	-	-	-	-	0,5	1,3	-
$\alpha$ -terpinil acetat	1348	-	1,3	1,4	-	-	-	-	-	-
citronelil acetat	1360	-	-	-	-	-	-	-	-	83,1
eugenol	1376	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
$\alpha$ -kopaen	1377	-	4,8	-	-	-	-	-	-	-
geranil acetat	1382	3,8	4,1	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -elemen	1398	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-
ciperen	1406	-	-	-	-	0,3	0,3	-	-	-
$\alpha$ -gurjunen	1408	-	9,9	-	-	-	-	-	1,7	-
Z-kariofilen	1420	-	-	1,3	-	0,4	0,4	-	-	11,7
<i>trans</i> - $\beta$ -kariofilen	1422	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3
$\beta$ -duprezianen	1423	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1427	-	1,5	-	-	0,1	0,1	0,9	-	-
$\beta$ -gurjunen	1430	-	-	-	-	1,4	1,6	-	-	-
$\beta$ -kopaen	1438	-	2,8	-	0,6	0,1	0,1	-	-	-

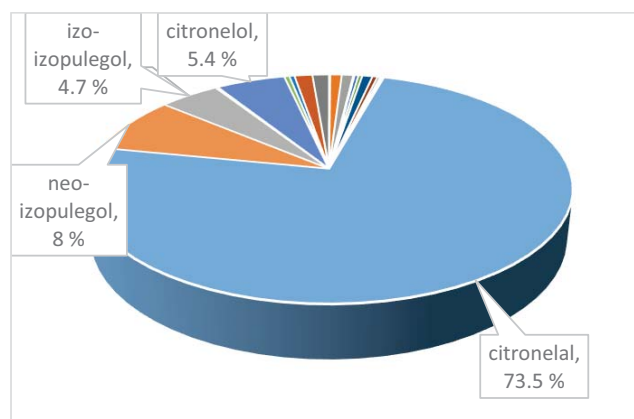
Komponente	RI	<i>L. petersonii</i>	<i>L. scoparium</i>	<i>E. citradora</i>	<i>E. globulus</i>	<i>M. alternifolia</i> <sup>1</sup>	<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	<i>M. quinquermeria</i> <sup>1</sup>	<i>M. quinquermeria</i> <sup>2</sup>	<i>S. aromaticum</i>
<i>cis</i> -muurool-3,5-dien	1449	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-
$\alpha$ -humulen	1442	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,5
allo-aromadendren	1449	-	-	-	-	0,5	0,6	-	0,6	-
$\gamma$ -gurjunen	1470	-	7,4	-	-	-	-	0,9	0,4	-
dauca-5,8-dien	1473	-	-	-	-	0,4	0,4	-	-	-
$\beta$ -selinen	1484	-	9,3	-	-	-	-	1,2	-	-
viridifloren	1490	-	-	-	-	2,0	1,7	-	1,2	-
epizonaren	1496	-	2,0	-	-	-	-	-	0,3	-
<i>trans</i> -kalamenen	1512	-	7,8	-	-	-	-	-	0,3	-
eugenil acetat	1519	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3
$\delta$ -kadinen	1522	-	-	-	-	1,3	1,5	-	-	0,1
<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	1532	-	-	-	-	0,2	0,2	-	-	-
<i>trans</i> -nerolidol	1556	-	-	-	-	-	-	10,0	12,1	-
spatulenol	1567	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
kariofilen oksid	1571	-	0,4	-	-	-	-	7,0	1,4	0,5
globulol	1586	-	-	-	1,3	0,2	0,5	-	-	-
viridiflorol	1592	-	-	-	-	0,2	0,6	3,3	10,7	-
ledol	1591	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-
kubeban-11-ol	1593	-	-	-	-	0,2	0,4	-	-	-
$\gamma$ -eudesmol	1621	-	3,4	-	-	-	-	-	-	-
1- <i>epi</i> -kubenol	1630	-	-	-	-	0,1	0,2	-	-	-
$\beta$ -eudezmol	1639	-	5,1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Monoterpeniksi uugjovodonitci</i>	0,25	16,69	3,24	9,53	55,34	46,45	7,78	12,13	0,00	
<i>Oksidovani monoterpeni</i>	95,09	26,32	95,19	88,08	36,93	44,85	68,13	57,42	85,37	
<i>Seskviterpeniksi uugjovodonitci</i>	3,82	47,17	1,28	0,56	6,76	6,85	3,02	4,87	13,71	
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>	0,00	9,06	0,00	1,28	0,77	1,67	20,26	25,39	0,46	
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>	99,16	99,24	99,71	99,46	99,80	99,82	99,18	99,81	99,54	
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>	10	32	21	7	32	31	21	22	9	



Slika 100. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Leptospermum petersonii*

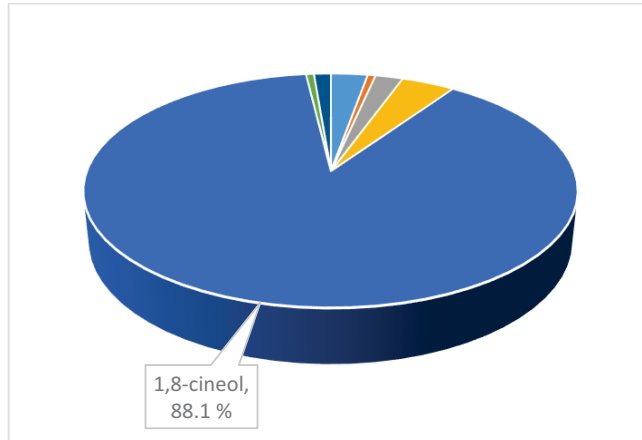


Slika 101. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Leptospermum scoparium*

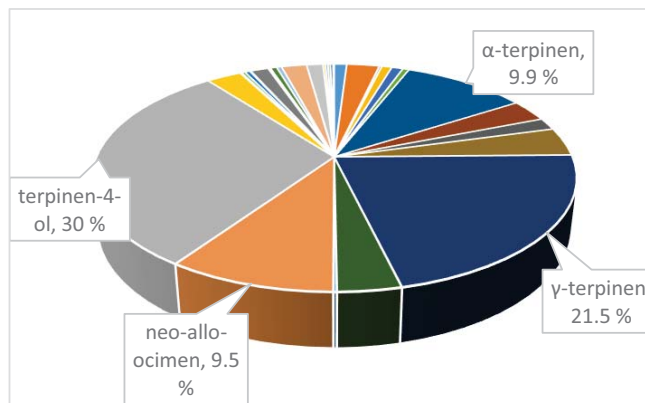


Slika 102. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Eucalyptus citriodora*

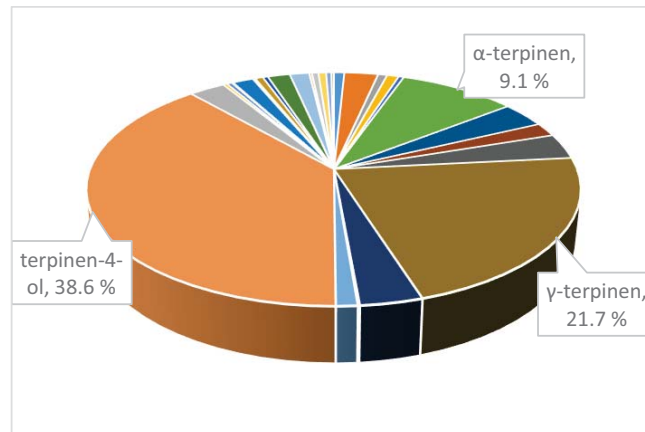




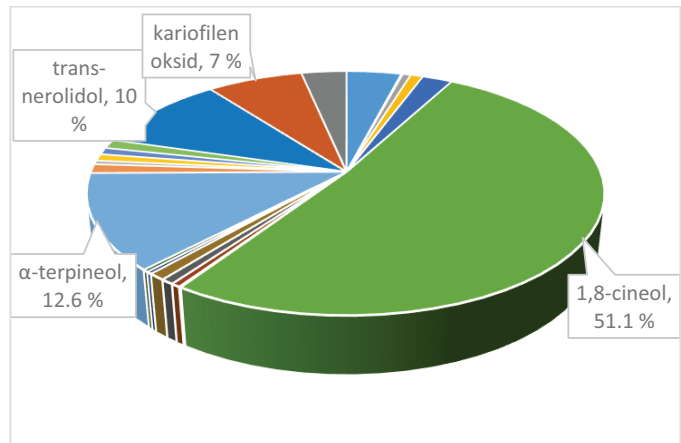
Slika 103. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Eucalyptus globulus*



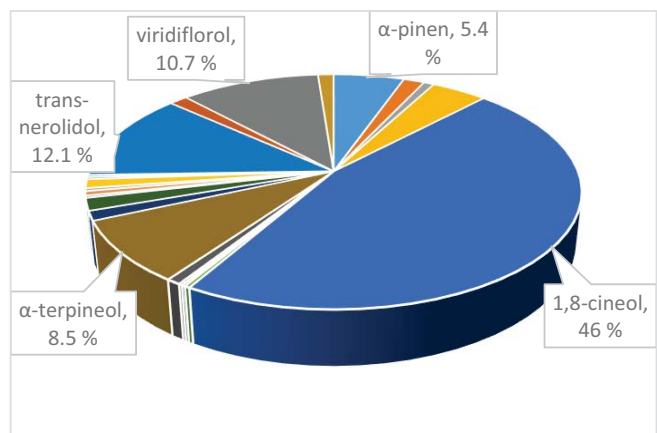
Slika 104. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Melaleuca alternifolia*<sup>1</sup>



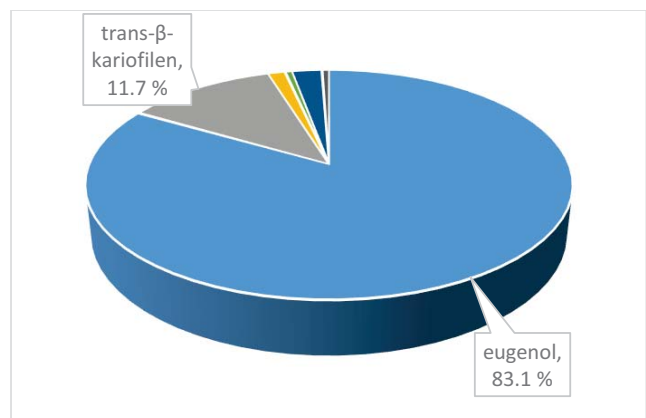
Slika 105. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Melaleuca alternifolia*<sup>2</sup>



Slika 106. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Melaleuca quinquernervia*<sup>1</sup>



Slika 107. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Melaleuca quinquernervia*<sup>2</sup>



Slika 108. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Syzygium aromaticum*

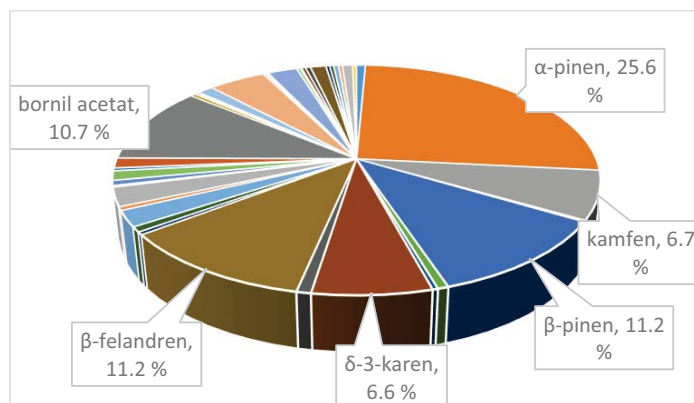
Analizom hemijskog sastava etarskih ulja *A. procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasii* i *P. silvestris* iz familije Pinaceae identifikovano je ukupno 73 komponenti koje čine od 99,25% do 99,99% ulja (Tabela 13). Najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (64,49%, 73,15%, 86,59%, 89,23% i 96,50%). Glavne komponente etarskog ulja *A. procera* su  $\alpha$ -pinen (25,6%),  $\beta$ -pinen (11,2%),  $\beta$ -felandren (11,2%), bornil acetat (10,7%), kamfen (6,7%) i  $\delta$ -3-karen (6,6%) (Slika 109). Etarska ulja *A. grandis* i *A. alba* imaju sličan hemijski sastav, a među dominantim komponentama su prisutne  $\beta$ -pinen (24,8% i 31,5%),  $\alpha$ -pinen (9,5% i 20,7%), kamfen (15,0% i 19,5%),  $\beta$ -filandren (13,2% i 14,6%) i bornil acetat (11,3% i 16,7%) (Slike 110-111). Najzastupljenije komponente etarskog ulja *P. douglasii* su  $\beta$ -pinen (36,5%),  $\alpha$ -pinen (17,5%), sabinen (12,3%) i 3-karen (6,3%) (Slika 112), dok u etarskom ulju *P. silvestris* dominira  $\alpha$ -pinen (88,5%) (Slika 113). Ne postoje brojni podaci o fitohemijskoj strukturi etarskog ulja *A. procera*. Prema Zavarin i sar. (1978) koji su ispitivali monoterpensku frakciju oleorezina iz 352 drveta sa 35 lokacija u SAD, najzastupljeniji monoterpeni su  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, limonen and  $\beta$ -felandren, kamfen i  $\delta$ -3-karen. Prisustvo istih ovih komponenti potvrđeno je i u našem uzorku ulja. U literaturi postoje veoma mali broj podataka o hemijskom sastavu ulja *A. grandis* (von Rudolf 1975; von Rudolf 1976; Zavarin i sar., 1977; Muzika i sar., 1989; Muzika i sar., 1990). Nedavna studija Adams i Kauffmann (2015) pokazuje da u ulju *A. grandis* dominiraju  $\beta$ -pinen (20,3 - 31%), bornil acetat (12,7 - 26,2%),  $\beta$ -felandren (13,7 - 25,2%) i kamfen (8,3 - 11,5%),  $\alpha$ -pinen (4,4 - 7,4%),  $\alpha$ -terpinen (1,1 - 2,2%), terpinolen (1,3 - 2,9%) i  $\alpha$ -terpineol (1,1 - 3,6%). Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim ispitivanjima hemijskog sastava ulja *A. grandis*. Prema rezultatima Yang i sar. (2009) dobijenim analizom hemijskog sastava ulja *A. alba*, najzastupljenije komponente su bornil acetat (30,31%), kamfen (19,81%),  $\delta$ -3-karen (13,85%), triciklen (12,90%) i *D*-limonen (7,50%). U literaturi ne postoje podaci o hemijskom profilu za etarsko ulje *P. douglasii* ali se na osnovu rezultata ulja iz familije Pinaceae može uočiti karakteristično visok procenat monoterpena ( $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -pinen, sabinen i  $\delta$ -3-karen). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjem koje su sproveli Venskutonis i sar. (2000), koji su analizirali hemijski sastav ulja populacije crnog bora iz Litvanije, u kojima je identifikovano je više od 70 konstituenata od kojih su najzastupljeniji bili  $\alpha$ -pinen (18,5-33,0%) i  $\delta$ -3-karen (9,1-24,6%). Takođe, analiza ulja *P. silvestris* iz Turske pokazuje prisustvo  $\alpha$ -pinena, kamfena i  $\beta$ -pinena (Ustin i sar., 2006).

Tabela 13. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Pinaceae (%)

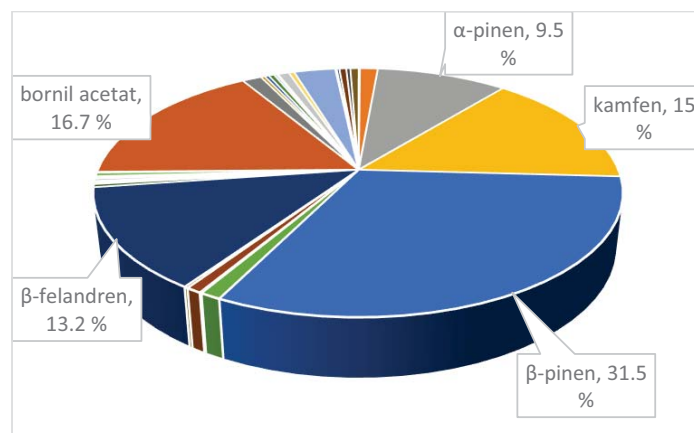
Komponente	RI	<i>A. procera</i>	<i>A. grandis</i>	<i>A. alba</i>	<i>P. douglasii</i>	<i>P. silvestris</i>
santen	885	-	0,1	2,4	-	-

Komponente	RI	<i>A. procera</i>	<i>A. grandis</i>	<i>A. alba</i>	<i>P. douglasii</i>	<i>P. silvestris</i>
tricklen	913	0,7	1,3	2,6	0,1	0.1
$\alpha$ -tujen	923	-	-	-	1,2	-
$\alpha$ -pinen	924	25,6	9,5	20,7	17,5	88.5
kamfen	938	6,7	15,0	19,5	1,2	1.9
tuja-2,4(10)-dien	945	0,2	-	-	-	0.2
sabinen	970	-	-	-	12,3	-
$\beta$ -pinen	972	11,2	31,5	24,8	36,5	1.8
mircen	986	0,6	1,1	1,1	2,9	-
$\alpha$ -felandren	997	0,3	0,1	0,3	-	-
$\delta$ -3-karen	1002	6,6	0,8	-	6,3	0.1
$\alpha$ -terpinen	1014	-	-	-	0,1	-
<i>p</i> -cimen	1017	0,8	0,2	0,7	4,8	1.0
limonen	1023	-	-	-	-	3.0
$\beta$ -felandren	1024	11,2	13,2	14,6	3,9	-
1,8-cineol	1022	0,4	-	-	-	-
$\gamma$ -terpinen	1056	-	0,4	-	0,3	-
fenhon	1080	0,7	-	-	-	-
<i>p</i> -menta-2,4(8)-dien	1085	-	0,2	-	-	-
terpinolen	1085	-	-	-	2,0	-
6-kamfenon	1094	-	-	-	-	0.1
$\alpha$ -pinen oksid	1094	-	-	-	-	0.7
endo-fenhol	1116	0,2	-	-	-	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1130	0,6	0,2	0,2	0,7	-
<i>trans</i> -sabinol	1138	-	-	-	-	0.6
kamfor	1134	2,2	0,3	-	0,3	0.4
kamfen hidrat	1145	-	0,1	-	-	-
mircenon	1146	-	-	-	-	0.7
<i>trans</i> -pinokamfon	1163	0,5	-	-	-	-
borneol	1166	2,6	0,2	0,3	0,1	-
terpinen-4-ol	1170	0,2	0,5	-	2,8	-
<i>cis</i> -pinokarveol	1182	0,7	-	-	-	-
$\alpha$ -terpineol	1184	1,3	0,1	0,4	-	-
mirtenol	1190	0,4	-	0,2	-	-
mirtenal	1189	-	-	-	0,7	0.3
$\gamma$ -terpineol	1191	-	-	-	1,2	-
<i>trans</i> -karveol	1210	-	-	-	-	0.4
timol, metil etar	1228	1,4	-	-	-	-
karvakrol, metil etar	1234	-	-	-	0,5	-
bornil acetat	1283	10,7	16,7	11,3	0,7	0.1
$\alpha$ -longipinen	1339	0,4	-	-	-	-
$\alpha$ -kubeben	1345	-	1,4	-	-	-
terpinil $\alpha$ -acetat	1349	-	-	0,1	-	-
citronelil acetat	1351	-	0,3	-	1,7	-

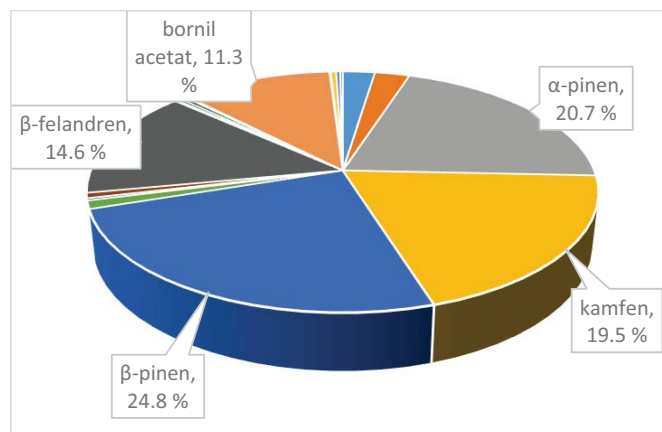
Komponente	RI	<i>A. procera</i>	<i>A. grandis</i>	<i>A. alba</i>	<i>P. douglasii</i>	<i>P. silvestris</i>
neiso-acetat	1352	0,2	-	-	-	-
$\alpha$ -ylangen	1361	0,2	-	-	-	-
$\alpha$ -kopaen	1371	-	0,3	-	-	-
geranil acetat	1385	-	-	-	0,4	-
$\beta$ -elemen	1388	-	-	-	0,2	-
longifolen	1393	1,2	-	-	-	-
( <i>E</i> -)kariofilen	1408	4,5	0,4	0,4	0,2	-
<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamoten	1426	0,2	-	-	-	-
$\alpha$ -himahalen	1437	0,2	-	-	-	-
$\alpha$ -humulen	1442	2,3	0,2	0,3	0,3	-
<i>trans</i> -kadina-1(6),4-dien	1469	-	0,1	-	-	-
$\gamma$ -muurolen	1470	0,3	-	-	-	-
<i>trans</i> -muurola-4(14),5-dien	1484	0,1	-	-	-	-
$\beta$ -alasken	1485	0,3	-	-	-	-
$\alpha$ -muurolen	1490	0,4	0,8	-	-	-
$\beta$ -bisabolen	1499	1,2	-	-	-	-
( <i>Z</i> -) $\alpha$ -bisabolen	1500	0,3	-	-	-	-
$\gamma$ -kadinen	1510	-	0,4	-	0,2	-
$\gamma$ -( <i>Z</i> -)bisabolen	1511	0,3	-	-	-	-
$\delta$ -kadinen	1513	0,4	3,0	0,2	0,4	-
$\gamma$ -( <i>E</i> -)isabolen	1522	0,3	-	-	-	-
<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	1528	-	0,1	-	-	-
kariofilen oksid	1571	0,8	-	-	-	-
gleenol	1584	-	0,2	-	-	-
humulen epoksid II	1597	0,3	-	-	-	-
1- <i>epi</i> -kubenol	1626	-	0,5	-	-	-
kubenol	1640	-	0,3	-	-	-
selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	1656	-	0,6	-	-	-
$\alpha$ -bisabolol	1679	0,4	-	-	-	-
<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>		64,49	73,15	86,59	89,23	96,50
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		21,42	18,41	12,55	10,03	3,35
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		12,53	6,88	0,83	0,80	0,00
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		1,52	1,54	0,00	0,00	0,00
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		99,96	99,99	99,97	99,25	99,85
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		42	34	18	26	16



Slika 109. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Abies procera*

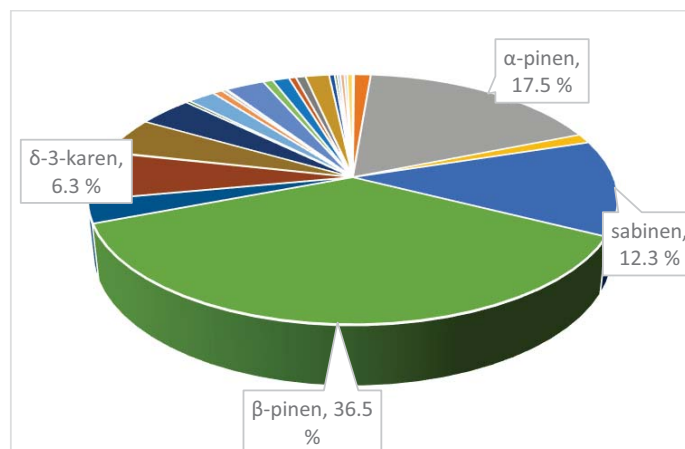


Slika 110. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Abies grandis*

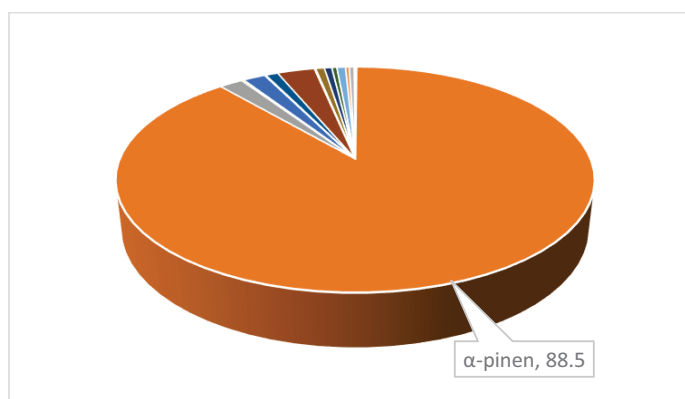


Slika 111. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Abies alba*





Slika 112. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Pseudotsuga douglasii*

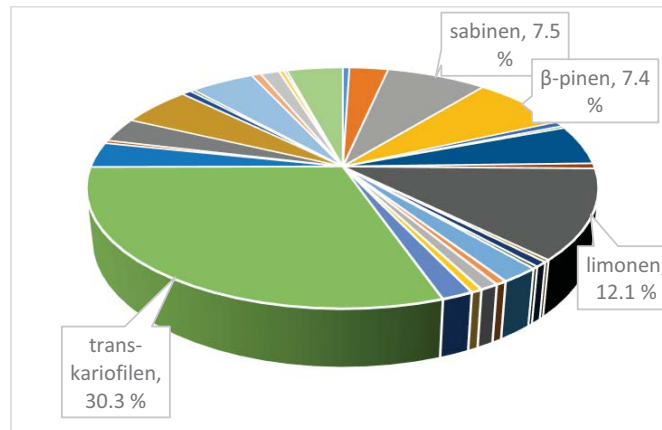


Slika 113. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Pinus silvestris*

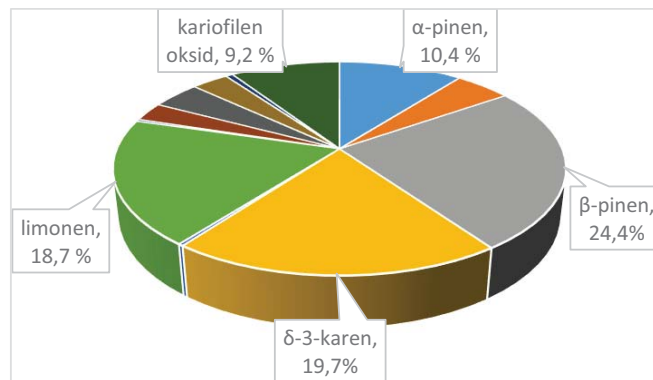
Hemijskom analizom etarskih ulja *P. nigrum*<sup>C</sup>, *P. nigrum*<sup>Z</sup> iz familije Piperaceae identifikovano je ukupno 34 komponente koje čine 98,44% i 100,00% ulja (Tabela 14). Najzastupljenija grupa jedinjenja kod *P. nigrum*<sup>C</sup> su seskviterpenski ugljovodonići (53,26%) dok su kod ulja *P. nigrum*<sup>Z</sup> najzastupljeniji monoterpenski ugljovodonići (78,26%). Glavna komponenta etarskog ulja *P. nigrum*<sup>C</sup> su: *trans*-kariofilen (30,3%), limonen (12,1%), sabinen (7,5%),  $\beta$ -pinen (7,4%),  $\delta$ -3-karen (5,3%) i  $\alpha$ -sabinen (5,3%) (Slika 114), dok u ulju *P. nigrum*<sup>Z</sup> najzastupljenije  $\beta$ -pinen (24,4%),  $\delta$ -3-karen (19,7%), limonen (18,7%),  $\alpha$ -pinen (10,4%) i kariofilen oksid (9,2%) (Slika 115). Ranija istraživanja hemijskog sastava ulja crnog bibera izdvajaju  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, mircen,  $\alpha$ -felandren, limonen, linalol, metilpropanal i 2.3-metilbutanal kao dominantne komponente (Jagella i Grosh, 1999). Liu i sar. (2007) su utvrdili prisustvo  $\beta$ -kariofilena (23,49%),  $\delta$ -3-karena (22,20%), d-limonena (18,68%),  $\beta$ -pinena (8,92%) i  $\alpha$ -pinena (4,03%) u etarskom ulju crnog bibera.

Tabela 13. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Piperaceae (%)

Komponente	RI	<i>P. nigrum</i> <sup>C</sup>	<i>P. nigrum</i> <sup>Z</sup>
$\alpha$ -tujen	919	0,5	-
$\alpha$ -pinen	924	2,9	10.4
kamfen	939	-	4.7
sabinen	964	7,5	-
$\beta$ -pinen	967	7,4	24.4
mircen	985	0,7	-
$\alpha$ -felandren	997	0,3	-
$\delta$ -3-karen	1002	5,3	19.7
<i>p</i> -cimen	1017	0,7	0.3
limonen	1021	12,1	18.7
<i>trans</i> -pinokarveol	1131	-	0.3
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1062	0,3	-
<i>p</i> -menta-2,4(8)-dien	1082	0,7	-
terpinen-4-ol	1171	0,3	-
mirtenol	1191	-	2.8
geraniol	1256	2,1	-
$\delta$ -elemen	1328	0,6	4.1
$\alpha$ -kubeben	1340	1,0	-
$\alpha$ -kopaen	1365	0,6	3.1
$\beta$ -elemen	1382	1,7	-
<i>cis</i> -kaiofilen	1408	-	0.6
<i>trans</i> -kariofilen	1409	30,3	-
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1426	3,4	-
$\alpha$ -guaien	1428	0,4	-
$\beta$ -selinen	1475	3,3	-
$\alpha$ -salinen	1484	5,3	-
$\alpha$ -zingiberen	1486	0,7	-
biciklogermakren	1493	0,3	-
$\beta$ -bisabolen	1499	4,8	-
$\gamma$ -kadinen	1513	0,7	-
<i>trans</i> - $\gamma$ -bisabolen	1522	1,4	-
hedikariol	1541	0,4	-
germakren B	1545	0,2	-
kariofilen oksid	1571	4,2	9.2
<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>		38.17	78,26
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		2.65	3,12
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		53.26	7,86
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		5.92	9,20
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		100.00	98,44
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		30	12



Slika 114. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Piper nigrum*<sup>C</sup>



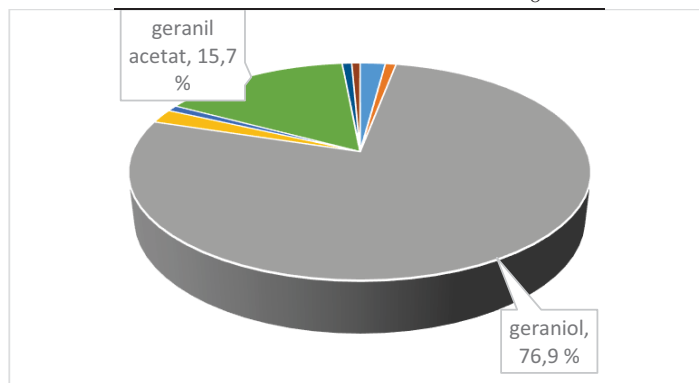
Slika 115. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Piper nigrum*<sup>Z</sup>

Analizom hemijskog sastava etarskog ulja *C. martinii* iz familije Poaceae identifikovano je ukupno 50 jedinjenja koji čine 96,25% i 100,00% ulja (Tabela 15). U ulju *C. martinii* najzastupljenija grupa jedinjenja su oksidovani monoterpeni (98,48%). Glavne komponente našeg uzorka ulja *C. martinii* su geraniol i geranil acetat koje zajedno čine 92,6 % ukupnog sadržaja ulja (Slika 116). Hemijski sastav ovog ulja je u skladu sa publikovanim podacima o sastavu ulja za ovu biljnu vrstu (Siddiqui i sar., 1990; Raina i sar., 2003; Rajeswara i sar., 2009). Takođe, utvrđeno je da poseduje visok kvalitet i na osnovu sadržaja geraniola, ukoliko uzmemo u obzir standard kvaliteta ISO4727:1988, po kome sadržaj ove komponente u ulju geranijuma treba da bude od 74 do 86%.

Tabela 15. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Poaceae (%)

Komponente	RI	<i>C. martinii</i>
linalol	1096	2,1
neral	1237	0,9
geraniol	1252	76,9
geranial	1265	2,1
geranil format	1296	0,9
geranil acetat	1377	15,7

Komponente	RI	<i>C. martinii</i>
Z-kariofilen	1407	0,8
E-nerolidol	1557	0,7
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		98.48
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		0.82
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>		0.70
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		100.0
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		8



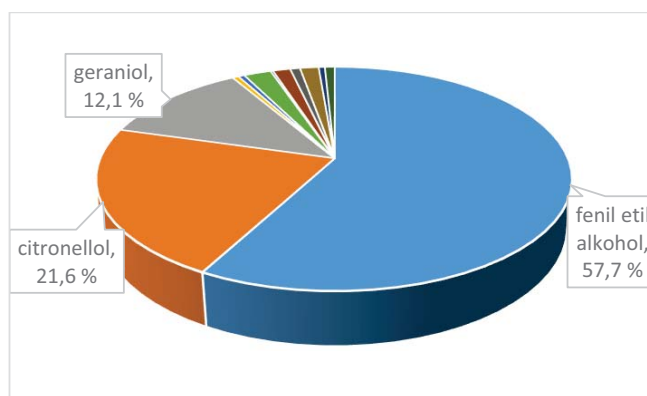
Slika 116. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Cymbopogon martinii*

Analizom hemijskog sastava etarskog ulja *R. centifolia* iz porodice Rosaceae identifikovano je ukupno 12 komponenti koje čine 99,8% ulja (Tabela 16). Najzastupljenija grupa jedinjenja u etarskom ulju ruže jesu benzil/fenilpropanoid jedinjenja (60,1%) i oksidovani monoterpeni (34,7%). Dominantne komponente ulja *R. centifolia* su fenil etil alkohol (57,7%), citronelol (21,6%) i geraniol (12,1%) (Slika 117). Podaci iz literature ukazuju da je glavni sastojak u etarskom ulju *R. centifolia* fenil etil alkohol a pored njega su prisutni i geranil acetat, geraniol, linalol, benzil alkohol, benzaldehid, nerol i citronelil acetat (Khan i sar., 2005; Jitendra i sar., 2012), što je u skladu sa rezultatima analize sastava našeg uzorka ovog ulja.

Tabela 16. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz porodice Rosaceae (%)

Komponente	RI	<i>R. centifolia</i>
fenil etil alkohol	1111	57,7
citronelol	1224	21,6
geraniol	1250	12,1
citronelil format	1264	0,5
citronelil acetat	1348	0,5
eugenol	1356	2,2
metil eugenol	1407	0,2
<i>cis</i> -kariofilen	1408	1,4
C17-heptadekan	1689	0,8
n-hexadekanol	1861	1,5

Komponente	RI	<i>R. centifolia</i>
C19-nonadekan	1887	0,5
n-oktadekanol	2076	0,8
<hr/>		34,7
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		60,1
<i>Benzojeva/fenilpropanoidna jedinjenja</i>		1,4
<i>Seskviterpenski ugljovodonici</i>		1,3
<i>Alifatični ugljovodonici</i>		2,3
<hr/>		99,8
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>		12
<hr/>		
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>		



Slika 117. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Rosa centifolia*

Analizom hemijskog sastava etarskih ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> iz familije Rutaceae, identifikovano je ukupno 29 komponenti koji čine 99,86 odnosno 100,00% ulja (Tabela 17). Najzastupljenija grupa jedinjenja kod oba ulja *C. aurantium*, neroli i petitgrein su oksidovani monoterpeni (70,92% i 92,00%), dok su to kod ulja *C. limon* monoterpenski ugljovodonici (64,94%). U istraživanjima Kadambari i sar. (2010) kao glavne komponente etarskog ulja *C. limon* identifikovane se: limonen, geraniol, neril acetat i geraniol acetat. Soković (2001) navodi limonen,  $\beta$ -pinen i  $\gamma$ -terpinen kao glavne komponente etarskog ulja limuna, odnosno limonen u etarskom ulju narandže. Glavne komponente etarskog ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup> su linalil acetat (40,9%), linalol (18,9%) i fenil etil alkohol (17,1%) (Slika 118). Ovakav hemijski sastav nije po međunarodnom standardu ISO3517:2002, koji pripisuje opseg variranja komponenti karakterističnih za ovo ulje (limonen 9-18%, linalol 28-44 i linalil acetat 3-15%). Dominantne komponente u ulju *C. limon* su limonen (37,5%),  $\beta$ -pinen (17,9%), *p*-cimen (6,9%),  $\beta$ -bisabolen (6,4%), neril acetat (5,3%) i geraniol acetat (5,3%) (Slika 119), što u poređenju sa ISO855:2003 koji pripisuje sadržaj limonena 59-80%,  $\beta$ -pinena 10-16,5% i *p*-cimena 0,05-0,4 % pokazuje određeni opseg

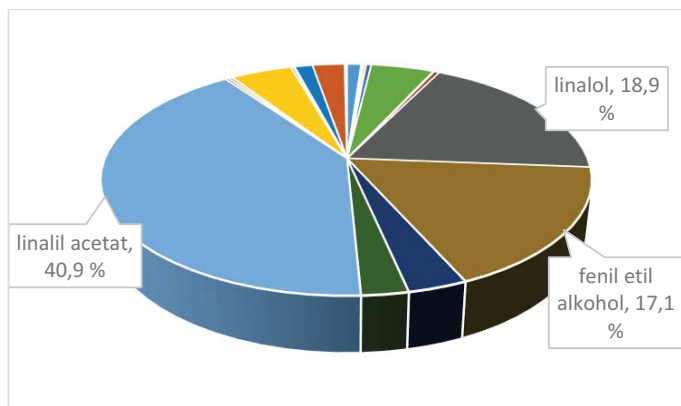
variranja. Najzastupljenije komponente etarskog ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> su linali acetat (57,7%) i linalol (26,0%) (Slika 120) i njihov sadržaj odgovara kvalitetu koji propisuje standard za petitgrein ulje lista gorke pomorandže koje potiče sa mediterana (ISO8901:2003). Ammar i sar. (2012) koji su uradili analizu sastava etarskog ulja iz lista *C. aurantium* iz Tunisa i pokazali da je limonen glavna komponenta, a od ostalih sastojaka bila su zastupljena sledeća jedinjenja (E)-nerolidol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -terpinil acetat i (E, E)-farnesol.

Tabela 17. Hemijski sastav odabranih etarskih ulja biljaka iz familije Rutaceae (%)

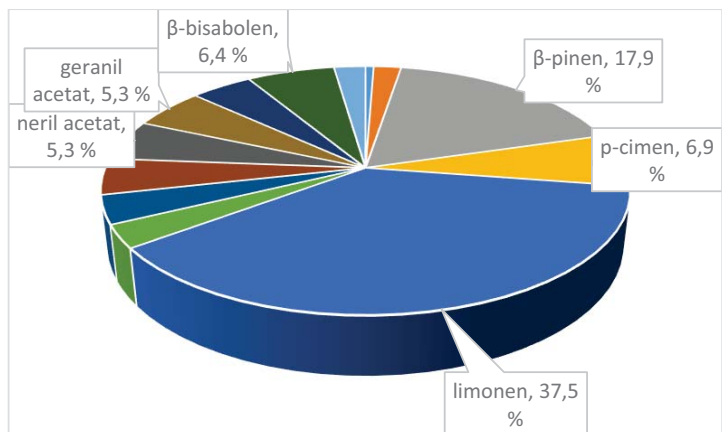
Komponente	RI	<i>C. aurantium</i> spp. <i>aurantium</i> <sup>N</sup>	<i>C. limon</i>	<i>C. aurantium</i> spp. <i>aurantium</i> <sup>GP</sup>
$\alpha$ -tujen	920	-	0,6	-
$\alpha$ -pinen	924	1,1	2,0	0,5
kamfen	938	0,1	-	-
sabinen	966	0,1	-	-
$\beta$ -pinen	966	0,2	17,9	3,7
<i>p</i> -cimen	1018	0,4	6,9	-
limonen	1020	4,9	37,5	2,9
<i>cis</i> -linalol oksid	1066	0,1	-	-
linalol	1094	-	-	26,0
<i>trans</i> -linalol oksid	1082	0,4	-	-
linalol	1095	18,9	-	-
fenil etil alkohol	1108	17,1	-	-
<i>trans</i> -pinokarveol	1132	-	3,0	-
$\alpha$ -terpineol	1183	3,3	-	0,7
nerol	1223	2,6	-	-
linalil acetat	1251	40,9	3,7	57,7
dihidro-linalol acetat	1266	0,3	-	-
lavandulil acetat	1297	0,3	-	-
metil-antranilat	1336	4,8	-	-
<i>trans</i> -karvil acetat	1338	-	4,7	-
$\alpha$ -terpinil acetat	1341	0,2	-	-
<i>neoizo</i> -dihidro karveol acetat	1358	0,1	-	-
neril acetat	1360	1,4	5,3	2,9
geranil acetat	1377	2,5	5,3	4,8
<i>E</i> -kariofilen	1408	0,1	-	0,8
<i>Z</i> -kariofilen	1411	0,1	-	-
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1426	-	4,5	-
$\beta$ -bisabolen	1499	-	6,4	-
kariofilen oksid	1572	-	2,3	-
<i>Monoterpenski ugljovodonici</i>		6,91	64,94	7,07
<i>Oksidovani monoterpeni</i>		70,92	21,93	92,00
<i>Fenilpropanoidna jedinjenja</i>		17,10	-	-



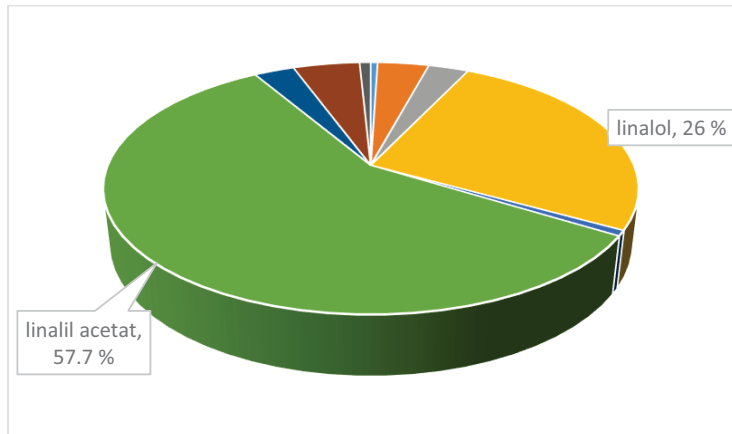
<i>Seskviterpensi ugljovodonici</i>	0,15	10,84	0,79
<i>Oksidovani seskviterpeni</i>	-	2,29	-
<i>Ukupno identifikovano (%)</i>	99,86	100,00	99,86
<i>Broj identifikovanih komponenti</i>	22	13	9



Slika 118. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Citrus aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>



Slika 119. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Citrus limon*



Slika 120. Prikaz procentualne zastupljenosti komponenti u etarskom ulju *Citrus aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>

### 5.3. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka

Antibakterijska aktivnost 60 etarskih ulja odabranih aromatičnih vrsta biljaka na osam kliničkih izolata bakterija (*Staphylococcus aureus* IBR ST001, *Streptococcus pyogenes* IBR S003, *Streptococcus mutans* IBR S001, *Lactobacillus acidophilus* IBR L001, *Streptococcus salivarius* IBR S006, *Streptococcus sanguis* IBR S002, *Pseudomonas aeruginosa* IBR P001 i *Enterococcus faecalis* IBR E001) testirana je pomoću mikrodilucione metode. Određivane su MIK i MBK, a rezultati su prikazani u Tabelama 17-31. Neophodno je naglasiti da je pri diskusiji antibakterijske aktivnosti etarskih ulja, korišćen sledeći kriterijum: MIK < 1 mg/ml jaka aktivnost, 1 mg/ml < MIK < 10 mg/ml umerena aktivnost, MIK > 10 mg/ml slaba aktivnost (Lako, 2013).

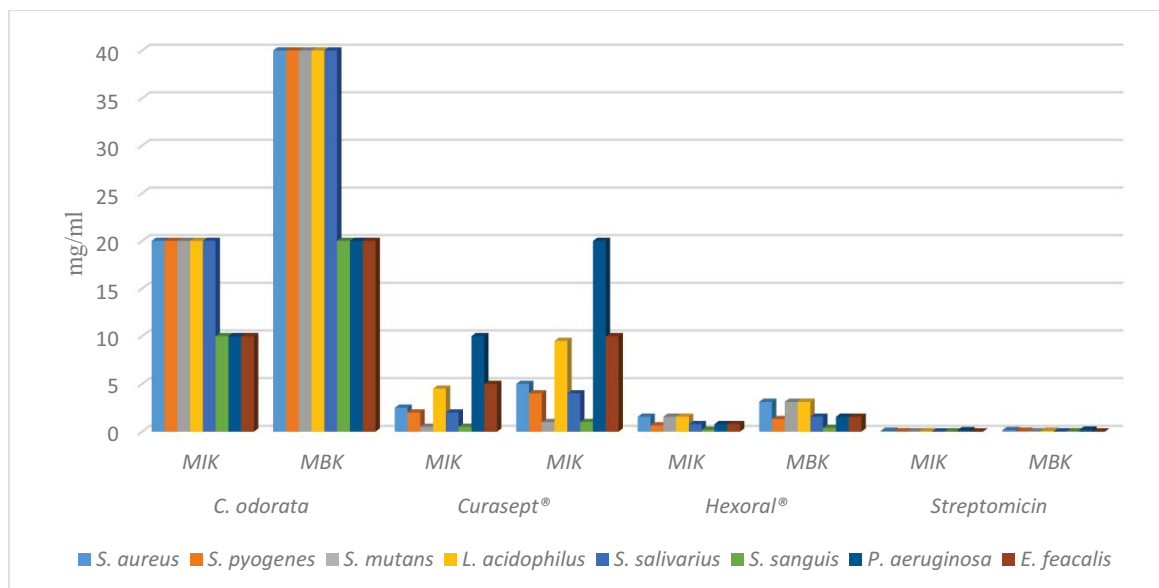
Etarsko ulje *C. odorata* pokazalo je slabu antibakterijsku aktivnost na sve bakterije inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija od 10,00 do 40,00 mg/ml (Tabela 17, Slika 121). MIK se kretala u rasponu 10,00-20,00 mg/ml, dok su MBK u intervalu 20,00-40,00 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole korišćene u ovom eksperimentu etarsko ulje *C. odorata* pokazalo je slabiju antibakterijsku aktivnost. Prema literaturnim podacima etarsko ulje *C. odorata* poseduje veoma slabu antibakterijsku aktivnost (Maruzzella i Lichtenstein, 1956). U ispitivanju osetljivosti *Streptococcus pneumonia* (inkapsuliranu i nekapsuliranu formu), ulje *C. odorata* nije pokazalo antibakterijsku aktivnost (Horne i sar., 2001). Maudsley i Kerr, (1999) su testirali antibakterijsku aktivnost osam komercijalnih etarskih ulja, među njima i ulja ilang-ilang, na sedam bakterijskih sojeva (*S. aureus*, MRSA, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* i *Stenotrophomonas maltophilia*) i zabeležena je umerenu aktivnost na sve sojeve, izuzev *P. aeruginosa*. Do sada, ne postoje literaturni podaci o antibakterijskoj aktivnosti etarskog ulja ove vrste na bakterije izolovane iz usne duplje čoveka.

Tabela 17. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Cananga odorata*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>C. odorata</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MIK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	20,00	40,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	20,00	40,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	20,00	40,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	20,00	40,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	20,00	40,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	10,00	20,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04

	MIK	MBK	MIK	MIK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>P. a</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 121. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja biljke iz familije Annonaceae (mg/ml).

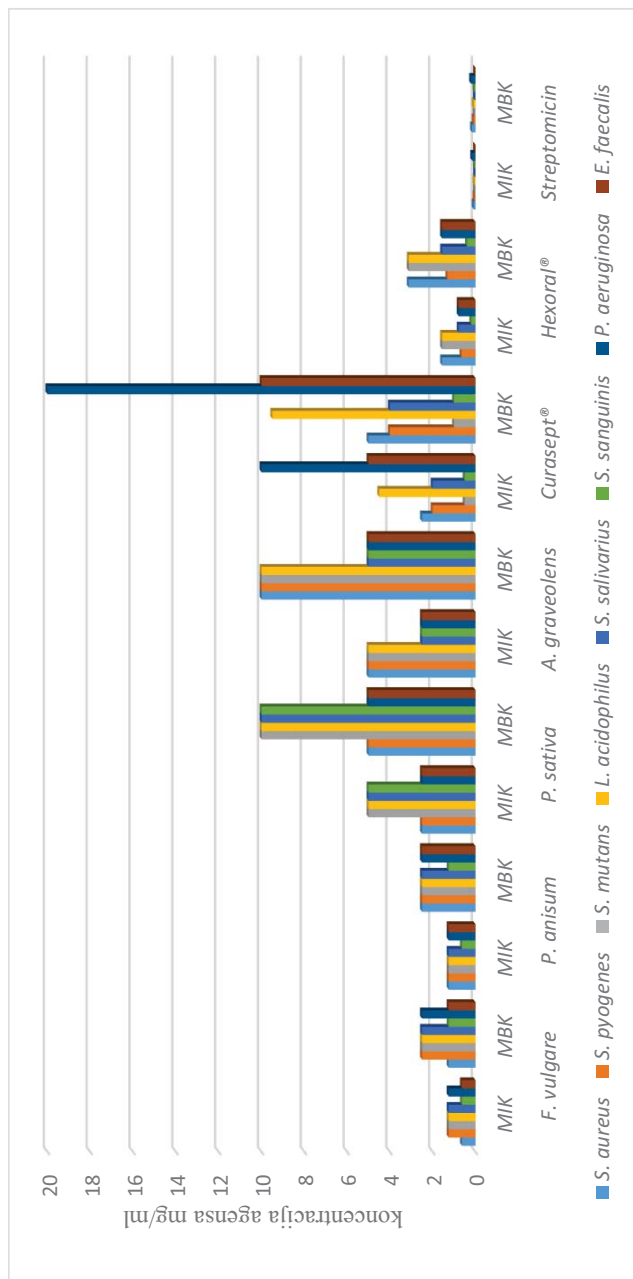
Etarska ulja biljaka iz familije Apiaceae *F. vulgare*, *P. anisum*, *P. sativa*, *A. graveolens* pokazala su umerenu do slabu antibakterijsku aktivnost na sve testirane vrste bakterija inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 0,63-10,00 mg/ml (Tabela 18, Slika, Slika 122). Etarska ulja *F. vulgare* (MIK 0,63-1,25; MBK 1,25-2,5 mg/ml) i *P. anisum* (MIK 0,63-1,25; MBK 1,25-2,50 mg/ml) su pokazala bolju antibakterijsku aktivnost u odnosu na ulja *P. sativa* (MIK 2,50-5,00; MBK 5,00-10,00 mg/ml) i *A. graveolens* (MIK 2,50-5,00; MBK 5,00-10,00 mg/ml). U poređnom analizom antibakterijski potencijal etarskih ulja biljaka iz familije Apiaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *F. vulgare* > *P. anisum* > *P. sativa* > *A. graveolens*. U odnosu na pozitivne kontrole korišćene u ovom eksperimentu bolju aktivnost od komercijalnog preparata Curasept pokazalo je etarsko ulje *F. vulgare* (izuzev za *S. mutans* i *S. sanguis*) i *P. anisum* sa istim izuzetkom. Generalno ova etarska ulja nisu pokazala bolju antibakterijsku aktivnost od preparata Hexoral® i sintetičkog antibiotika Streptomicina. Postoji veliki broj podataka o antibakterijskoj aktivnosti etarskog ulja *F. vulgare*. Mohsenzede, (2007) je u svojim istraživanjima pokazao da etarsko ulje *F. vulgare* uspešno inhibira rast bakterija kontaminanata hrane (*Escherichia coli*, *Bacillus*

*megaterium* i *Staphylococcus aureus*). Prema ranijim istraživanjima isto etarsko ulje pokazalo je takođe umeren efekat na *E. coli*, *L. monocytogenes* i *S. aureus* (Dadalioglu i Evrendilek, 2004). Ulje *F. vulgare* je pokazalo veliki potencijal u kontroli multirezistentnog soja *Acinetobacter baumannii* (Mahady i sar., 2005). Jedinjenja kao što su dilapianol i skoloipoletin smatraju se veoma bitnim za antimikrobnu aktivnost ovog ulja (Kwon i sar., 2012). Antibakterijska aktivnost etarskog ulja anisa je potvrđena u studiji Bayati, (2008) i u skladu je sa našim rezultatima. U navedenom istraživanju, etarsko ulje i metanolni ekstrakt *P. anisum* pokazali su antibakterijsku aktivnost na sve testirane mikroorganizme, a najbolju aktivnost na *S. aureus*, *B. cereus* i *P. vulgaris*. Chaudhry i Tariq (2006) su u ispitivanju osetljivosti 176 bakterijskih izolata poreklom iz usne duplje disk-difuzionom tehnikom pokazali procenat inhibicije od 18,1% od ukupnog broja bakterija. Antibakterijska aktivnost ovog ulja se pripisuje njegovoj glavnoj komponenti (*trans*-anetol). Za sada ne postoje literaturni podaci o osetljivosti bakterija poreklom iz usne duplje na etarsko ulje *P. sativa*. Antibakterijska aktivnost ovog ulja je dokazana u istraživanju Matejić i sar. (2014); najosetljivija bakterija *B. cereus*, dok su MIK i MBK vrednosti za *S. aureus* bile 46,2 mg/ml. U poređenju sa našim rezultatima ovako visoka vrednost može se objasniti razlikom u hemijskom sastavu; najzastupljenija komponenta ulja u ovom istraživanju je bila (*Z*)- $\beta$ -ocimene, dok je to u našem uzorku miristicin. Prema literaturnim podacima, etarsko ulje biljke *A. graveolens* poseduju širok inhibitorski potencijal protiv velikog broja patogenih bakterija (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella choleraesuis*, *S. typhimurium*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa*) (Shekhawat i Jana, 2010; Al-snafi i sar., 2014). Prethodne studije potvrđuju da karvon i limonen imaju veliki uticaj na antimikrobni potencijal etarskog ulja mirođije (Jirovetz i sar., 2003).

Tabela 18. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>F. vulgare</i>		<i>P. anisum</i>		<i>P. sativa</i>		<i>A. graveolens</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin		
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	
<i>S. a</i>	0,63	1,25	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	10,00	10,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	10,00	10,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,63	1,25	0,63	1,25	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,63	1,25	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	5,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*,  
*S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 122. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Apiaceae (mg/ml).

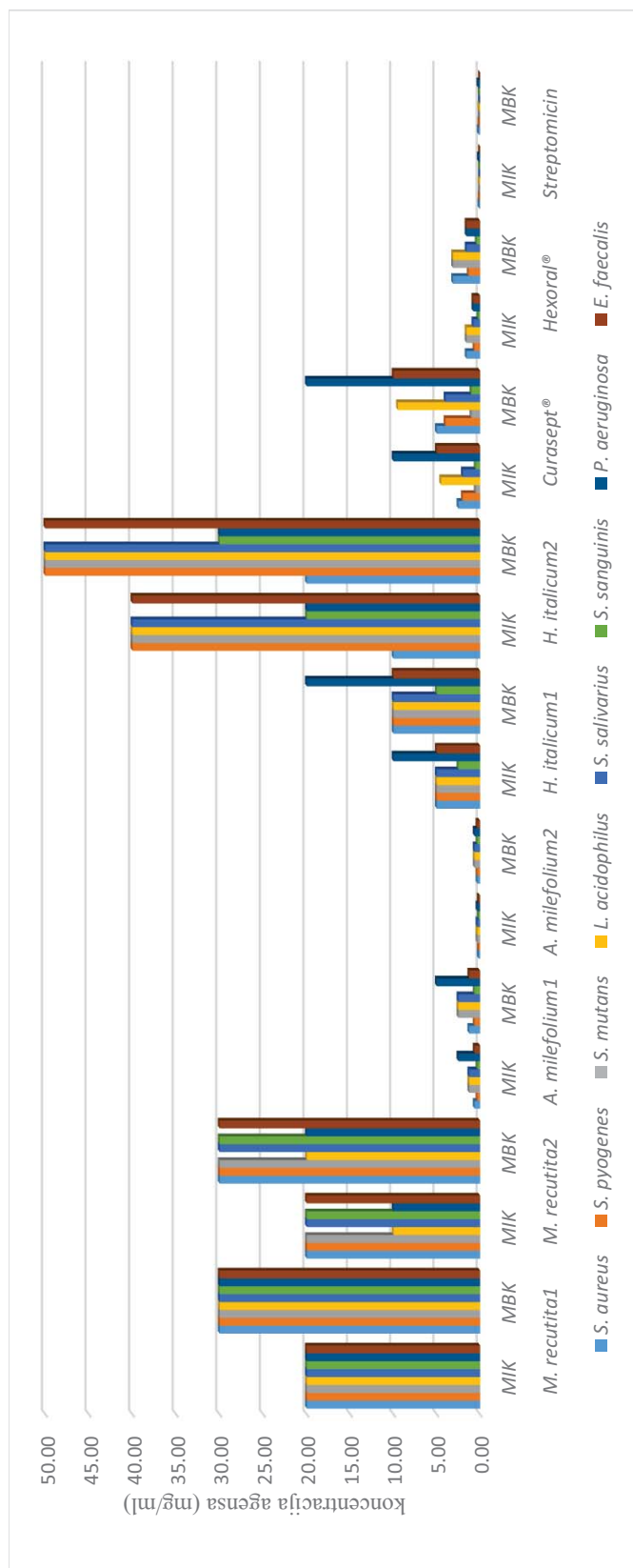


Etarska ulja biljaka iz porodice Asteraceae *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *A. milefolium*<sup>1</sup>, *A. milefolium*<sup>2</sup>, *H. italicum*<sup>1</sup> i *H. italicum*<sup>2</sup> pokazala od vrlo slabe do vrlo jake aktivnosti na testirane bakterije, inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija od 0,16 do 30,00 mg/ml (Tabela 19, Slika 123). Etarsko ulje *A. milefolium*<sup>2</sup> (MIK 0,16-0,31; MBK 0,31-0,63) pokazalo je najjaču antibakterijsku aktivnost zajedno sa uljem *A. milefolium*<sup>1</sup> (MIK 0,31-2,50; MBK 0,63-5,00 mg/ml) dok su etarska ulja *C. matricaria*<sup>1</sup> (MIK 20,00; MBK 30,00 mg/ml) i *C. matricaria*<sup>2</sup> (MIK 10,00-20,00; MBK 20,00-30,00 mg/ml) pokazala slab antibakterijski potencijal. Najslabiju aktivnost je pokazalo ulje *H. italicum*<sup>2</sup> (MIK 10,00-40,00; MBK 20,00-50,00 mg/ml). U poređnom analizom antibakterijski potencijal etarskih ulja biljaka iz porodice Asteraceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *A. milefolium*<sup>2</sup> > *A. milefolium*<sup>1</sup> > *C. matricaria*<sup>2</sup> = *C. matricaria*<sup>1</sup> > *H. italicum*<sup>1</sup> (MIK 2,50-10,00; MBK 10,00-20,00 mg/ml) > *H. italicum*<sup>2</sup>. U odnosu na pozitivne kontrole korišćene u ovom eksperimentu etarska ulja *A. milefolium*<sup>1</sup> i *A. milefolium*<sup>2</sup> pokazala su bolju aktivnost u odnosu na preparate Curasept® i Hexoral®, ali ne i bolju od antibiotika Streptomycina. Oba ulja kamilice pokazala su slabiju aktivnost od pozitivnih kontrola korišćenih u eksperimentu. Slab antibakterijski potencijal etarskog ulja *M. recutita* pokazuju i dosadašnja ispitivanja (Singh i sar., 2011). Sprovedena istraživanja pokazuju da antibakterijski efekat ulja *M. recutita* zavisi od udela santonin alkohola i da visoka zastupljenost *trans*- $\beta$ -farnezena bitno smanjuje antimikrobni potencijal (Soković, 2001). Bolja antibakterijska aktivnost ulja *M. recutita*<sup>2</sup> u odnosu na *M. recutita*<sup>1</sup> se može objasniti nižim procentom zastupljenosti *trans*- $\beta$ -farnezena. Prema literaturnim podacima, jedinjenja koja su zaslužna za antibakterijsku aktivnost nemačke kamilice su:  $\alpha$ -bisabolol, luteolin, kvercetin i apigenin (Berry, 1995). Preliminarna istraživanja Cinco i sar. (1983), pokazuju MIK vrednost od 25,00 mg/ml za *S. aureus*, *S. mutans* i *S. salivarius*, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Poznato je da ekstrakt nemačke kamilice u koncentraciji 10,00 mg/ml potpuno eliminiše i blokira rast *Helicobacter pylori* (Aggag i Yousef, 1976). Grupa autora (Unlu i sar., 2002; Candan i sar., 2003) je dokazala odličnu aktivnost etarskog ulja *A. milefolium* na bakterije *S. pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Acetobacter lwoffii* i *Mycobacterium smegmatis*. Mastelic i sar. (2005) u svojim istraživanjima navode umerenu aktivnost etarskog ulja *H. italicum* na bakterije *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dok rezultati za etarsko ulje nisu do sada publikovani.

Tabela 19. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Matricaria recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *Achillea millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *Helicrysum italicum*<sup>1</sup>, *H. italicum*<sup>2</sup>, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>M. recutita</i> <sup>1</sup>		<i>M. recutita</i> <sup>2</sup>		<i>A. millefolium</i> <sup>1</sup>		<i>A. millefolium</i> <sup>2</sup>		<i>H. italicum</i> <sup>1</sup>		<i>H. italicum</i> <sup>2</sup>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin		
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	
<i>S. a</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	0,63	1,25	0,16	0,31	5,00	10,00	10,00	10,00	20,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	0,31	0,63	0,16	0,31	5,00	10,00	40,00	40,00	50,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	1,25	2,50	0,31	0,63	5,00	10,00	40,00	40,00	50,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	20,00	30,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,31	0,63	5,00	10,00	40,00	40,00	50,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	1,25	2,50	0,31	0,63	5,00	10,00	40,00	40,00	50,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	0,31	0,63	0,16	0,31	2,50	5,00	20,00	20,00	30,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	20,00	30,00	10,00	20,00	2,50	5,00	0,31	0,63	10,00	20,00	20,00	20,00	30,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	20,00	30,00	20,00	30,00	0,63	1,25	0,16	0,31	5,00	10,00	40,00	40,00	50,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*,  
*S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



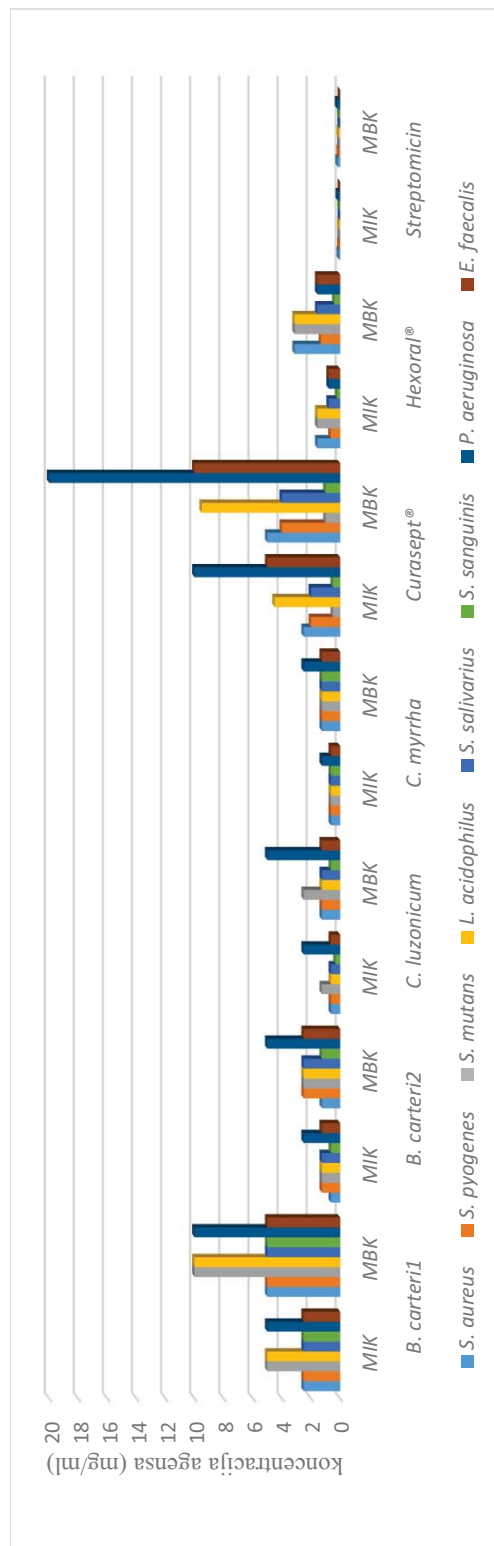
Slika 123. Antibakterijska aktivnost etarskih biljaka ulja iz familije Asteraceae (mg/ml).

Rezultati antibakterijske aktivnosti etarskih ulja biljaka iz familije Bursecaceae *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum* i *C. myrrha* je dat u Tabeli 20 i na Slici 124. Testirana ulja pokazala su antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije, inhibirajući njihov rast u varijabilnom rasponu koncentracija od 0,31 do 50,00 mg/ml. Etarsko ulje *C. myrrha* (MIK 0,63-1,25; MBK 1,25-2,50 mg/ml) poseduje najjaču antibakterijsku aktivnost zajedno sa uljem *C. luzonicum* (MIK 0,31-2,50; MBK 0,63-5,00 mg/ml). Ulje *B. carterii*<sup>2</sup> (MIK 0,63-2,50; MBK 1,25-5,00 mg/ml) je pokazalo jaču aktivnost od ulja *B. carterii*<sup>1</sup> (MIK 2,50-5,00; MBK 5,00-10,00 mg/ml). Uporednom analizom, antibakterijski potencijal etarskih ulja biljaka iz familije Bursecaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *C. myrrha* = *C. luzonicum* > *B. carterii*<sup>2</sup> > *B. carterii*<sup>1</sup>. U odnosu na pozitivne kontrole, bolju aktivnost od preparata Curasept® su pokazali ulja *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum* i *C. myrrha* dok je ulje *B. carterii*<sup>1</sup> pokazalo sličnu aktivnost. U odnosu na Hexoral® bolje su se pokazala ulja *B. carterii*<sup>2</sup> i *C. myrrha*. Sva ulja su pokazala slabiju aktivnost od sintetičkog antibiotika Streptomicina. U dosadašnjim istraživanjima etarsko ulje *B. carterii* je pokazalo antibakterijski efekat na velikom broju Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija (Awadh i sar., 2008). Sabra i sar. (2014) su ispitivali efekat žvakaće gume, u čijem sastavu se nalazi 7% etarskog ulja tamjana, na smanjenje broja bakterija u usnoj duplji. Nakon 5 sati tretmana znatno je smanjen broj mikroorganizama i time potvrđen potencijal ovog etarskog ulja u terapiji oralnih infekcija. Takođe, ovo etarsko ulje je pokazalo anti-inflamatorni efekat kod upale desni (Khorsavi i sar., 2011). Bolja antibakterijska aktivnost *B. carterii*<sup>2</sup> se može objasniti sinergističkom interakcijom pojedinačnih jedinjenja u ovom uzorku. U literaturi ne postoje podaci o antibakterijskoj aktivnosti ulja *C. luzonicum* na patogene mikroorganizme iz usne duplje. Vrsta *C. myrrha* koristi se u narodnoj medicini kao dobar antiseptik, za lečenje usnih i kožnih infekcija pa je stoga njeno ulje privuklo pažnju istraživača da testiraju njegov antibakterijski potencijal (Su i sar., 2011). Potvrda o visokoj antibakterijskoj aktivnosti etarskog ulja *C. myrrha* na bakterije *S. faecalis*, *B. subtilis*, *B. circulatus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* u intervalu rasponu od 0,10 do 1,00 mg/ml prikazana je u radu Mohamed i sar. (2014), što je u skladu sa rezultatima antibakterijske aktivnosti ovog ulja u našim istraživanjima (Tabela 19).

Tabela 20. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Boswelia carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *Canarium luzonicum* i *Commiphora myrrha*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>B. carterii</i> <sup>1</sup>		<i>B. carterii</i> <sup>2</sup>		<i>C. luzonicum</i>		<i>C. myrrha</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	0,63	1,25	0,63	1,25	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	0,63	1,25	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	5,00	10,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	5,00	10,00	1,25	2,50	0,63	1,25	0,63	1,25	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	0,63	1,25	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	0,31	0,63	0,63	1,25	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	5,00	10,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	0,63	1,25	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



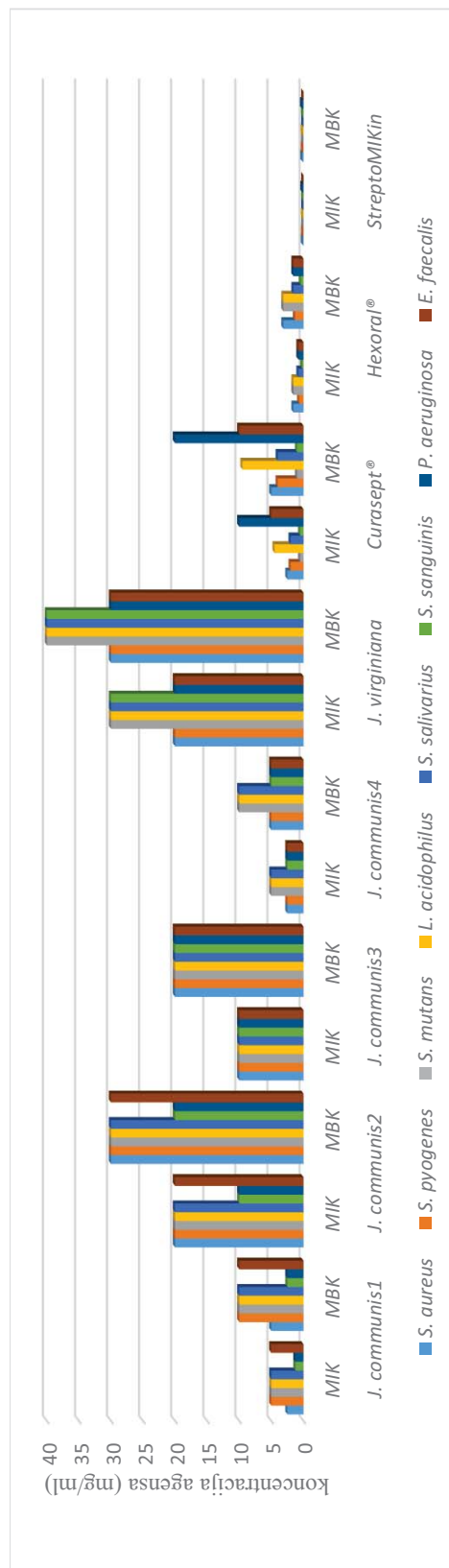
Slika 124. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Bursecaceae (mg/ml).

Etarska ulja biljaka iz familije Cupressaceae *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *J. virginiana* su pokazala antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije, inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 1,25-40,00 mg/ml (Tabela 21, Slika 125). Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *J. communis*<sup>1</sup> (MIK 1,25-5,00; MBK 2,50-10,00 mg/ml), dok je najslabiju aktivnost pokazalo ulje *J. virginiana* (MIK 20,00-30,00; MBK 30,00-40,00 mg/ml). Ulje *J. communis*<sup>4</sup> (MIK 2,50-5,00; MBK 5,00-10,00 mg/ml) pokazalo je jači aktivnost od ulja *J. communis*<sup>3</sup> (MIK 10,00; MBK 20,00 mg/ml) i *J. communis*<sup>2</sup> (MIK 10,00-20,00; MBK 20,00-30,00 mg/ml). U poređnom analizom antibakterijski potencijal etarskih ulja iz familije Cupressaceae *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom *J. communis*<sup>1</sup> > *J. communis*<sup>4</sup> > *J. communis*<sup>3</sup> > *J. communis*<sup>2</sup> > *J. virginiana*. Sva ulja su pokazala slabiju aktivnost od preparata Curasept®, Hexoral® i antibiotika Streptomycina. Umeren do slab efekat etarskog ulja *J. communis* potvrdili su Filipowicz i sar. (2003). Ovi autori su konstatovali antibakterijsku aktivnost ulja *J. communis* na *S. aureus* u koncentraciji od 9,00 mg/ml, što je u skladu sa našim istraživanjima. U okviru ispitivanja antibakterijske aktivnosti ulja kleke vrednosti MIK za *S. aureus* su varirale od 4,00 do 16,00 µl/ml. (Lesjak, 2011). Nedavna ispitivanja Herman i sar. (2014) pokazuju da etarsko ulje *J. communis* ima očigledan potencijal u prevenciji oralnih infekcija i oboljenja, što se poklapa sa jednim od ciljeva našeg istraživanja. Poznato je da monoterpeni ugljovodonici  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -mircen, *p*-cimen i limonen imaju slab antimikrobni efekat, ali ujedno su i nosioci ove aktivnosti ovog ulja (Angioni i sar., 2003). Etarsko ulje *J. communis*<sup>1</sup>, koje je pokazalo najbolju antimikrobnu aktivnost, ima najveći sadržaj  $\alpha$ -pinena (55,9%), međutim ovde nikako ne treba isključiti i sinergistički potencijal manje zastupljenih komponenti. U literaturi ne postoje podaci o antibakterijskoj aktivnosti etarskog ulja *J. virginiana* na kliničke izolate bakterija iz usne duplje čoveka.

Tabela 21. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Juniperus communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *J. virginiana*, *J. virginiana*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>J. communis</i> <sup>1</sup>		<i>J. communis</i> <sup>2</sup>		<i>J. communis</i> <sup>3</sup>		<i>J. communis</i> <sup>4</sup>		<i>J. virginiana</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	2,50	5,00	20,00	30,00	10,00	20,00	2,50	5,00	20,00	30,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	5,00	10,00	20,00	30,00	10,00	20,00	2,50	5,00	20,00	30,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	5,00	10,00	20,00	30,00	10,00	20,00	5,00	10,00	30,00	40,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	5,00	10,00	20,00	30,00	10,00	20,00	5,00	10,00	30,00	40,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	5,00	10,00	20,00	30,00	10,00	20,00	5,00	10,00	30,00	40,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	20,00	2,50	5,00	30,00	40,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	20,00	2,50	5,00	20,00	30,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	5,00	10,00	20,00	30,00	10,00	20,00	2,50	5,00	20,00	30,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 125. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Cupressaceae (mg/ml).

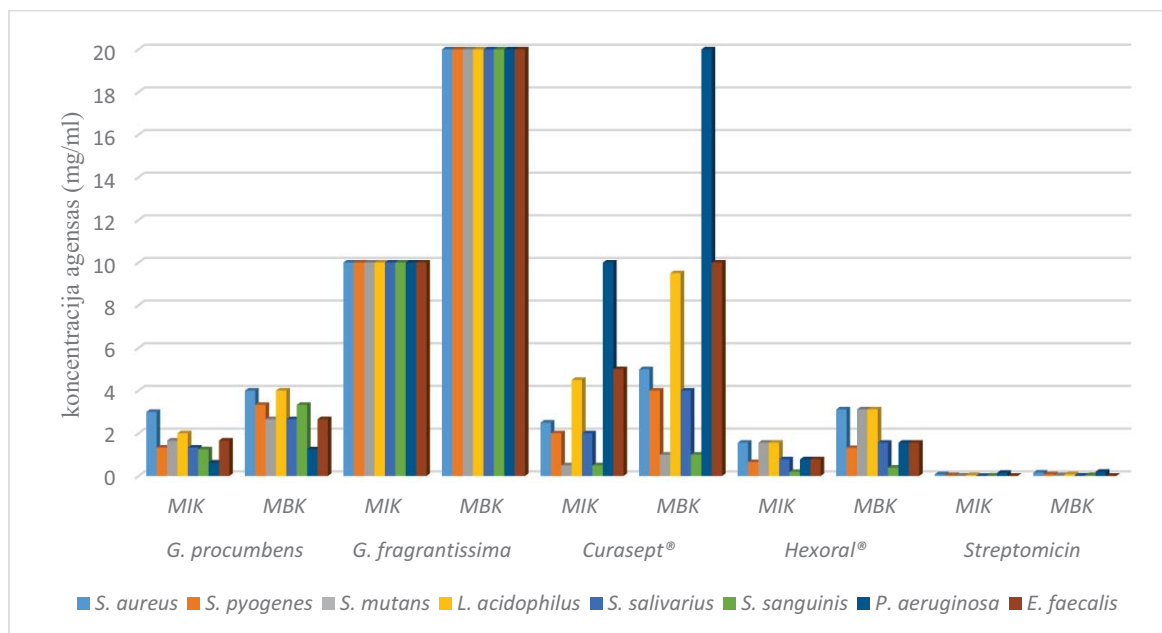


Etarska ulja biljaka iz porodice Ericaceae su pokazala antibakterijsku aktivnost na sve analizirane bakterije inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 0,63-20,00 mg/ml (Tabela 22, Slika 126). Etarsko ulje *G. procumbens* (MIK 0,63-3,00; MBK 1,25-4,00 mg/ml) pokazalo je bolju aktivnost u odnosu na ulje *G. fragrantissima* (MIK 10,00; MBK 20,00 mg/ml). U poređenju sa kontrolnom grupom jedino je ulje *G. procumbens* pokazalo sličnu aktivnost sa preparatom Curasept® i slabiju aktivnost u odnosu na Hexoral® i sintetički antibiotik Streptomycin. Ulje *G. fragrantissima* ni u jednom slučaju nije pokazalo bolju aktivnost od korišćenih kontrola. Podaci o antibakterijskoj aktivnosti etarskih ulja biljaka roda *Gaultheria* su retki. Hammer i sar. (1999) su ispitivanjem antimikrobne aktivnosti etarskog ulja *G. procumbens* utvrdili MIK za *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas sobria*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa* u intervalu od 0,25 do >2,00 mg/ml, što je u skladu sa prikazanim rezultatima naših istraživanja. Karupussamy i Rajasekaran (2009) su potvrdili dejstvo ekstrakata *G. fragrantissima* na patogene bakterije *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* i *S. aureus*, dok za etarsko ulje ne postoje podaci u literaturi.

Tabela 22. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Gaultheria procumbens* i *G. fragrantissima*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>G. procumbens</i>		<i>G. fragrantissima</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	3,00	4,00	10,00	20,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	1,33	3,33	10,00	20,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	1,66	2,66	10,00	20,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	2,00	4,00	10,00	20,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	1,33	2,66	10,00	20,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	1,25	3,33	10,00	20,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,63	1,25	10,00	20,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	1,66	2,66	10,00	20,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



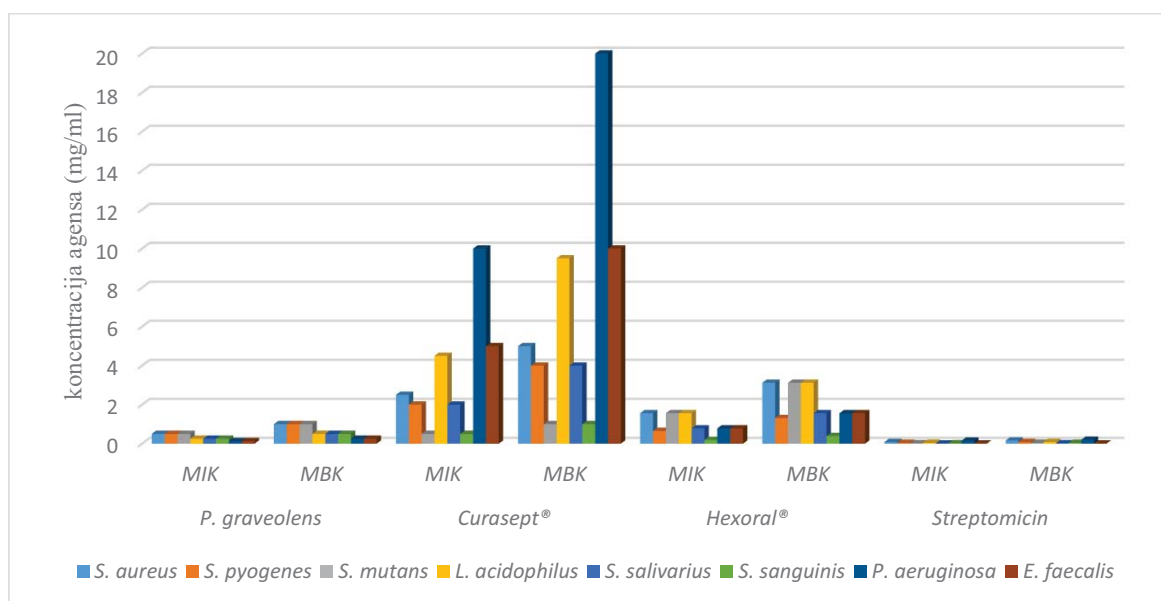
Slika 126. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Ericaceae (mg/ml).

Etarsko ulje *P. graveolens* iz familije Geraniaceae pokazalo je jaku antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija od 0,13 do 1,00 mg/ml (Tabela 23, Slika 127). MIK su u rasponu od 0,13 do 0,50 mg/ml, dok se MBK kreću od 0,25-1,00 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje *P. graveolens* se pokazalo bolje od Curasepta® i Hexorala® a lošije od Streptomicina. Ranija istraživanja pokazuju jak antibakterijski potencijal ovog etarskog ulja (Lis-Balchin i sar., 1996). Bigos i sar. (2012) su pokazali efikasnost etarskog ulja *P. graveolens* u inhibiciji multirezistentnih sojeva *S. aureus* u koncentraciji od 0,25-2,50 µl/ml. Aktivnost ulja se prepisuje dominantnim komponentama ulja, monoterpenoidima citronelolu i geraniolu (Fabio i sar., 2007). Jaka antibakterijska aktivnost ulja geranijuma konstatovana je u studiji Aguair i sar. (2012), gde je MIK za *S. mutans*, iznosila 250,00 µg/ml dok je za *S. mitis* 31,25 µg/ml. U našoj studiji etarsko ulje *P. graveolens* kao glavnu komponentu ima germakren-D, koji je nešto nižeg sadržaja, pa verovatno otuda postoji mala razlika u rezultatima antibakterijske aktivnosti ove dve studije.

Tabela 23. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Pelargonium graveolens*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>P. graveolens</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomicin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	0,50	1,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,50	1,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	0,50	1,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	0,25	0,50	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,25	0,50	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,25	0,50	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,13	0,25	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 127. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja biljke iz porodice Geraniaceae (mg/ml).

Etarska ulja biljaka iz porodice Lamiaceae, *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavanulifolia*, *S. montana*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba* pokazala su raznovrsnu antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije inhibirajući njihov rast u rasponu od 0,003 do 50,00 mg/ml (Tabela 24, Slika 128). Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje *T. serpyllum* (MIK 0,003-0,005; MBK 0,005-0,01 mg/ml), dok je najslabiju antibakterijsku aktivnost pokazalo ulje *S. triloba* sa MIK vrednostima 5,00-10,00 i MBK 10,00-20,00 mg/ml. U poređnom analizom, antibakterijski potencijal etarskih ulja biljaka iz porodice Lamiaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *T. serpyllum* > *T. algeriensis* (MIK 0.02-

0,08; MBK 0,04-0,16 mg/ml) > *S. montana* (MIK 0,03-0,13; MBK 0,06-0,25 mg/ml) > *T. vulgaris* (MIK 0,08-0,16; MBK) > *H. officinalis* (MIK 0,16-0,63; MBK 0,31-1,25 mg/ml) = *R. officinalis* (MIK 0,16-0,63; MBK 0,31-1,25 mg/ml) > *L. angustifolia* (MIK 0,16-2,50; MBK 0,31-5,00 mg/ml) > *S. lavandulifolia* (MIK 0,31-1,25; MBK 0,63-2,50 mg/ml) = *M. piperita*<sup>1</sup> (MIK 0,31-1,25; MBK 0,63-2,50 mg/ml) > *M. piperita*<sup>2</sup> (MIK 0,31-2,50; MBK 0,63-5,00 mg/ml) > *M. pulegium* (MIK 0,63-1,25; MBK 1,25-2,50 mg/ml) = *S. officinalis* (MIK 0,63-1,25; MBK 1,25-2,50 mg/ml) > *S. sclerea* (MIK 1,25-5,00; MBK 2,50-10,00 mg/ml) > *S. triloba* (MIK 5,00-10,00; MBK 10,00-20,00 mg/ml). U odnosu na kontrolnu grupu, većina ulja je pokazala bolji inhibitorski potencijal od preparata Curasept® i Hexoral®, jedino je ulje *T. serpyllum* pokazalo bolju antibakterijsku aktivnost u odnosu na sintetički antibiotik Streptomycin.

U literaturi postoje brojni podaci o antibakterijskoj aktivnosti biljaka iz porodice Lamiaceae. U istraživanjima Nedorostova i sar. (2009) etarsko ulje *H. officinalis* je pokazalo umeren antibakterijski efekat. Do sličnih rezultata došli su i istraživači Mazzanti i sar. (1998) koji su ispitali efekat ovog ulja na Gram-negativne bakterije, *P. aeruginosa*, *E. coli* i *S. typhimurium*. Proučavanjem antibakterijske aktivnosti četiri uzorka etarskog ulja *M. piperita* i njihovih glavnih komponenti, mentola i mentona, dokumentovana je njihova dobra antibakterijska aktivnost (Iscan i sar., 2002); inhibicija rasta *S. aureus* postignuta je pri koncentraciji od 0,63 mg/ml, što je u korelaciji sa našim rezultatima. U istoj studiji (Iscan i sar., 2002) *P. aeruginosa* je bila najrezistentnija vrsta (sa vrednostima MIK od 2,50 i MBK od 5,00 mg/ml). Prema rezultatima Vaughn i Spencer, (1994) kao pojedinačno jedinjenje, mentol je pokazao slabu aktivnost u odnosu na etarsko ulje *M. piperita*. Ovaj podatak ukazuje da je aktivnost ulja mente zavisna od složenih interakcija među njenim konstituentima (sinergizam), što za posledicu ima jače antimikrobno dejstvo ulja u svom punom sastavu u poređenju sa njenim izolovanim komponentama. Istraživanja koja su sproveli drugi istraživači dovela su do sličnih zaključaka u pogledu antibakterijske aktivnosti etarskog ulja *M. pulegium* (Ait-Quazzou i sar., 2012). Mahboubi i Haghi (2008), ističu da je koncentracija od 1,00 µl/ml pokazala jaku inhibiciju na rast testiranih bakterija, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* i *Vibrio cholera*. Snažna antimikrobna aktivnost ulja *M. pulegium* je potvrđena u studiji (Hajlaoui i sar., 2009) koji su ispitali osetljivost Gram-pozitivnih bakterija putem disk-difuzione metode. Prema literaturnim podacima, antibakterijska aktivnost ulja mente se pripisuje glavnim komponentama ovog ulja (pulegion, piperiton) kao i sinergističkom potencijalu komponenti (Hajlaoui i sar., 2009). Djenane i sar. (2012) su potvrdili jaku antibakterijsku aktivnost etarskog

ulja *L. angustifolia*, inhibirajući rast bakterija *E. coli* i *S. aureus* u koncentraciji 0,25 µl/ml. Do sličnih rezultata su došli i De Rapper i sar. (2013) korišćenjem mikrodilucione tehnike na sledećim bakterijama: *S. aureus*, MRSA, *E. faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, a dobijene vrednosti MIK za ovo ulje su oko 2,00 mg/ml. Literaturni podaci ukazuju na korelaciju između antibakterijske aktivnosti i hemijskog sastava (Adam i sar., 1998; Sokovic 2001, Soković i sar., 2009). Ispitivanja osetljivosti bakterija na etarsko ulje vrste *Thymus* koja su sproveli drugi istraživači su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji. Prema našim rezultatima etarska ulja vrste roda *Thymus* su pokazala najjaču antibakterijsku aktivnost. Ait-Quazzou i sar. (2011) su potvrdili jaku antimikrobnu aktivnost ulja *T. algeriensis* koje je pokazalo najniže inhibitorne koncentracije. U sličnom istraživanju Giweli i sar. (2012) su utvrdili MIK za bakterije u intervalu od 0,001 do 0,05 mg/ml. Istraživanja *in vitro* pokazuju jaku aktivnost etarskog ulja *T. vulgaris* na pet Gram-pozitivnih i pet Gram-negativnih bakterija (Nezhadali i sar., 2014). Ranije analiza antibakterijske aktivnosti etarskog ulja *T. serpyllum*, još jednom potvrđuju jaku antibakterijsku aktivnost na velikom broju patogenih mikroorganizama (Abu-Darwish i sar., 2012). Prema literaturnim podacima, prisustvo fenolnih komponenti (karvakrol i timol) se smatra glavnim razlogom za dobar antibakterijski potencijal ovih ulja (Cosentino i sar., 1999; Skočibušić i sar., 2006). Brojni podaci govore o baktericidnom dejstvu etarskog ulja *R. officinalis* (Weckesser i sar., 2007; Celiktas i sar., 2007). Tako su Jordan i sar. (2013) pokazali njegovo veoma aktivno dejstvo u inhibiciji rasta bakterija *S. aureus*, *E. coli* i *S. typhi* i *L. monocytogenes*, pri čemu se smatra da prisustvo oksidovanih monoterpena (1,8-cineol,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, kamfor) doprinosi antibakterijskoj aktivnosti ulja. Etarska ulja vrsta roda *Salvia* predstavljaju možda jedna od najispitivanijih. Prema dosadašnjim podacima, antibakterijski potencijal ulja *S. officinalis*, *S. sclarea* i *S. triloba* u *in vitro* studijama je veoma nizak (Peano i sar., 1999; Yildirim i sar., 2000; Božin i sar., 2007; Sokovic 2001). Izuzetak predstavlja ulje *S. lavandulifolia* koje, ima zapaženu aktivnost na Gram-pozitivne u odnosu na Gram-negativne bakterije (Usano-Alemanly i sar., 2012). Inače, Gram-negativne bakterije su, zbog razlike u strukturi ćelijskog zida u odnosu na Gram-pozitivne bakterije, rezistentnije na tretmane etarskim uljem. Do sličnih rezultata su došli i Rota i sar. (2004), koji su mikrodilucionom metodom ispitivali osetljivost bakterija kontaminanata hrane na etarska ulja i među njima i ulja *S. lavandulifolia*, *S. sclarea* i *S. officinalis*; ulje *S. lavandulifolia* je pokazalo najbolju aktivnost, dok ulje *S. officinalis* nije delovalo u testiranim koncentracijama. U literaturi ne postoje podaci o antibakterijskoj aktivnosti ovih ulja na kliničke izolate bakterija, tako da nije moguće uporediti rezultate dobijene u okviru ove disertacije. Kao glavni razlog slabog antibakterijskog potencijala ovih ulja navodi se prisustvo oksidovanih

monoterpena i acetata u visokom procentu (Soković, 2001). Lipofilnost jedinjenja koja ulaze u sastav etarskih ulja vrsta *Salvia* ima za posledicu slabu antibakterijsku aktivnost u *in vitro* studijama za razliku od *in vivo* testova, gde pokazuju veoma dobru aktivnost (Soković, 2001). Međutim, u istraživanjima Milosavljević i sar. (2000) etarsko ulje *S. montana* je pokazalo izuzetnu antibakterijsku aktivnost, sa MIK vrednošću za *E. coli* 2,00-8,00 µl/ml, a za *S. aureus* 1,00-2,00 µl/ml, što je potvrđeno rezultatima ove disertacije. Koncentracije 0,03-0,10% (v/v) ovog ulja bile su dovoljne za kompletnu inhibiciju rasta *L. monocytogenes* (Djenane i sar. 2011). Ranija istraživanja antibakterijskog potencijala etarskog ulja *S. montana* ukazuju na njegov veliki potencijal (Ozean i sar., 2001; de Oliveira i sar., 2011), što je potvrđeno i našim rezultatima (Tabela 19).

Tabela 24. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavandulifolia*, *Satureja montana*, *S. officinalis*, *S. sclarea* i *S. triloba*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>H. officinalis</i>		<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>		<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>		<i>L. angustifolia</i>		<i>T. algeriensis</i>		<i>T. vulgaris</i>		<i>T. serpyllum</i>		<i>R. officinalis</i>		<i>S. lavandulifolia</i>		<i>S. montana</i>		<i>S. officinalis</i>		<i>S. sclarea</i>		<i>S. triloba</i>		<i>Curasept</i> <sup>®</sup>		<i>Hexoral</i> <sup>®</sup>		<i>Streptomycin</i>				
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK			
<i>S. a</i>	0,16	0,31	0,63	1,25	0,63	1,25	0,63	1,25	0,08	0,16	0,08	0,16	0,08	0,16	0,003	0,005	0,16	0,31	0,63	1,25	0,03	0,06	0,63	1,25	2,50	5,00	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	10,00	0,16	0,16	
<i>S. p</i>	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,63	1,25	0,04	0,08	0,08	0,08	0,08	0,16	0,003	0,005	0,31	0,63	0,63	1,25	0,13	0,25	0,63	1,25	2,50	5,00	5,00	10,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08	
<i>S. m</i>	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,63	1,25	0,04	0,08	0,08	0,16	0,32	0,005	0,01	0,31	0,63	0,63	1,25	0,06	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	5,00	10,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04	
<i>L. a</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,04	0,08	0,08	0,16	0,32	0,005	0,01	0,31	0,63	0,31	0,63	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	5,00	10,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08		
<i>S. sl</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,04	0,08	0,08	0,16	0,32	0,003	0,005	0,16	0,31	0,31	0,63	0,06	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	5,00	10,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02	
<i>S. sm</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,04	0,08	0,08	0,16	0,32	0,003	0,005	0,16	0,31	0,31	0,63	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	5,00	10,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,63	1,25	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	2,50	0,08	0,16	0,16	0,32	0,005	0,01	0,63	1,25	1,25	2,50	2,50	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	10,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20	
<i>E. f</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,02	0,04	0,08	0,16	0,003	0,005	0,16	0,31	0,31	0,63	0,06	0,13	0,25	0,50	1,00	2,00	5,00	10,00	10,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01		

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sm* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



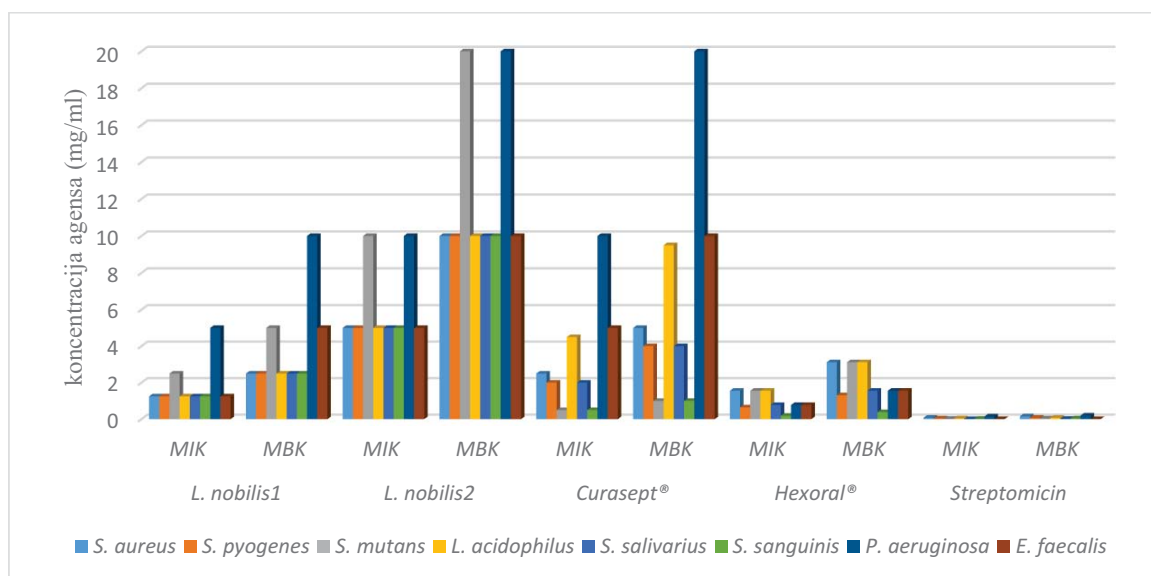


Prikaz rezultata antibakterijske aktivnosti dva etarska ulja *L. nobilis* iz familije Lauraceae dat je u Tabeli 25 i na Slici 128. Oba ulja su pokazala umerenu do slabu aktivnost na sve testirane bakterije inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija od 1,25 do 20,00 mg/ml. Etarsko ulje *L. nobilis*<sup>1</sup> (MIK 1,25-5,00; MBK 2,50-10,00 mg/ml) pokazalo je bolju aktivnost u odnosu na ulje *L. nobilis*<sup>2</sup> (MIK 5,00-10,00; MBK 10,00-20,00 mg/ml). U odnosu na kontrolnu grupu ulje *L. nobilis*<sup>1</sup> pokazalo je sličnu aktivnost sa preparatom Curasept<sup>®</sup>, ali slabiju aktivnost u odnosu na preparat Hexoral<sup>®</sup> i antibiotik Streptomycin. Ulje *L. nobilis*<sup>2</sup> pokazalo je slabiji antibakterijski potencijal od pozitivnih kontrola u ovom eksperimentu. Seskviterpenska frakcija ekstrakta *L. nobilis* dobijenog iz listova inhibirala je patogene bakterije iz usne duplje (*A. viscosus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* i *A. actinomycetemcomitans*) u koncentraciji od 31,00-1000,00 µg/ml (Fukuyama i sar., 2011). Derwich i sar. (2009) su ispitali antibakterijsku aktivnost etarskog ulja lovora na *S. aureus* i *S. intermedius*; njihove MIK vrednosti (0,35-0,56 mg/ml), ukazuju na jaku aktivnost ovog ulja.

Tabela 25. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Laurus nobilis*<sup>1</sup> i *L. nobilis*<sup>2</sup>, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>L. nobilis</i> <sup>1</sup>		<i>L. nobilis</i> <sup>2</sup>		Curasept <sup>®</sup>		Hexoral <sup>®</sup>		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	1,25	2,50	5,00	10,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	1,25	2,50	5,00	10,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	2,50	5,00	10,00	20,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	1,25	2,50	5,00	10,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	1,25	2,50	5,00	10,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	1,25	2,50	5,00	10,00	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	1,25	5,00	5,00	10,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 129. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Lauraceae (mg/ml).

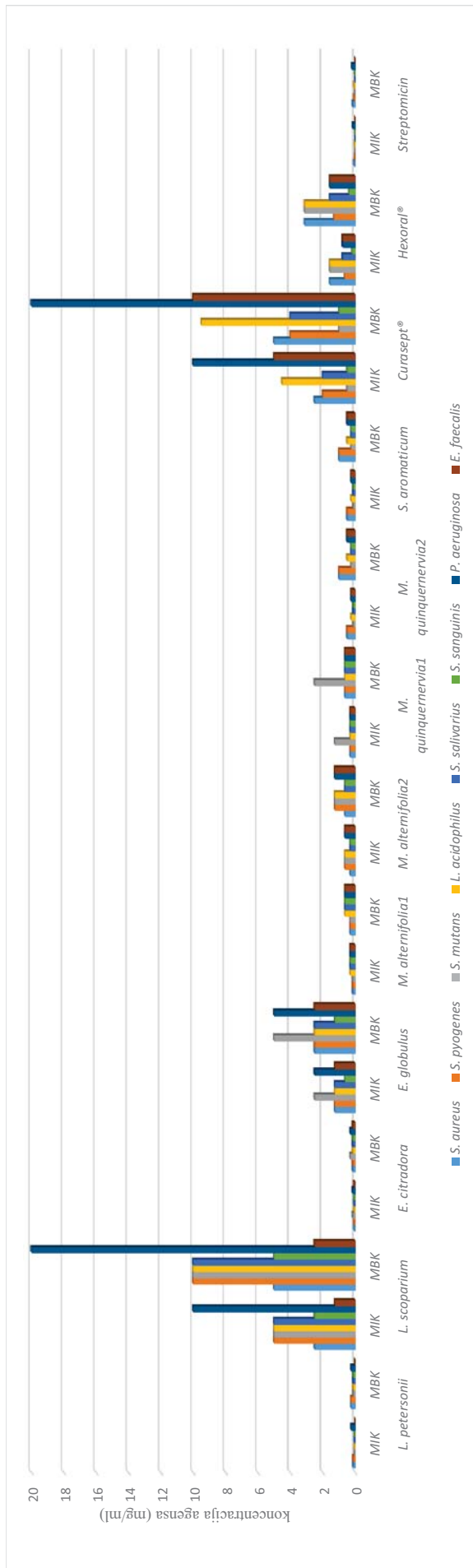
Etarska ulja biljaka iz familije Myrtaceae *L. petersonii*, *L. scoparium*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *S. aromaticum* su pokazala jaku do umerenu antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije, inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 0,01 do 10,00 mg/ml (Tabela 26, Slika 130.). Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje *L. petersonii* (MIK 0,01-0,25; MBK 0,03-0,25 mg/ml), a najslabiju *L. scoparium* (MIK 1,25-5,00; 2,50-10,00 mg/ml). U poređnom analizom, antibakterijskog potencijala etarskih ulja biljaka iz familije Myrtaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *L. petersonii* > *E. citriodora* (MIK 0,08-0,16; MBK 0,16-0,31 mg/ml) > *S. aromaticum* (0,13-0,50; MBK 0,25-1,00 mg/ml) = *M. quinquenervia*<sup>2</sup> (MIK 0,13-0,50; MBK 0,25-1,00 mg/ml) > *M. alternifolia*<sup>1</sup> (MIK 0,16-0,31; MBK 0,31-0,63 mg/ml) > *M. alternifolia*<sup>2</sup> (MIK 0,31-0,63; MBK 0,63-1,25 mg/ml) > *M. quinquenervia*<sup>1</sup> (MIK 0,31-1,25; MBK 0,63-2,50 mg/ml) > *E. globulus* (MIK 0,63-2,50; MBK 1,25-5,00) > *L. scoparium*. U odnosu na kontrolnu grupu sva ulja pokazuju bolju aktivnost u odnosu na preparat Curasept® izuzev *L. scoparium*. U poređenju sa aktivnošću preparata Hexoral® jedino su ulja *L. scoparium* i *E. globulus* pokazali lošiju antibakterijsku aktivnost, dok nijedno ulje nije pokazalo bolju aktivnost od Streptomicina. Ranija istraživanja Van Vuuren (2008) prikazuju veoma dobru antibakterijsku aktivnost ulja *L. petersonii* u koncentracijama ispod 2,00 mg/ml. Nedavna ispitivanja Van Vuuren i sar. (2014) ukazuju na izuzetnu aktivnost etarskog ulja *L. petersonii*, koja je u skladu sa dobijenim rezultatima u ovoj disertaciji; od 16 testiranih mikroorganizama, inhibiralo je njih 11 u koncentraciji od 0,06 mg/ml, dok je za inhibiciju ostalih bila potrebna nešto viša koncentracija (0,25-1,00 mg/ml). U istoj studiji pored *L. petersonii* ispitana je

aktivnost i ulja *L. scoparium*. Etarsko ulje *L. scoparium* pokazalo je umerenu antibakterijsku aktivnost inhibirajući testorane mikroorganizme u koncentracijama od 0,06-8,00 mg/ml. Poređenjem rezultata za ulje *L. scoparium*, koje je pokazalo slabu aktivnost u našoj studiji (2,50-20,00 mg/ml) možemo zaključiti da su razlike u hemijskom sastavu bile ključne za postizanje različitih rezultata. Istraživanja Lin i sar. (2015) potvrđuju odličan antibakterijski potencijal etarskog ulja *E. citradora*, dok Luqman i sar. (2008), navode znatno više koncentracije neophodne za inhibiciju velikog broja bakterija (1,25-10,00 mg/ml). Tyagi i Malik, (2011) su ispitivali antibakterijsku aktivnost etarskog ulja *E. globulus* na bakterije koje izazivaju kontaminaciju hrane (*E. coli* aDH5, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* and *S. aureus*), i ukazali na umerenu aktivnost ovih ulja, koja je u saglasnosti sa našim rezultatima sa MIK dobijene u ovom radu iznose 2,25-9,00 mg/ml (Tabela 26). Do sličnih rezultata došli su istraživači Wilkinson i Cavanagh, (2006) koji su u svom radu naveli *P. aeruginosa* kao najrezistentniju bakteriju, što se slaže sa dobijenim rezultatima iz naše studije. Hammer i sar. (2003) su ispitivali antibakterijsku aktivnost 161 klinčkih izolata oralnih bakterija. MIK koje su dobili su se u intervalu od 0,003-2,00% (v/v), i u saglasnosti su sa našim rezultatima (Tabela 26). Koncentracija od 0,50% (v/v) drastično je smanjila broj bakterija u kulturi u trajanju tretmana od 30 sekundi, a posle 5 min nije bilo vijabilnih ćelija. Studija koju su sprovedli ovi autori jasno ukazuje na potencijal upotrebe ovog ulja u rastvorima za ispiranje usta, što je i jedan od ciljeva ove disertacije. Terpinen-4-ol i 1,8-cineol, glavne komponenta ulja *M. alternifolia*, su sposobni da indukuju autolizu ćelije i uzrokuju poremećaj propusne moći ćelijske membrane kod *S. aureus* (Carson i sar., 2002). Ne postoje literaturni podaci o antibakterijskoj aktivnosti etarskog ulja *M. quinquenervia*. Etarsko ulje *S. aromaticum* se često koristi kao pozitivna kontrola u eksperimentima antibakterijske aktivnosti oralnih bakterija (Cechini i sar., 2012); rezultati ove studije ukazuju na jak do umeren potencijal ovog ulja u inhibiciji bakterija iz usne duplje. Vrednosti MIK (155,00-2500,00 µg/ml), su slične našima (Tabela 26), a minimalne razlike objašnjava razlika u sadržaju eugenola koji u našem uzorku ulja *S. aromaticum* iznosi 83,1%, dok u gore navedenoj studiji iznosi 89%.

Tabela 26. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citradora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *Syzygium aromaticum*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>L. petersonii</i>		<i>L. scoparium</i>		<i>E. citradora</i>		<i>E. globulus</i>		<i>M. alternifolia</i> <sup>1</sup>		<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>		<i>M. quinquenervia</i> <sup>1</sup>		<i>M. quinquenervia</i> <sup>2</sup>		<i>S. aromaticum</i>		<i>Curasept</i> <sup>®</sup>		<i>Hexoral</i> <sup>®</sup>		<i>Streptomycin</i>		
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK
<i>S. a</i>	0,13	0,25	2,50	5,00	0,08	0,16	1,25	2,50	0,16	0,31	0,63	1,25	2,50	0,31	0,63	0,50	1,00	0,50	1,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,13	0,25	5,00	10,00	0,08	0,16	1,25	2,50	0,16	0,31	0,63	1,25	2,50	0,31	0,63	0,50	1,00	0,50	1,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	0,06	0,13	5,00	10,00	0,16	0,31	2,50	5,00	0,16	0,31	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	0,13	0,25	0,13	0,25	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	0,06	0,13	5,00	10,00	0,08	0,16	1,25	2,50	0,31	0,63	1,25	2,50	5,00	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,06	0,13	5,00	10,00	0,08	0,16	1,25	2,50	0,31	0,63	1,25	2,50	5,00	0,31	0,63	0,25	0,50	0,13	0,25	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,06	0,13	2,50	5,00	0,08	0,16	0,63	1,25	0,31	0,63	1,25	2,50	5,00	0,31	0,63	0,13	0,25	0,13	0,25	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,25	0,50	10,00	20,00	0,16	0,31	2,50	5,00	0,31	0,63	1,25	2,50	5,00	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,01	0,03	1,25	2,50	0,08	0,16	1,25	2,50	0,31	0,63	1,25	2,50	5,00	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 130. Antibakterijska aktivnost etarskih biljaka iz familije Myrtaceae (mg/ml).

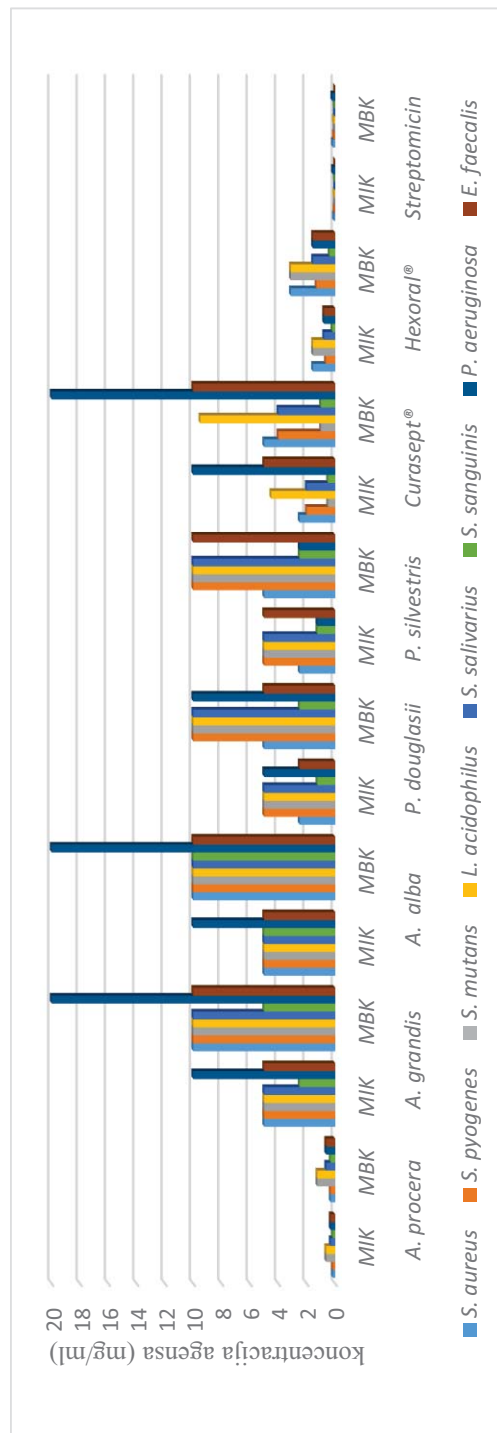
Rezultati antibakterijske aktivnosti etarskih ulja biljaka iz familije Pinaceae predstavljeni su u Tabeli 27 i Slici 131. Etarska ulja, *A. procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasii* i *P. silvestris* pokazala su jaku do umerenu antibakterijsku aktivnost na sve testirane bakterije, inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 0,16-20,00 mg/ml (Tabela 27). Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje *A. procera* (MIK 0,16-0,63; MBK 0,31-1,25 mg/ml), dok su najslabiju aktivnost pokazala ulja *A. grandis* (MIK 2,50-10,00; MBK 5,00-20,00 mg/ml) i *A. alba* (MIK 5,00-10,00; MBK 10,00-20,00 mg/ml). U poređnom analizom antibakterijskog potencijala etarskih ulja biljaka iz familije Pinaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *A. procera* > *P. silvestris* (MIK 1,25-5,00; MBK 2,50-10,00 mg/ml) = *P. douglasii* (MIK 1,25-5,00; MBK 2,50-10,00 mg/ml) > *A. grandis* = *A. alba*. U odnosu na kontrolnu grupu jedino je ulje *A. procera* pokazalo bolju aktivnost od preparata Curasept® dok nijedno ulje nije pokazalo bolju aktivnost u odnosu na preparat Hexoral® i sintetički antibiotik Streptomycin. Do sada nije objavljen veliki broj podataka o antibakterijskom delovanju etarskih ulja koje smo ispitivali u našoj studiji (*A. procera*, *A. grandis* i *P. douglasii*). U istraživanju Wajs-Bonikowska i sar. (2015) su ispitivali antimikrobnu, antioksidativnu i citoskičnu aktivnost etarskih ulja *A. alba* i *A. koreana*. Etarsko ulje *A. alba* pokazalo je umerenu antibakterijsku aktivnost, što je potvrđeno sa dobijenim rezultatima u ovoj disertaciji (Tabela 27). Do sličnih rezultata došli su i Kacaniova i sar. (2014) koji su disk-difuzionom i mikrodilucionom tehnikom ispitivali osetljivost 6 vrsta *Clostridium* ulje *A. alba*. Johnston i sar. (2011) su utvrdili umerenu aktivnost etarskog ulja *P. menziesii* na testirane bakterije *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium perfringens*, *Actinomyces bovis*. U opsežnoj studiji koju su sproveli Bagci i Digrak (1998) ispitivana je, između ostalog, antibakterijska aktivnost devet etarskih ulja familije Pinaceae na devet bakterija (*E. coli*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. brevis*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *S. aureus*). Antibakterijska aktivnost ulja je razvrstana po grupama: prvu čine ulja koja nisu ispoljila aktivnost u testiranim koncentracijama (*A. pinsapo* and *A. concolor*), drugu ulja sa umerenom aktivnošću (*A. alba* and *A. firma*) a treću ulja sa najjačim antibakterijskim potencijalom (*A. koreana*, *A. cilicica* subsp. *cilicica*, *A. cilicica* subsp. *isaurica*, *A. nordmanniana* subsp. *nordmanniana* i *A. nordmanniana* subsp. *bornmülleriana*). Varijabilna antibakterijska aktivnost postignuta u studiji Bagci i Digrak (1998) je u pozitivnoj korelaciji sa našim rezultatima.



Tabela 27. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii* i *Pinus sylvestris*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>A. procera</i>		<i>A. grandis</i>		<i>A. alba</i>		<i>P. douglasii</i>		<i>P. silvestris</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	0,16	0,31	5,00	10,00	5,00	10,00	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,16	0,31	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	0,63	1,25	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	0,63	1,25	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,31	0,63	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	5,00	10,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,16	0,31	2,50	5,00	5,00	10,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,31	0,63	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,31	0,63	5,00	10,00	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	10,00	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



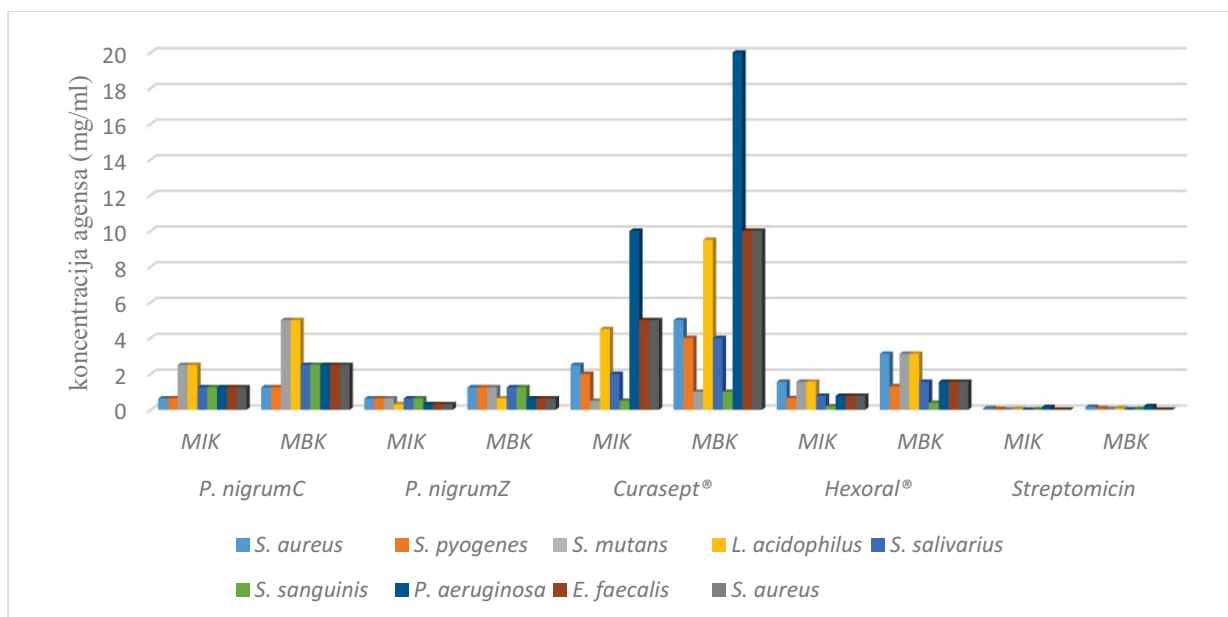
Slika 131. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Pinaceae (mg/ml).

Etarska ulja *P. nigrum*<sup>C</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup> iz familije Piperaceae inhibirala su rast bakterija jakom do umerenom aktivnošću sa rasponom koncentracija od 0,31-5,00 mg/ml (Tabela 28, Slika 132). Etarsko ulje *P. nigrum*<sup>Z</sup> (MIK 0,31-0,63; MBK 0,63-1,25 mg/ml) pokazalo je bolju aktivnost u odnosu na ulje *P. nigrum*<sup>C</sup> (MIK 0,63-2,50; MBK 1,25-5,00 mg/ml). Razlike u rezultatima antibakterijske aktivnosti ulja bibera objašnjava njihovo različito poreklo i hemijski sastav (Tabela 13). U odnosu na kontrolu oba ulja pokazala su bolju aktivnost od preparata Curasept® ali ne i od Hexoral® i antibiotika Streptomocina. Dosadašnja ispitivanja antibakterijske aktivnosti obuhvataju različite ekstrakte *P. nigrum*, dok za etarska ulja ne postoje podaci. Sasdihiran i Nirmala (2010) su pokazali antibakterijsku aktivnost etarskog ulja *P. nigrum* na bakterije *B. subtilis* i *P. aeruginosa*. Istraživanje Sing i sar. (2012) ukazuju na kompletnu inhibiciju rasta kolonija *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. typhimurium* i *P. aeruginosa*.

Tabela 28. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja *Piper nigrum*<sup>C</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup>, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml)

	<i>P. nigrum</i> <sup>C</sup>		<i>P. nigrum</i> <sup>Z</sup>		Curasept®		Hexoral®		Streptomicin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	0,63	1,25	0,63	1,25	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,63	1,25	0,63	1,25	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	2,50	5,00	0,31	0,63	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	1,25	2,50	0,63	1,25	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	1,25	2,50	0,31	0,63	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	1,25	2,50	0,31	0,63	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01
<i>S. a</i>	1,25	2,50	0,31	0,63	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



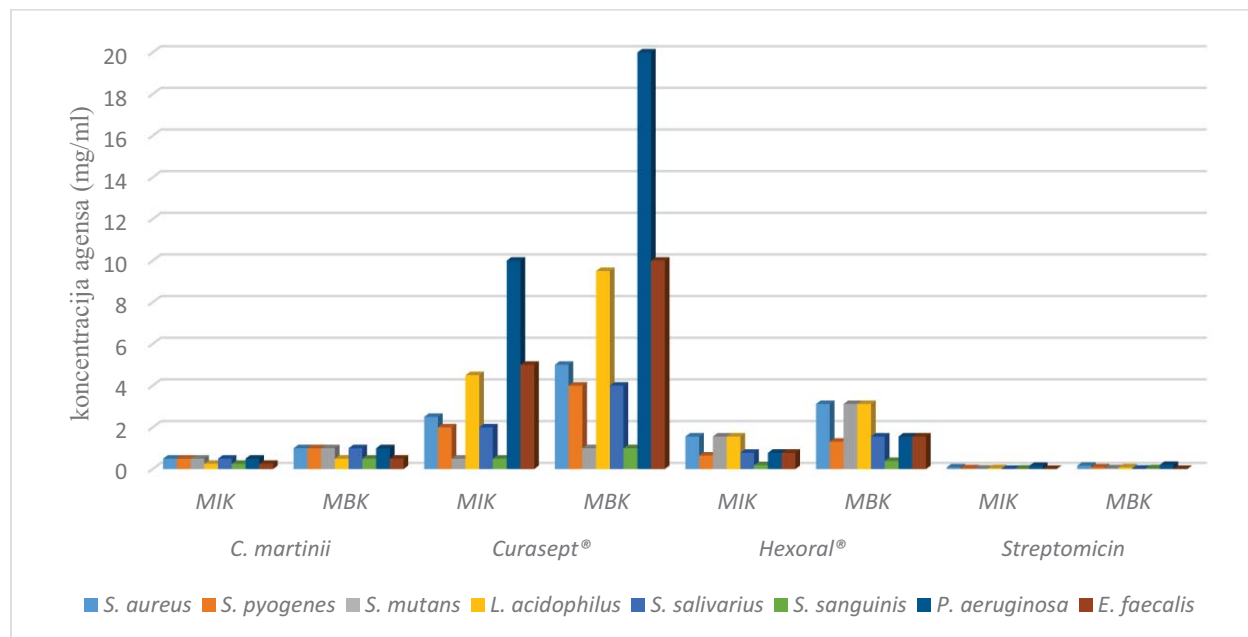
Slika 132. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja biljaka iz familije Piperaceae (mg/ml)

Etarsko ulje *C. martinii* pokazalo je izuzetnu antibakterijsku aktivnost inhibirajući rast testiranih bakterija u intervalu 0,25-1,00 mg/ml (Tabela 29, Slika 133). Vrednosti MIK su 0,25-0,50 mg/ml, dok su za MBK 0,50-1,00 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje je pokazalo bolju aktivnost od Curasepta® i Hexorala® ali ne i od Streptomicina. Izuzetnu antibakterijsku aktivnost ovog ulja su potvrdili Duarte i sar. (2007); od 29 testiranih ulja, *C. martinii* je pokazalo najjaču aktivnost inhibirajući rast 13 različitih serotipova *E. coli* u intervalu 100,00-500,00 µg/ml. Glavne komponente ovog ulja, geraniol i geranil acetat, takođe su pokazali jaku antibakterijsku aktivnost (8,00-20,00 µg/ml i 400,00-500,00 µg/ml). Imajući u vidu visok sadržaj ovih komponenti u našem uzorku ulja *C. martinii* (geraniol 76,9% i geranil acetat 15,7%) dobijeni rezultati samo potvrđuju da su upravo ove dve komponente odgovorne za njegovu antibakterijsku aktivnost.

Tabela 29. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Cymbopogon martinii*, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>C. martinii</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomicin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	0,50	1,00	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,50	1,00	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	0,50	1,00	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	0,25	0,50	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,50	1,00	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,25	0,50	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,50	1,00	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,25	0,50	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



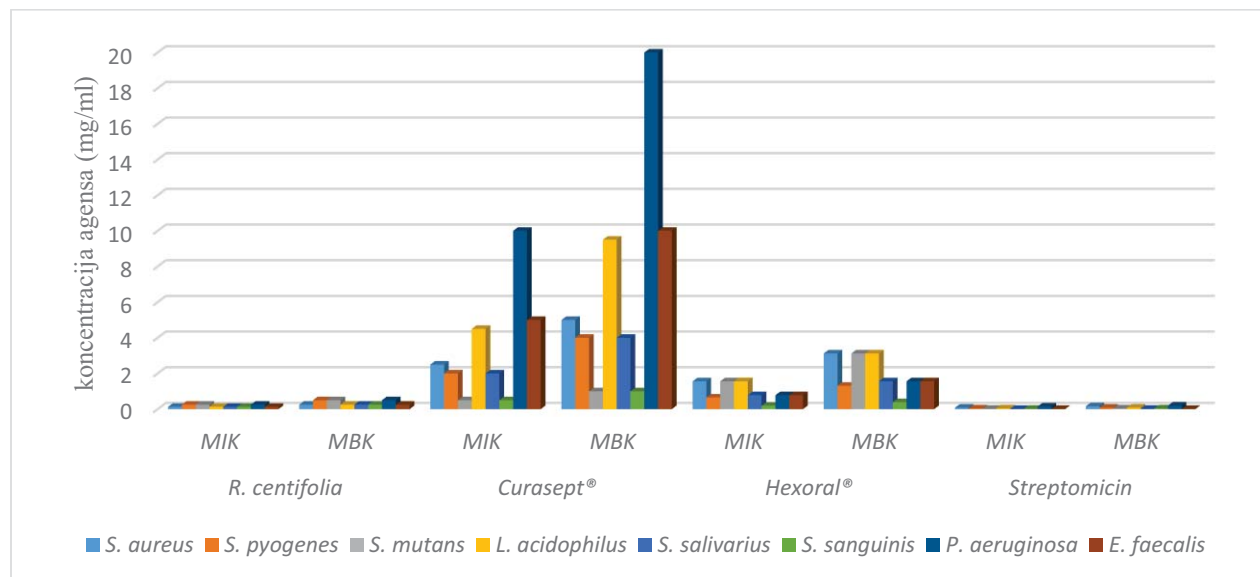
Slika 133. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja biljke iz familije Poaceae (mg/ml).

Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *R. centifolia* iz familije Rosaceae prikazana je u Tabeli 30 i na Slici 134. Ulje je pokazalo jaku antibakterijsku aktivnost u rasponu koncentracija od 0,13-0,50 mg/ml. MIK se kreću od 0,13 do 0,25 mg/ml, dok se MBK kreću u rasponu 0,25-0,50 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje je pokazalo bolju aktivnost od preparata Curasept® i Hexoral® ali je pokazalo slabiju aktivnost od antibiotika Streptomicina. U literaturi, ne postoje podaci o osetljivosti kliničkih sojeva bakterija iz usne duplje na etarsko ulje *R. centifolia*.

Tabela 30. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *Rosa centifolia* preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>R. centifolia</i>		Curasept®		Hexoral®		Streptomicin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	0,13	0,25	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	0,25	0,50	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	0,25	0,50	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	0,13	0,25	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,13	0,25	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,13	0,25	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	0,25	0,50	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,13	0,25	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 134. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja biljke iz porodice Rosaceae (mg/ml).

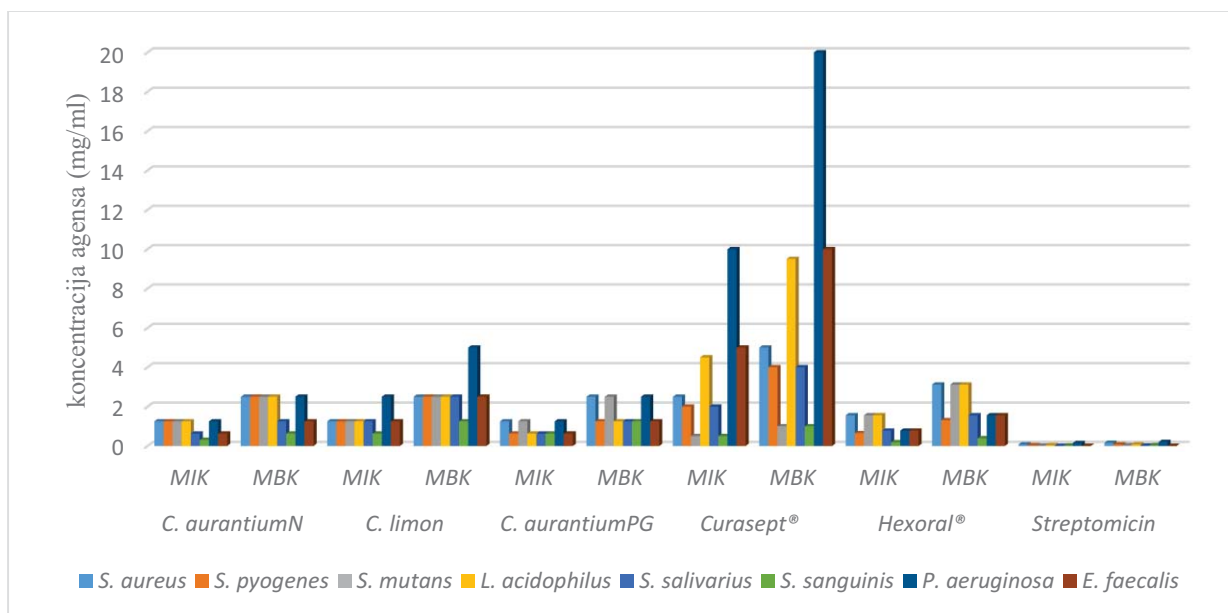
Rezultati antibakterijske aktivnosti etarskih ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon* i *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> iz porodice Rutaceae pokazala su jaku do umerenu antibakterijsku aktivnost, inhibirajući rast bakterija u koncentracijama 0,63-2,50 mg/ml (Tabela 31, Slika 135). Sva tri ulja pokazala su sličnu aktivnost ali se kao najbolje može izdvojiti ulje *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup> (MIK 0,31-1,25; MBK 1,25-2,50 mg/ml). U odnosu na pozitivne kontrole sva ulja su pokazala bolju aktivnost od preparata Curasept® ali ne i od Hexorala® i Streptomicina. U istraživanjima koje su sproveli Ammar i sar. (2012) ispitivana je antibakterijska aktivnost disk-

difuzionom metodom na šest bakterija. Rezultati do kojih su došli govore da etarsko ulja ima jaku antimikrobnu aktivnost i da se ta aktivnost pripisuje glavnim komponentama ulja, što je u saglasnosti sa rezultatima ove disertacije. Lee i sar. (2007) su povrdili jak antibakterijski potencijal glavnih komponenti ovog ulja (limonen, *E*-nerolidol, *E,E*-farnezol). Karaman i sar. (2003) su ustanovili da ne postoji selektivna aktivnost na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije etarskog ulja *C. aurantium*. Iako naš uzorak ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> sadrži viši procenat limonena i linalola, u našim istraživanjima ovo ulje pokazuje slabiju antibakterijsku aktivnost (Tabela 31, Slika 135). Iz literaturnih podataka poznato je da limonen ima slab inhibitorni potencijal na bakterije (Kim i sar., 1995). Treba imati u vidu da su etarska ulja kompleksna smeša različitih jedinjenja i da interakcija između njih može biti sinergistička, indiferentna i antagonistička. Brojni podaci potvrđuju antibakterijski potencijal etarskog ulja *C. limon* (Higgins i sar., 2000; Soković, 2001; Owen i sar., 2007). Monoterpenski ugljovodonici, pre svih limonen, smanjuju antibakterijsku aktivnost.

Tabela 31. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>, preparata za oralnu higijenu i antibiotika (mg/ml).

	<i>C. aurantium</i> <sup>N</sup>		<i>C. limon</i>		<i>C. aurantium</i> <sup>PG</sup>		Curasept®		Hexoral®		Streptomycin	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
<i>S. a</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	2,50	5,00	1,56	3,12	0,08	0,16
<i>S. p</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,00	4,00	0,65	1,31	0,04	0,08
<i>S. m</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,50	1,00	1,56	3,12	0,02	0,04
<i>L. a</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	4,50	9,50	1,56	3,12	0,04	0,08
<i>S. sl</i>	0,63	1,25	1,25	2,50	0,63	1,25	2,00	4,00	0,78	1,56	0,01	0,02
<i>S. sn</i>	0,31	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	0,50	1,00	0,19	0,39	0,02	0,04
<i>P. a</i>	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	0,78	1,56	0,15	0,20
<i>E. f</i>	0,63	1,25	1,25	2,50	0,63	1,25	5,00	10,00	0,78	1,56	0,01	0,01

*S. a* – *Staphylococcus aureus*, *S. p* – *Streptococcus pyogenes*, *S. m* – *Streptococcus mutans*, *L. a* – *Lactobacillus acidophilus*, *S. sl* – *Streptococcus salivarius*, *S. sn* – *Streptococcus sanguinis*, *P. a* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. f* – *Enterococcus faecalis*.



Slika 135. Antibakterijska aktivnost etarskog ulja iz familije Rutaceae (mg/ml).

#### 5.4. Antifungalna aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka

Antifungalna aktivnost etarskih ulja odabranih vrsta biljaka na 58 kliničkih i 2 referentna soja *Candida* spp. ispitana je mikrodilucionom metodom. Određivane su MIK i MFK, a rezultati su prikazani u tabelama 32-46.

Etarsko ulje biljke *C. odorata* iz familije Annonaceae pokazalo je slabu antifungalnu aktivnost inhibirajući rast svih izolata *Candida* spp. u rasponu koncentracija od 5,00-20,00 mg/ml (Tabela 32) sa MIK i MFK vrednostima koje su se kretale u intervalu od 5,00 do 10,00 mg/ml i od 10,00 do 20,00 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje *C. odorata* pokazalo je sličnu aktivnost sa preparatom Curasept® ali slabiju aktivnost u odnosu na Hexoral® i antimikotik Flukonazol. Maudlsey i Kerr, (1999) su dokazali slabu antifungalnu aktivnost ovog ulja; ono nije pokazalo fungicidni efekat na *C. albicans* ali je delovalo fungistatično. U studiji Sacchetti i sar. (2005), od 11 ispitanih etarskih ulja, ulje *C. odorata* pokazalo je najslabiju antifungalnu aktivnost. *Sacharomyces pombe* i *S. cerevisie* bili su najosetljiviji sojevi, a dobru aktivnost ulje je pokazalo na industrijski značajnoj gljivi *Yarrowia lypolitica*, inhibirajući njen rast u koncentraciji 0.03 mg/ml.



Tabela 32. Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Cananga odorata*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>C. odorata</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a.2/16</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	<i>C.a. 5/30</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	<i>C.a. Danc</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1/flak2</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3/flak1</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
39	<i>C.a. 1/16</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1/flak1</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	5,00	10,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskih ulja biljaka *F. vulgare*, *Pimpinella anisum*, *P. sativa*, *A. graveolens* iz familije Apiaceae (Tabela 33) pokazala su umerenu do slabu antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane gljive u intervalu koncentracija od 0,63 do 10,00 mg/ml. Najjaču antifungalnu aktivnost pokazalo je ulje *A. graveolens* (MIK 0,63-2,50; MFK 1,25-5,00 mg/ml) dok sličnu aktivnost imaju ulja *P. anisum* (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml) i *P. sativa* (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml), dok je najslabija aktivnost zabeležena za ulje *F. vulgare* (1,25-5,00; 2,50-10,00 mg/ml). Uporednom analizom, antifungalni potencijal testiranih etarskih ulja u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *A. graveolens* > *P. anisum* = *P. sativa* > *F. vulgare*. U odnosu na pozitivnu kontrolu sva ulja su pokazala bolju aktivnost od preparata Curasept® ali slabiju aktivnost od Hexoral® i Flukonazola. Faudale i sar. (2008) su ustanovili da *F. vulgare* pokazuje antifungalni efekat na vrste *Candida* i *Mycrobacterium*. Proučavajući oralne izolate *C. albicans*, dis-difuzionom tehnikom, Pai i sar. (2010) su ukazali na slab antifungalni efekat ekstrakta *F. vulgare*. Prema Soylu i sar. (2007) ulje komorača je pokazalo

veliki potencijal kao alternativa fungicidima redukujući rast micelije i sporulaciju fitopatogene gljive *Sclerotinia sclerotiorum*. Navedeno ulje u koncentraciji od 6 µl izaziva potpunu inhibiciju rasta patogenih mikromiceta *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium graminearum* i *F. moniliforme* (Singh i sar., 2006). Antifungalna aktivnost etarskog ulja *F. vulgare* potiče uglavnom od fenolnih komponenti; prema dosadašnjim istraživanjima najzastupljenija komponenta ulja komorača, anetol, poseduje umerenu antifungalnu aktivnost (De i sar., 2002). Kosalec i sar. (2005) su potvrdili antifungalnu aktivnost etarskog ulja *P. anisum*; ulje je pokazalo umerenu aktivnost na kliničke izolate *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* i *C. krusei* sa MIK vrednostima ispod 1,56% (v/v). *Trans*-anetol, glavna komponenta ovog ulja, se pokazao efikasnim u inhibiciji rasta kvasaca i drugih gljiva u odnosu na sintetički analog (De i sar., 2002). U literaturi ne postoje podaci o osetljivosti kliničkih izolata na etarsko ulje *P. sativa*. Matejić i sar. (2014) su u ispitivanju antifungalne aktivnosti etarskog ulja *P. sativa* ustanovili MIK i MFK za *C. albicans* od 46,2 mg/ml. Jirovetz i sar. (2003) su potvrdili dobar antifungalni potencijal etarskog ulja *A. graveolens* iz Bugarske. Ovi autori su u ispitivanjima koristili uzorak ulja star 35 godina i uprkos, toj činjenici, ovo je ulje ispoljilo jaku aktivnost prema testiranim mikroorganizmima (*A. niger*, *S. cerevisie* i *C. albicans*).

Tabela 33. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa* i *Anethum graveolens*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>F. vulgare</i>		<i>P. anisum</i>		<i>P. sativa</i>		<i>A. graveolens</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol		
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	
1	C.a. 1/1617	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	C.a. MH2	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	C.a. MH1	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	C.a. 4/30	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	C.a. 4/23	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	C.a. 2/7.4	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	C.a. 1/315	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	C.a.2/16	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	C.a. 2/20	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	C.a. 2d	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	C.a. 4/2.2	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	C.a. 7d	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	C.a. 1/27	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	C.a. Lj2	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	C.a. 2/8.12	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	C.a. 1/0407	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	C.a. 4/30	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	C.a. 2/23	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	C.a. 2/24	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	C.a. 5/30	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	C.a. Danc	2,50	5,00	1,25	2,50	1,25	5,00	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	C.a. 2/7.5	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	C.a. 10d	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	C.a. 1/31.7	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	C.a. 5/7.4	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	C.a. 2/3.11	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002



57	<i>C. g. 2/06</i>	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK		
		5,00	10,00	2,50	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,00	2,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,25	5,00	1,00	2,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,00	2,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	2,50	5,00	2,50	5,00	0,63	1,25	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,00	2,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskih ulja biljaka *M. recutita*, *M. recutita*<sup>2</sup>, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *H. italicum*<sup>1</sup> i *H. italicum*<sup>2</sup> iz familije Asteraceae prikazani su u Tabeli 34 i na Slici 138. Sva etarska ulja su pokazala antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu koncentracija od 0,04 do 20,00 mg/ml. Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *A. millefolium*<sup>2</sup> (MIK 0,04-0,16; MFK 0,08-0,31 mg/ml), a najslabiju ulje *H. italicum*<sup>2</sup> (MIK 10,00-20,00; MFK 20,00-30,00 mg/ml). Ulje *M. recutita*<sup>1</sup> (5,00-10,00; MFK 10,00-20,00 mg/ml) i *M. recutita*<sup>2</sup> (MIK 2,50-10,00; MFK 5,00-20,00 mg/ml) pokazali su umerenu antifungalnu aktivnost. Ulje *A. millefolium*<sup>1</sup> (MIK 0,13-0,25; MFK 0,25-0,50 mg/ml) pokazalo je bolju aktivnost od oba ulja, kamilice i smilja. U poređnom analizom, antifungalni potencijal testiranih etarskih ulja u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *A. millefolium*<sup>2</sup> > *A. millefolium*<sup>1</sup> > *M. recutita*<sup>2</sup> > *M. recutita*<sup>1</sup> > *H. italicum*<sup>1</sup> (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml) > *H. italicum*<sup>2</sup>. U odnosu na pozitivne kontrole sva ulja su pokazala bolju aktivnost u odnosu na preparat Curasept® izuzev ulja smilja, dok su se samo ulja *A. millefolium*<sup>1</sup> i *A. millefolium*<sup>2</sup> pokazala efikasnijim od preparata Hexoral®. U poređenju sa komercijalnim fungicidom Flukonazolom sva testirana ulja su imala značajno slabiju antifungalnu aktivnost. U literaturi postoji veliki broj podataka o antifungalnoj aktivnosti etarskog ulja *M. recutita* i njegovih pojedinačnih komponenti (Seatholo i sar., 2010). Istraživanja pokazuju veliku varijabilnost rezultata, pa tako u studiji Yonzon i sar. (2005) ulje nemačke kamilice pokazuje dobru antifungalnu aktivnost prema *Aspergillus ochraceus*, dok u sličnoj studiji testirane koncentracije ulja *M. recutita* ne inhibiraju rast *C. albicans* (Moris i sar., 1979). Glavne komponente ovog ulja (bisobolol i hamazulen) imaju inhibitorni efekat na vrste rodova *Trichophyton* i *Microsporium* (Kamatou i sar., 2010). U studiji Soković, (2001), fungistatične i fungicidne koncentracije su u intervalu 5,00-11,00 µl/ml, što je potvrđeno dobijenim rezultatima. Candan i sar. (2003) su utvrdili MIK za *C. albicans* od 4,5 mg/ml (w/v) i vrednosti MIK za *C. krusei* od 18,00 mg/ml (w/v). Velike razlike u rezultatima možemo objasniti različitim hemijskim sastavom etarskog ulja korišćenim u eksperimentima; ovi autori navode komponente 1,8 cineol, kamfor, α-terpineol, β-pinen i borneol, dok u našim uzorcima ulja dominiraju *cis*-β-ocimen i kamfor. Uzimajući u obzir da etarsko ulje *A. millefolium*<sup>2</sup> ima viši sadržaj kamfora i pa je bolja antifungalna aktivnost u odnosu na *A. millefolium*<sup>1</sup> bila i očekivana. Ranija istraživanja etarskog ulja *H. italicum* pokazuju inhibitorni efekat na rast *C. albicans*, kao i očigledne promene na lipidnoj strukturi membrane (Mastelic i sar., 2005).



Tabela 34. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Matricaria recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *Achillea millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *Helichrysum italicum*<sup>1</sup> i *H. italicum*<sup>2</sup>, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>M. recutita</i> <sup>1</sup>			<i>M. recutita</i> <sup>2</sup>			<i>A. millefolium</i> <sup>1</sup>			<i>A. millefolium</i> <sup>2</sup>			<i>H. italicum</i> <sup>1</sup>			<i>H. italicum</i> <sup>2</sup>			Curasept®			Hexoral®			Flukonazol		
	MIK	MFK	MIK	MIK	MFK	MIK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK
1	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,13	0,25	0,16	0,31	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
2	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,16	0,31	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
3	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002		
4	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
5	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
6	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004		
7	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	30,00	10,00	30,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004		
8	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	0,13	0,25	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001		
9	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
10	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
11	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
12	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,04	0,08	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
13	10,00	20,00	10,00	20,00	20,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002	2,50	2,50	0,001	0,002		
14	10,00	20,00	10,00	20,00	20,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	30,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001
15	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	30,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002	2,00	2,00	0,001	0,002	2,00	2,00	0,001	0,002
16	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001
17	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004	2,00	2,00	0,002	0,004	2,00	2,00	0,002	0,004
18	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,50	2,50	0,0005	0,001
19	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004	2,00	2,00	0,002	0,004	2,00	2,00	0,002	0,004
20	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001
21	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,04	0,08	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001
22	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,16	0,31	2,50	5,00	10,00	30,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002	2,00	2,00	0,001	0,002	2,00	2,00	0,001	0,002
23	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	30,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001
24	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	0,13	0,25	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001	2,00	2,00	0,0005	0,001

25	<i>C.a. 5/7.4</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,04	0,08	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1/flak2</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	5,00	10,00	2,50	5,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3/flak1</i>	10,00	20,00	2,50	5,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002		
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
38	<i>C.a. 1d</i>	10,00	10,00	10,00	20,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
39	<i>C.a. 1/16</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004		
40	<i>C.a. dl1</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,13	0,25	0,08	0,16	2,50	5,00	20,00	30,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
41	<i>C.a. 4/16</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
42	<i>C.a. MH4</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,04	0,08	2,50	5,00	10,00	20,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004		
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	10,00	20,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,04	0,08	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,16	0,31	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
45	<i>C.a. cet1</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,25	2,50	0,001	0,002		
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
47	<i>C.a. cet5</i>	5,00	10,00	2,50	5,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004		
48	<i>C.a. 1/20</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,13	0,25	0,08	0,16	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
49	<i>C.a. 3/13</i>	10,00	20,00	2,50	5,00	0,25	0,50	0,08	0,16	1,25	2,50	10,00	20,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
50	<i>C.a. 2/21</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001		
51	<i>C.a. 5/32</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004		
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	5,00	10,00	5,00	10,00	0,25	0,50	0,08	0,16	2,50	5,00	20,00	30,00	10,00	10,00	1,25	2,50	0,0005	0,001		



Antifungalna aktivnost etarskih ulja *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carteri*<sup>2</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha* iz familije Burseraceae prikazani su u Tabeli 35. Sva etarska ulja su pokazala antifungalnu aktivnost inhibirajući testirane vrste i sojeve *Candida* u intervalu koncentracija od 2,50 do 10,00 mg/ml. Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *B. carteri*<sup>2</sup> (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml) dok su ostala tri ulja, *B. carterii*<sup>1</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha* (MIK 1,25-5,00; MFK 2,50-10,00 mg/ml) pokazala vrlo sličnu aktivnost. Uporednom analizom antifungalni potencijal etarskih ulja u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *B. carteri*<sup>2</sup> > *Boswellia carterii*<sup>1</sup> = *C. luzonicum* = *C. myrrha*. U odnosu na pozitivnu kontrolu sva ulja su se pokazala bolje od Curasepta<sup>®</sup> ali slabije od Hexorala<sup>®</sup> i Flukonazola. Vuuren i sar. (2010) su u ispitivanju antimikrobne aktivnosti 20 komercijalnih uzoraka etarskog ulja *B. carteri* utvrdili MIK za *C. albicans* u intervalu od 2,30 do 12,00 mg/ml, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Camarda i sar. (2007) su zaključili da etarsko ulje *B. carteri* iz Somalije pokazuje aktivnost na *C. albicans* (MIK 6,20 mg/ml), što su potvrdili, disk-difuzionom metodom, (Edwards-Jones i sar., 2004). Prema dosadašnjim istraživanjima antifungalne aktivnosti etarskog ulja *B. carteri* pokazuje slabu do umerenu aktivnost (Vuuren i sar., 2010). Do sada nisu izvršena ispitivanja antifungalne aktivnosti etarskog ulja *C. luzonicum*, te nije bilo moguće poređenje dobijenih rezultata sa radovima drugih autora. Efekat etarskog ulja *C. myrrha* na suzbijanje rasta kvasaca ispitivali su Mohamed i sar. (2014) i dobili vrednosti MIK od 100 i >1000 µg/ml (*Sacharomyces cerevisie* i *C. albicans*). Goni i sar. (2009) navode da sastav etarskog ulja mire bitno utiče na antifungalnu aktivnost i sugerišu oksidovane seskviterpene kao nosioce antifungalne aktivnosti.

Tabela 35. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Boswellia carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *Canarium luzonicum* i *Commiphora myrrha*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>B. carterii</i> <sup>1</sup>		<i>B. carterii</i> <sup>2</sup>		<i>C. luzonicum</i>		<i>C. myrrha</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol		
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	
1	C.a. 1/1617	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	C.a. MH2	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	C.a. MH1	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	C.a. 4/30	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	C.a. 4/23	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	C.a. 2/7.4	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	C.a. 1/315	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	C.a. 2/16	5,00	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	10,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	C.a. 2/20	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	C.a. 2d	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	10,00	5,00	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	C.a. 4/2.2	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	C.a. 7d	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	C.a. 1/27	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	C.a. Lj2	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	C.a. 2/8.12	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	C.a. 1/0407	5,00	10,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	C.a. 4/30	5,00	10,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	C.a. 2/23	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	C.a. 2/24	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	C.a. 5/30	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	C.a. Danc	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	C.a. 2/7.5	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	C.a. 10d	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	C.a. 1/31.7	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	C.a. 5/7.4	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	C.a. 2/3.11	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	10,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002

27	<i>C.a. 2/212</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0002	0,004
31	<i>C.a. 1/flak2</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3/flak1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	2,50	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	5,00	10,00	2,50	5,00	5,00	10,00	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1/flak1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-





Etarska ulja *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *J. virginiana*, iz familije Cupressaceae, su pokazala umerenu do slabu antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve *Candida* u koncentracijama ulja u intervalu od 0,63 do 20,00 mg/ml (Tabela 36). Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *J. communis*<sup>4</sup> (MIK 0,63-1,25; MFK 1,25-2,5 mg/ml) dok je etarsko ulje *J. communis*<sup>2</sup> (MIK 5,00-10,00; MFK 10,00-20,00 mg/ml) pokazalo najslabiji antifungalni potencijal. Ulje *J. communis*<sup>1</sup> (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml) pokazalo je bolju aktivnost od ulja *J. virginiana* (MIK 2,50-5,00; MFK 5,00-10,00 mg/ml) i *J. communis*<sup>3</sup> (MIK 5,00-10,00; MFK 10,00-20,00 mg/ml) koji su demonstrirali sličnu aktivnost. U poređnom analizom, antifungalni potencijal etarskih ulja biljaka iz familije Cupressaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom  $J. communis^4 > J. communis^1 > J. virginiana = J. communis^3 > J. communis^2$ . U odnosu na pozitivnu kontrolu sva ulja su pokazala jaču aktivnost od preparata Curasept® ali ne i od Hexoral® i sintetičkog fungicida Flukonazol. Etarsko ulje kleke se hiljadama godina upotrebljava kao dodatak hrani (Marković, 2011). Rezultati naših istraživanja, na osnovu kojih je od testiranih ulja, *J. communis* pokazalo umeren antifungalni potencijal su u saglasnosti sa radovima drugih autora (Herman i sar., 2014). Pepeljnjak i sar. (2005) su utvrdili da etarsko ulje ima fungicidni efekat na *C. albicans* u koncentraciji od 0,78 do 2% (v/v), dok je na testirane dermatomicete ulje delovalo u koncentraciji od 0,39 do 2% (v/v). Ovo ulje se koristi vekovima za lakiranje nameštaja i za dobijanje parfema i losiona, kao i sredstvo za odbijanje insekata. Takođe, ulje kedra ima široku primenu, za lečenje kožnih infekcija, akni, psorijazu, bolove u zglobovima (Marković, 2011). Trenutno, ne postoje podaci o antifungalnoj aktivnosti ovog etarskog ulja.

Tabela 36. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Juniper communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *J. virginiana*, *J. virginiana*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>J. communis</i> <sup>1</sup>		<i>J. communis</i> <sup>2</sup>		<i>J. communis</i> <sup>3</sup>		<i>J. communis</i> <sup>4</sup>		<i>J. virginiana</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol			
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK		
1	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	2,50	5,00	5,00	10,00	10,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	2,50	5,00	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	1,25	2,50	10,00	20,00	10,00	10,00	20,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	0,63	1,25	1,25	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	2,50	5,00	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	12,50	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	0,63	1,25	1,25	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	20,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	12,50	1,00	2,00	0,002	0,004
20	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	1,25	2,50	5,00	10,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	1,25	2,50	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	20,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	2,50	5,00	10,00	20,00	10,00	20,00	20,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	2,50	5,00	10,00	20,00	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	5,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002

	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
27	C.a. 2/212	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
28	C.a. 2/31.5	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
29	C.a. 3/16	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
30	C.a. 5/7.4	1,25	2,50	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
31	C.a. 1/1ak2	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
32	C.a. 4/3.12	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	0,63	1,25	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
33	C.a. 3/1ak1	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
34	C.a. 5/1617	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
35	C.a. 4/07	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
36	C.a. 4/23.11	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
37	C.a. 3/31.5	1,25	2,50	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
38	C.a. 1d	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
39	C.a. 1/16	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	0,63	1,25	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
40	C.a. d11	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
41	C.a. 4/16	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
42	C.a. MH4	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	0,63	1,25	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
43	C.a. 8/12.11	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
44	C.a. 1/12.5	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
45	C.a. cet1	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	0,63	1,25	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001								
46	C.a. 2/7.12	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
47	C.a. cet5	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
48	C.a. 1/20	1,25	2,50	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
49	C.a. 3/13	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
50	C.a. 2/21	1,25	2,50	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
51	C.a. 5/32	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
52	C.a. 4/20.12	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001								
53	C.a. 3/11	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	10,00	20,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
54	C.a. 7/16	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
55	C.a. 5d	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								
56	C. k. 1/1ak1	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	5,00	10,00	1,25	2,50	5,00	10,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001								

57	C. g. 2/06	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	10,00	MFK	20,00	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	10,00	MFK	20,00	MIK	1,00	MFK	2,00	MIK	0,0015	MFK	0,003
58	C. g. 6/23	MIK	2,50	MFK	5,00	MIK	10,00	MFK	20,00	MIK	1,25	MFK	2,50	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	1,00	MFK	2,00	MIK	0,0015	MFK	0,003
59	ATCC 10231	MIK	2,50	MFK	5,00	MIK	10,00	MFK	20,00	MIK	1,25	MFK	2,50	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	1,00	MFK	2,00	MIK	0,0005	MFK	0,001
60	ATCC 750	MIK	1,25	MFK	2,50	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	1,25	MFK	2,50	MIK	5,00	MFK	10,00	MIK	1,00	MFK	2,00	MIK	0,002	MFK	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Etarska ulja biljaka *G. procumbens* i *G. fragrantissima*, iz porodice Ericaceae, pokazala su umereni antifungalni potencijal inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u koncentracijama ulja u rasponu od 0,63 do 10,00 mg/ml (Tabela 37). Etarsko ulje *G. fragrantissima* (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-10,00 mg/ml) je pokazalo bolju aktivnost u odnosu na *G. procumbens* (MIK 0,63-2,50; MFK 1,25-5,00 mg/ml). Poređenjem sa pozitivnim kontrolama oba ulja ispoljila su jaču aktivnost od preparata Curasept® ali ne i od Hexoral® i Flukonazola. Antifungalna aktivnost biljaka iz roda *Gaultheria* bila je predmet manjeg broja istraživanja; u radu Lee i Lee (2010) su dokazali antifungalnu aktivnost etarskog ulja *G. procumbens* u koncentraciji od 2 mg/ml na *Melassezia furfur*, glavnog uzročnika nastanka peruti kod ljudi. Potvrda o umerenoj antifungalnoj aktivnosti *G. procumbens* postoji i u radu Hammer i sar., (1999) nije inhibiran rast *C. albicans* uljem u koncentraciji od 2 mg/ml. Takođe, treba istaći da su dosadašnja istraživanja pokazala da glavna komponenta ovih ulja, metil salicilat, poseduje određeni nivo antimikrobne, antioksidativne i antiinflamatorne aktivnosti (Zhang i sar., 2011).

Tabela 37. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Gaultheria procumbens*, *G. fragrantissima*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>G. procumbens</i>		<i>G. fragrantissima</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	2,50	5,00	0,63	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	1,67	3,13	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a.2/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	2,50	5,00	0,63	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	2,50	5,00	0,63	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	3,33	6,67	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	2,50	5,00	2,50	5,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	5,00	10,00	2,50	5,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
20	<i>C.a. 5/30</i>	5,00	10,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	<i>C.a. Danc</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	2,50	5,00	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1flak2</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3flak1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	1,25	2,50	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	2,50	5,00	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	1,25	2,50	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1flak1</i>	1,25	2,50	2,50	5,00	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
60	ATCC 750	1,25	2,50	0,63	1,25	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskog ulja *P. graveolens* iz porodice Geraniaceae prikazani su u Tabeli 38. Etarsko ulje *P. graveolens* je pokazalo jaku antifungalnu aktivnost u koncentracijama koje su bile u intervalu od 0,01 do 0,12 mg/ml. MIK i MFK vrednosti su u opsegu od 0,01 do 0,06 mg/ml tj. 0,06 do 0,012 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje *P. graveolens* pokazalo je bolju aktivnost od preparata Curasept® i Hexoral® ali ne i od Flukonazola. Ranija istraživanja su pokazala da antifungalna aktivnost etarskog ulja *P. graveolens* ima veliki potencijal (Malik i sar., 2011), a efikasnost ovog ulja prema *C. albicans* potvrđena je i u kliničkoj studiji Ali i sar. (2011), u kojoj je ispitivana aktivnost 1% rastvora ovog ulja na zapaljenje sluzokože usne duplje uzrokovane istim uzročnikom. Nakon tretmana stanje 34% pacijenata se znatno poboljšalo, 54% pacijenata je osetilo olakšanje, dok kod 10% nije zabeleženo poboljšanje zdravstvenog stanja. Aplikacija 1% ulja geranijuma u vidu gela se pokazala vrlo efikasnim rešenjem u lečenju stomatitisa. Jaka antifungalna aktivnost ulja geranijuma dovodi se u direktnu vezu sa njegovim hemijskim sastavom, odnosno visokim procentom alkoholnih jedinjenja, citronelola i geraniola.

Tabela 38. Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Pelargonium graveolens*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>P. graveolens</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a. 2/16</i>	0,03	0,06	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	0,01	0,02	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0,01	0,02	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001



		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	0,03	0,06	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	<i>C.a. 5/30</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	<i>C.a. Danc</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	0,01	0,02	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	0,01	0,02	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1flak2</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3flak1</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	0,01	0,02	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	0,03	0,06	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	0,03	0,06	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	0,01	0,02	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	0,03	0,06	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1flak1</i>	0,03	0,06	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
57	<i>C. g. 2/06</i>	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	0,03	0,06	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	0,03	0,06	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Etarska ulja biljaka *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. montana*, *S. lavanudilifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea* i *S. triloba*, iz familije Lamiaceae, pokazala su raznovrsnu antifungalnu aktivnost na sve testirane vrste i sojeve *Candida* inhibirajući njihov rast u rasponu koncentracija 0,0009-30,00 mg/ml (Tabela 39). Najbolju aktivnost pokazalo je etarsko ulje *S. montana* (MIK 0,0009-0,001; MFK 0,001-0,003 mg/ml), dok je najslabiju antifungalnu aktivnost pokazalo ulje *H. italicum*<sup>2</sup> sa MIK-ma od 10,00-20,00 i MFK vrednostima od 20,00-30,00 mg/ml. U poređnom analizom antifungalni potencijal etarskih ulja biljaka iz familije Lamiaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *S. montana* > *T. serpyllum* (MIK 0,001-0,002; MFK 0,002-0,004 mg/ml) > *T. algeriensis* (MIK 0,005-0,01; MFK 0,01-0,02 mg/ml) > *T. vulgaris* (MIK 0,02-0,04; MFK 0,04-0,08 mg/ml) > *M. piperita*<sup>1</sup> (MIK 0,06-0,25; MFK 0,13-0,50 mg/ml) > *M. pulegium* (MIK 0,08-0,31; MFK 0,16-0,63 mg/ml) > *H. officinalis* (MIK 0,13-0,50; MFK 0,25-1,00 mg/ml) = *M. piperita*<sup>2</sup> (MIK 0,13-0,50; MFK 0,25-1,00 mg/ml) > *S. lavandulifolia* (MIK 0,16-0,31; MFK 0,31-0,63 mg/ml) > *L. angustifolia* (MIK 0,25-0,50; MFK 0,50-1,00 mg/ml) = *R. officinalis* (MIK 0,25-0,50; MFK 0,50-1,00 mg/ml) > *S. officinalis* (MIK 0,31-0,63; MFK 0,63-1,25 mg/ml) > *S. triloba* (MIK 0,63-2,50; MFK 1,25-5,00 mg/ml) > *S. sclarea* (MIK 0,25-1,00; MFK 5,00-10,00 mg/ml). U odnosu na kontrolnu grupu, većina ulja je pokazala bolji inhibitorski potencijal od preparata Curasept® i Hexoral®, ali ne i od sintetičkog fungicida Flukonazola. U literaturi postoje brojni podaci o antifungalnoj aktivnosti biljaka iz familije Lamiaceae (Mimica-Dukić i sar., 2004; Maksimović i sar., 2008; Balakumar i sar., 2011; Viegas i sar., 2014). Poznato je da je etarsko ulje izopa koristi u narodnoj medicini kao antiseptik za lečenje rana (Cziner i sar., 2000). Rezultati ispitivanja antifungalnog potencijala pokazuju da postoje variranja u ispoljavanju efekta. Soković (2001), je pokazala da ulje izopa poseduje umerenu antifungalnu aktivnost inhibirajući rast testiranih mikro i dermatomiceeta u koncentracijama od 2,50 do 3,00 µl/ml. Smatra se da je antifungalni potencijal ovog ulja direktno zavisano od hemijskog sastava; poznato je da 1,8-cineol i linalol pokazuju jači efekat inhibicije nego ostala jedinjenja često prisutna u ulju izopa

(izopinokamfon, limonen i  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen) (Soković, 2009). U istraživanjima Mazzanti i sar. (1998) etarsko ulje *H. officinalis* je imalo umeren efekat na sedam sojeva *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis*, inhibirajući njihov rast u koncentracijama 0,6-1,2% (v/v). Variranje antifungalnog potencijala ulja *H. officinalis* zapaženo je u studiji Džamić i sar. (2013) gde je bila potrebna koncentracija od 104 mg/ml kako bi se inhibirao rast mikromicete *A. niger*. Velika varijabilnost antifungalne aktivnosti različitih ulja *H. officinalis* objašnjava različitim hemijskim sastavom, kao i različitim metodama za ispitivanje kao i sojevima korišćenih u eksperimentima. Naša istraživanja antifungalne aktivnosti etarskog ulja *M. piperita* se poklapaju sa podacima studije koju su sveli Beyki i sar. (2014). Ranija istraživanja etarskog ulja *M. piperita* ukazuje na dobar antifungalni potencijal ove vrste; u studiji Yigit i sar. (2008), zubna pasta koja je sadržala, između ostalog, ulje *M. piperita* pokazala je najbolju antifungalnu aktivnost u ispitivanju osetljivosti 102 klinička izolata *Candida* spp. Prema rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji naš uzorak ovog ulja je pokazao jak antifungalni potencijal što se može objasniti visokim sadržajem mentola i mentona, a iz literature je poznato da dve komponente poseduju odličnu antimikrobnu aktivnost (Vaughn i Spencer, 1994). Bouchra i sar. (2003) su zabeležili jaku aktivnost etarskog ulja *M. pulegium*; koncentracija od 250 ppm se pokazala efikasnom u inhibiciji rasta *C. albicans*. Dosadašnja istraživanja etarskog ulja *L. angustifolia* pokazuju jaku do umerenu antifungalnu aktivnost (Stupar i sar. 2014). Rezultati koje su dobili D'Auria i sar. (2005) koji su ispitivali osetljivost 50 kliničkih izolata *C. albicans*, pokazuju da etarsko inhibiralo njihov rast u koncentracijama 0.69-1.1% (v/v). U istom istraživanju, dominantna komponenta ulja, linalol je pokazala jače dejstvo u poređenju sa linalil acetatom. Etarsko ulje *L. angustifolia* je inhibiralo rast micelije i zaustavilo proces dimorfizma kod *C. albicans*. De Rapper i sar. (2013) su potvrdila da postoji korelacija između hemijske strukture etarskih ulja i pojedinačnih komponenti, i njihove antifungalne aktivnosti. Dominantna zastupljenost oksidovanih monoterpena čini etarska ulja biljaka roda *Thymus* jednim od najjačih antifungalnih agenasa; mehanizam dejstva ovih jedinjenja za posledicu imaju destabilizaciju permeabilnosti ćelijske membrane i procesa respiracije kod gljiva (Hyldgaard i sar., 2012). Izuzetna antifungalna aktivnost etarskog ulja *T. algeriensis* potvrđena je u više studija (Zouari i sar., 2011; Giweli i sar., 2013; Quariachi i sar., 2014), kao i ulja *T. vulgaris* (Kumar i sar., 2008; Pekmezović i sar., 2015; Kohiyama i sar., 2015) i *T. serpyllum* (Rasooli i sar., 2002; Hazzit i sar., 2006; Hussain i sar., 2008) i u saglasnosti su sa dobijenim rezultatima u ovoj disertaciji. Ranija istraživanja antifungalne aktivnosti etarskog ulja *R. officinalis* pokazuju

varijabilne rezultati; Barreto i sar. (2014) su pokazali jako do umereno dejstvo etarskog ulja ruzmarina na *C. albicans* i *C. krusei*, inhibirajući rast ovih gljiva u koncentracijama od 0,5 i 1 mg/ml, dok je u istraživanjima Celiktas i sar. (2007) ovo ulje sa tri različita lokaliteta iz Turske, pokazalo je umerenu do slabu aktivnost na *C. albicans*. Rezultati dobijeni primenom mikrodilucione metode svrstavaju etarsko ulje *S. montana* u jake antifungalne agense (Fraternale i sar., 2007). Do sličnih rezultata došli su i istraživači iz Albanije koji su ispitivali antifungalnu aktivnost ovog na dermatomicete disk difuzionom metodom (Haloc i sar., 2014). Međutim, ne postoje podaci o osetljivosti kliničkih izolata *Candida* spp. tako da direktno poređenje naših rezultata nije moguće. U literaturi postoje brojni podaci o antifungalnoj aktivnosti etarskih ulja roda *Salvia* (Rota i sar., 2004; Gzergorczyk i sar., 2007; Pierozan i sar., 2009), od kojih najviše za ulje *S. officinalis*. Rezultati do kojih su došli Tularat i sar. (2013) ukazuju na umereni antifungalni potencijal etarskog ulja *S. officinalis* prema *C. albicans*. Što se tiče etarskog ulja *S. lavandulifolia*, malo je podataka o njegovom antifungalnom delovanju; u uporednoj studiji Jirovetz i sar. (2006) su ispitivali aktivnost etarskog ulja *S. officinalis*, *S. lavandulifolia* i *S. sclarea* disk-difuzionom i mikrodilucionom metodom i došli do zaključka da ulja *S. lavandulifolia* i *S. sclarea* pokazuju bolju aktivnost od *S. officinalis* prema *C. albicans*, što je i potvrđeno i u našem istraživanju (Tabela 39). Shimoni i sar. (1993) su utvrdili umeren antifungalni potencijal etarskog ulja *S. triloba*.

Tabela 39. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rusmarinus officinalis*, *Satureja montana*, *Salvia lavandulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea* i *S. triloba*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>H. officinalis</i>		<i>M. piperita</i> <sup>1</sup>		<i>M. piperita</i> <sup>2</sup>		<i>L. angustifolia</i>		<i>T. algeriensis</i>		<i>T. vulgaris</i>		<i>T. serpyllum</i>		<i>R. officinalis</i>		<i>S. lavandulifolia</i>		<i>S. triloba</i>		<i>S. officinalis</i>		<i>S. sclarea</i>		<i>S. montana</i>		<i>Curasept</i> <sup>®</sup>		<i>Hexose</i> <sup>®</sup>		<i>Flukomazol</i>				
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK			
1	C.a. 1/16/17	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,13	0,25	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,0009	0,001	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	C.a. M/2	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,13	0,25	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	C.a. M/1	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,13	0,25	0,50	1,00	0,005	0,01	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,25	5,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	C.a. 4/30	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,25	0,50	0,16	0,31	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	C.a. 4/23	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,13	0,25	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,25	0,50	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	C.a. 2/7,4	0,25	0,50	0,06	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	C.a. 1/31,5	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	1,00	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	C.a. 2/16	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	1,00	1,00	0,001	0,003	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	C.a. 2/20	0,50	1,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,0009	0,001	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	C.a. 2d	0,50	1,00	0,13	0,25	0,08	0,16	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	C.a. 4/2,2	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,005	0,01	0,02	0,04	0,001	0,002	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	C.a. 7d	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,16	0,31	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	C.a. 1/27	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	C.a. 4/2	0,50	1,00	0,13	0,25	0,08	0,16	0,13	0,25	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	C.a. 2/8,12	0,50	1,00	0,13	0,25	0,08	0,16	0,25	0,50	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	C.a. 1/04/07	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,25	0,50	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	C.a. 4/30	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,0009	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	C.a. 2/23	0,50	1,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,005	0,01	0,02	0,04	0,002	0,002	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	C.a. 2/24	0,50	1,00	0,13	0,25	0,08	0,16	0,50	1,00	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	C.a. 5/30	0,25	0,50	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,16	0,31	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	C.a. Danc	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,25	0,50	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	C.a. 2/7,5	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,25	0,50	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	C.a. 10d	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	C.a. 1/31,7	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,005	0,01	0,02	0,04	0,001	0,002	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	C.a. 5/7,4	0,50	1,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,25	0,50	0,25	0,50	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	C.a. 2/5,11	0,50	1,00	0,06	0,13	0,31	0,63	0,25	0,50	0,50	1,00	0,01	0,02	0,04	0,08	0,002	0,004	0,50	1,00	0,31	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	0,50	1,00	0,001	0,003	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002



57	C. g. 2/06	0.50	1.00	0.13	0.25	0.31	0.63	0.25	0.50	0.50	1.00	0.01	0.02	0.04	0.08	0.002	0.004	0.50	1.00	0.31	0.63	1.25	0.63	1.25	0.50	1.00	0.001	0.003	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
58	C. g. 6/23	0.50	1.00	0.13	0.25	0.08	0.16	0.25	0.50	0.50	1.00	0.01	0.02	0.04	0.08	0.002	0.004	0.50	1.00	0.31	0.63	1.25	0.63	1.25	0.50	1.00	0.001	0.003	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
59	ATCC 10231	0.25	0.50	0.13	0.25	0.31	0.63	0.25	0.50	0.25	0.50	0.01	0.02	0.04	0.08	0.002	0.004	0.25	0.50	0.31	0.63	1.25	0.63	1.25	0.25	0.50	0.001	0.003	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
60	ATCC 750	0.25	0.50	0.13	0.25	0.08	0.16	0.13	0.25	0.25	0.50	0.005	0.01	0.04	0.08	0.001	0.002	0.25	0.50	0.16	0.31	0.63	1.25	0.63	0.25	0.50	0.0009	0.001	5.00	10.00	1.00	2.00	0.002	0.004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.



Rezultati antifungalne aktivnosti etarskih ulja *L. nobilis*<sup>1</sup> i *L. nobilis*<sup>2</sup> iz familije Lauraceae prikazani su u Tabeli 40. Etarska ulja su pokazala jaku do umerenu antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu od 0,63 do 1,25 mg/ml. Oba ulja su pokazala sličnu aktivnost (*L. nobilis*<sup>1</sup> MIK 0.16-0.31; MFK 0.31-0.63, *L. nobilis*<sup>2</sup> MIK 0,31-0,63; MFK 0,63-1,25 mg/ml). U odnosu na pozitivne kontrole testirana etarska ulja su se pokazala boljim od preparata Curasept® i Hexoral® ali ne i od antimikotika Flukonazola. Prema Hassiotis (2010) ulje *L. nobilis* u koncentracijama od 15,00 do 60,00 mg/ml dovodi do inhibicije rasta mikoriznih gljiva *Glomus diserticola* i *G. intaradices*. Umerena do slaba antifungalna aktivnost etarskog ulja *L. nobilis* zabeležena je od strane grupe autora Simić i sar. (2004); MIK koje su inhibirale rast 11 mikromiceta su u intervalu 10,00-40,00 mg/ml. Umerena do slaba aktivnost ovog ulja uslovljena je prisustvom monoterpenkih ugljovodonika (1,8-cineol i sabinen), a koji imaju manji antifungalni potencijal od oksidovanih jedinjenja (Adam i sar., 1998).

Tabela 40. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Laurus nobilis*<sup>1</sup> i *L. nobilis*<sup>2</sup>, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>L. nobilis</i> <sup>1</sup>		<i>L. nobilis</i> <sup>2</sup>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	0,16	0,31	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0,16	0,31	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a.2/16</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	0,31	0,63	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0,16	0,31	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	0,16	0,31	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	<i>C.a. 5/30</i>	0,16	0,31	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	<i>C.a. Danc</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	0,31	0,63	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1/flak2</i>	0,16	0,31	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	0,31	0,63	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3/flak1</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	0,16	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. dl1</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	0,16	0,31	0,63	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	0,16	0,31	0,63	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1/flak1</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	0,13	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	0,16	0,31	0,31	0,63	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	0,16	0,31	0,31	0,63	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskih ulja biljaka *L. petersonii*, *L. scoparium*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup> i *S. aromaticum*, iz familije Myrtaceae, prikazani su u Tabeli 41. Etarska ulja su pokazala dobru antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu od 0,005 do 18,00 mg/ml. Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *S. aromaticum* (MIK 0,005-0,13; 0,01-0,25 mg/ml), dok je najslabiju imalo ulje čajnog drveta *M. alternifolia*<sup>1</sup> (MIK 4,50-9,00; MFK 9,00-18,00 mg/ml). Uporednom analizom antifungalnog potencijala etarskih ulja biljaka iz familije Myrtaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *S. aromaticum* > *L. petersonii* (MIK 0,03-0,06; MFK 0,06-0,13 mg/ml) > *E. citriodora* (MIK 0,08-0,16; MFK 0,16-0,31 mg/ml) > *M. quinquenervia*<sup>1</sup> (MIK 0,13-0,50; MFK 0,25-1,00 mg/ml) > *M. quinquenervia*<sup>2</sup> (MIK 0,31-1,25; MFK 0,63-1,25 mg/ml) > *E. globulus* (MIK 0,50-1,00; MFK 1,00-2,00) > *L. scoparium* (MIK 0,63-1,25; MFK 1,25-2,50 mg/ml) > *M. alternifolia*<sup>1</sup> (MIK 2,25-9,00; MFK 4,50-18,00 mg/ml) > *M. alternifolia*<sup>2</sup>. U odnosu na pozitivne kontrole sva ulja su pokazala bolju aktivnost od preparata Curasept®. Ulja *S. aromaticum*, *L. petersonii*, *E. citradora*, *M. quinquenervia*<sup>1</sup> i *M. quinquenervia*<sup>2</sup> su bila bolja od preparata Hexoral®, dok nijedno ulje nije pokazalo bolju aktivnost od Flukonazola. Koristeći mikrodilucionu metodu za određivanje MIK, Van Vuuren i sar. (2014) su ispitali antifungalnu aktivnost etarskih ulja *L. petersonii* i *L. scoparium*, i došli do zaključka da ulje *L. petersonii* pokazuje bolju aktivnost, što je takođe potvrđeno i u našim istraživanjima (Tabela 41). Park i sar. (2007) su utvrdili jaku antifungalnu aktivnost ulja *L. petersonii* na nekoliko dermatomiceta, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum* and *M. gypseum*. Antifungalna aktivnost etarskog ulja *L. scoparium* malo je istraživana. Tako, ispitivanjem aktivnosti ovog ulja Stephens i sar. (2005) su pokazali da koncentracije od 0,06 do 0,50 mg/ml imaju inhibirajuće dejstvo na testirane gljive. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *E. citriodora* i *E. globulus* je potvrđena u nekoliko studija; Kirui i sar. (2014) su dokazali da ulje *E. citriodora* ima jaku antifungalnu aktivnost na *C. albicans*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* i *Cryptococcus neoformans*, a do sličnih rezultata su došli i Luqman i sar. (2007) ispitivajući osetljivost rezistentnih sojeva *C. albicans* na ovo ulje. Etarsko ulje *E. globulus* i njegova glavna komponenta (1,8-cineol) poseduju antifungalnu aktivnost prema mikrmicetama *A. niger* i *A. flavus* (Vilela i sar., 2009). Kohanteb i Fani, (2011) su utvrdili inhibiciju rasta kliničkih izolata *C. albicans* i *C. glabrata* i y usne duplje u koncentracijama od 12,8 do 256 µg/ml, ali autori nisu prikazali hemijski sastav etarskog ulja korišćenog u eksperimentu. Brojni podaci u literaturi govore

o antifungalnom dejstvu etarskog ulja *M. alternifolia* (Hammer i sar., 1999), pri čemu se većina odnosi na *C. albicans*. Međutim, ovo ulje pokazuje inhibitornu aktivnost i prema velikom broju dermato i mikromiceta (Basset i sar., 1990; Cristoph i sar., 2000; D'Auria i sar., 2001). MIK za *C. albicans* se kreću od 0,06 do 8,00 mg/ml. Variranja rezultata mogu se objasniti kao posledica korišćenja različitih tehnika i sojeva u eksperimentima. Hammer i sar. (2004) su pokazali da se mehanizam dejstva etarskog ulja *M. alternifolia* bazira na promeni permeabilnosti membrane kod *C. albicans* i *C. glabrata*. Ovi autori navode da tretman od 30 min u koncentraciji 0,25% (v/v) rezultira apsorpcijom propidijum jodida. Prema rezultatima koji su dobili Lee i sar. (2008) etarsko ulje *M. quinquenervia* pokazalo je slabu antifungalnu aktivnost na *Cryphonectria parasitica* i *Fusarium circinatum* i jedino je ispoljilo inhibitornu aktivnost prema *Phytophthora cactorum*. U okviru ovih istraživanja etarsko ulje *M. quinquenervia* pokazalo je izuzetnu antifungalnu aktivnost (Tabela 41). Razlike u dobijenim rezultatima se mogu obrazložiti razlikama u hemijskom sastavu ulja. Lee i sar. (2008) su pokazali da etarsko ulje *M. quinquenervia* kao dominantnu komponentu sadrži limonen za razliku od našeg uzorka koji za glavnu komponentu ima 1,8-cineol. Iako prema literaturnim podacima 1,8-cineol ne poseduje jak antifungalni potencijal, prisutnost  $\alpha$ -terpineola i *E*-nerolidola (Park i sar., 2012) i moguće sinergističko dejstvo komponenti ulja svakako doprinose, u našem slučaju, jakom antifungalnom potencijalu. Etarsko ulje *S. aromaticum* se dugo koristi u oralnoj higijeni. Rezultati do kojih su došli Mansourian i sar. (2014) potvrđuju jaku antifungalnu aktivnost etarskog ulja karanfilića; testirali su 21 izolat *C. albicans* iz usne duplje pacijenata pri čemu je ovo etarsko ulje pokazalo bolju aktivnost od pozitivne kontrole nistatina. Slične našim rezultatima, dobili su i drugi istraživači (Hammer i sar., 1998; Giordiani i sar., 2008). Snažna antifungalna aktivnost etarskog ulja *S. aromaticum* potiče od eugenola, glavne komponente ovog ulja; Pinto i sar. (2009) su dokazali jaku aktivnost eugenola u koncentracijama 0,64-1,25  $\mu$ l/ml. Takođe, eugenol je pokazao i inhibiciju procesa sinteze ergosterola kod *C. albicans*, koji učestvuje u građi ćelijske membrane gljiva i glavna je meta antimikotika.

Tabela 41. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citradora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup> i *Syzygium aromaticum*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>L. petersonii</i>			<i>L. scoparium</i>			<i>E. citriodora</i>			<i>E. globulus</i>			<i>M. alternifolia</i> <sup>1</sup>			<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>			<i>M. quinquenervia</i> <sup>1</sup>			<i>M. quinquenervia</i> <sup>2</sup>			<i>S. aromaticum</i>			Curasept®			Hexoral®			Flukonazol																			
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK																	
1	<i>C.a. 1/16/17</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,01	0,03	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,01	0,03	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,50	1,00	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,50	1,00	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	4,50	9,00	4,50	9,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,01	0,03	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	4,50	9,00	4,50	9,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,01	0,03	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	2,25	4,50	2,25	4,50	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	2,25	4,50	2,25	4,50	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/31.5</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
8	<i>C.a. 2/16</i>	0,03	0,06	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,63	1,25	0,005	0,01	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,03	0,06	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,63	1,25	0,005	0,01	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0,03	0,06	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,03	0,06	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	0,03	0,06	0,63	1,25	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	2,25	4,50	2,25	4,50	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,03	0,06	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	2,25	4,50	2,25	4,50	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	0,50	1,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	1,25	2,50	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	0,50	1,00	4,50	9,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,13	0,25	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,13	0,25	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	4,50	9,00	4,50	9,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	4,50	9,00	4,50	9,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002	0,06	0,13	1,25	2,50	0,16	0,31	1,00	2,00	9,00	18,00	9,00	18,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002







52	<i>C.a. 4/20/12</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	0,06	0,13	0,63	1,25	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,63	1,25	0,005	0,01	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	0,06	0,13	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,13	0,25	0,63	1,25	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C.k. Iflak1</i>	0,03	0,06	0,63	1,25	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,005	0,01	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C.g. 2/06</i>	0,03	0,06	1,25	2,50	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C.g. 6/23</i>	0,03	0,06	1,25	2,50	0,08	0,16	0,50	2,00	4,50	9,00	0,25	0,50	0,63	1,25	0,01	0,03	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	0,03	0,06	0,63	1,25	0,08	0,16	1,00	2,00	9,00	18,00	0,25	0,50	0,31	0,63	0,005	0,01	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	0,06	0,13	0,63	1,25	0,08	0,16	0,50	1,00	4,50	9,00	0,13	0,25	0,31	0,63	0,01	0,03	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antigunalne aktivnosti etarskih ulja *A. procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasii* i *P. silvestris* iz familije Pinaceae, prikazani su u Tabeli 42. Etarska ulja pokazala su antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u rasponu 0,25-5,00 mg/ml. Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *A. procera* (MIK 0,25-0,50; MFK 0,50-1,00 mg/ml), dok su najslabiju aktivnost pokazala ulja *A. grandis* (MIK 1,25-2,50; MFK 2,50-5,00 mg/ml) i *A. alba* (MIK 1.25-2.50; MFK 2.50-5.00 mg/ml). Etarsko ulje *P. douglasi* (MIK 0,63-1,25; MFK 1,25-2,50 mg/ml) je pokazalo bolju aktivnost nego *P. silvestris* (MIK 0,63-1,25; MFK 1,25-2,50 mg/ml). U poređnom analizom antifungalne aktivnosti etarskih ulja biljaka iz familije Pinaceae može se prikazati sledećim nizom: *A. procera* > *P. douglasii* > *P. silvestris* > *A. grandis* = *A. alba*. U odnosu na pozitivne kontrole sva ulja su pokazala bolje dejstvo od preparata Curasept®. Međutim, ulja *A. procera* i *P. douglasi* poseduju jaču antifungalnu aktivnost od preparata Hexoral®, ali nijedno ulje nije pokazalo bolje rezultate od sintetičkog fungicida Flukonazola. Podaci o antifungalnoj aktivnosti etarskih ulja vrsta Pinaceae su retki (Bandi i sar., 2012). U ispitivanju antifungalne aktivnosti etarskih ulja 9 vrsta familije Pinaceae, poreklom iz Turske, ulja su pokazala varijabilnu aktivnost (Bađci i Diđrak, 1998); testirana ulja su pokazala jaču aktivnost na gljive nego na bakterije, što je u skladu sa našim rezultatima istraživanja. Juršek i sar. (2014) su utvrdili slab inhibitorni efekat etarskog ulja *A. alba* na produkciju ohratoksina A kod *Penicillium verrucosum*. Yang i sar. (2008) su testirali biološki potencijal 19 etarskih ulja iz familije Pinaceae i pokazali antitumornu, antimikrobnu, antihipertenzivnu aktivnost. Za etarska ulja *A. grandis* i *P. douglasii*, ne postoje publikovani podaci o antifungalnoj aktivnosti. U radu Ćosić i sar. (2010) u kome je testirana antifungalna aktivnost, između ostalih i etarskog ulja *P. sylvestris* na rast micelija dvanaest fitopatogenih gljiva, ovo ulje je pokazalo umerenu aktivnost.

Tabela 42. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasii* i *P. silvestris*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>A. procera</i>			<i>A. grandis</i>			<i>A. alba</i>			<i>P. douglasii</i>			<i>P. silvestris</i>			Curasept®			Hexoral®			Flukonazol		
	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MFK	MIK	MFK	MIK
1	C.a. 1/1617	0,25	0,50	2,50	5,00	5,00	2,50	2,50	5,00	5,00	0,63	1,25	1,25	2,50	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001
2	C.a. MH2	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001
3	C.a. MH1	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,001	0,002	0,001	0,002	
4	C.a. 4/30	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	1,25	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
5	C.a. 4/23	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
6	C.a. 2/7.4	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	5,00	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,002	0,004	0,002	0,004	
7	C.a. 1/315	0,25	0,50	2,50	5,00	5,00	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	1,50	1,50	0,002	0,004	0,002	0,004	
8	C.a. 2/16	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
9	C.a. 2/20	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	5,00	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
10	C.a. 2d	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
11	C.a. 4/2.2	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
12	C.a. 7d	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	5,00	1,25	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
13	C.a. 1/27	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	0,001	0,002	0,001	0,002	
14	C.a. Lj2	0,50	1,00	2,50	5,00	5,00	2,50	2,50	5,00	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
15	C.a. 2/8.12	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,001	0,002	0,001	0,002	
16	C.a. 1/0407	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
17	C.a. 4/30	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,002	0,004	0,002	0,004	
18	C.a. 2/23	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
19	C.a. 2/24	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	2,00	0,002	0,004	0,002	0,004	
20	C.a. 5/30	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	1,25	1,25	2,50	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
21	C.a. Danc	0,50	1,00	2,50	5,00	5,00	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
22	C.a. 2/7.5	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,001	0,002	0,001	0,002	
23	C.a. 10d	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
24	C.a. 1/31.7	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	2,00	0,0005	0,001	0,0005	0,001	
25	C.a. 5/7.4	0,25	0,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	5,00	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	2,00	0,002	0,004	0,002	0,004	
26	C.a. 2/3.11	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	2,50	0,63	0,63	1,25	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	2,50	0,001	0,002	0,001	0,002	

	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
27	C.a. 2/212	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
28	C.a. 2/31.5	0,50	1,00	2,50	5,00	2,50	5,00	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
29	C.a. 3/16	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
30	C.a. 5/7.4	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0002	0,004						
31	C.a. 1/flak2	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
32	C.a. 4/3.12	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
33	C.a. 3/flak1	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0002	0,004						
34	C.a. 5/1617	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
35	C.a. 4/07	0,50	1,00	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
36	C.a. 4/23.11	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002						
37	C.a. 3/31.5	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
38	C.a. 1d	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
39	C.a. 1/16	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0002	0,004						
40	C.a. d11	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
41	C.a. 4/16	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
42	C.a. MH4	0,25	0,50	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004						
43	C.a. 8/12.11	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
44	C.a. 1/12.5	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
45	C.a. cet1	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	0,63	1,25	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002						
46	C.a. 2/7.12	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
47	C.a. cet5	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004						
48	C.a. 1/20	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
49	C.a. 3/13	0,50	1,00	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
50	C.a. 2/21	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
51	C.a. 5/32	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004						
52	C.a. 4/20.12	0,50	1,00	1,25	2,50	2,50	5,00	1,25	2,50	5,00	1,25	2,50	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001						
53	C.a. 3/11	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
54	C.a. 7/16	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002						
55	C.a. 5d	0,50	1,00	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001						
56	C. k. 1/flak1	0,50	1,00	2,50	5,00	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-						

	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
57	C. g. 2/06	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	2,50	1,25	2,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	C. g. 6/23	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	5,00	0,63	1,25	0,63	1,25	1,25	0,63	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	1,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	0,25	0,50	1,25	2,50	1,25	2,50	0,63	1,25	0,63	1,25	1,25	0,63	1,25	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C. a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskih ulja *P. nigrum*<sup>C</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup> iz familije Piperaceae prikazani su u Tabeli 43. Oba etarska ulja su pokazala antifungalni potencijal inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu od 0,25 do 20,00 mg/ml. Etarsko ulje *P. nigrum*<sup>Z</sup> (MIK 0,25-1,00; MFK 0,50-2,00 mg/ml) je pokazalo bolju aktivnost u odnosu na *P. nigrum*<sup>C</sup> (MIK 1,25-5,00; MFK 2,50-10,00 mg/ml). Poređenjem sa pozitivnim kontrolama oba ulja su pokazala jaču aktivnost od preparata Curasept<sup>®</sup>, a ulje *P. nigrum*<sup>Z</sup> je bilo efikasnije i od preparata Hexoral<sup>®</sup>, dok su oba ulja pokazala slabije antifungalno dejstvo od Flukonazola. Podaci o antifungalnoj aktivnosti etarskog ulja *P. nigrum* su malobrojni, za razliku od ekstrakata ove biljke. Rabadia i sar. (2011) su potvrdili antifungalnu aktivnost etarskog ulja *P. nigrum* na *T. mentagraphytes* i flukonazol-rezistentne sojeve *C. albicans* i *C. tropicalis*. Etarsko ulje *P. nigrum* pokazalo se vrlo efikasnim i u inhibiciji rasta micelije *Fusarium graminearum*, *Penicillium veridcatum* i *Aspergillus ochraceus* (Singh i sar., 2004). Umerena do slaba aktivnost etarskog ulja *P. nigrum* je posledica prisustva monoterpena kao glavne komponente koji nemaju veliki antifungalni potencijal (Chen i sar., 2011).

Tabela 43. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *Pipiper nigrum*<sup>C</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup>, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>P. nigrum</i> <sup>C</sup>		<i>P. nigrum</i> <sup>Z</sup>		Curasept <sup>®</sup>		Hexoral <sup>®</sup>		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a.2/16</i>	5,00	10,00	0,25	0,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	5,00	10,00	1,00	2,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	<i>C.a. 5/30</i>	1,25	2,50	0,25	0,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
21	<i>C.a. Danc</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	5,00	10,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	5,00	10,00	0,25	0,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1/flak2</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	5,00	10,00	0,25	0,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3/flak1</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	1,25	2,50	0,25	0,50	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	5,00	10,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	1,25	2,50	0,25	0,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	5,00	10,00	0,50	1,00	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	1,25	2,50	0,25	0,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	1,25	2,50	0,25	0,50	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1/flak1</i>	2,50	5,00	0,25	0,50	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	5,00	1,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	2,50	5,00	0,50	1,00	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	1,25	2,50	0,25	0,50	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.



Rezultati antifungalne aktivnosti etarskog ulja *C. martinii* iz porodice Poaceae prikazani su u Tabeli 44. Ulje je pokazalo jak antifungalni potencijal inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u rasponu koncentracija 0,003-0,02 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje je pokazalo jaču aktivnost od preparata Curasept® i Hexoral®, ali ne i od sintetičkog fungicida Flukonazola. Istraživanje koje su sproveli Prashara i sar. (2003) potvrdilo je jak antifungalni potencijal etarskog ulja *C. martinii*; koncentracija od 0,1% etarskog ulja *C. martinii* bila je dovoljna za potpunu inhibiciju rasta *S. cerevisiae*. Do sličnih rezultata su došli i drugi istraživači koji su ispitivali antifungalnu aktivnost ovog ulja (Prasad i sar., 2010; Gameda i sar., 2014). Tako, snažna aktivnost se pripisuje glavnoj komponenti ovog ulja monoterpenoidnom alkoholu, geraniolu. Dejstvo geraniola na propustljivost ćelijske membrane i otpuštanje K<sup>+</sup> i Mg<sup>2+</sup> jona ćelije kvasaca i uzrokovanje apoptoze prikazana je u studiji Augustyn i Kock (1989).

Tabela 44. Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Cymbopogon martinii*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>C. martinii</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
2	<i>C.a. MH2</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
3	<i>C.a. MH1</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
7	<i>C.a. 1/315</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	1.50	0.002	0.004
8	<i>C.a.2/16</i>	0.003	0.007	5.00	10.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
10	<i>C.a. 2d</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
12	<i>C.a. 7d</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.25	2.50	0.001	0.002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0.007	0.015	12.50	25.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
17	<i>C.a. 4/30</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
18	<i>C.a. 2/23</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.25	2.50	0.0005	0.001
19	<i>C.a. 2/24</i>	0.007	0.015	12.50	25.00	1.00	2.00	0.002	0.004
20	<i>C.a. 5/30</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
21	<i>C.a. Danc</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002

		MIK	MFk	MIK	MFk	MIK	MFk	MIK	MFk
23	<i>C.a. 10d</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	0.003	0.007	5.00	10.00	1.00	2.00	0.002	0.004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.25	2.50	0.001	0.002
27	<i>C.a. 2/212</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
29	<i>C.a. 3/16</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
31	<i>C.a. 1flak2</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
33	<i>C.a. 3flak1</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
35	<i>C.a. 4/07</i>	0.003	0.007	12.50	25.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
38	<i>C.a. 1d</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
39	<i>C.a. 1/16</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
40	<i>C.a. d11</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
41	<i>C.a. 4/16</i>	0.007	0.015	12.50	25.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
42	<i>C.a. MH4</i>	0.003	0.007	12.50	25.00	1.00	2.00	0.002	0.004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
45	<i>C.a. cet1</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.25	2.50	0.001	0.002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
47	<i>C.a. cet5</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
48	<i>C.a. 1/20</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
49	<i>C.a. 3/13</i>	0.007	0.015	5.00	10.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
50	<i>C.a. 2/21</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
51	<i>C.a. 5/32</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.25	2.50	0.0005	0.001
53	<i>C.a. 3/11</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
54	<i>C.a. 7/16</i>	0.003	0.007	5.00	10.00	1.00	2.00	0.001	0.002
55	<i>C.a. 5d</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
56	<i>C. k. 1flak1</i>	0.003	0.007	5.00	10.00	1.00	2.00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	0.003	0.007	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
58	<i>C. g. 6/23</i>	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
59	ATCC 10231	0.007	0.015	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
60	ATCC 750	0.003	0.007	5.00	10.00	1.00	2.00	0.002	0.004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Rezultati antifungalne aktivnosti etarskog ulja *R. centifolia* iz familije Rosaceae prikazani su u Tabeli 45. Ovo ulje je pokazalo jak antifungalni potencijal inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu od 0,06 do 0,25 mg/ml. U odnosu na pozitivne kontrole ulje je pokazalo jaču aktivnost od preparata Curasept® i Hexoral®, ali ne i od antimikotika Flukonazola. U literaturi ne postoje podaci o antifungalnoj aktivnosti etarskog ulja *R. centifolia*. Etarsko ulje *R. damascena* pokazalo je izuzetnu antifungalnu aktivnost prema *A. niger*, *S. cerevisie* i *C. albicans* referentnih sojeva koja je ispitivana disk-difuzionom metodom (Shohayeb i sar., 2014). Pri tumečenju ovako raznolikih podataka treba, naravno, imati u vidu hemijski sastav ulja; fenil-etil alkohol, citronelol i geraniol, glavne komponente komercijalnog uzorka ulja *R. centifolia* korišćenog u eksperimentu, imaju jaku antifungalnu aktivnost (Corre i sar., 1990). Proučavanjem mehanizma dejstva fenil-etil alkohola, ova grupa autora ustanovila je da pored promene u strukturi ćelijske membrane ovo jedinjenje deluje i na indukciju procesa apoptoze tj. smrti ćelije.

Tabela 45. Antifungalna aktivnost etarskog ulja *Rosa centifolia*, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

		<i>R. centifolia</i>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol	
		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
1	<i>C.a. 1/1617</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
2	<i>C.a. MH2</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
3	<i>C.a. MH1</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
7	<i>C.a. 1/315</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	1,50	0,002	0,004
8	<i>C.a.2/16</i>	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
10	<i>C.a. 2d</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
12	<i>C.a. 7d</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
17	<i>C.a. 4/30</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
18	<i>C.a. 2/23</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
19	<i>C.a. 2/24</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
20	<i>C.a. 5/30</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
21	<i>C.a. Danc</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001

		MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
23	<i>C.a. 10d</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
25	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,13	0,25	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004
26	<i>C.a. 2/3.11</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
27	<i>C.a. 2/212</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
28	<i>C.a. 2/31.5</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
29	<i>C.a. 3/16</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
30	<i>C.a. 5/7.4</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
31	<i>C.a. 1flak2</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
32	<i>C.a. 4/3.12</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
33	<i>C.a. 3flak1</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
34	<i>C.a. 5/1617</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
35	<i>C.a. 4/07</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
36	<i>C.a. 4/23.11</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,001	0,002
37	<i>C.a. 3/31.5</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
38	<i>C.a. 1d</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
39	<i>C.a. 1/16</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
40	<i>C.a. d11</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
41	<i>C.a. 4/16</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
42	<i>C.a. MH4</i>	0,06	0,12	12,50	25,00	1,00	2,00	0,002	0,004
43	<i>C.a. 8/12.11</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
44	<i>C.a. 1/12.5</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
45	<i>C.a. cet1</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,25	2,50	0,001	0,002
46	<i>C.a. 2/7.12</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
47	<i>C.a. cet5</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
48	<i>C.a. 1/20</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
49	<i>C.a. 3/13</i>	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
50	<i>C.a. 2/21</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
51	<i>C.a. 5/32</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,002	0,004
52	<i>C.a. 4/20.12</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,25	2,50	0,0005	0,001
53	<i>C.a. 3/11</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
54	<i>C.a. 7/16</i>	0,13	0,25	5,00	10,00	1,00	2,00	0,001	0,002
55	<i>C.a. 5d</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
56	<i>C. k. 1flak1</i>	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	-	-
57	<i>C. g. 2/06</i>	0,13	0,25	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
58	<i>C. g. 6/23</i>	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0015	0,003
59	ATCC 10231	0,06	0,12	10,00	20,00	1,00	2,00	0,0005	0,001
60	ATCC 750	0,06	0,12	5,00	10,00	1,00	2,00	0,002	0,004

\* *C.a.* – *Candida albicans*; *C.k.* – *Candida krusei*; *C.g.* – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

Antifungalna aktivnost etarskih ulja biljaka *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon* i *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> prikazana je u Tabeli 46. Etarska ulja su pokazala snažnu antifungalnu aktivnost inhibirajući sve testirane vrste i sojeve roda *Candida* u intervalu od 0,25 do 5,00 mg/ml. Najbolju aktivnost pokazalo je ulje *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup> (MIK 0,25-0,50; MFK 0,50-1,00 mg/ml), dok su ulja *C. limon* (MIK 0,16-0,32; MFK 0,31-0,62 mg/ml) i *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> (MIK 0,16-0,32; MFK 0,31-0,62 mg/ml) pokazala sličan efekat. Uporednom analizom, antifungalni potencijal etarskih ulja biljaka iz familije Rutaceae u *in vitro* uslovima može se prikazati sledećim nizom: *C. aurantium*<sup>N</sup> > *C. limon* = *C. aurantium*<sup>PG</sup>. U odnosu na pozitivne kontrole, ulja su pokazala jaču antifungalnu aktivnost od preparata Curasept® i Hexoral®, ali ne i od antimikotika Flukonazola. U ranijim istraživanjima etarska ulja kore ploda *C. limon* i *C. aurantium* pokazala su izuzetnu antifungalnu aktivnost (Droby i sar., 2008; Belleti i sar., 2010; Guerra i sar., 2013). Hammer i sar. (1998) došli su do rezultata koji nisu u potpunosti u skladu sa našim rezultatima; pokazali su umerenu aktivnost etarskog ulja u svom ispitivanju; koncentracija ulja od 2,00% je bila neophodna za inhibiciju rasta *C. albicans*, što možemo pripisati različitosti u primenjenim metodama ispitivanja. Naime, poznato je da postoji pozitivna korelacija sadržaja oksidovanih monoterpena sa antifungalnim potencijalom, kojih ima u velikoj količini u etarskom ulju pomorandže i limuna (Jing i sar., 2014). Bolja aktivnost etarskog ulja *C. aurantium* se može pripisati prisustvu oksidovanih monoterpena i manjem sadržaju limonena od etarskog ulja *C. limon*. Međutim, ne treba zanemariti uticaj manjih komponenti kao i njihov sinergistički potencijal.

Tabela 46. Antifungalna aktivnost etarskih ulja *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup> *Citrus limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>, preparata za oralnu higijenu i antimikotika (mg/ml).

	<i>C. aurantium</i> <sup>N</sup>		<i>C. limon</i>		<i>C. aurantium</i> <sup>PG</sup>		Curasept®		Hexoral®		Flukonazol			
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK		
1	<i>C.a. 1/1617</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
2	<i>C.a. MH2</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
3	<i>C.a. MH1</i>	0.13	0.25	0.31	0.62	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
4	<i>C.a. 4/30</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
5	<i>C.a. 4/23</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
6	<i>C.a. 2/7.4</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
7	<i>C.a. 1/315</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	1.50	0.002	0.004
8	<i>C.a.2/16</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.31	0.31	0.62	5.00	10.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
9	<i>C.a. 2/20</i>	0.25	0.50	0.31	0.62	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
10	<i>C.a. 2d</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
11	<i>C.a. 4/2.2</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
12	<i>C.a. 7d</i>	0.25	0.50	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
13	<i>C.a. 1/27</i>	0.25	0.50	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.25	2.50	0.001	0.002
14	<i>C.a. Lj2</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	12.50	25.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
15	<i>C.a. 2/8.12</i>	0.25	0.50	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
16	<i>C.a. 1/0407</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
17	<i>C.a. 4/30</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.002	0.004
18	<i>C.a. 2/23</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.25	2.50	0.0005	0.001
19	<i>C.a. 2/24</i>	0.13	0.25	0.31	0.62	0.16	0.16	0.31	12.50	25.00	1.00	2.00	0.002	0.004
20	<i>C.a. 5/30</i>	0.13	0.25	0.31	0.62	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
21	<i>C.a. Danc</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
22	<i>C.a. 2/7.5</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.31	0.31	0.62	10.00	20.00	1.00	2.00	0.001	0.002
23	<i>C.a. 10d</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
24	<i>C.a. 1/31.7</i>	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001





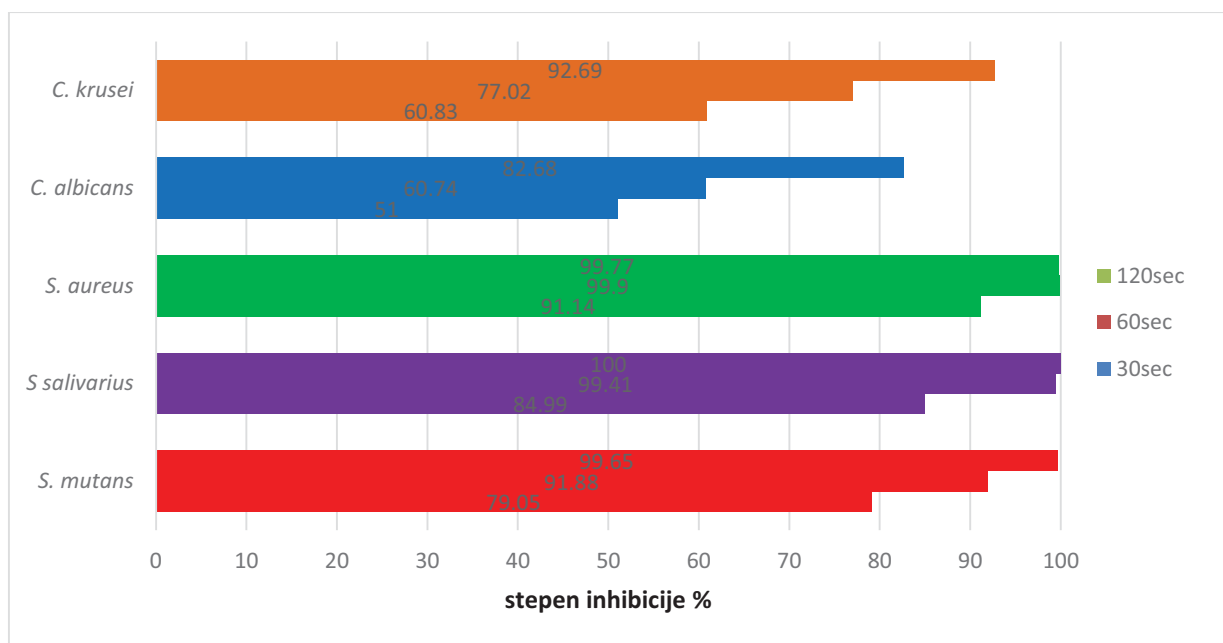
	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK	MIK	MFK
54	0.06	0.13	0.16	0.31	0.16	0.31	0.16	0.31	5.00	10.00	1.00	2.00	5.00	10.00	1.00	2.00	0.001	0.002
55	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.31	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
56	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.31	0.16	0.31	5.00	10.00	1.00	2.00	5.00	10.00	1.00	2.00	-	-
57	0.13	0.25	0.31	0.62	0.16	0.31	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
58	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.31	0.16	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0015	0.003
59	ATCC 10231	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.31	0.31	10.00	20.00	1.00	2.00	10.00	20.00	1.00	2.00	0.0005	0.001
60	ATCC 750	0.13	0.25	0.16	0.31	0.16	0.31	0.31	5.00	10.00	1.00	2.00	5.00	10.00	1.00	2.00	0.002	0.004

\* C.a. – *Candida albicans*; C.k. – *Candida krusei*; C.g. – *Candida glabrata*; ATCC (The American Type Culture Collection) 10231 – *Candida albicans*; ATCC 750 – *Candida tropicalis*.

## 5.5. Antimikrobna aktivnost ozona i srebrne vode

Ispitivanje antimikrobnog delovanja ozona u *in vitro* uslovima sprovedeno je izlaganjem mikroorganizama rastućim koncentracijama ozona, dok je ispitivanje dejstva koloidnog rastvora srebrne vode rađeno primenom mikrodilucione metode 96 sistem. Mikroorganizmi koji su korišćeni u eksperimentima izolovani su iz usne duplje pacijenata: *S. mutans* (IBR S001), *S. salivarius* (IBR S006), *S. aureus* (IBR ST001), *C. albicans* (MH1) i *C. krusei* (1flak1), a rezultati ovih ispitivanja prikazani na slikama 136-138.

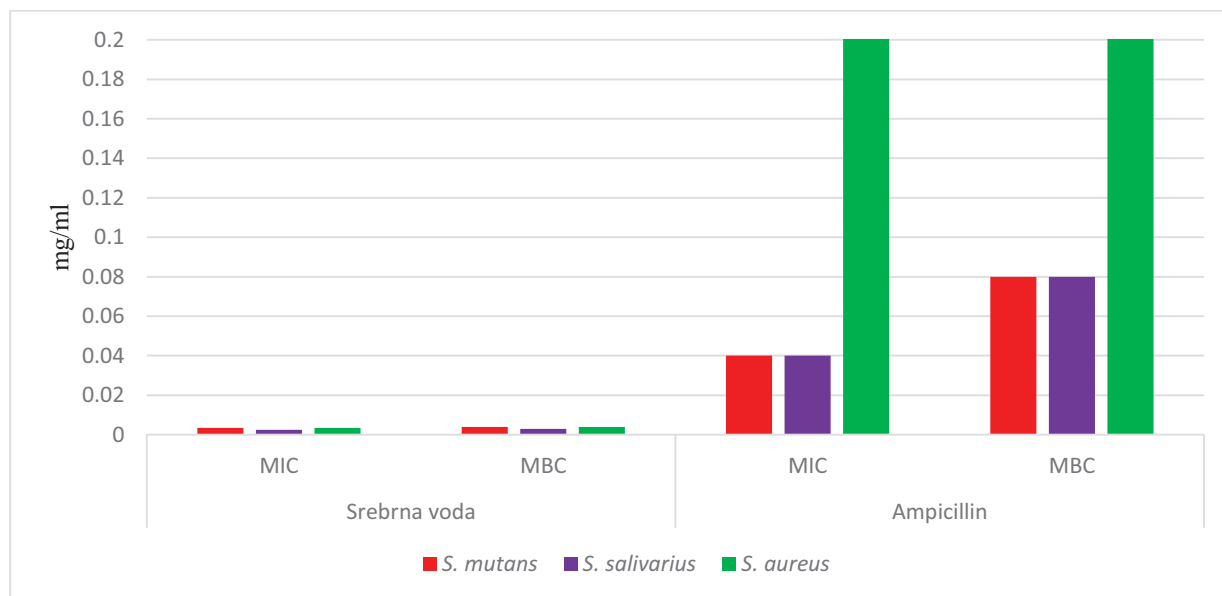
Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih na Slici 136 može se uočiti da izlaganje ozonu od 30s uzrokuje smanjenje broja ćelija od 51,00% do 91,14% u odnosu na kontrolnu grupu. Izlaganje ćelija dejstvu ozona od 60s prouzrokovalo je stepen redukcije brojnosti kolonija od 60,74% do 99,9%. Nakon izlaganja od 120s uočava se povišen procenat eliminacije koji se kreće u intervalu od 82,68% do 100%. Generalno gljive su se pokazala osetljivijom grupom. Što se tiče osetljivosti bakterija, ispostavilo se da je *S. mutans* najosetljivija, a *S. aureus* najrezistentnija vrsta. Kod gljiva, *C. albicans* se pokazala otpornijom u odnosu na *C. krusei*.



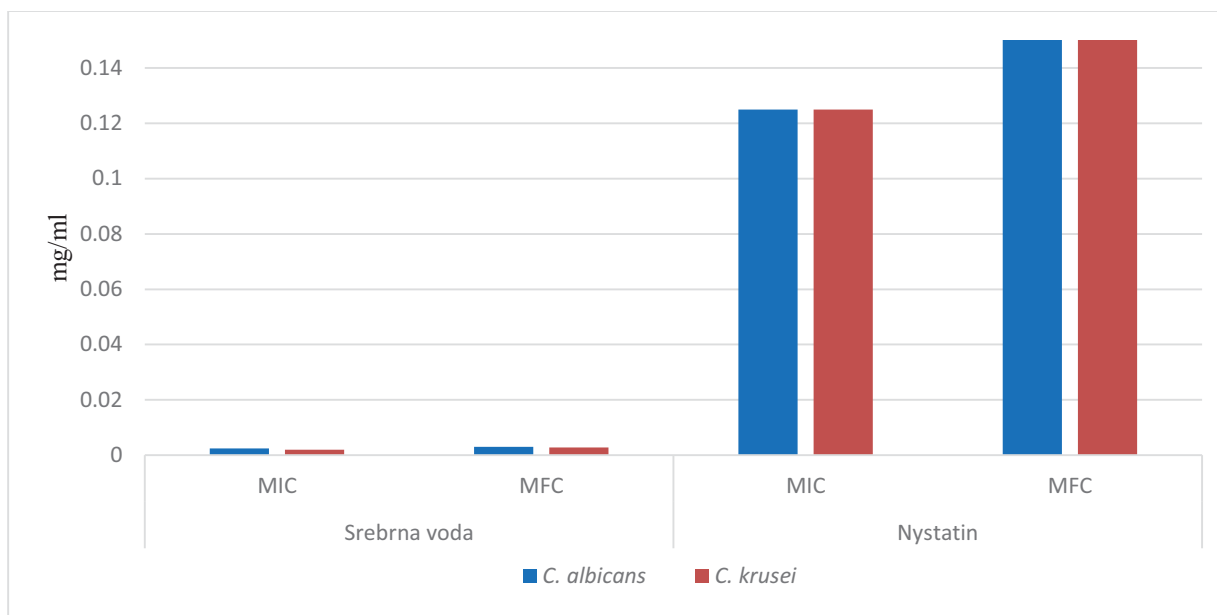
Slika 136. Delovanja ozona na mikroorganizme iz usne duplje u trajanju od 30s, 60s i 120s.

Koloidni rastvor srebrne vode pokazao je snažno antimikrobno dejstvo, inhibirajući testirane mikroorganizme u koncentracijama od 0,002-0,004 mg/ml (Slika 137). Gljive su osetljiviji

ispitivani organizmi, vrednosti MIK i MFK bile su u intervalu od 0,002 do 0,003 mg/ml, dok su MIK i MBK za bakterije bile 0,003 i 0,004 mg/ml (Slika 138). Najotpornije bakterije na tretman srebrnom vodom bile su *S. aureus* i *S. mutans* dok je kod gljiva *C. krusei* pokazala veći nivo osetljivosti na testirane koncentracije. Srebrna voda imala je jače dejstvo u odnosu na ampicilin (MIK 0,04-0,4; MBK 0,08-0,5 mg/ml). U odnosu na pozitivnu kontrolu kod gljiva (nistatin MIK 0,13; MFK 0,25 mg/ml), srebrna voda je pokazala snažnije dejstvo.



Slika 137. Antibakterijska aktivnost srebrne vode na kliničke izolate bakterija izolovanih iz usne duplje čoveka (mg/ml).



Slika 138. Antifungalna aktivnost srebrne vode na kliničke izolate vrste roda *Candida* izolovanih iz usne duplje (mg/ml).

Tokom poslednjih godina sve je veći interes za pronalazak efikasnijih antimikrobnih agenasa sa potencijalnom primenom u medicini i farmaciji. Prikazani rezultati ozonskog gasa i srebrne vode imaju veliki potencijal zbog svoje visoke efikasnosti, niske cene i već uspešne primene u prehrambenoj industriji (Azarpazhooh & Limeback, 2008).

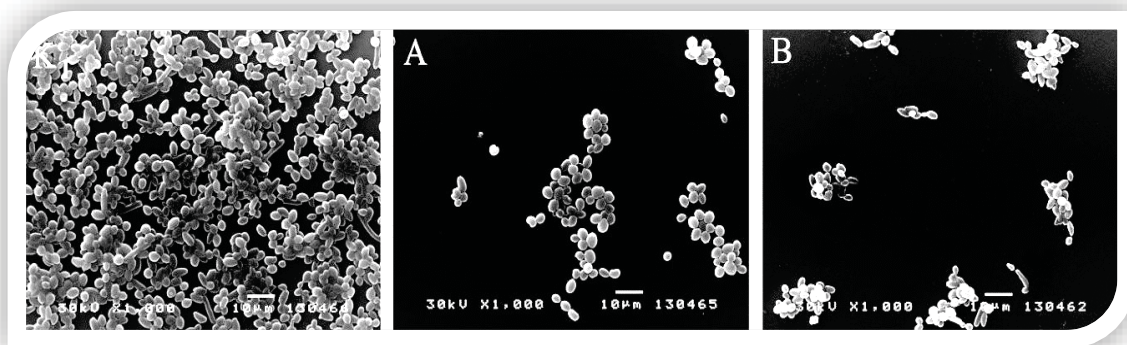
Prethodna istraživanja dokazuju antimikrobnu aktivnost ozona na mikroorganizme iz usne duplje (Nagayoshi i sar., 2004, Johanson i sar., 2009; Baysan & Lynch, 2000). Polidorou i sar. (2012) su imali uspešnu inhibiciju rasta *S. mutans* ozonom nakon osmonedeljnog tretmana. U ranijim istraživanjima, potvrđeno je da tretman ozonom u trajanju od 10 min dovodi do stoprocentne redukcije broja ćelija *S. aureus*. Bezertoglu i sar. (2008) su pokazali da je tretman ozona u trajanju od 30 min neophodan za potpunu dekontaminaciju. Za sada još uvek ne postoji studija o tome koji tretman je najefikasniji. Studije toksičnosti pokazuju da ozon ima toksično dejstvo na neke tipove ćelija ali i odsustvo citotoksičnosti ozonom obogaćene vode, koja je i korišćena u našem istraživanju (Bezertoglu i sar. 2008). Postoje nekoliko literaturnih podataka o osetljivosti *Candida* spp. na tretman ozonom (Nagayoshi i sar., 2004; Noites i sar., 2014). U ovoj disertaciji, gljive su bile osetljivije u odnosu na bakterije što se može objasniti razlikom u ćelijskoj organizaciji na prokariotskom i eukariotskom nivou. Jedan od potencijalnih mehanizama dejstva

ozona je destabilizacija i permeabilnosti ćelijske membrane (Arana i sar., 1999). U dosadašnjim istraživanjima ozon je pokazao dobru antimikrobnu aktivnost (Nikolić i sar., 2012) ne samo na individualne mikroorganizme već i zajednice u vidu biofilma (Muller i sar., 2007) i čak i u *in vivo* eksperimentima (Holmes, 2003).

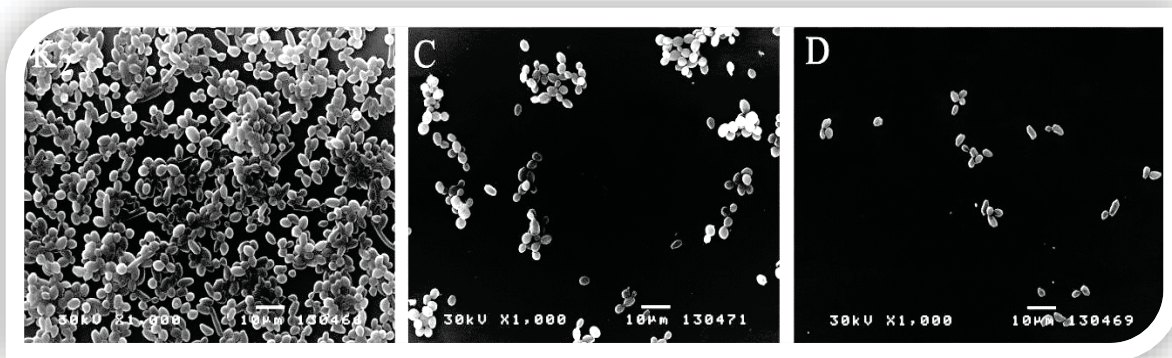
Antimikrobna aktivnost srebra je poznata je više od 100 godina (Lansdown, 2002). Rezultati antimikrobne aktivnosti srebra pokazuju snažno dejstvo na testirane mikroorganizme, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima (Espinosa-Cristobal i sar., 2009; Li i sar., 2011). Hernandez-Sierra i sar. (2008) su ustanovili prosečne vrednosti antibakterijske aktivnosti srebra kod *S. mutans* od 0.005 mg/ml za MIK i 0.006 mg/ml za MBK. Antifungalnu aktivnost srebra pokazali su i Kim i sar. (2008), uspešnom eliminacijom *Candida* spp. Pored antimikrobne aktivnosti srebra, poznata je i njegova antivirusna aktivnost (Elechiguerra i sar., 2005). Srebro je koristan biološki agens zbog niske citotoksičnosti na ćelije sisara i umanjenu sposobnost rezistencije (Klaus i sar., 1999).

### 5.6. Mikromorfološke promene ćelija *C. albicans* izazvane etarskim uljima

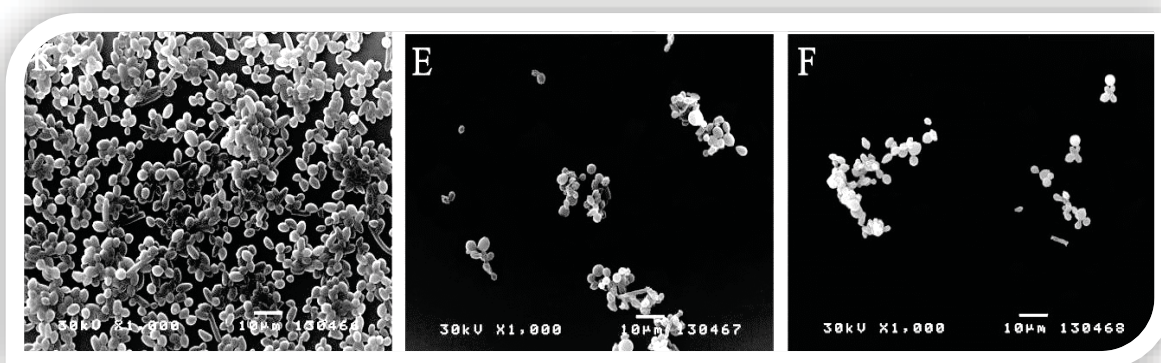
Antimikrobna aktivnost odabranih etarskih ulja i morfofiziološke promene na ćelijama tretiranih izolata *C. albicans*, nastale usled dejstva etarskih ulja, detektovane su uz pomoć skening elektronskog mikroskopa (SEM). Zbog svoje značajne antimikrobne aktivnosti odabrana su etarska ulja *Leptospermum petersonii*, *Pelargonium graveolens* i *Citrus aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>, a kao test organizam korišćen je klinički izolat *C. albicans* (MH1).



Slika 139. Skening elektronske mikrografije kontrolnih ćelija biofilma *C. albicans* ( $K_1$ ) nakon tretiranja minimalnim inhibicionim koncentracijama etarskih ulja: *P. graveolens* u periodu od 6h (A) i 24h (B).



Slika 140. Skening elektronske mikrofografije kontrolnih ćelija biofilma *C. albicans* (K<sub>2</sub>) nakon tretiranja minimalnim inhibicionim koncentracijama etarskih ulja: *L. petersonii* u periodu od 6h (C) i 24h (D)



Slika 141. Skening elektronske mikrofografije kontrolnih ćelija biofilma *C. albicans* (K<sub>3</sub>) nakon tretiranja minimalnim inhibicionim koncentracijama etarskih ulja: *Citrus aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> u periodu od 6h (E) i 24h (F)

Skening elektronska mikroskopija vizuelno prikazuje infibitorniefekat tri odabrana etarska ulja, kao i promene na ćelijama *C. albicans*. Na slici 139. prikazano je dejstvo ulja *P. graveolens* i kontrolna grupa koju predstavljaju samo ćelije gajene u tečnom medijumu. Mikrofografija kontrolne grupe pokazuje intezivnu ćelijsku kolonizaciju i formiranje ćelijskih agragata. Na mikrofografijama tretiranih grupa (Slika 139, A i B) uočava se smanjen broj ćelija. Takođe, može se uočiti da inhibitorni efekat etarskog ulja geranijuma na rast ćelija raste sa vremenom inkubacije (6h i 24h). Pored toga dolazi do promene oblika ćelija koja se ogleda u gubitku turgescenosti, što za posledicu ima smanjenje volumena ćelije. Mikrofografije na slici 140. prikazuju dejstvo ulja

*L. petersonii*, gde se uočava najjači inhibitorni efekat na rast ćelija, naročito posle 24 sata (D). Uočavaju se retke ćelije i male kolonije od po nekoliko ćelija, kao i promena oblika ćelija. Inhibitorni uticaj ulja *Citrus aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> na rast *C. albicans* prikazan je na Slici 141, gde se takođe primećuje smanjen broj kolonija kao i broj ćelija u njima. Poređenjem ova tri ulja možemo uvideti da najveći inhibitorni efekat ima etarsko ulje biljke *L. petersonii*, koji sa vremenom inkubacije raste. Druga dva ulja pokazuju međusobno sličan efekat na tretirane ćelije *C. albicans*.

U cilju sagledavanja konkretnih morfofizioloških promena nastalih na ćelijama usled aktivnosti etarskih ulja vrlo često se upotrebljava SEM (Kaminsky 2008). Prikazani rezultati su u skladu sa prethodnim studijama koje pokazuju efekat različitih etarskih ulja na biofilm *C. albicans* (Tyagi & Malik, 2010; Braga 2008; Sangetha 2009). Morfološke promene koje se ogledaju u promeni oblika ćelija, kao i smanjen dijametar i liza ćelija zapažena je u studijama ispitivanja etarskih ulja *T.s eriocalyx* i *T. x-porlock* na rast micelije *A. niger* (Rasooli i sar., 2006). Terpeni mogu izazvati poremećaj permeabilnosti ćelijske membrane i uzrokovati njenu destabilizaciju (Braga 2008). Lipofilna struktura etarskih ulja značajno doprinosi njihovom lakšem prolasku kroz ćelijsku membranu. Takođe, poznat je i efekat etarskih ulja na dimorfizam *C. albicans* (Baillie 1998). Opšte prihvaćena činjenica je da je micelijska forma invazivna, što pokazuju većina histoloških preparata (Gresham i Whittle, 1962), Mada su izveštaju o invaziji kvasolikih ćelija retki. Ovo je veoma važno, obzirom da se zna da je prelaz iz slobodne u biofilm formu direktno povezan sa virulentošću *C. albicans*. Rezultati ovog eksperimenta dokazuju da etarska ulja imaju dejstvo na ćelije *C. albicans*, dovodeći do jasno uočljivih morfoloških promena na površini ćelijske membrane. Iako mehanizmi delovanja etarskih ulja nisu do kraja objašnjeni, uzimajući u obzir dobijene rezultate sasvim je jasno da bi etarska ulja mogla da imaju dobar potencijal u eliminaciji biofilma koji formira *C. albicans*. Na osnovu dobijenih rezultata i dostupnih literaturnih podataka evidentno je da primena SEM predstavlja dobar izbor za posmatranje i ilustraciju uticaja etarskih ulja na ćelije patogenih mikroorganizama.

## **5.7. Metoda bioautografije na TLC pločama**

Pored mikrodilucione metode antimikrobna aktivnost etarskih ulja i glavnih komponenti potvrđena je bioautografskom metodom tankoslojne hromatografije (TLC) na silika gelu sa



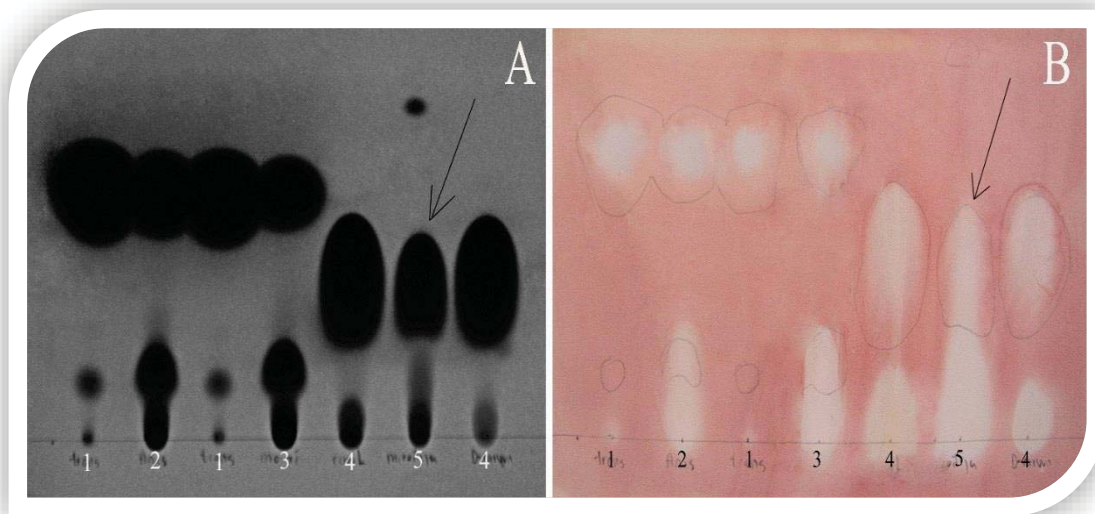
mobilnom fazom (toulén-etil:acetat 93:7, v/v). Detekcija komponenti u etarskom ulju vršena je pomoću UV svetlosti na 254 nm (Slika 1-3, A).

Fitohemijским analizama odabranih devet etarskih ulja *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Anethum graveolens*, *Cymbopogon martinii*, *Lavandula angustifolia*, *Boswellia carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *Leptospermum scoparium* i *Piper nigrum*<sup>Z</sup> potvrđene su njihove glavne komponente prethodno utvrđene GC/FID i GC/MS analizama (Tabele 4, 6, 10, 12, 14 i 15).

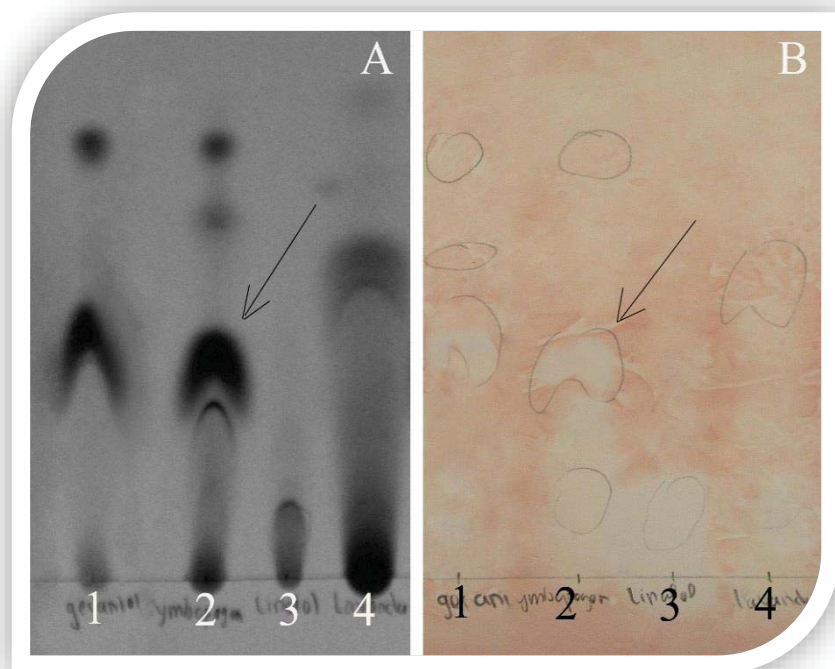
Rezultati kvalitativnog ispitivanja hemijskog sastava etarskih ulja *P. anisum* i *F. vulgare* i *A. graveolens* prikazani su na slici 142-A. Prema GC/MS analizi *trans*-anetol je dominantna komponenta etarskih ulja *P. anisum* i *F. vulgare* i karvon za ulje *A. graveolens*, što je i potvrđeno u ovom eksperimentu. Na slici 142-B prikazana su rezultati antimikrobne aktivnosti etarskih ulja i pojedinačnih komponenti na *S. mutans* (IBR S001). Poređenjem inhibicionih zona, primećuje se slabija aktivnost *trans*-anetola i ulja *P. anisum* i *F. vulgare* u odnosu na karvon i ulje *A. graveolens*. Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji govore o slabijoj antimikrobnoj aktivnosti *trans*-anetola u odnosu na karvon (Griffin i sar., 1999). Takođe, slabiji rezultati *trans*-anetola i ulja *P. anisum* i *F. vulgare* u odnosu na karvon i ulje *A. graveolens* su zabeležena u ispitivanju antimikrobne aktivnosti mikrodilucionom metodom (Slika 142).

Ispitivanje hemijskog sastava etarskih ulja *C. martinii* i *L. angustifolia* metodom hromatografije na TLC pločama, potvrđeno je da su njihove glavne komponente geraniol i linalol (Slika 143). Etarska ulja i glavne komponente pokazali su antifungalnu aktivnost inhibirajući rast *C. albicans* (MH1) u zonama rasprostiranja glavnih komponenti. Na osnovu literaturnih podataka ulja biljaka *C. martinii* i *L. angustifolia* kao i njihove glavne komponente, geraniol odnosno linalol, važe za jedinjenja sa jakom antifungalnom aktivnošću (Tsai i sar., 2011; Soković i sar., 2010).

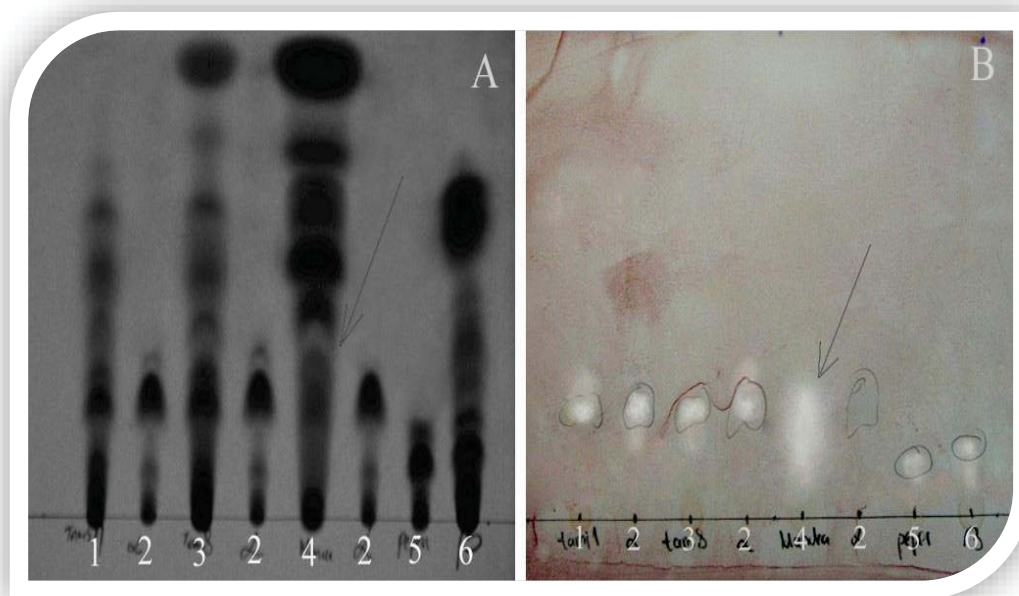
Rezultati hemijske analize i ispitivanja antimikrobne aktivnosti etarskih ulja *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *Leptospermum scoparium* i *P. nigrum*<sup>Z</sup> dobijeni korišćenjem bioatografske metode na TLC pločama prikazani su na slici 144. Zajednička dominantna komponenta ulja *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup> je  $\alpha$ -pinen, a ulja *L. scoparium* je  $\beta$ -pinen. Etarska ulja *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup> i *P. nigrum*<sup>Z</sup> zajedno sa svojim dominantnim komponentama,  $\alpha$ -pinenom i  $\beta$ -pinenom, inhibirali su rast *P. aeruginosa* (IBR P001), što potvrđuju i prethodna istraživanja antimikrobne aktivnost pinena (Silva i sar., 2012). Dobijeni rezultati navode na ideju da je antimikrobna aktivnost povezana sa dominantnim komponentama ulja.



Slika 142. Bioautografski prikaz TLC ploča nakon separacije A) etarskih ulja *P. anisum* (2), *F. vulgare* (3) i *A. graveolens* (5) i pojedinačnih komponenti *trans*-anetol (1) i karvon (4), kao i njihovu B) antibakterijsku aktivnost na *S. mutans* (IBR S001) kao test organizam.



Slika 143. Bioautografski prikaz TLC ploča nakon separacije A) etarskih ulja *C. martinii* (2) i *L. angustifolia* (4) i pojedinačnih komponenti geraniol (1) i linalol (3), kao i njihovu B) antifungalnu aktivnost na *C. albicans* (MH1) kao test organizam.



Slika 144. Bioautografski prikaz TLC ploča nakon separacije A) etarskih ulja *B. carterii*<sup>1</sup> (1), *B. carterii*<sup>2</sup> (3), *Leptospermum scoparium* (5) i *P. nigrum*<sup>2</sup> (4) pojedinačnih komponenti trans-anetol (1) i karvon (4), kao i njihovu B) antibakterijsku aktivnost na *P. aeruginosa* (IBR P001) kao test organizam.

Prethodna istraživanja antimikrobne aktivnosti etarskih ulja u *in vitro* uslovima koriste veliki broj metoda sa različitim parametrima (rastvarači, mikroorganizmi, vreme inkubacije i drugo), pa se često dešava da se rezultati dobijeni korišćenjem različitih testova mogu razlikovati među sobom, stoga je i njihovo poređenje veoma otežano. Najrasprostranjenije metode koje se koriste za testiranje antimikrobne aktivnosti uključuju disk-difuzionu i dilucionu metodu (mikro i makro). One se rutinski koriste dugi niz godina a prvenstveno u mikrobiologiji, u testiranju osetljivosti antimikrobnih agenasa. Glavni nedostatak ovih metoda je što su optimizovane za hidrofилne supstance (antibiotici, antimikotici), a poznato je da su etarska ulja smeša jedinjenja lipofilne strukture. Bioautografska metoda ima prednosti prilikom detekcije lipofilnih jedinjenja, kao što su komponente etarskih ulja, i ispitivanju antimikrobne aktivnosti. Pored toga ova metoda je jeftina i lako izvodljiva. Bez svake sumnje bioautografska metoda tankoslojne hromatografije

ima budućnost u praktičnoj aplikaciji - antimikrobne aktivnosti, ne samo kao pomoćna metoda već i kao samostalni sistem (Horvath i sar., 2009).

### **5.8. Ispitivanje međusobne interakcije odabranih etarskih ulja aromatičnih biljaka**

Rezultati ispitivanja međusobne interakcije odabranih dvanaest etarskih ulja *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha* dobijeni metodom šahovske table prikazani su u Tabelama 46, 47, 48 i 49. Eksperiment je rađen u četiri grupe od po tri etarska ulja koja su odabrana na osnovu primene u tradicionalnoj medicini i prethodno dobijenih rezultata antimikrobne aktivnosti (najmanje vrednosti MIK i MBK/MFK). Kao test organizmi korišćeni su reprezentativni mikroorganizmi: glavni uzročnik karijesa *S. mutans* (IBR S001) i oralnih infekcija *C. albicans* (MH1). Na osnovu ispitanih odnosa između etarskih ulja izdvojeno je sinergističko aditivno i antagonističko dejstvo.

Ispitivanje međusobne interakcije etarskih ulja vršeno je u nekoliko kombinacija. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da testirane kombinacije ulja *P. nigrum*, *C. limon* i *M. alternifolia*<sup>2</sup> ispoljavaju sinergističko antimikrobno dejstvo (Tabela 46), pri čemu najbolju interakciju imaju ulja *C. limon* i *P. nigrum* (FIKI 0,06), dok ulja *P. nigrum* i *M. alternifolia* imaju nešto slabiju aktivnost (FIKI 0,34 i 0,39). Sinergizam je bolje iskazan u eksperimentu na *C. albicans* nego na *S. mutans*. Ne postoje publikovani rezultati istraživanja o međusobnim interakcijama etarskog ulja *C. limon* sa drugim uljima i njihovim antimikrobni efektima, kao ni o međusobnoj interakciji etarskog ulja *P. nigrum* i drugih ulja. Cassela i sar. (2002) su u svom radu pokazali sinergističko dejstvo etarskog ulja *M. alternifolia* i *Lavanda angustifolia* na *Trichophyton rubrum* i *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*. U kombinaciji sa antibiotikom Tombricinom, ulje *M. alternifolia* se pokazalo vrlo efikasnim prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama (Darrigo i sar., 2010). Međusobne interakcije komponenti etarskog ulja *M. alternifolia* jesu bile predmet istraživanja, ali rezultati nisu bili od značaja (Cox i sar., 2001). Međutim, kombinacija etarskih ulja *M. alternifolia* i *M. viridiflora* u tretmanu u trajanju od 240 min dovela je do potpune eliminacije *S. aureus* (Christoph i sar., 2001).

Tabela 47. Rezultati ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja *Citrus limon*, *Piper nigrum* i *Melaleuca alternifolia* na *Streptococcus mutans* (IBR S001) i *Candida albicans* (MH1).

	C*+P*	C+M*	P+M
	FICI	FICI	FICI
<i>S. mutans</i>	0,06	0,24	0,39
<i>C. albicans</i>	0,06	0,12	0,34

C\* - *C. limon*; P\* - *P. nigrum*; M\* - *M. alternifolia*

Kombinacija etarskih ulja *P. graveolens* i *G. fragrantissima* kao i *T. serpyllum* i *G. fragrantissima* pokazuju aditivno dejstvo, dok rezultati interakcije ulja *T. serpyllum* i *P. graveolens* pokazuju antagonističko dejstvo na ispitivane mikroorganizme (Tabela 47). Niže vrednosti FIKI indeksa utvrđene su kod *C. albicans* u odnosu na *S. mutans* što se dovodi u vezu sa jačim antifungalnim dejstvom ove kombinacije etarskih ulja. Sinergistički potencijal etarskih ulja vrsta *Thymus* je potvrđen u više studija; Sadiki i sar. (2014) su utvrdili sinergističko dejstvo etarskog ulja *T. vulgaris* i *Myrtus communis* “checkerboard” metodom prema *S. aureus* i *E. coli*. Prema literaturnim podacima glavne komponente ulja vrsta roda *Thymus*, timol i karvakrol, često poseduju izuzetnu antimikrobnu aktivnost u kombinaciji sa raznim testiranim komponentama i etarskim uljima (Bassole i sar., 2012). U studiji Al-Bazati i sar. (2008) kombinacija etarskih ulja i metanolnih ekstrakata *T. vulgaris* i *P. anisum* su inhibirala rast testiranih bakterija *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* i *P. aeruginosa*, jasno demonstrirajući sinergizam. Aditivni i antagonistički efekat ulja *T. eigii* je zabeležen u kombinaciji sa uljem *P. nigra* (Toroglu, 2007), a isto ovo ulje je pokazalo sinergističko dejstvo u kombinaciji sa sintetskim antibiotikom Ciproflaxacinom prema patogenim bakterijama u istraživanju Malik i sar. (2011). Vrednosti frakcionog indeksa iznosile su 0,38 za *K. pneumoniae* i *P. mirabilis*, odnosno 0,5 za *S. aureus*. Takođe, potvrđen je i sinergistički potencijal etarskog ulja *P. graveolens* u kombinaciji sa Gentamicinom (Rosato i sar., 2010), Norflaxicinom (Rosato i sar., 2007) i Nistatinom (Rosato i sar., 2009) ali ne postoje podaci o međusobnoj interakciji ovog ulja sa drugim uljima. Prikazani rezultati, za etarsko ulje *P. graveolens* predstavljaju prvi prikaz ovakve interakcije.



Tabela 48. Rezultati ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja *Thymus serpyllum*, *Gaultheria fragrantissima* i *Pelargonium graveolens* na *Streptococcus mutans* (IBR S001) i *Candida albicans* (MH1).

	P*+G*	T*+G	T+P
	FICI	FICI	FICI
<i>S. mutans</i>	1,04	1,25	5
<i>C. albicans</i>	0,9	0,63	4,5

P\* - *P. graveolens*; G\* - *G. fragrantissima*; T\* - *T. serpyllum*

Kombinacije etarskih ulja *R. centifolia* i *L. petersonii* kao i *R. centifolia* i *C. limon* pokazuju aditivno dejstvo, dok rezultati međusobne interakcije etarskih ulja *C. limon* i *L. petersonii* pokazuju sinergistično dejstvo na ispitivane mikroorganizme (Tabela 48). Niže vrednosti frakcionog indeksa utvrđene su kod *C. albicans* u odnosu na *S. mutans* što se dovodi u vezu sa jačim antifungalnim potencijalom ova tri ulja. Ne postoje literaturni podaci o međusobnim interakcijama etarskih ulja *R. centifolia* i *L. petersonii*.

Tabela 49. Rezultati ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja *Citrus limon*, *Rosa centifolia* i *Leptospermum petersonii* na *Streptococcus mutans* (IBR S001) i *Candida albicans* (MH1).

	C+L	R+L	R+C
	FICI	FICI	FICI
<i>S. mutans</i>	0,50	1,00	1,30
<i>C. albicans</i>	0,25	0,53	0,60

C\* - *C. limon*<sup>ps</sup>; R\* - *R. centifolia*; L\* - *L. petersonii*

Međusobna interakcija etarskih ulja *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha* prikazana je u Tabeli 49. Kombinacije etarskih ulja *S. montana* i *C. martinii*, i *S. montana* i *C. myrrha* ispoljavaju sinergističko dejstvo, dok rezultati međusobne interakcije ulja *C. martinii* i *C. myrrha* pokazuju aditivno dejstvo na ispitivane mikroorganizme. Niže vrednosti FIKI-a utvrđene su kod *C. albicans* u odnosu na *S. mutans* što se dovodi u vezu sa jačim antifungalnim potencijalom (Tabele 17-31; 32-46). Nedavna istraživanja kombinacije etarskog ulja *S. montana* i *Pistacia lentiscus* ukazuju na sinergističko dejstvo prema *L. monocytogenes* (Djenane i sar., 2011). Sinergistički potencijal etarskog ulja *S. montana* potvrđen je u studiji Fratini i sar. (2014). Naime, kombinacija etarskih ulja *S. montana* i *O. vulgare*, i *S. montana* i *T. vulgaris* ispoljila je sinergističko dejstvo u inhibiciji šest bakterijskih sojeva *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. xylosus* i *E. coli*. Takođe, mešavina glavnih komponenti ovih ulja karvakrol/timol i karvakrol/timol/*p*-cimen pokazala je

sinergističko dejstvo ali u manjoj meri nego kombinacija etarskih ulja. Prikazani rezultati međusobne interakcije etarskih ulja *C. myrrha* i *L. petersonii* su prvi put rađeni u okviru ove studije.

Tabela 50. Rezultati ispitivanja međusobne interakcije etarskih ulja *Satureja montana*, *Cymbopogon martinii* i *Commiphora myrrha* na *Streptococcus mutans* (IBR S001) i *Candida albicans* (MH1).

	S+Cm	S+C	Cm+C
	FICI	FICI	FICI
<i>S. mutans</i>	0.04	0.40	0.73
<i>C. albicans</i>	0.01	0.25	0.60

S\* - *S. montana* Cm\* - *C. myrrha*; C\* – *C. martinii*

Etarska ulja su poznata kao isparljive, složene mešavine različitih grupa jedinjenja, uglavnom terpena i terpenoida, aromatičnih i alifatičnih jedinjenja male molekulaske mase (Pichersky i sar., 2006). Antimikrobna aktivnost etarskih ulja je posledica interakcija između ovih komponenata koja može biti sinergistička, aditivna, indiferentna i antagonistička. Sinergističko dejstvo se objašnjava kada je efekat kombinovanih supstanci veći od zbira pojedinačnih efekata, aditivizam kada je kombinovani efekat jednak zbiru pojedinačnih efekata, dok antagonizam podrazumeva da je efekat kombinovanih jedinjenja manji u odnosu na njihov pojedinačni. Indiferentizam predstavlja odsustvo bilo kakvih efekata. Najčešća metoda za ispitivanje međusobne interakcije etarskih ulja i njihovih pojedinačnih komponenti je, ovde primenjena checkerboard i tzv. „time kill“ metoda. Time kill-metoda se zasniva na ispitivanju kombinovanog dejstva merenjem uticaja subinhibitornih koncentracija jednog agensa u eliminaciji mikroorganizama drugog, tokom vremena. Međutim, trenutno, ne postoji standardizovana metoda za ispitivanje interakcije etarskih ulja i komponenti. Prema literaturnim podacima antimikrobno dejstvo je posledica prisustva najzastupljenijih komponenti, međutim ne treba zanemariti ni jedinjenja prisutna u manjem procentu, između kojih su zabeleženi različiti odnosi interakcije (Bessole i sar., 2012). Poslednjih godina, postoji pojačan interes za istraživanjem etarskih ulja i njihove mešavine za primenu u lečenju različitih infekcija i bolesti (Delaquis i sar., 2002). Prema dosadašnjim istraživanjima sinergistički i aditivni efekat se pripisuje uglavnom fenolima i alkoholnim jedinjenjima (Lambert i sar., 2001). Generalno, jedinjenja sa sličnim strukturama češće imaju aditivni nego sinergistički efekat, dok se antagonistički efekat uglavnom pripisuje interakciji između oksidovanih i neoksidovanih monoterpenskih ugljovodonika (Hammer i sar., 1999). Veliki



broj fizičkih i hemijskih parametara utiče na rezultat interakcije između etarskih ulja i pojedinačnih komponenti; temperatura, pH vrednost, količina vode u medijumu, natrijum hlorid itd su samo neki od faktora koji su poznati po tome (Mastromatteo i sar., 2009). Zbog navedenih ograničenja buduća istraživanja treba fokusirati na standardizaciju metoda i ispitivanju efekata različitih faktora na kombinaciju etarskih ulja i komponenti.

Tabela 51. Sumarni prikaz međusobne interakcije odabranih etarskih ulja

Mikroorganizmi <i>Streptococcus mutans</i> i <i>Candida albicans</i>			
Sinergizam	Aditivizam	Indiferentizam	Antagonizam
<i>C. limon</i> + <i>P. nigrum</i> <sup>2</sup>	<i>P. graveolens</i> i <i>G. fragrantissima</i>		
<i>C. limon</i> i <i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	<i>G. fragrantissima</i> i <i>T. serpyllum</i>		
<i>P. nigrum</i> <sup>2</sup> i <i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	<i>R. centifolia</i> i <i>L. petersonii</i>		<i>P. graveolens</i> i <i>T. serpyllum</i>
<i>S. montana</i> i <i>C. myrrha</i>	<i>R. centifolia</i> i <i>C. limon</i>		
<i>S. montana</i> i <i>C. martinii</i>	<i>C. myrrha</i> i <i>C. martinii</i>		

### 5.9. Antiquorum sensing aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka

U okviru antiquorum sensing aktivnosti, ispitan je uticaj 13 odabranih ulja na proces kretanje ćelija *P. aeruginosa* PAO1 (*twiching* i *flagella* test), produkciju piocijanina kao i sposobnost formiranja biofilma. Rezultati ispitivanja antiquorum-sensing aktivnosti etarskih ulja *G. fragrantissima*, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *C. martinii*, *P. graveolens*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup> i *C. myrrha*, prikazani su u Tabelama 51-53.

Kretanje kod *P. aeruginosa* se odvija pomoću flagela u saradnji sa strukturama na površini ćelije (tip IV pili). Pili ili fimbrije, su končaste tvorevine na površini bakterija koji pomažu bakteriji da se pričvrsti za živu ili neživu podlogu. Građeni su od proteina pilina, tanje su i kraće od bičeva i ravne, a vide se samo pomoću elektronskog mikroskopa. Nema ih kod Gram-pozitivnih bakterija a ima ih kod svih enterobakterija. Iako su građene od proteina, otporne su na pepsin, tripsin, kiseline i lužine. Pile se mogu izgubiti i opet stvoriti. Adhezija ili pričvršćivanje, je veoma važan proces u formaciji biofilma i kolonizacije, i u direktnoj vezi je sa sposobnošću kretanja bakterije koji kod *P. aeruginosa* zavisi od tip IV pili i flagele (Kearns i sar., 2001; Burrows, 2012). Prema

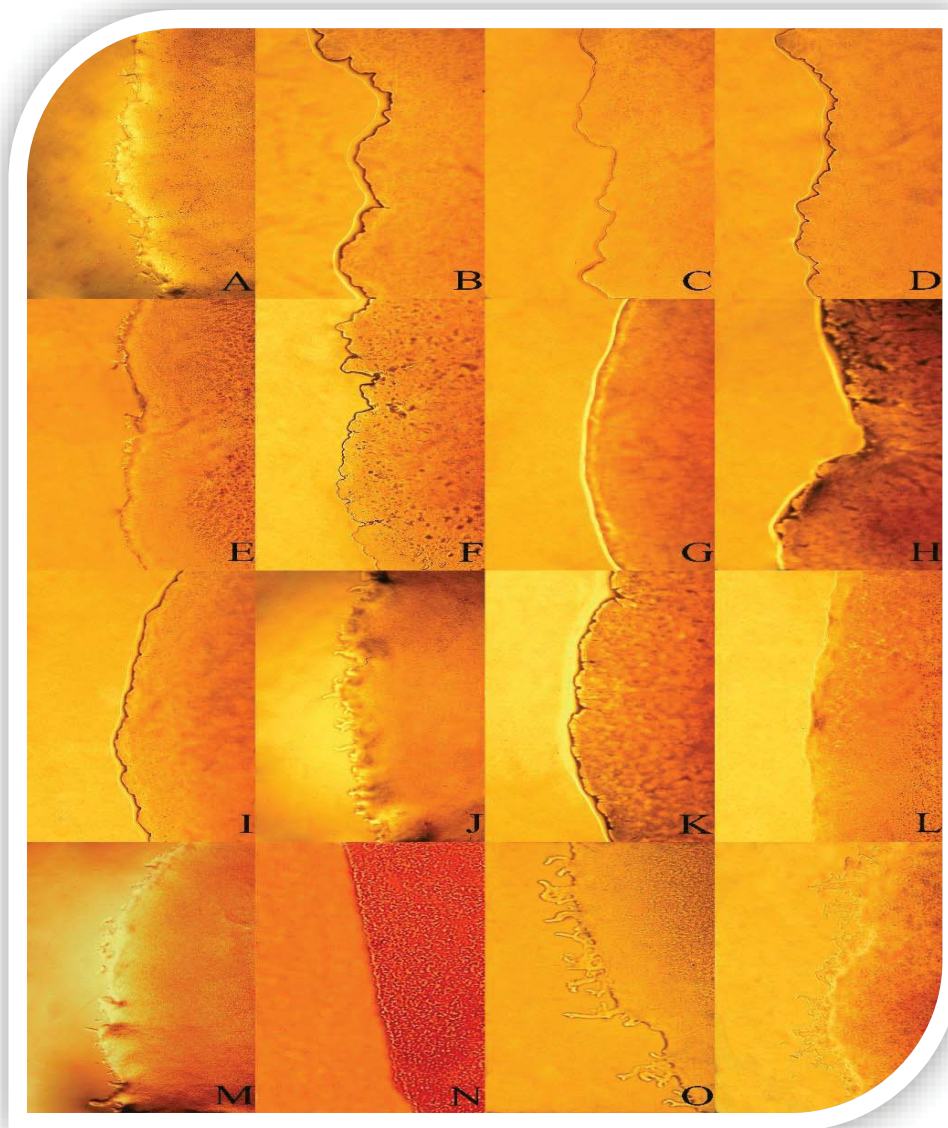
literaturnim podacima tip IV pili kod *P. aeruginosa* imaju ulogu u ćelijskoj komunikaciji i citotoksičnosti prema epitelnim ćelijama u *in vitro* i *in vivo* uslovima (Hahn, 1997), dok su flagele neophodne za širenje infekcije. Inhibicija procesa kretanja kod *P. aeruginosa* u značajnoj meri smanjuje potencijal za izazivanje infekcija i sprečava njihovo širenje.

Rezultati testova pokretljivosti, *twitching* i *flagella* testa, pokazuju da odabrana etarska ulja imaju inhibični efekat na proces kretanja kod *P. aeruginosa* PAO1 (Tabela 51 i Slika 145). Merenjem prečnika kolonija nakon inkubacije na sobnoj temperaturi etarsko ulje *T. algeriensis* pokazalo je najbolju aktivnost (5,00 mm), a ulje *C. limon* najslabiju (16,67 mm). U odnosu na pozitivne kontrole Streptomycin (11,00 mm) i Ampicilin (13,33 mm), izuzev etarskog ulja *C. limon* i *G. fragrantissima*, sva ostala ulja su ispoljila bolje dejstvo na proces kretanja *P. aeruginosa*. Rezultat inhibičnog efekta 13 ulja na proces kretanja model organizma *P. aeruginosa* PAO1 ogleda se u prisustvu ravnih ivica kolonije na čvrstoj podlozi (B, C, D, F, G, H, K, L) u odnosu na kontrolnu grupu, gde se mogu uočiti neravnine kao posledica aktivnosti tip IV pila. Kod etarskih ulja koja su pokazala nešto slabiji efekat na pokretljivost *P. aeruginosa* PAO1, *G. fragrantissima* (A), *C. martinii* (E), *C. myrrha* (M) i već pomenuto ulje *C. limon*, na slikama (A, E, J, M) se mogu uočiti pokreti širenja kolonija, vrlo slično kontrolnom uzorku. Pored inhibicije kretanja, svetlosnom mikroskopijom utvrđena je i promena boje kolonija tretiranih etarskim uljima, kao i veličine, i prisustva flagela (Slika 145). Zelena boja kolonije *P. aeruginosa* potiče od lučenja pigmenta piocijanina. Kako su proces kretanja kao i produkcija pigmenta *quorum sensing* zavisni procesi, jasno je da je njihova inhibicija međusobno povezana.

Tabela 52. Rezultati ispitivanja uticaja odabranih etarskih ulja u testu pokretljivosti (*twitching* i *flagella* test) kod *P. aeruginosa* PAO1.

#	Etarsko ulje	Veličina kolonije (mm)	Boja kolonije	Flagele (μm)
1	<i>G. fragrantissima</i>	12,33 ± 3,21	Zelena	32-80
2	<i>T. vulgaris</i>	7,00 ± 0,00	Bela	-
3	<i>T. algeriensis</i>	5,00 ± 0,00	Bela	-
4	<i>T. serpyllum</i>	8,33 ± 0,58	Bela	-
5	<i>C. martinii</i>	9,67 ± 0,58	Bela	-
6	<i>P. graveolens</i>	7,33 ± 3,46	Bela	24-40
7	<i>R. centifolia</i>	8,44±0,19	bela	

8	<i>L. petersonii</i>	6,33 ± 1,53	Bela	-
9	<i>S. montana</i>	6,00 ± 0,00	Bela	-
10	<i>C. limon</i>	16,67 ± 3,06	Zelena	32-56
11	<i>P. nigrum</i> <sup>2</sup>	8,00 ± 1,73	Belo	-
12	<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	9,00 ± 1,00	Belo	-
13	<i>C. myrrha</i>	11,00 ± 1,00	Zelena	40-80
14	Streptomicin	11,00 ± 1,00	Bledo zelena	27-56
15	Ampicillin	13,33 ± 5,03	Bledo zelena	16-56
16	Kontrola	12,00 ± 1,00	Zelena	56-80



Slika 145. Rezultati izgleda kolonija koje su gajene u prisustvu etarskih ulja *G. fragrantissima* (A), *T. vulgaris* (B), *T. algeriensis* (C), *T. serpyllum* (D), *C. martinii* (E), *P. graveolens* (F), *R. centifolia* (G), *L. petersonii* (H), *S. montana* (I), *C. limon* (J), *P. nigrum* (K), *M. alternifolia bio<sup>2</sup>* (L) i *C. myrrha* (M), Streptomicina (N), Ampicilina (O) i kolonije *P. aeruginosa* PAO1 (P).

Produkcija pigmenta piocijanina se smatra jednim od najvažnijih karakteristika za nastanak i širenje infekcije uzrokovane *P. aeruginosa* (El-Fouly i sar., 2015). Piocijanin je po hemijskom sastavu derivat fenazina (N-metil-1-hidroksifenazin). Toksičan je za epitelne ćelije pluća i utiče na strukturu ćelije i funkciju pila (O'Malley i sar., 2003). Smatra se da toksični potencijal

piocijanina potiče od visokog redoks potencijala i da ćelije *P. aeruginosa* u toku procesa respiracije stvaraju superoksid radikale koji imaju toksično dejstvo (Chin-A-Woeng i sar., 2003). Prema literaturnim podacima piocijanin poseduje i antimikrobno dejstvo. U studiji El-Shouny i sar. (2011) ovaj pigment je inhibirao rast 177 od 189 ispitanih bakterija, uključujući i 16 meticilin-rezistentnih sojeva *S. aureus*. Pijocijanin i njegovi derivati imaju sposobnost vezivanja za jone gvožđa kao i uticaj u regulaciji ekspresije gena kod *P. aeruginosa* (Briard i sar., 2015). Samim tim, sinteza plavičasto-zelenog pigmenta nije samo fenotipska karakteristika već ukazuje i na nivo patogenosti domaćina. Inhibicija sinteze ovog pigmenta smanjuje virulentnost *P. aeruginosa*.

Etarska ulja inhibirala su sintezu piocijanina kod *P. aeruginosa* PAO 1 u intervalu 40,47% - 100,00%. Iz rezultata prikazanih u Tabeli 52., se uočava da je najbolju aktivnost pokazalo etarsko ulje *L. petersonii* (100,00%), dok je najslabiju inhibiciju postiglo ulje *G. fragrantissima* (40,47%). Pored *L. petersonii*, izuzetno jaku inhibiciju >70% pokazala četiri etarska ulja *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>. Etarsko ulje *P. graveolens* (63,59%) demonstrialo je manji inhibicioni potencijal, dok je inhibiciju preko 50% na produkciju piocijanina imalo *T. vulgaris* (57,05%), *T. algeriensis* (61.15%), *T. serpyllum* (56,00%), *R. centifolia* (59,97%), *S. montana* (50,91%). Iako poseduju relativno dobru antibakterijsku aktivnost najslabiju inhibiciju pokazala su ulja *G. fragrantissima* i *C. martinii*. Pozitivne kontrole korišćene u eksperimentu (Streptomycin 41,55% i Ampicilin 48,30%), pokazale su slabu aktivnost u poređenju sa etarskim uljima.

Tabela 53. Rezultati inhibicije proizvodnje piocijanina odabranim etarskim uljima kod *P.aeruginosa* PAO1.

#	Etarsko ulje	% inhibicije
1	<i>G. fragrantissima</i>	40,47 ± 2,54
2	<i>T. vulgaris</i>	57,05 ± 0,76
3	<i>T. algeriensis</i>	61,15 ± 2,08
4	<i>T. serpyllum</i>	56,00 ± 0,00
5	<i>C. martinii</i>	49,05 ± 1,15
6	<i>P. graveolens</i>	63,59 ± 1,71
7	<i>R. centifolia</i>	56,97±1,65
8	<i>L. petersoniii</i>	100,00 ± 0,00
9	<i>S. montana</i>	50,91 ± 0,87
10	<i>C. limon</i>	53,31 ± 0,58
11	<i>P. nigrum</i> <sup>2</sup>	72,75 ± 0,76
12	<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	71,70 ± 0,95

13	<i>C. myrrha</i>	56,42 ± 1,27
14	Streptomycin	41,55 ± 1,31
15	Ampicillin	48,30 ± 1,71
16	Kontrola	100,00 ± 0,00

Sposobnost formiranja biofilma *P. aeruginosa* u *in vivo* i *in vitro* uslovima predstavlja značajan faktor virulentnosti. Podatak da je 80% infekcija povezano sa nastankom biofilma, kao i da su ćelije bakterija u okviru biofilma i do 1000 puta otpornije na antimikrobne agense, govori u prilog postavci da je inhibicija njegovog formiranja od velikog značaja. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji ukazuju da odabrana etarska ulja imaju jak potencijal kao antibiofilm agensi; sva ulja su se pokazala vrlo efikasnim u sprečavanju formiranja biofilma *P. aeruginosa* PAO1 soja pri sub-inhibitornim koncentracijama (Tabela 53). Ustanovljena je dozna zavisnost delovanja etarskih ulja na formiranje biofilma. Najbolju aktivnost je pokazalo etarsko ulje *T. vulgaris* (87,68% i 53,39%) i *T. algeriensis* (87,68% i 76,25%), dok je najslabiju aktivnost pokazalo ulje *C. myrrha* (31,20% i 22,06%). Sva ulja su pokazala bolju aktivnost od Streptomicina i Ampicilina.

Tabela 54. Rezultati uticaja etarskih ulja (%) u sub-inhibitornim koncentracijama na inhibiciju formiranja biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1.

#	Etarsko ulje	½ MIK	¼ MIK
1	<i>G. fragrantissima</i>	75.36	61.78
2	<i>T. vulgaris</i>	87.68	53.39
3	<i>T. algeriensis</i>	86.25	76.25
4	<i>T. serpyllum</i>	87.68	86.96
5	<i>C. martinii</i>	86.79	87.86
6	<i>P. graveolens</i>	87.50	78.04
7	<i>R. centifolia</i>	70.98	63.45
8	<i>L. petersoniii</i>	81.07	73.75
9	<i>S. montana</i>	82.65	79.64
10	<i>C. limon</i>	75.33	60.54
11	<i>P. nigrum</i> <sup>7</sup>	62.68	59.46
12	<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	70.00	38.21
13	<i>C. myrrha</i>	31.20	22.06
14	Streptomycin	49.4	70.97
15	Ampicilin	69.16	56.46

Nedavna istraživanja ukazuju na potencijal etarskih ulja i njihovih pojedinačnih komponenti u regulaciji *quorum sensing*-a (Seow i sar., 2014). U radu Owlia i sar. (2010)



ispitivano je dejstvo sub-inhibitornih koncentracija etarskih ulja *Z. multiflora*, *M. communis*, *E. camaldulensis*, *M. spicata* i *Cumminum cyminum* na produkciju alginata, piocijanina, formiranje biofilma i procese kretanja kod *P. aeruginosa* 8821M; etarska ulja su pokazala veoma dobro dejstvo, inhibirajući sve navedene procese. Prema Krishnan i sar. (2012), metanolni i heksanski ekstrakti *S. aromaticum* pokazali su izuzetnu aktivnost u inhibiranju procesa kretanja i produkcije piocijanina kod *P. aeruginosa* PAO 1. Kavanaugh i sar. (2012) su ispitali dejstvo nekolicine etarskih ulja na formiranje biofilma kod *P. aeruginosa* PAO1, i na osnovu rezultata izdvajili ulja *Cinnamomum aromaticum*, *Myroxylon balsamum* i *T. vulgaris* zbog njihovog najjačeg antibiofilm potencijala. Poslednje decenije sprovedena su brojna istraživanja u ispitivanju etarskih ulja kao mogućih QS inhibitora i pored postojanja brojnih podataka njihov način delovanja još nije rasvetljen (Koh i sar., 2013). *P. aeruginosa* je oportunistički patogen kod različitih domaćina uključujući biljke, životinje i ljude. Tri glavna QS sistema kod *P. aeruginosa* su *las*, *rhl* i *pqs* koji utiču na oko 6% genoma (Stover i sar., 2000). Većina ovih gena ima ulogu u sintezi egzopolisaharida, procesu kretanja (twitching, swarming, swimming), formiranja biofilma, produkciji pigmenata, proizvodnji antibiotika, itd. Zahvaljujući značaju QS tokom patogeneze, njegovo ometanje predstavlja odličnu strategiju za smanjenje virulentnosti domaćina. Strategija lečenja infekcija i oboljenja antibioticima i mikoticima je ozbiljno ugrožena sve većom pojavom rezistencije i širenjem tolerantnih sojeva. Proizvodnja biofilma i drugih patološki značajnih faktora virulentnosti su strogo povezane sa QS sistemima, tako da antiquorum sensing agenasi, sposobni za ometanje komunikacionog sistema bez štetnih efekata, mogu značajno poremetiti proces patogenosti. QS inhibitori, za razliku od konvencionalnih sredstava, ne inhibiraju rast mikroorganizama i ne izazivaju selektivni pritisak za razvoj rezistentnih sojeva, mada postoje i suprotna mišljenja (Koh i sar., 2013). QS inhibitori se smatraju tzv “magic bullet<sup>1</sup>” i prema mišljenju naučne zajednice i predstavljaju potencijalne lekove budućnosti (Rutherford i Bassler, 2012).

### **5.10. Antibiofilm aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka**

Rezultati antibiofilm aktivnosti 13 odabranih etarskih ulja, *G. fragrantissima*, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *C. martinii*, *P. graveolens*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C.*

---

<sup>1</sup> “magic bullet”-termin koji se koristi za lek ili tretman koji relativno brzo dovodi do lečenja bolesti bez negativnih posledica



*limon*, *P. nigrum*<sup>z</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup> i *C. myrrha*, dobijeni korišćenjem mikrodilucione tehnike, prikazani su u Tabelama 55 i 56. Kao test organizmi korišćeni su klinički sojevi *S. mutans* (IBR S001) i *C. albicans* (MH1).

Prema prikazanim rezultatima, može se reći da sva etarska ulja poseduju inhibitornu aktivnost prema procesu formiranja biofilma kod *S. mutans* (Tabela 54). Testirane minimalne inhibitorne i sub-inhibitorne koncentracije etarskih ulja inhibirale su proces formiranja biofilma kod *S. mutans* u intervalu od 45,15 do 87,44% u odnosu na kontrolnu grupu. MIK-ja uzrokovala je veoma jaku inhibiciju formiranja biofilma, preko 80%, kod svih izuzev kod ulja *G. fragrantissima* (75,56%). Sub-inhibitorne koncentracije inhibirale su proces formiranja biofilma kod *S. mutans* od preko 80% za ½ MIC, izuzev *G. fragrantissima* (70,08%) i preko 80% za ¼ MIC, izuzev etarskih ulja *G. fragrantissima* (45,15%), *T. vulgaris* (77,20%), *C. martinii* (76,95%), *R. centifolia* (75,63%) i *S. montana* (75,02%). Najbolju inhibitornu aktivnost pokazalo je etarsko ulje *L. petersonii*, a najslabiju ulje *G. fragrantissima*. U poređnom analizom inhibitorni potencijal odabranih etarskih ulja na proces formiranja biofilma *S. mutans* može se prikazati sledećim nizom: *T. serpyllum* > *L. petersonii* > *M. alternifolia*<sup>2</sup> > *C. martinii* > *T. vulgaris* = *S. montana* > *T. algeriensis* > *P. graveolens* > *C. limon* > *P. nigrum*<sup>z</sup> > *R. centifolia* > *C. myrrha* > *G. fragrantissima*. U odnosu na pozitivnu kontrolu Curasept<sup>®</sup>, etarska ulja su pokazala jaču aktivnost. Biofilm predstavlja sesilnu zajednicu mikroorganizama pričvršćenih za abiotsku ili biotsku površinu. Od velike važnosti jeste i činjenica da su ćelije u biofilmu i do 1000 puta otpornije na tretman antimikrobnim agensima (Tolker-Nielsen, 2014). *S. mutans* se smatra najznačajnijim mikroorganizmom u pojavi karijesa i najodgovornijim za početnu fazu formiranja oralnih biofilmova (Quivey i sar., 2001). Prema literaturnim podacima etarska ulja poseduju antimikrobnu aktivnost na širok spektar bakterija i gljivi, uključujući *S. mutans*, a sprečavanje formiranja biofilma je jedan od glavnih ciljeva u dobijanju novih antimikrobnih agenasa.

Tabela 55. Rezultati inhibitornog potencijala (%) odabranih etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod *S. mutans* (IBR S001).

	MIK	½ MIC	¼ MIC
<i>G. fragrantissima</i>	75,56	70,08	45,15
<i>T. vulgaris</i>	85,65	84,31	77,20
<i>T. algeriensis</i>	84,90	86,40	83,60
<i>T. serpyllum</i>	87,44	86,28	86,86
<i>C. martinii</i>	86,15	84,56	76,95

<i>P. graveolens</i>	84,64	81,55	82,89
<i>R. centifolia</i>	83,65	81,22	75,63
<i>L. petersonii</i>	86,65	86,07	82,76
<i>S. montana</i>	85,65	86,32	75,02
<i>C. limon</i>	84,35	81,38	80,00
<i>P. nigrum</i> <sup>z</sup>	83,72	82,59	77,32
<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	86,28	79,04	76,74
<i>C. myrrha</i>	80,13	71,65	63,35
<i>Curasept</i>	73,69	66,85	60,33

Rezultati efekta odabranih etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod kliničkog soja *C. albicans* prikazani su u Tabeli 55. Sva etarska ulja su pokazala nivo inhibicije u intervalu od 25,36% do 66,91%. Najbolju anti-biofilm aktivnost pokazalo je etarsko ulje *M. alternifolia* (66,91%), dok je najslabiji potencijal utvrđen kod ulja *P. nigrum*<sup>z</sup> (45,69%). *C. albicans* se pokazala otpornijom na tretman etarskim uljima u odnosu na *S. mutans*. MIK-je uzrokovale su inhibiciju formiranja biofilma preko 60%, izuzev *G. fragrantissima* (53,58%), *C. limon* (58,63%) i *P. nigrum*<sup>z</sup> (45,69%). Sub-inhibitorna koncentracija od ½ MIK etarskih ulja inhibirale su proces formiranja biofilma kod *C. albicans* preko 60% (*T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *C. martinii* i *P. graveolens*) i 50% izuzev ulja *G. fragrantissima* (45,33), *P. nigrum*<sup>z</sup> (40,62%), *M. alternifolia*<sup>2</sup> (48,64%) i *C. myrrha* (45,18%). Koncentracija od ¼ MIK, imala je najslabiju anti-biofilm aktivnost sa *C. martinii* kao jedinim ulje sa preko 60% inhibicije i četiri sa preko 50% (*T. vulgaris* 55,56%, *T. algeriensis* 58,52%, *T. serpyllum* 58,02% i *R. centifolia* 53,58%), dok su ostala ulja pokazala slabu inhibiciju: *P. graveolens* (49,63%), *C. limon* (47,52%), *L. petersonii* (47,12%), tri ulja sa manje od 40% *P. nigrum*<sup>z</sup> (39,78%), *M. alternifolia*<sup>2</sup> (35,63%) i *C. myrrha* (35,46%), kao i ulje *G. fragrantissima* sa 25,36% inhibicije. U odnosu na pozitivnu kontrolu Curasept<sup>®</sup>, etarska ulja su generalno pokazala jaču inhibiciju, izuzev *P. nigrum* u tretmanu MIK-je i ½ MIC, i *G. fragrantissima* u koncentraciji od ¼ MIC. Već formiran biofilm je izuzetno teško eliminisati jer on predstavlja otporan sistem koji uzrokuje konstantnu opasnost od infekcije. Dok planktonske ćelije mogu da budu podložne širem spektru antifungalnih agenasa, sesilne ćelije su vrlo često mnogo otpornije. Sposobnost testiranih etarskih ulja da inhibiraju proces formiranja biofilma kod *Candida* spp. direktno otvara mogućnost za njihovu primenu u oralnoj medicini u lečenju kandidijaze. Prikazani rezultati ukazuju da je inhibiranje procesa formiranja biofilma dozno-

zavisni proces. Ono što je takođe važno napomenuti, sub-inhibitorne koncentracije protiv planktonskih ćelija pokazuju veoma dobar anti-biofilm potencijal.

Antimikrobni potencijal etarskih ulja je dokazan u velikom broju studija izvedenih da se utvrdi njihova potencijalna primena u farmaciji i medicini. Ispitivanje dejstva etarskih ulja na formiranje i već formiran biofilm je u žiži interesovanja savremenih naučnika; etarska ulja *C. limon*, *S. aromaticum*, *Lippia* spp. *O. vulgare*, *R. officinalis* i *Thymus* sp., pokazala su dobar anti-biofilm potencijal (Burt i sar., 2004; Chorianopoulos i sar., 2008; Leonard i sar., 2010; Bai i sar., 2014). Szczepanski i Lipski (2014) su potvrdili efekat etarskog ulja *Thymus* u koncentraciji od 0,001% (w/v) na formiranje biofilma kod *Sphingomonas* spec., *Acinetobacter* spec. i *Stenotrophomonas* spec.. Rezultati studije Khan i sar. (2012) ukazuju na mogućnost primene etarskih ulja u sprečavanju formiranja zubnog plaka. Nedavno objavljen revijski rad, proširuje spisak etarskih ulja koja imaju inhibitorni efekat na formiranje biofilma *S. mutans*: *Salvadora persica*, *Juglans regia*, *Vaccinium macrocarpon*, *Camellia sinensis*, *Morus alba*, *Piper betle*, *Vitis Vinifera*, *Azadirachta indica*, *Sanguinaria canadensis*, *Myristica fragrans*, *Kaempferia pandurata*, *Pistacia atlantica*, *Pistacia vera*, *Achyranthes aspera*, *Polygonum cuspidatum*, *Helichrysum litoreum*, *Mentha spicata*, *Eugenia caryophyllata* i *Eucalyptus* spp. (Kouidhi i sar., 2015) Međutim, iako u literaturi postoje određeni podaci o anti-biofilm potencijalu etarskih ulja, dobijeni rezultati u ovoj disertaciji su prvi put rađeni upravo na najznačajnijim uzrokovateljima formiranja biofilma u usnoj duplji čoveka.

Tabela 56. Rezultati inhibitornog potencijala (%) odabranih etarskih ulja na proces formiranja biofilma kod *C. albicans* (MH1).

	MIK	½ MIK	¼ MIK
<i>G. fragrantissima</i>	53,58	45,33	25,36
<i>T. vulgaris</i>	61,98	57,53	55,56
<i>T. algeriensis</i>	62,96	61,48	58,52
<i>T. serpyllum</i>	65,93	60,99	58,02
<i>C. martinii</i>	65,93	63,46	61,48
<i>P. graveolens</i>	66,42	61,98	49,63
<i>R. centifolia</i>	61,48	59,84	53,58
<i>L. petersonii</i>	64,62	58,78	47,12
<i>S. montana</i>	63,45	52,36	45,65
<i>C. limon</i>	58,63	50,45	47,52
<i>P. nigrum</i> <sup>2</sup>	45,69	40,62	39,78
<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	66,91	48,64	35,63

<i>C. myrrha</i>	62,45	45,18	35,46
Curasept®	50,65	41,25	30,85

### 5.11. Citotoksična aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih biljaka

Ispitivanje nivoa toksičnosti je od velikog značaja za bezbednu primenu etarskih ulja u borbi protiv humanih patogena. Za uspešnu primenu novog preparata u terapijske svrhe, jedan od najvažnijih koraka je testiranje citotoksičnosti na kancerogene i nekancerogene ćelijske linije. Upotreba etarskih ulja kao, kao alternativna sredstva sintetičkim lekovima, uslovljena je ne samo koncentracijama koje imaju efikasnost u *in vitro* eksperimentima, nego i koncentracijama koje treba da se postignu na mestu dejstva. Ovo zavisi od resorpcije i transporta aktivnih saastojaka, ali sa druge strane i od maksimalnih doza koje mogu biti upotrebljene a koje bi bile bez toksičnih efekata. Iz tog razloga, ispitivana je citotoksičnost etarskih ulja koja su pokazala najveći antimikrobni potencijal u ovoj disertaciji na 11 ćelijskih linija. Rezultati istraživanja prikazani su u Tabeli 56 i 57.

U Tabeli 57 prikazani su rezultati Sr-B testa citotoksičnosti osam etarskih ulja (*G. fragrantissima*, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *C. martinii*, *P. graveolens*, *R. centifolia*, i *L. petersonii*) na šest ćelijskih linija (MCF-7, NCI-H460, HCT15, HeLa, HepG2 i PLP2). Rezultati, MTT-testa ukazali su da testirana ulja pokazuju dejstvo na tumorske ćelijske linije u intervalu od 5,60 do 261,20 µg/ml. Negativan uticaj na vijabilnost zdravih ćelija jetre (PLP2) imala su etarska ulja *L. petersonii* (316,83 µg/ml) i *C. martinii* (358,67 µg/ml). Najjaču aktivnost na tumorske ćelije pokazalo je etarsko ulje *L. petersonii* (5,60-316,83 µg/ml), a najslabiju ulje *G. fragrantissima* (178,14->400 µg/ml). Najotpornija ćelijska linija je MCF7 (47,70-261,20 µg/ml), dok je najosetljivija ćelijska linija HCT15 (5,60-178,14 µg/ml). U poređenju sa pozitivnom kontrolom (elipticin), nijedno ulje nije ispoljilo jaču citotoksičnu aktivnost.

Zu i sar. (2010) su ustanovili citotoksičnost ulja *T. serpyllum* na ćelije tumora prostate (PC3), ćelije raka pluća (A549) i ćelijsku liniju kancera dojke (MCF-7). Prema podacima studije koju su sproveli Horvathova i sar. (2006) karvakrol i timol su imali značajan uticaj na vijabilnost HepG2 i ćelija karcinoma debelog creva (Caco-2), ali su i takođe redukovali oštećenja DNK koja su nastala u tretmanu hidrogen peroksidom. Citotoksičnost etarskog ulja *G. fragrantissima* je prvi put istraživana u okviru ove studije, o čemu ne postoje prethodni literaturni podaci. U sličnoj studiji (Oloyede, 2011) prikazana je citotoksična aktivnost etarskog ulja *Laporea aestuans* na larve morskih

račića, a kao glavna komponenta ovog ulja naveden je metil salicilat, koji je takođe glavna komponenta ulja *G. fragrantissima*. Najnovija istraživanja su ustanovila odsustvo citotoksičnosti ulja *C. martinii* i glavne komponente geraniola na ćelije monocita (Andrade i sar., 2014). Međutim, neke od prethodnih studija su već ukazale da geraniol poseduje toksičnu aktivnost na Caco2 ćelije (Carnesecchi i sar., 2001), kao i ćelije tumora pankreasa kod čoveka (MIA PaCa2) (Burke i sar., 1997). U literaturi ne postoje podaci o citotoksičnom potencijalu ulja *P. graveolens*. S obzirom na primenu etarskog ulja *R. centifolia*, pre svega u kozmetičkoj industriji (Kovatcheva i sar., 2011) i u skladu sa našim rezultatima, upotreba etarskog ulje ruže se smatra bezbednom i klinički opravdanom što potvrđuje finalni izveštaj Evropske Medicinske Agencije (EMA, 2013). Prema prethodnim studijama, etarsko ulje *L. petersonii* je ispoljilo citotoksičnu aktivnost na ćelije epitelnog kancera laringsa (Hep-2) u koncentraciji od 0.04%. Nasuprot ovim podacima, izlaganje Hep-2 ćelija dejstvu etarskog ulja *L. petersonii* u trajanju od 60 minuta nije pokazalo uticaja na proliferativnost ćelija (Hood i sar., 2009). Mada postoje suprotna mišljenja o dejstvu isparenja etarskih ulja, u studiji Gaworski i sar., (1992) dokazano je da svakodnevne inhalacije pacova u trajanju od 6 h, nisu prouzrokovale nikakve toksične efekte.

Tabela 57. Rezultati Sr-B testa citotoksičnosti odabranih etarskih ulja biljaka izraženi u vidu IC<sub>50</sub> vrednosti.

	MCF7	NCI-H460	HCT15	HeLa	HepG2	PLP2
<i>T. serpyllum</i>	52,69±3,28	37,17±3,18	7,02±0,07	17,71±3,23	34,96±2,90	>400
<i>T. vulgaris</i>	180,40±2,68	160,01±11,83	83,92±0,14	76,02±5,98	95,06±0,30	>400
<i>T. algenensis</i>	62,53±1,88	63,94±0,68	64,13±1,33	64,79±1,51	62,12±3,11	>400
<i>C. martinii</i>	54,51±4,47	60,65±0,92	39,23±0,65	58,47±0,14	53,84±3,16	358,67±3,49
<i>P. graveolens</i>	116,66±9,62	81,47±2,03	63,72±1,39	70,96±0,04	93,91±2,99	>400
<i>R. centifolia</i>	80,80±1,28	92,45±0,95	65,48±2,20	49,55±1,29	90,94±1,26	>400
<i>G. fragrantissima</i>	261,20±3,02	259,66±0,39	178,14±11,52	187,03±0,67	238,80±0,69	>400
<i>L. petersonii</i>	47,70±2,34	24,38±0,01	5,60±0,37	9,01±2,21	29,58±2,59	316,83±2,63
Elipticine	0,91±0,04	1,42±0,00	1,91±0,06	1,14±0,21	3,22±0,67	2,06±0,03

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija

U tabeli 57 prikazani su rezultati MTT testa citotoksične aktivnosti etarskih ulja *S. montana*, *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup> i *C. myrrha*. Kvantifikacija stepena citotoksičnosti vršena je na pet kancerogenih ćelijskih linija (LS-174, K562, A549, HeLa, FemX) i ćelija fibroblasta humanog fetusa (MRC-5). Na osnovu rezultata sva ulja su ispoljila citotoksičnost u intervalu koncentracija od 8,21 do 77,26 µg/ml. Najjači citotoksični potencijal imalo je etarsko ulje *C. myrrha* (8,21-14,85 µg/ml), a najslabiji ulje *S. montana* (40,13-77,26 µg/ml). Sva ulja su dovela do oštećenja nekancerogene ćelijske linije MRC-5. Najotpornija ćelijska linija je LS-174 (14,85-77,26 µg/ml), dok su ćelijske linije HeLa (9,04-48,67 µg/ml) i K562 (8,21-64,66 µg/ml) bile najosetljivije. U poređenju sa pozitivnom kontrolom (cisplatina), nijedno ulje nije ispoljilo jaču aktivnost.

Tabela 58. Rezultati MTT testa citotoksične aktivnosti odabranih etarskih ulja biljaka izraženi u vidu GI<sub>50</sub> vrednosti.

	LS-174	K562	A549	HeLa	FemX	MRC-5
<i>S. montana</i>	77,26 ± 2,26	64,66 ± 4,50	65,51 ± 5,04	40,13 ± 0,46	71,11 ± 11,50	63,39 ± 7,12
<i>C. limon</i>	68,34 ± 5,40	25,66 ± 2,73	34,46 ± 4,28	30,75 ± 0,45	48,87 ± 3,62	38,69 ± 4,70
<i>P. nigrum</i> <sup>2</sup>	36,29 ± 2,04	32,15 ± 2,38	56,74 ± 1,48	34,06 ± 0,27	25,57 ± 8,54	48,19 ± 0,52
<i>M. alternifolia</i> <sup>2</sup>	65,63 ± 5,41	51,32 ± 8,85	67,13 ± 6,84	48,67 ± 2,58	48,82 ± 13,40	70,54 ± 0,54
<i>C. myrrha</i>	14,85 ± 3,40	8,21 ± 0,16	10,59 ± 1,63	9,04 ± 0,59	9,47 ± 1,13	10,75 ± 0,28
CDDP	6,73 ± 2,15	5,93 ± 0,27	5,16 ± 0,21	2,34 ± 0,70	3,23 ± 0,26	9,08 ± 0,89

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija

Prema studiji koju su sprovedli Porres-Martinez i sar. (2014), etarsko ulje *S. montana* je ispoljilo citotoksičnu aktivnost na ćelijske linije MDA-MB-361, MDA-MB-453, HeLa, LS174 i MRC-5, što potvrđuju i naši rezultati. Antiproliferativna aktivnost ulja *S. montana* zabeležena je i na ćelije A549 ali tek nakon izlaganja 48h i 72h u koncentracijama koje su bile u intevalu od 400,00 i 11,00 µg/ml (Kundaković i sar., 2013). U radu Manajemi i sar., (2004) su dokazali citotoksičnu aktivnost etarskog ulja *C. limon* na MCF-7 i HeLa ćelijskim linijama. Trenutno ne postoje literaturni podaci o antitumorskoj aktivnosti etarskog ulja *P. nigrum*<sup>2</sup>. Citotoksična aktivnost etarskog ulja *M. alternifolia* je potvrđena od strane velikog broja autora u brojnim *in vitro* i *in vivo* testovima (Hammer i sar., 2006; Liu i sar., 2009; Ahmad i sar., 2012; Chen i sar., 2013), a poznato je da ovo ulje ima dugotrajnu primenu kako u tradicionalnoj tako i u modernoj

medicini (Carson i sar., 2006). Efekat ulja *C. myrrha* na vijabilnost kancerogenih ćelija ispitivali su Chen i sar. (2013), i prikazali su da ono poseduje jaku citotoksičnu aktivnost na ćelijske linije MCF-7, HS-1, HepG2, HeLa i A549. Dodatnim ispitivanjima došli su do potencijalnog mehanizma efikasnosti ulja koji se ogleda u indukciji procesa apoptoze u koncentracijama u intervalu 0,10-40 µg/ml.

Hemopreventivni i hemoterapeutski efekat etarskih ulja su prepoznati kao veliki terapeutski potencijal. Sudeći na osnovu savremenijih literaturnih podataka, može se zaključiti da raste interesovanje za ispitivanje citotoksičnosti etarskih ulja. Od etarskih ulja koja su odabrana za istraživanje efikasnosti na kancerogene ćelijske linije, sva su ulja pokazala efekte u oba testa, a od njih se posebno izdvajaju *T. serpyllum*, *T. vulgaris*, *T. algenensis*, *C. martinii*, *P. graveolens*, *R. centifolia*, *G. fragrantissima* i *L. petersonii*, obzirom da su pokazala odsustvo toksičnosti na nekancerogenu ćelijsku liniju PLP2. S druge strane u MTT testu ulja *S. montana*, *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup> i *C. myrrha* su pored citotoksičnog dejstva na kancerogene, pokazale uticaj i na nekancerogenu ćelijsku liniju MRC-5. Treba istaći da je glavna prednost primene etarskih ulja to što su aktivna u veoma malim koncentracijama i što deluju kumulativno i sinergistički. Citotoksična aktivnost etarskih ulja se postiže preko ćelijske membrane, gde etarska ulja i njihove komponente prouzrokuju propustljivost i depolarizaciju i dovode do smanjenja aktivnosti membranskih enzima. Pored toga, neka istraživanja pokazala su da etarska ulja i njihove komponente imaju uticaj na ćelijski metabolizam i mogu indukovati apoptozu (Bakkali i sar., 2008).

## 6. Opšta diskusija

Visoka učestalost oralnih oboljenja (karijes, periodontalne bolesti, oralne infekcije) ekonomska kriza, isključivanja iz sistema stomatološke zdravstvene zaštite, ugrožavaju oralno zdravlje ljudi u Srbiji i generalno u svetu. Negativni efekti sintetičkih lekova koji se koriste u tretmanu oralnih bolesti i zahtev sve većeg broja ljudi za bezbednijim i efikasnijim lekovima, inicirali su veliki broj istraživanja na tu temu. Na osnovu dosadašnjih istraživanja i dugog istorijata primene, etarska ulja ekstrahovana iz različitih biljnih organa nameću se kao potencijalna alternativa sintetičkim medikamentima i izvor biološki aktivnih, prirodnih supstanci koji se mogu primeniti u terapijske svrhe.



Izolacijom i identifikacijom mikroorganizama iz usne duplje pacijenata sa Klinike za dečju i preventivnu stomatologiju, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, u periodu od 2010-2011. godine, prikupljeno je ukupno 93 uzoraka, od čega je 66 bilo pozitivno na gljive (70.96%) i 32 (34.41%) na bakterije. Prikupljeni mikroorganizmi – klinički izolati bakterija i gljiva su bili predmet daljeg istraživanja biološke aktivnosti etarskih ulja. Kao test organizmi u ovoj doktorskoj disertaciji korišćeni su klinički izolati bakterija *S. pyogenes*, *S. mutans*, *L. acidophilus*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *P. aeruginosa*, *E. feacalis* i *S. aureus* i gljiva *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. krusei*, a koji se povezuju sa određenim stanjima kao što su: karijes, oralna kandidijaza, periodontitis i endodontske infekcije.

Cilj ove doktorske disertacije bio je ispitivanje hemijskog sastava i biološke aktivnosti etarskih ulja biljaka: *Cananga odorata*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, *Matricaria recutita*, *Achillea millefolium*, *Helichrysum italicum*, *Boswellia carterii*, *Canarium luzonicum*, *Commiphora myrrha*, *Juniperus communis*, *Juniperus virginiana*, *Gaultheria procumbens*, *G. fragrantissima*, *Pelargonium graveolens*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavanulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *Satureja montana*, *L. nobilis*, *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*, *M. quinquenervia*, *Syzygium aromaticum*, *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii*, *Pinus silvestris*, *P. nigrum*, *Cymbopogon martinii*, *Rosa centifolia*, *Citrus aurantium* spp. *aurantium* i *C. limon*.

Odabir etarskih ulja bio je zasnovan, pre svega, na tradicionalnoj upotrebi biljaka odnosno biljnih organa iz kojih ova ulja potiču i dosadašnjim istraživanjima njihovog antimikrobnog potencijala. Testirano je 60 etarskih ulja koja vode poreklo od 47 aromatičnih biljnih vrsta. Rezultati hemijske analize 60 etarskih ulja primenom gasne hromatografije sa masenom spektrofotometrijom utvrdili su prisustvo velikog broja različitih komponenti; ukupno je identifikovano 342 komponente, od kojih su najzastupljeniji oksigenovani monoterpeni. Dominantne komponente u ovih ulja su bile zastupljene u različitim procentima, u intervalu od 20% do 70%, a u pojedinim slučajevima i preko 90% (*G. procumbens* i *G. fragrantissima*). Uporednom analizom dobijenih rezultata sa publikovanim rezultatima drugih autora naši uzorci ulja su ispoljili i sličnosti i razlike, što je i bilo očekivano. Razlike u kvantitativnom i kvalitativnom

sastavu komercijalnih uzoraka etarskih ulja se mogu objasniti na mnogo načina, a neki od njih su: geografsko poreklo, odnosno uticaj različitih ekoloških faktora na rast i razvoj biljaka koje ih sadrže, metoda koja se koristi za njihovu ekstrakciju kao i sam postupak ekstrakcije, godišnje doba kao i faza razvoja u kojoj je prikupljanjen biljni materijal, itd. Obzirom na veliku raznolikost hemijskog sastava velikog broja ulja koja se danas proizvode širom sveta, a kako bi se ujednačio kvalitet bar onih ulja koja su komercijalno raspoloživa na svetskom tržištu, međunarodna organizacija za standardizaciju (ISO) je propisala kvalitet za većinu njih, a koji u mnogome olakšava poređenje rezultata dobijenih u raznim studijama koje se bave ovakvim i sličnim istraživanjima, a pozivaju na hemijski sastav ulja. Imajući u vidu činjenicu da je biološka aktivnost etarskog ulja direktno uslovljena njihovim hemijskim sastavom, u ovoj doktorskoj disertaciji za ispitivanje su odabrani komercijalni uzorci koji odgovaraju ISO kriterijumima kvaliteta (za ulja za koja ovi kriterijumi postoje), što je prikazano u rezultatima hemijske analize svih uzoraka ulja.

U cilju ispitivanja biološkog potencijala etarskih ulja, najpre je isptivan njihov antibakterijski i antifungalni potencijal na odabrane kliničke izolate i referentne sojeve bakterija i gljiva iz usne duplje čoveka, pri čemu je korišćeno osam kliničkih izolata (*Staphylococcus aureus* IBR ST001, *Streptococcus pyogenes* IBR S003, *Streptococcus mutans* IBR S001, *Lactobacillus acidophilus* IBR L001, *Streptococcus salivarius* IBR S006, *Streptococcus sanguis* IBR S002, *Pseudomonas aeruginosa* IBR P001 i *Enterococcus faecalis* IBR E001) i 58 kliničkih izolata *Candida* spp. (55 sojeva *C. albicans*, 2 soja *C. glabrata* i 1 soj *C. krusei*) i dva referentna soja (ATCC 10231 *C. albicans* i ATCC 750 *C. krusei*).

Etarsko ulje *T. serpyllum* pokazalo je najbolji antibakterijski potencijal u *in vitro* eksperimentu, dok su etarska ulja *M. recutita*<sup>1</sup> i *J. virginiana* pokazala najslabije dejstvo na ispitivane bakterije. Analizom rezultata *in vitro* ispitivanja antibakterijske aktivnosti, izdvojeno je 37 etarskih ulja sa rezultatima minimalne inhibitorne koncentracije ispod 1mg/ml (*F. vulgare*, *P. anisum*, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha*, *G. procumbens*, *P. graveolens*, *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. montana*, *S. officinalis*, *L. petersonii*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *S. aromaticum*, *A. procera*, *P. nigrum*<sup>C</sup>, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *C. martinii*, *R. centifolia*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>), 15 sa MIC vrednostima 1-10 mg/ml (*A.*

*sativa*, *A. graveolens*, *B. carteri*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *H. italicum*<sup>1</sup>, *S. triloba*, *S. sclarea*, *L. nobilis*<sup>1</sup>, *L. nobilis*<sup>2</sup>, *L. scoparium*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasia* i *P. silvestris*) i 8 ulja sa MIC  $\geq$  10 mg/ml (*C. odorata*, *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. virginiana*, *G. fragrantissima* i *H. italicum*<sup>2</sup>).

Najbolji antifungalni potencijal pokazalo je etarsko ulje *S. montana*, dok je najlošiju aktivnost imalo etarsko ulje *H. italicum*<sup>2</sup>. Iz prikazanih rezultata izdvojeno je 38 etarskih ulja sa minimalnim inhibitornim koncentracijama ispod 1 mg/ml (*A. graveolens*, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *G. procumbens*, *P. graveolens*, *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *S. montana*, *L. nobilis*<sup>1</sup>, *L. nobilis*<sup>2</sup>, *L. petersonii*, *L. scoparium*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *S. aromaticum*, *A. procera*, *P. douglasia* i *P. silvestris*, *P. nigrum*<sup>7</sup>, *C. martinii*, *R. centifolia*, *C. aurantium spp. aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium spp. aurantium*<sup>PG</sup>) i 22 etarska ulja sa MIC vrednostima između 1-10 mg/ml (*C. odorata*, *F. vulgare*, *P. anisum*, *P. sativa*, *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha*, *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. virginiana*, *G. fragrantissima*, *H. italicum*<sup>1</sup>, *H. italicum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *A. grandis*, *A. alba*, *P. nigrum*<sup>C</sup>). Uprkos većoj otpornosti gljiva u poređenju sa bakterijama, u ispitivanju antifungalne aktivnosti odabranih etarskih ulja MIK nisu prelazile koncentraciju od 10 mg/ml.

Iz literaturnih podataka je poznato da hemijski sastav etarskih ulja ima direktan uticaj na njihovu antimikrobnu aktivnost, jer pojedina jedinjenja sa određenom hemijskom strukturom ispoljavaju jači a druga slabiji efekat (Hammer i sar., 1999). Antimikrobna aktivnost etarskog ulja se dovodi u vezu sa hemijskim sastavom, strukturnom konfiguracijom jedinjenja, prisustvom određenih funkcionalnih grupa i mogućim interakcijama (sinergističkim / antagonističkim) između jedinjenja prisutnih u uljima. Istraživanja nekih autora pokazuju da ulja bogata jedinjenjima sa fenolnom strukturom, kao što su karvakrol, timol i eugenol, imaju najjaču antimikrobnu aktivnost. Nakon, fenolnih jedinjenja, alkoholi i alkohol terpenoidi, takođe imaju zapaženu aktivnost (Soković, 2001). Jednoj od ove dve grupe jedinjenja svakako pripadaju mentol, geraniol, linalol, citronelol i citronelal, koji su u istraživanjima Soković i sar. (2009) prikazani kao komponente sa dobrim antimikrobnim potencijalom. Zbog svoje bolje rastvorljivosti i disperzije, pojedina

oksidovana jedinjenja, kao na primer 1,8-cineol, imaju prednost u odnosu na neke ketone iz pomenute grupe jedinjenja, kao na primer fenhon i kamfor, jer lakše prolaze kroz ćelijski zid bakterija ili kroz ćelijsku membranu eukariotskih ćelija. Monoterpeni ugljovodonici limonen,  $\alpha$ - $\beta$ -pinen,  $\gamma$ -terpinen imaju slabu antimikrobnu aktivnost, a koja se bazira uglavnom na njihovoj slaboj rastvorljivosti u vodenim podlogama, ali i zbog malog broja reaktivnih grupa (Soković, 2001). Acetati poseduju najslabiji antimikrobni potencijal koji je uslovljen veoma slabim potencijalom stvaranja vodoničnih veza sa enzimima ćelijske membrane (Lako, 2013). Veliki broj istraživanja ukazuje da je ćelijska membrana mesto delovnja etarskih ulja, odnosno njihovih konstituenata. Hidrofobnost je veoma važna karakteristika i ulja i njihovih komponenata, obzirom da povećava permeabilnost ćelijske membrane i bakterija i gljiva i omogućava njihov lakši prolazak kroz njen lipidni sloj. Ovo je važno stoga što promenu propustljivosti ćelijske membrane obično prati gubitak osmotske kontrole ćelije, što se smatra osnovnim principom antimikrobnog delovanja etarskih ulja (Bakkali i sar., 2008). Najbolju antimikrobnu aktivnost u ovoj disertaciji pokazala su etarska ulja *T. serpyllum* i *S. montana* čije glavne komponente pripadaju fenolnim jedinjenjima (timol, karvakrol). Poznato je da hidrofobnost timola i karvakrola oštećuje membranu Gram-negativnih bakterijskih ćelija, bogatu lipopolisaharidima, dok kod gljiva reaguju sa enzimima ćelijskog zida, oštećujući njihov hitinski sloj, čime se obezbeđuje nesmetan prolaz ulja odnosno njihovih komponenti u unutrašnjost ćelije (Soković, 2001; Čančarević i sar., 2013). Najslabiji antimikrobni potencijal pokazala su ulja *M. recutita*<sup>1</sup> i *H. italicum*<sup>2</sup> čije glavne komponente *trans*- $\beta$ -farnezen i  $\alpha$ -pinen pripadaju grupi seskvi i monoterpena, a koji i prema istraživanjima drugih autora poseduju veoma slab antimikrobni efekat (Soković, 2001).

Značaj korišćenja i primene elektronske mikroskopije u oblasti ispitivanja biološke aktivnosti etarskih ulja potvrđen je u ovoj doktorskoj disertaciji. Na osnovu SEM mikrografija ustanovljen je potencijalni mehanizam dejstva odabranih etarskih ulja na ćelije *C. albicans*, a potvrđena je njihova aktivnost na destabilizacije ćeljske membrane.

Rezultati ispitivanja antimikrobnog potencijala ozona i koloidnog rastvora srebrne vode pokazuju dodatne prednosti u elminisanju patogenih mikroorganizama, kao i u redukciji broja patogenih mikroorganizama. Primenom ozona u različitim koncentracijama i vremenskim intervalima, smanjen je broj kolonija testiranih mikroorganizama, što ga čini potencijalno korisnim dodatnim tretmanom u lečenju oralnih infekcija i oboljenja. Prema literaturnim podacima voda

obogaćena ozonom pokazuje visok nivo biokompatibilnosti i nizak nivo citotoksičnosti (Lynch i sar., 2008). Primena ozona na karijesne lezije ili inficirane kanale korena se već uspešno primenjuje u kliničkoj praksi (Saini, 2011), a poznat je i njegovo pozitivan učinak u lečenju parodontitisa i endodontskih infekcija (Nagayoshi i sar., 2004). Mehanizam dejstva ozona je veoma složen i uključuje moguće dejstvo na brojne targete (proteini, lipidi, respiratorni enzimi i membrane ćelija, peptidoglukane i nukleinske kiseline); primenjeni ozon dovodi do oksidacije različitih komponenti ćelijske membrane (lipida, proteina i masnih kiselina) što prouzrokuje curenje sadržaja iz ćelija, a koje na kraju rezultira ćelijskom smrću (Huth i sar., 2006). Neki autori smatraju da je ozon direktno uključen u inaktivaciju mikroorganizama, dok drugi naglašavaju da antimikrobno delovanje ozona potiče od reaktivnih nus proizvoda njegovog razlaganja u ćeliji (Khadre i sar., 2001). Poznato je da srebro i njegova jedinjenja imaju jako antimikrobno dejstvo. Brojne studije su dokazale efikasnost srebra i njegovih jedinjenja u lečenju različitih oboljenja i infekcija (Iroha i sar., 2008). Drevni narodi poput, Egipćana i Grka bili su itekako svesni potencijala srebra i koristili ga za lečenje različitih bolesti, rana, stavljali srebrne novčiće u stovarišta hrane i vode. Dobijeni rezultati ukazuju na veoma snažno dejstvo koloidnog rastvora srebrne vode u veoma niskim koncentracijama na testirane mikroorganizme. Na osnovu dosadašnjih istraživanja čestice srebra uništavaju preko 650 različitih vrsta bakterija i virusa, a veoma su retke pojave rezistentnosti (Chopra i sar., 2007). U poslednje vreme prisutan je porast preparata na bazi srebra koji se koriste u kozmetici, tekstilnoj industriji, sredstvima za dezinfekciju i čišćenje, bojama i lakovima itd. U literaturi postoje podaci o potencijalnom mehanizmu dejstva čestice srebra na prokariotski i eukariotski tip ćelije. Prema Bragg i sar. (1974) joni srebra reaguju sa sulfhidrilnom grupom proteina (-SH) i inhibiraju procese respiracije, kao i interakcije sa DNK molekulima uzrokujući njihovo odvijanje. Uticaj na proces ćelijske deobe i interakcije sa vodoničnim vezama su takođe zabeleženi (Russel i sar., 1994). Stoga i ozon i srebrna voda opravdano se koriste u prevenciji i tretmanu pojedinih infektivnih oboljenja.

U ovoj disertaciji prikazane su mogućnosti i potencijali bioautografske metode na TLC pločama za brzo i efikasno određivanje kvalitativne analize antimikrobne aktivnosti etarskih ulja. Bioautografska metoda na TLC pločama je brza i precizna metoda za ispitivanje antimikrobne aktivnosti, i prema rezultatima korišćenja ove metode, sva etarska ulja i izolovana jedinjenja su pokazala antimikrobnu aktivnost. Ova metoda bez svake sumnje ima budućnost i u praktičnoj

aplikaciji istraživanja antimikrobne aktivnosti prirodnih produkata biljnog porekla, u koje se svakako ubrajaju i etarska ulja.

Za ispitivanje međusobne interakcije, antibiofilm, antiquorum sensing i citotoksičnog efekta / potencijala kao i prouzrokovanih morfoloških promena na ćelijama izolovanih sojeva mikroorganizama, korišćena su sledeća etarska ulja koja su pokazala najbolju antimikrobnu aktivnost u našem istraživanju: *C. limon*, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha*.

Nakon određivanja minimalnih inhibitornih i baktericidnih/fungicidnih koncentracija korišćenjem mikrodilucione i bioautografske metode na TLC pločama, kao i potvrde mehanizma dejstva pomoću skening elektronske mikroskopije, dalji tok istraživanja je usmeren ka ispitivanju međusobne interakcije odabranih etarskih ulja *C. limon*, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha*. Etarska ulja predstavljaju kompleksne mešavine različite grupe jedinjenja, pa samim tim ispitivanja međusobne interakcije između etarskih ulja su neophodna prilikom dobijanja novog fitopreparata. Poslednjih decenija, povećan je interes za korišćenjem različitih kombinacija prirodnih produkata u kontroli patogenih mikroorganizama. Kombinacije, etarskih ulja bilo prirodnog ili veštačkog porekla, prečišćenih ili glavnih komponenti etarskih ulja utiču na biohemijske procese koje se odlikuju određenim nivoima biološke aktivnosti (Burt i sar., 2007). U literaturi ima malobrojnih radova o mehanizmu delovanja kombinacije etarskih ulja i njihovih komponenti na mikroorganizme. Neki od ponuđenih, obuhvataju opšte prihvaćene, kao što su inhibicija biohemijskih puteva, inhibicija sinteze enzima i upotreba proteina iz ćelijske membrane za lakši unos aktivne supstance u ćeliju (Santiesteban-Lopez i sar., 2007). Zore i sar. (2011) predložili su dve hipoteze za objašnjenje sinergističkog efekta cinamaldehida i timola i cinamildehida i karvakrola na *S. typhimurium*: a) timol ili karvakrol povećava propustljivost ćelijske membrane i omogućava cinamaldehydu lakši transport u ćeliju, b) timol ili karvakrol može povećati broj, veličinu ili vreme otvaranja kanala za vezivanje cinamaldehyda za proteine u ćelijskoj membrani. Kombinacija ulja *P. nigrum*, *C. limon* i *M. alternifolia* pokazala je najizrazitije sinergističko dejstvo, druga kombinacija ulja *P. graveolens* i *G. fragrantissima* kao i *T. serpyllum* i *G. fragrantissima* pokazuju aditivno a rezultati međusobne interakcije ulja *T. serpyllum* i *P.*



*graveolens* ispoljavaju antagonističko dejstvo. Kombinacije etarskih ulja *R. centifolia* i *L. petersonii*, kao i *R. centifolia* i *C. limon* imaju aditivno dejstvo, dok rezultati međusobne interakcije etarskih ulja *C. limon* i *L. petersonii* pokazuju antagonističko dejstvo na ispitivane mikroorganizme. Prikazani rezultati kombinacija etarskih ulja *S. montana* i *C. martinii* i *S. montana* i *C. myrrha* pokazuju sinergističko dejstvo, dok rezultati međusobne interakcije etarskih ulja *C. martinii* i *C. myrrha* pokazuju aditivno dejstvo. Praktična primena dobijenih rezultata je veoma važna prilikom konstruisanja novih fitopreparata i upotrebe različitih kombinacija etarskih ulja u dobijanju željenog efekta upotrebom što manjih koncentracija, što je i bio i cilj ove disertacije.

Bakterije komuniciraju međusobno pomoću malih signalnih molekula, poznatiji kao autoinduktori. Ovaj vid komunikacije je deo mehanizma koji se naziva quorum-sensing, a kao posledicu ima promenu ekspresije gena. Kada koncentracija autoinduktora pređe određenu granicu, dolazi do vezivanja za određeni receptor, do aktiviranja transkripcionih faktora i drugačije ekspresije gena. U dosadašnjim istraživanjima identifikovani su najčešće produkovani autoinduktori kod Gram-negativnih bakterija, *N*-acilhomoserin laktani (AHL) (Smith i sar., 2003). Nedavna istraživanja pokazuju prisustvo AHL molekula i kod bakterija iz usne duplje (Biridar i sar., 2011). QS reguliše različite procese, uključujući formiranje biofilma, produkciju antibiotika, bioluminiscenciju, pokretljivost i produkciju pigmenata, virulentnost. Kod *P. aeruginosa*, koji je inače korišćen u ovoj disertaciji, QS reguliše faktore virulentnosti kao što su produkciju proteaza, elastaza, piocijanina, pioverdina i biofilma. Postoje tri QS sistema kod *P. aeruginosa*: *las*, *RhlI* i *RhlR* proteini i PQS (Ryal i sar., 2014). *Las* sistem se sastoji od *LasR* transkripcionog regulatora i *LasI* protein sintaze. *LasI* je neophodna za produkciju AHL molekula, dok *LasR* zahteva prisustvo istih za aktiviranje. U drugom sistemu *RhlI* sintaza ima ulogu u sintezi AHL molekula *N*-butiril-*L*-homoserin laktana i *RhlR* transkripcionih regulatora. Samo kompleks *RhlR* i *N*-butiril-*L*-homoserin laktan dovodi do ekspresije gena. PQS sistem, koji je nedavno otkriven, ima za cilj regulaciju transkripcije *lasI* i *rhlI*. PQS sistem ima ulogu kontrole prva dva sistema pokazuje visok nivo homologije sa *LasR* i *RhlR* transkripcionim aktivatorima. AHL molekuli koji ulaze u sastav kompleksa su 2-heptil-3hidroksi-4quinon i 2-heptil-4quinon. Inhibiranje QS sistema predstavlja veoma važan cilj u dobijanju što efikasnijih antimikrobnih agenasa. Anti-QS agensi imaju za cilj inhibiciju QS mehanizama i smanjenje virulentnosti i time smanjuju potencijalne neželjene efekte kao što je rezistentnost. Poslednjih decenija, istraživanja izvora anti-QS agenasa biljnog porekla



dala su čitav niz korisnih rezultata, mada primera koji konkretno podrazumevaju etarska ulja nema mnogo. Etarska ulja *Piper bredemeyeri*, *P. brachypodom*, *P. bogotense* inhibiraju sintezu pigmenta violaceina kod *Chromobacter violaceum* (Olivero i sar., 2011). Vezano za jedan od postavljenih ciljeva disertacije, koji se odnosi na anti-QS aktivnosti etarskih ulja i mogućnost njihove primene u oralnoj medicini, rezultati ispitivanja efekta naših uzoraka ulja na proces kretanja, produkcije piocijanina i biofilma kod soja *P. aeruginosa* PAO 1 ukazuju na to da osim što sva ulja ispoljavaju inhibitornu aktivnost, to čine u sub-inhibitornim koncentracijama, što ukazuje da poseduju izvestan biološki potencijal u borbi protiv ovog važnog oralnog patogena.

Infekcije izazvane mikroorganizmima koji produkuju biofilm predstavljaju jedan od najaktuelnijih problema u medicini. Lečenje ovako nastalih infekcija je uglavnom neuspešno jer su potrebne velike količine sintetskih antimikrobnih agenasa za njihovo suzbijanje, koji često imaju neželjene i negativne posledice na domaćina i mogu biti veoma toksični po ljudski organizam. Usled otežane distribucije antimikrobnih agenasa kroz biofilm i horizontalnog transfera gena olakšan je proces razvoja rezistentnosti. S obzirom, da oralne infekcije nastaju kao posledica stvaranja zubnog plaka tj. biofilma, ispitivanja antibiofilm potencijala odabranih etarskih ulja su ukazala da sva testirana ulja poseduju inhibitornu aktivnost u MIK i sub-MIK koncentracijama prema procesu formiranja biofilma kod *S. mutans* i *C. albicans*. Etarsko ulje *T. serpyllum* i *M. alternifolia*<sup>2</sup> pokazala je najjaču aktivnost, dok je ulje *G. fragrantissima* delovalo najslabije na sprečavanje formiranja biofilma kod *S. mutans* i *C. albicans*. Sva testirana ulja poseduju veliki potencijal u smislu alternative postojećim sintetskim lekovima. Obzirom da nauka još nije precizirala ulogu produkcije biofilma, neki od budućih ciljeva naših istraživanja u ispitivanju antibiofilm aktivnosti etarskih ulje biće usmeren ka aktivnim principima kao i proučavanju mehanizma dejstva etarskih ulja na proces formiranja biofilma, konkretno kod oralnih patogenih mikroorganizama.

Nakon *in vitro* ispitivanja biološkog potencijala odabranih etarskih ulja, dalji tok istraživanja je bio logički usmeren ka ispitivanju citotoksičnosti, kao jednom od prvih koraka u proveru njihove biokompatibilnosti koji prethodi svakoj komercijalnoj upotrebi. Kvantifikacijom stepena citotoksičnosti odabranih etarskih ulja pomoću SrB i MTT testa, utvrđeno je da ona pokazuju dejstvo na kancerogene ćelijske linije u intervalu od 5,60 do 358,67 µg/ml. Prema Gad-Shayne, (2009), ispitivane supstance se mogu klasifikovati u 4 grupe po nivou cititksičnosti.

Etarska ulja *G. fragrantissima*, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *C. martinii*, *P. graveolens*, *R. centifolia*, i *L. petersonii*, *S. montana*, *C. limon*, *P. nigrum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup> i *C. myrrha* su pokazala varijabilnu citotoksičnost na linije ćelija MCF-7, NCI-H460, HCT15, HeLa, HepG2 i PLP2, MDA-MB-361, MDA-MB-453, HeLa, LS174 i MRC-5. Prednost korišćenja ovih ulja je u tome što pokazuju inhibitornu aktivnost u veoma malim koncentracijama, mogu imati sinergistički efekat, primenjena čak i u koncentracijama nižim od toksičnih.

Rezultati i saznanja do kojih smo došli u toku ove studije, koji se odnose na osetljivost kliničkih izolata oralnih patogena izolovanih iz usne duplje čoveka na veliki broj etarskih ulja, ispitivanje njihovog hemijskog sastava, antimikrobne i antibiofilm aktivnosti, njihove međusobne interakcije i citotoksičnosti u *in vitro* uslovima, predstavljaju jednu novinu koja do sada nije nikada u ovako jednom logičkom redosedu rađena. Utvrđeno je da su klinički izolati otporniji od ATCC sojeva na ispitivana etarska ulja i neke njihove komponente. Prema našim saznanjima, brojni podaci koji govore pre svega o međusobnoj interakciji, anti-QS aktivnosti, antibiofilm i citotoksičnoj aktivnosti su po prvi put rađeni. Rezultati dobijeni nakon ispitivanja antiquorum i antibiofilm efekta etarskih ulja predstavljaju nove podatke, ali i novi pristup u prevenciji i tretmanu infektivnih oboljenja. Uzimajući u obzir da se radi o ispitivanju mehanizama dejstva etarskih ulja, ovi novi podaci mogu dovesti do napretka u rešavanju problema rezistentnosti određenih izolata bakterija i gljiva (MRSA, *P. aeruginosa*, *E.coli*, *C. albicans*). Prikazana biološka aktivnost odabranih etarskih ulja na mikroorganizme iz usne duplje čoveka ukazuje na mogućnost izrade preparata na bazi etarskih ulja i njegove upotrebe u terapijske i profilaktičke svrhe. Uzimajući u obzir sve veću pojavu rezistentosti i negativne efekte primene sintetskih lekova, etarska ulja bi mogla biti njihova idealna zamena. Činjenica da se dobijeni rezultati u *in vitro* uslovima ne mogu preneti odnosno potvrditi direktno u *in vivo* eksperimentima, *in vivo* ispitivanja etarskih ulja sa najvećim brojem poželjnih svojstava bi mogla biti predmet budućih istraživanja u uspešnom formulisanju fotopreparata sa primenom u oralnoj medicine, bilo kao preventive ili tretman rezistentnih izolata bakterija i gljiva.

## 7. Zaključci

U okviru ove doktorske teze urađena je hemijska i biološka analiza 60 etarskih ulja dobijenih iz 47 vrsta aromatičnih i lekovitih biljaka (*Cananga odorata*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Pastinaca sativa*, *Anethum graveolens*, *Matricaria recutita*, *Achillea millefolium*, *Helichrysum italicum*, *Boswellia carterii*, *Canarium luzonicum*, *Commiphora myrrha*, *Juniperus communis*, *J. virginiana*, *Gaultheria procumbens*, *G. fragrantissima*, *Pelargonium graveolens*, *Hyssopus officinalis*, *Mentha piperita*, *M. pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Thymus algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavanulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. triloba*, *Satureja montana*, *L. nobilis*, *Leptospermum petersonii*, *L. scoparium*, *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Melaleuca alternifolia*, *M. quinquenervia*, *Syzygium aromaticum*, *Abies procera*, *A. grandis*, *A. alba*, *Pseudotsuga douglasii*, *Pinus silvestris*, *P. nigrum*, *Cymbopogon martinii*, *Rosa centifolia*, *Citrus aurantium* spp. *aurantium* i *C. limon*).

Ciljevi ove disertacije su bili izolacija i identifikacija mikroorganizama iz usne duplje čoveka, ispitivanje biološke aktivnosti i uticaja etarskih ulja i komponenti odabranih aromatičnih i lekovitih biljaka na izolovane mikroorganizme, određivanje antimikrobnog mehanizma dejstva ispitivanih prirodnih produkata na *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* i *Pseudomonas aeruginosa* kao model sisteme.

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Klasičnim mirkobiološkim i biohemijskim metodama izolovano je i identifikovano 8 vrsta bakterija (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterococcus faecalis*) i tri vrsta roda *Candida* (55 sojeva *C. albicans*, 2 soja *C. glabrata* i *C. krusei*) iz usne duplje pacijenata Klinike za dečju i preventivnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

- Kvalitativna i kvantitativna analiza uzoraka 60 etarskih ulja korišćenjem GC-FID i GC/MS metoda, rezultirala je identifikacijom ukupno 342 različite komponente koje pripadaju sledećim grupama jedinjenja: oksidovani monoterpeni, monoterpeni ugljovodonici, seskviterpeni ugljovodonici, oksidovani seskviterpeni, fenilpropanoidna jedinjenja, spiroetri, alifatični ketoni, viši alkani, oksidovani diterpeni, alifatični ugljovodonici i oksidovana alifatična jedinjenja.

- Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja antimikrobne aktivnosti odabranih etarskih ulja aromatičnih biljaka korišćenjem mikrodilucione metode, sva testirana etarska ulja pokazala su antimikrobnu aktivnost.

- Definisanjem MIK i MBK/MFK ispitivana etarska ulja pokazala su antimikrobnu aktivnost u različitom stepenu.

- Etarsko ulje *T. serpyllum* pokazalo je najbolji antibakterijski potencijal u *in vitro* eksperimentu, dok su etarska ulja *M. recutita*<sup>1</sup> i *J. virginiana* pokazala najslabije dejstvo na ispitivane bakterije. Analizom rezultata *in vitro* ispitivanja antibakterijske aktivnosti, izdvojeno je 37 etarskih ulja sa MIK-ma ispod 1 mg/ml što ih svrstava u veoma aktivna ulja (*F. vulgare*, *P. anisum*, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha*, *G. procumbens*, *P. graveolens*, *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. montana*, *S. officinalis*, *L. petersonii*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *S. aromaticum*, *A. procera*, *P. nigrum*<sup>C</sup>, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *C. martinii*, *R. centifolia*, *C. aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>), 15 sa MIK vrednostima 1-10 mg/ml, sa umerenom aktivnosću (*A. sativa*, *A. graveolens*, *B. carteri*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *H. italicum*<sup>1</sup>, *S. triloba*, *S. sclerea*, *L. nobilis*<sup>1</sup>, *L. nobilis*<sup>2</sup>, *L. scoparium*, *A. grandis*, *A. alba*, *P. douglasia* i *P. silvestris*) i 8 ulja sa MIK  $\geq 10$  mg/ml, sa sabim do umerenim efektom (*C. odorata*, *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. virginiana*, *G. fragrantissima* i *H. italicum*<sup>2</sup>).

- Najbolji antifungalni potencijal pokazalo je etarsko ulje *S. montana*, dok je najslabiju aktivnost imalo etarsko ulje *H. italicum*<sup>2</sup>. Iz prikazanih rezultata izdvojeno je 38 etarskih ulja sa MIK-ma ispod 1 mg/ml, veoma efikasna (*A. graveolens*, *A. millefolium*<sup>1</sup>, *A. millefolium*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>4</sup>, *G. procumbens*, *P. graveolens*, *H. officinalis*, *M. piperita*<sup>1</sup>, *M. piperita*<sup>2</sup>, *M. pulegium*, *L. angustifolia*, *T. algeriensis*, *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *R. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. officinalis*, *S. sclerea*, *S. triloba*, *S. montana*, *L. nobilis*<sup>1</sup>, *L. nobilis*<sup>2</sup>, *L. petersonii*, *L. scoparium*, *E. citradora*, *E. globulus*, *M. quinquenervia*<sup>1</sup>, *M. quinquenervia*<sup>2</sup>, *S. aromaticum*, *A. procera*, *P. douglasia* i *P. silvestris*, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *C. martinii*, *R. centifolia*, *C. aurantium*<sup>N</sup>, *C. limon*, *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup>) i 22 etarska ulja sa MIK vrednostima između 1-10 mg/ml, umereno efikasna (*C. odorata*, *F. vulgare*, *P. anisum*, *P. sativa*, *M. recutita*<sup>1</sup>, *M. recutita*<sup>2</sup>, *B. carterii*<sup>1</sup>, *B. carterii*<sup>2</sup>, *C. luzonicum*, *C. myrrha*, *J. communis*<sup>1</sup>, *J. communis*<sup>2</sup>, *J. communis*<sup>3</sup>, *J. virginiana*, *G. fragrantissima*, *H. italicum*<sup>1</sup>, *H. italicum*<sup>2</sup>, *M. alternifolia*<sup>1</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *A. grandis*, *A. alba*, *P.*

*nigrum*<sup>C</sup>). Uprkos većoj otpornosti gljiva u odnosu na bakterije, u ispitivanju antifungalne aktivnosti odabranih etarskih ulja MIK nisu prelazile koncentraciju od 10 mg/ml.

- Generalno, većina etarskih ulja pokazala je jači antifungalni nego antibakterijski potencijal.
- Svi testirani mikroorganizmi bili su osetljivi na prisustvo komercijalnih antibiotika i antimikotika, kao i preparata za higijenu usne duplje Hexoral<sup>®</sup> i Curasept<sup>®</sup>.
- Korišćenjem bioautografske TLC metode *in vitro*, sva testirana etarska ulja i komponente pokazali su antimikrobnu aktivnost. Prikazane su mogućnosti i potencijali bioautografske metode na TLC pločama za brzo i efikasno detektovanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja kao i njihovih pojedinačnih komponenti odgovornih za antimikrobnu aktivnost.
- Rezultati ispitivanja antimikrobnog potencijala ozona i koloidnog rastvora srebrne vode pokazuju dodatne prednosti u redukciji broja mikroorganizama, glavnih uzročnika bolesti usne duplje (*S. mutans* (IBR S001) i *C. albicans* (MH1)).
- Etarska ulja *L. petersonii*, *P. graveolens* i *C. aurantium* spp. *aurantium*<sup>PG</sup> pokazala su značajan inhibitorski efekat na ćelije *C. albicans*, dovodeći do značajnih promena na površini ćelijske membrane. Skening elektronskom mikroskopijom uočene su mikromorfološke promene nastale nakon izlaganja *C. albicans* uticaju etarskih ulja. Na osnovu SEM mikrografija ustanovljen je potencijalni mehanizam dejstva ispitivanih etarskih ulja na ćelije *C. albicans*.
- Radi nastavka istraživanja, izdvojena su sledeća etarska ulja zbog svog jakog antimikrobnog potencijala *C. limon*, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha*.
- Analiza rezultata međusobne interakcije etarskih ulja *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *C. limon* i *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima* i *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia* i *L. petersonii* kao i *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha* pokazala je da pomenute kombinacije ispoljavaju sinergističko, aditivno i antagonističko dejstvo.
- Na osnovu rezultata ispitivanja antiquorum sensing aktivnosti odabranih etarskih ulja možemo zaključiti da sva etarska ulja inhibiraju quorum sensing zavisne porocese (kretanje, produkciju piocijanina kao i sposobnost formiranja biofilma) na model organizmu *P. aeruginosa* PAO1. Ovi rezultati ukazuju na mehanizam dejstva etarskih ulja i ukazuju na potencijalni način primene ovih prirodnih produkata na rezistentne sojeve.

- Odabrana etarska ulja pokazala su izrazito jak efekat na proces formiranja biofilma kod *S. mutans* i *C. albicans* u minimalnim inhibitornim i sub-inhibitornim koncentracijama, što svakako povećava potencijalnu primenu prirodnih produkata u farmaciji, medicini, veterini i poljoprivredi.
- Kvantifikacijom stepena citotoksičnosti odabranih etarskih ulja, utvrđeno je da ona ispoljavaju izvesno dejstvo na kancerogene, ali često i na nekancerogene ćelijske linije, pa je potrebna posebna opreznost pri njihovoj eventualnoj primeni.

Ukupni biopotencijal ispitivanih etarskih ulja na osnovu hemijskog sastava i biološke aktivnosti izdvaja etarska ulja *C. limon*, *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *M. alternifolia*<sup>2</sup>, *T. vulgaris*, *T. algeriensis*, *T. serpyllum*, *G. fragrantissima*, *P. graveolens*, *C. limon*, *R. centifolia*, *L. petersonii*, *S. montana*, *C. martinii* i *C. myrrha*, a posebno kombinaciju *P. nigrum*<sup>Z</sup>, *C. limon* i *M. alternifolia*<sup>2</sup> kao najpotentniju u izradi fitopreparata koji bi se koristio u profilaksi i terapiji oralnih oboljenja.

## 8. Literatura:

1. Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., Chihib, N.E., 2014. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Arch. Microbiol.* 196, 453–472.
2. Abu-Darwish, M.S., Al-Ramamneh, E.A.-D.M., Kyslychenko, V.S., Karpiuk, U.V., 2012. The antimicrobial activity of essential oils and extracts of some medicinal plants grown in Ash-shoubak region - South of Jordan. *Pak. J. Pharm. Sci.* 25, 239–46.
3. Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., 1998. Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *J. Agric. Food Chem.* 8561, 1739–1745. doi:10.1021/jf9708296
4. Adams, R.P., 2008. *Juniperus* of the World: The genus *Juniperus*, 2nd edition. Vancouver, Canada.
5. Adams, R.P., Kauffmann, M., Callahan, F., 2015. The leaf essential oil of *Abies grandis*. *Phytologia*, 97, 1–5.
6. Aggag, M.E., Yousef, R.T., 1972. Study of antimicrobial activity of chamomile oil. *Planta Med.* 22, 140–144.
7. Aguiar, G.P., Carvalho, C.E., Dias, H.J., Reis, E.B., Groppo, M., Cunha, W.R., 2012. Antimicrobial activity of selected essential oils against cariogenic bacteria. *Nat. Prod. Res.* 1–5.
8. Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B.H., Farooq, S., Ali, M., Khan, M.A., 2012. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2, 1945–1953.
9. Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R., Conchello, P., 2012. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Res. Int.* 45, 313–319.
10. Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R., Conchello, P., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *J. Sci. Food Agric.* 91, 2643–51.
11. Akpan, A., Morgan, R., 2002. Oral candidiasis. *Postgrad. Med. J.* 455–459.
12. Al-Bayati, F.A., 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *J. Ethnopharmacol.* 116, 403–406.
13. Albougy, H.A., Naidoo, S., 2002. A systematic review of the management of oral candidiasis associated with HIV/AIDS. *SADJ* 57, 457–466.



14. Ali, I.B.E., Zaouali, Y., Bejaoui, A., Boussaid, M., 2010. Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chem. Biodivers.* 7, 1276–1289.
15. Al-Kalaldehy, J.Z., Abu-Dahab, R., Afifi, F.U., 2010. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutr. Res.* 30, 271–278.
16. Alma, M.H., Ertaş, M., Nitz, S., Kollmannsberger, H., 2007. Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). *BioResources* 2, 265–269.
17. Al-Radha, A.S.D., Younes, C., Diab, B.S., Jenkinson, H.F., n.d. Essential oils and zirconia dental implant materials. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 28, 1497–505.
18. Al-snafi, A.L.I.E., 2014. The pharmacological importance of *Anethum graveolens*. A review. *Academic Sciences.* 6, 13–15.
19. Alviano, D.S., Alviano, C.S., 2009. Plant extracts: search for new alternatives to treat microbial diseases. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 10, 106–121.
20. Amaral-Lopes, S., Moura, A., 2012. Neonatal fungal sepsis by *Candida krusei*: A report of three cases and a literature review. *Med. Mycol. Case Rep.* 1, 24–26.
21. Andrade, M. T., Conti B.F., Santiago, B.J., Fernandes, K.B., Sforcin, J.M., 2014. *Cymbopogon martinii* essential oil and geraniol at noncytotoxic concentrations exerted immunomodulatory/anti-inflammatory effects in human monocytes. *J. Pharm. Pharmacol.* 66, 1491–1496.
22. Angioni, A., Barra, A., Arlorio, M., Coisson, J.D., Russo, M.T., Pirisi, F.M., Satta, M., Cabras, P., 2003a. Chemical composition, plant genetic differences, and antifungal activity of the essential oil of *Helichrysum italicum* G. Don ssp. *microphyllum* (Willd) Nym. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1030–1034.
23. Angioni, A., Barra, A., Russo, M.T., Coroneo, V., Dessí, S., Cabras, P., 2003b. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3073–3078.
24. Antony, M., Menon, D., James, J., Dev, L., K, A., V, T., 2011. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Alstonia scholaris*. *Pharmacogn. J.* 3, 13–18.
25. Applequist, W.L., Moerman, D.E., 2011. Yarrow (*Achillea millefolium* L.): A Neglected Panacea? A Review of Ethnobotany, Bioactivity, and Biomedical Research. *Econ. Bot.* 65, 209-255.
26. Arana, I., Santorum, P., Muela, A., Barcina, I., 1999. Chlorination and ozonation of waste-water: Comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes. *J. Appl. Microbiol.* 86, 883–888.

27. Auffray, B., 2007. Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using *Commiphora myrrha* essential oil. *Int. J. Cosmet. Sci.* 29, 23–29.
28. Awadh Ali, N. a, Wurster, M., Arnold, N., Teichert, a, Schmidt, J., Lindequist, U., Wessjohan, L., 2008. Chemical composition and biological activities of essential oils from the oleogum resins of three endemic soqotraen *Boswellia* species. *Rec.Nat.Prod.* 2, 6–12.
29. Azarpazhooh, A., Limeback, H., 2008. The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. *J. Dent.* 36, 104-16.
30. Babili, F. El, Bouajila, J., Souchar, J.P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Moulis, C., Valentin, A., 2011. *Oregano*: Chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *J. Food Sci.* 76, 512–518.
31. Babu, D.J., Diwakar, T., Prabhakar, K. V, 2012. Investigation of the Potential Antibiofilm Activities of Plant Extracts. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 4.
32. Bağci, E., Diğrak, M., 1996. Antimicrobial activity of essential oils of some *Abies* (fir) species from Turkey. *Flavour Fragr. J.* 11, 251–256.
33. Baillie, G.S., Douglas, L.J., 1999. *Candida* biofilms and their susceptibility to antifungal agents. *Methods Enzymol.* 310, 644–656.
34. Bajpai, V.K., Rahman, A., Kang, S.C., 2008. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 125, 117–122.
35. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446–75.
36. Balacs, T, 1997. Cineole-rich eucalyptus. *Int. J. Aromather.* 6, 24-28.
37. Balakumar, S., Rajan, S., Thirunalasundari, T., Jeeva, S., 2011. Antifungal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Lamiaceae) on clinically isolated dermatophytic fungi. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 4, 654–657.
38. Bandi, A.K.R., Lee, D.U., Tih, R.G., Gunasekar, D., Bodo, B., 2012. Phytochemical and biological studies of *Ochna* species. *Chem. Biodivers.* 9, 251–271.
39. Bantawa, P., Das, A., Ghosh, P.D., Mondal, T.K., 2011. Detection of natural genetic diversity of *Gaultheria fragrantissima* landraces by RAPDs: An endangered woody oil bearing plant of Indo-China Himalayas. *Indian J. Biotechnol.* 10, 294–300.
40. Barben, J., Schmid, J., 2008. Dental units as infection sources of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. Respir. J.*

41. Barreto, H.M., Silva Filho, E.C., Lima, E. de O., Coutinho, H.D.M., Morais-Braga, M.F.B., Tavares, C.C.A., Tintino, S.R., Rego, J. V., de Abreu, A.P.L., Lustosa, M. do C.G., Oliveira, R.W.G., Citó, A.M.G.L., Lopes, J.A.D., 2014. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. Ind. Crops Prod. 59, 290–294.
42. Barton, G.M., 1972. New C-methylflavanones from Douglas-fir. Phytochemistry.
43. Basak, S.S., Candan, F., 2013. Effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and its main components on  $\alpha$ -glucosidase and reactive oxygen species scavenging activity. Iran. J. Pharm. Res. 12, 367–379.
44. Başer, K.H.C., Demirci, B., Dekebo, A., Dagne, E., 2003. Essential oils of some *Boswellia* spp., *myrrh* and *opopanax*. Flavour Fragr. J. 18, 153–156.
45. Bassett, I.B., Pannowitz, D.L., Barnetson, R.S.C., 1990. A comparative study of tea-tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acne. Med. J. Aust. 153, 455–458.
46. Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2010. Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. Molecules 15, 7825–7839.
47. Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R., 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules 17, 3989–4006.
48. Batish, D.R., Singh, H.P., Setia, N., Kaur, S., Kohli, R.K., 2006a. Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oil from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*. Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci. 61, 465–471.
49. Batish, D.R., Singh, H.P., Setia, N., Kaur, S., Kohli, R.K., 2006b. Chemical composition and inhibitory activity of essential oil from decaying leaves of *Eucalyptus citriodora*. Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci. 61, 52–56.
50. Bauer, K., Garbe, D., Surburg, H., 2001. Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley-VCH, Weinheim, p. 293, n.d.
51. Baysan, A., Lynch, E., 2005. The Use of Ozone in Dentistry and Medicine. Prim. Dent. Care 12, 47–52.
52. Begum, A., Sandhya, S., Ali, S.S., Vinod, K.R., Reddy, S., Banji, D., 2013. An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (lamiaceae). Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 12, 61–73.

53. Belletti, N., Kamdem, S.S., Tabanelli, G., Lanciotti, R., Gardini, F., 2010. Modeling of combined effects of citral, linalool and  $\alpha$ -pinene used against *Saccharomyces cerevisiae* in citrus-based beverages subjected to a mild heat treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 136, 283–289.
54. Ben Hsouna, A., Hamdi, N., Miladi, R., Abdelkafi, S., 2014. *Myrtus communis* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activities against food spoilage pathogens. *Chem. Biodivers.* 11, 571–580.
55. Benedek, B., Kopp, B., 2007. *Achillea millefolium* L. revisited: Recent findings confirm the traditional use. *Wiener Medizinische Wochenschrift.* 157, 312-4.
56. Benencia, F., Courrèges, M.C., 1999. Antiviral activity of sandalwood oil against herpes simplex viruses-1 and -2. *Phytomedicine* 6, 119–123.
57. Betts, T.J., 2001. Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *J. Chromatogr. A.* 936, 33-46.
58. Beyki, M., Zhavah, S., Khalili, S.T., Rahmani-Cherati, T., Abollahi, A., Bayat, M., Tabatabaei, M., Mohsenifar, A., 2014. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Ind. Crops Prod.* 54, 310–319.
59. Berry, M., 1995. The chamomiles. *Pharm. J.* 254, 191–193.
60. Bezirtzoglou, E., Cretoiu, S.M., Moldoveanu, M., Alexopoulos, A., Lazar, V., Nakou, M., 2008. A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. *J. Dent.* 36, 600–605.
61. Bigos, M., Wasiela, M., Kalembe, D., Sienkiewicz, M., 2012. Antimicrobial activity of geranium oil against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 17, 10276–10291.
62. Blaser, M., 2011. Antibiotic overuse: Stop the killing of beneficial bacteria. *Nature* 476, 393–394.
63. Borris, R.P., 1996. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.* 51, 29–38.
64. Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L.M.I., Hmamouchi, M., 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *J. Ethnopharmacol.* 89, 165–169.
65. Boukhatem, M.N., Kameli, A., Saidi, F., 2013. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. *Food Control* 34, 208–213.

66. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7879–7885.
67. Braga, P.C., Culici, M., Alfieri, M., Dal Sasso, M., 2008. Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. *Int. J. Antimicrob. Agents* 31, 472–477.
68. Bragg, P.D., Rainnie, D.J., 1974. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 20, 883–889.
69. Brauncajs, M., Krzemiński, Z., Sakowska, D., 2004. Comparison of bacterial flora in the oral cavity of children and adults. *Med. Dosw. Mikrobiol.* 56, 365–369.
70. Bremnes, L., 1994. *Herbs. Eyewitness-Handbooks*, DK Publishing, New York.
71. Briard, B., Bomme, P., Lechner, B.E., Mislin, G.L.A., Lair, V., Prévost, M.-C., Latgé, J.-P., Haas, H., Beauvais, A., 2015. *Pseudomonas aeruginosa* manipulates redox and iron homeostasis of its microbiota partner *Aspergillus fumigatus* via phenazines. *Sci. Rep.* 5, 8220.
72. Brokl, M., Fauconnier, M.L., Benini, C., Lognay, G., Du Jardin, P., Focant, J.F., 2013. Improvement of ylang-ylang essential oil characterization by GC×GC-TOFMS. *Molecules* 18, 1783–1797.
73. Brophy, J.J., Davies, N.W., Southwell, I.A., Stiff, I.A., Williams, L.R., 1989. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). *J. Agric. Food Chem.* 37, 1330–1335.
74. Brunke, S., Hube, B., 2013. Two unlike cousins: *Candida albicans* and *C. glabrata* infection strategies. *Cell. Microbiol.* 15, 701–708.
75. Burdock, G.A., Carabin, I.G., 2008. Safety assessment of Ylang-Ylang (*Cananga* spp.) as a food ingredient. *Food Chem. Toxicol.* 46, 433–45.
76. Burke, Y.D., Stark, M.J., Roach, S.L., Sen, S.E., Crowell, P.L., 1997. Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids* 32, 151–156.
77. Burrows, L.L., 2012. Twitching Motility: Type IV Pili in Action. *Annu. Rev. Microbiol.* 66, 493–520.
78. Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–53.
79. Burt, S.A., Van Der Zee, R., Koets, A.P., De Graaff, A.M., Van Knapen, F., Gastra, W., Haagsman, H.P., Veldhuizen, E.J.A., 2007. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 4484–4490.
80. Burton, J.P., Wescombe, P.A., Moore, C.J., Chilcott, C.N., Tagg, J.R., 2006. Safety Assessment of the Oral Cavity Probiotic *Streptococcus salivarius* K12. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 3050–3053.

81. Butkiene, R., Nivinskiene, O., Mockute, D., 2009. Two chemotypes of essential oils produced by the same *Juniperus communis* L. growing wild in Lithuania. *Chemija* 20, 195–201.
82. Calhelha, R.C., Falcão, S., Queiroz, M.J.R.P., Vilas-Boas, M., Ferreira, I.C.F.R., 2014. Cytotoxicity of Portuguese Propolis: The Proximity of the *In Vitro* Doses for Tumor and Normal Cell Lines. *Biomed Res. Int.* 2014, 1–7.
83. Camarda, L., Dayton, T., Di Stefano, V., Pitonzo, R., Schillaci, D., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia* spp. (Burseraceae). *Ann. Chim.* 97, 837–844.
84. Canales, M., Hernández, T., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Avila, G., Duran, A., Lira, R., 2005. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México. *J. Ethnopharmacol.* 97, 429–39.
85. Čančarević, A., Bugarski, B., Šavikin, K., Zdunić, G. 2013. Biološka aktivnost vrsta *Thymus vulgaris* i *Thymus serpyllum* i njihovo korišćenje u etnomedicini. *Lek. Sir.* 33, 3-17.
86. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat, H.A., 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.* 87, 215–220.
87. Carlsson, J., 1968. A numerical taxonomic study of human oral streptococci. *Odontol. Revy* 19, 137–160.
88. Carneiro de Barros, J., Lúcia da Conceição, M., Gomes Neto, N.J., Vieira da Costa, A.C., Siqueira, J.P., Basílio, I.D., Leite de Souza, E., 2009. Interference of *Origanum vulgare* L. essential oil on the growth and some physiological characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1139–1143.
89. Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Durantou, B., Gosse, F., Seiler, N., Raul, F., 2001. Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 298, 197–200.
90. Carson, C.F., Mee, B.J., Riley, T. V., 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 1914–1920.
91. Carson, C.F., Hammer, K.A., Riley, T. V., 2006. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin. Microbiol. Rev.* 1, 50–62.
92. Casadevall, A., Fang, F.C., 2010. Reproducible science. *Infect. Immun.* 78, 4972-4975.
93. Cassella, S., Cassella, J.P., Smith, I., 2002. Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *Int. J. Aromather.* 12, 2–15.



94. Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A., Bešta, R., 2008. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chem.* 111, 648–653.
95. Ccahuana-Vasquez, R.A., Santos, S.S.F. dos, Koga-Ito, C.Y., Jorge, A.O.C., n.d. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. *Braz. Oral Res.* 21, 46–50.
96. Cecchini, C., Silvi, S., Cresci, A., Piciotti, A., Caprioli, G., Papa, F., Sagratini, G., Vittori, S., Maggi, F., 2012. Antimicrobial Efficacy of *Achillea ligustica* All. (Asteraceae) Essential Oils against Reference and Isolated Oral Microorganisms. *Chem. Biodivers.* 9, 12–24.
97. Celiktas, O.Y., Kocabas, E.E.H.E.H., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T., Baser, K.H.C.H.C., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 100, 553–559.
98. Chalchat, J.C., Chabard, J.L., Gorunovic, M.S., Djermanovic, V., Bulatovic, V., 1995. Oils from the Montenegro Coast and East Coast of Spain. *J. Essent. Oil Res.* 7, 147-152.
99. Chalchat, J.-C., Garry, R.-P., Michet, A., 1997. L. Essential Oil of *Mentha piperita* during the Growing Time. *J. Essent. Oil Res.* 9, 463–465
100. Charles, C.H., Pan, P.C., Sturdivant, L., Vincent, J.W., 2000. In Vivo Antimicrobial Activity of an Essential Oil-Containing Mouthrinse on Interproximal Plaque Bacteria. *J. Clin. Dent.* 11, 94–97.
101. Chaudhry, N.M., Tariq, P., 2006. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. *Pakistan J. Pharm. Sci.* 19, 214–218.
102. Chen, C.C., Louie, S., Hai, N.S., Walker, W.A., 2005. Preinoculation with the probiotic *Lactobacillus acidophilus* early in life effectively inhibits murine *Citrobacter rodentium* colitis. *Pediatr. Res.* 58, 1185–1191.
103. Chen, W.X., Dou, H.G., Ge, C., Li, C.F., 2011. Comparison of Volatile Compounds in Pepper (*Piper nigrum* L.) by Simultaneous Distillation Extraction (SDE) and GC-MS. *Adv. Mater. Res.* 236, 2643-2646.
104. Chen, Y., Zhou, C., Ge, Z., Liu, Y., Liu, Y., Feng, W., Li, S., Chen, G., Wei, T., 2013. Composition and potential anticancer activities of essential oils obtained from myrrh and frankincense. *Oncol. Lett.* 6, 1140–1146.
105. Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B.J.J., 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytol.* 157, 503-523.
106. Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern? *J. Antimicrob. Chemother.* 59, 587–590.



107. Christensen, L.P., Brandt, K., 2006. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 683-693.
108. Christoph, F., Kaulfers, P.M., Stahl-Biskup, E., 2000. A comparative study of the *in vitro* antimicrobial activity of tea tree oils s.l. with special reference to the activity of beta-triketones. *Planta Med.* 66, 556-60.
109. Christoph, F., Kaulfers, P.M., Stahl-Biskup, E., 2001. *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of beta-triketones admixed to *Melaleuca* oils. *Planta Med.* 67, 768-771.
110. Cinco, M., Banfi, E., Tubaro, A., Loggia, R. Della, 1983. A Microbiological Survey on the Activity of a Hydroalcoholic Extract of Camomile. *Pharm. Biol.* 21, 145-151.
111. Conde, L. F. 1979. Growth studies in natural stands of *Melaleuca quinquenervia* and *Casuarina equisetifolia* in south Florida. Unpublished Final Report, Supplement 30 to Contract A8fs-9,961. University of Florida, School of Forest Resources and Conservation, n.d.
112. Conway, D., 2009. Oral health, mouthwashes and cancer--what is the story? *Evid. Based. Dent.* 10, 6-7.
113. Corre, J., Lucchini, J.J., Mercier, G.M., Cremieux, A., 1990. Antibacterial activity of phenethyl alcohol and resulting membrane alterations. *Res. Microbiol.* 141, 483-497.
114. Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F., 1999. *In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 29, 130-135.
115. Ćosić, J., Vrandečić, K., Postić, J., Jurković, D., Ravlić, M., 2010. *In Vitro* Antifungal Activity of Essential Oils on Growth of Phytopathogenic Fungi, 25-28.
116. Costelloe, C., Metcalfe, C., Lovering, A., Mant, D., Hay, A.D., 2010. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 18, 340.
117. Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., 2001. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Microbiol.* 91, 492-497.
118. Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., Wyllie, S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88, 170-175.
119. Cristofari, G., Znini, M., Majidi, L., Costa, J., Hammouti, B., Paolini, J., 2012. *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* essential oil as environmentally friendly inhibitor on the corrosion of mil steel in hydrochloric acid. *Int. J. Electrochem. Sci.* 7, 9024-9041.
120. Cvetkovic, A., Ivanovic, M., 2006. The role of *Streptococcus mutans* group and salivary immunoglobulins in etiology of early childhood caries. *Stomatol. Glas. Srb.* 53, 113-123.

121. D'Arrigo, M., Ginestra, G., Mandalari, G., Furneri, P.M., Bisignano, G., 2010. Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine* 17, 317–322.
122. D'Auria, F.D., Laino, L., Strippoli, V., Tecca, M., Salvatore, G., Battinelli, L., Mazzanti, G., 2001. *In vitro* activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. *J. Chemother.* 13, 377–383.
123. D'Auria, F.D., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., Mazzanti, G., 2005. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med. Mycol.* 43, 391–396.
124. Da Silva-Rocha, W.P., Lemos, V.L.D.B., Svidizisnki, T.I.E., Milan, E.P., Chaves, G.M., 2014. *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. *BMC Oral Health* 14, 20.
125. Dadalioglu, I., Evrendilek, G.A., 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 52, 8255–8260.
126. Dagli, N., Dagli R., 2014. Possible use of essential oils in dentistry. *J. Int. Oral Health*, 6, 1-2.
127. Dahlen, G., Blomqvist, S., Almståhl, A., Carlén, A., 2012. Virulence factors and antibiotic susceptibility in enterococci isolated from oral mucosal and deep infections. *J. Oral Microbiol.* 4.
128. Damjanović-Vratnica, B., Perović, A., Šuković, D., Perović, S., 2011. Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L. *Arch. Biol. Sci.* 63, 1173–1179.
129. Dandekar, A. a, Greenberg, E.P., 2013. Microbiology: Plan B for quorum sensing. *Nat. Chem. Biol.* 9, 292–3.
130. Daniels, R., De Vos, D.E., Desair, J., Raedschelders, G., Luyten, E., Rosemeyer, V., Verreth, C., 2002. The cin quorum sensing locus of *Rhizobium etli* CNPAF512 affects growth and symbiotic nitrogen fixation. *J. Biol. Chem.* 277, 462–468.
131. De Oliveira, T.L.C., de Araújo Soares, R., Ramos, E.M., das Graças Cardoso, M., Alves, E., Piccoli, R.H., 2011. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.* 144, 546–555.

132. De Rapper, S., Kamatou, G., Viljoen, A., Van Vuuren, S., 2013. The *in vitro* antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aroma-therapeutic oils. Evidence-based Complement. Altern. Med. 1-10.
133. De Smet, P.A., 1997. The role of plant-derived drugs and herbal medicines in healthcare. Drugs 54, 801–840.
134. De Stoppelaar, J.D., Van Houte, J., Backer Dirks, O., 1969. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res. 3, 190–199.
135. De, M., De, A.K., Sen, P., Banerjee, A.B., 2002. Antimicrobial properties of Star anise (*Illicium verum* Hook f). Phyther. Res. 16, 94–95.
136. Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. J. Food Microbiol. 74, 101–109.
137. Demuner, A.J., Barbosa, L.C.A., Magalhaes, C.G., Da Silva, C.J., Maltha, C.R.A., Pinheiro, A.L., 2011. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (Myrtaceae) grown in Brazil. Molecules 16, 1181–1191.
138. Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, a, 2009. Chemical composition and antibacterial activity of Leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Aust. J. Basic Appl. Sci. 3, 3818–3824.
139. Dias, M.I., Barros, L., Dueñas, M., Pereira, E., Carvalho, A.M., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., 2013. Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction. Food Chem. 141, 4152–4160.
140. Djenane, D., Yanguela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N., Roncales, P., 2011. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. Food Sci. Technol. Int. 17, 505-15.
141. Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., Roncalés, P., 2011. Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. Food Control 22, 1046–1053.
142. Djenane, D., Aïder, M., Yangüela, J., Idir, L., Gómez, D., Roncalés, P., 2012. Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E.*

- coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Sci.* 92, 667–74.
143. Dorman, H.J.D., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88, 308–316.
  144. Droby, S., Eick, a., Macarisin, D., Cohen, L., Rafael, G., Stange, R., McColum, G., Dudai, N., Nasser, a., Wisniewski, M., Shapira, R., 2008. Role of citrus volatiles in host recognition, germination and growth of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 386–396.
  145. Duarte, M.C.T., Leme, E.E., Delarmelina, C., Soares, A.A., Figueira, G.M., Sartoratto, A., 2007. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *J. Ethnopharmacol.* 111, 197–201.
  146. Dufour, D., Leung, V., Lévesque, C.M., 2010. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endod. Top.* 22, 2–16.
  147. Duke, S.O., Dayan, F.E., Romagni, J.G., Rimando, A.M., 2000. Natural products as sources of herbicides: Current status and future trends. *Weed Res.* 40, 99–111.
  148. Dunkić, V., Bezić, N., Vuko, E., 2011. Antiphytoviral activity of essential oil from endemic species *Teucrium arduini*. *Nat. Prod. Commun.* 6, 1385–1388.
  149. Dunnell K., Cartwright A.. *Medicine Takers, Prescribers and Hoarders By* (Pp. 182; illustrated; £3·25.) Routledge and Kegan Paul: London. 1972., 1974. . *Psychol. Med.*
  150. Džamić, A., Soković, M., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D., 2008. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Arch. Biol. Sci.* 60, 233–237.
  151. Džamić, A.M., Soković, M.D., Novaković, M., Jadranin, M., Ristić, M.S., Tešević, V., Marin, P.D., 2013. Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. *pilifer* (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts. *Ind. Crops Prod.* 51, 401–407.
  152. Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M.S., Grujić, S.M., Mileski, K.S., Marin, P.D., 2013. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *J. Appl. Pharm. Sci.* 4, 1–5.
  153. Edwards-Jones, V., Buck, R., Shawcross, S.G., Dawson, M.M., Dunn, K., 2004. The effect of essential oils on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using a dressing model. *Burns* 30, 772–777.
  154. Ehsani, E., Akbari, K., Teimouri, M., Khadem, a, 2012. Chemical composition and antibacterial activity of two *Juniperus* species essential oils. *African J. Microbiol. Res.* 6, 6704–6710.

155. Elechiguerra, J.L., Burt, J.L., Morones, J.R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H.H., Yacaman, M.J., 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J. Nanobiotechnology* 3, 6.
156. El-Fouly, M.Z., Sharaf, A.M., Shahin, A.A.M., El-Bialy, H.A., Omara, A.M.A., 2015. Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 8, 36–48.
157. El-Shouny, W., Al-Baidani, A., Hamza, W., 2011. Antimicrobial Activity of Pyocyanin Produced by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Surgical Wound-Infections. *Int. J. Pharm. Med. Sci.* 1, 1–7.
158. Ennajar, M., Afloulous, S., Romdhane, M., Ibrahim, H., Cazaux, S., Abderraba, M., Raies, A., Bouajila, J., 2011. Influence of the Process, Season, and Origin on Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Juniperus phoenicea* L. Leaves Essential Oils. *J. Food Sci.* 76.
159. Espinosa-Cristóbal, L.F., Martínez-Castañón, G.A., Martínez-Martínez, R.E., Loyola-Rodríguez, J.P., N. Patiño-Marín, Reyes-Macías, J.F., Ruiz, F., 2009. Antibacterial effect of silver nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Mater. Lett.* 63, 2603–2606.
160. EUCAST, 2002. Reference Method for Determination of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) by Broth Dilution of Fermentative Yeasts. Discussion document E. Dis. 7.1 ESCAMID. Subcommittee of Antifungal Susceptibility Testing of the European Committee.
161. Fabio, A., Cermelli, C., Fabio, G., Nicoletti, P., Quaglio, P., 2007. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phyther. Res.* 21, 374–377.
162. Fachini-Queiroz, F.C., Kummer, R., Estevão-Silva, C.F., Carvalho, M.D.D.B., Cunha, J.M., Grespan, R., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2012. Effects of thymol and carvacrol, constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2012. 1-10.
163. Fani, M.M., Kohanteb, J., 2011. Inhibitory activity of *Cinnamon zeylanicum* and *Eucalyptus globulus* oils on *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida* species isolated from patients with oral infections. *Shiraz. Univ. Dent. J.* 11, 14–22.
164. Fatemeh Fathiazad, 2011. A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities. *African J. Microbiol. Res.* 5, 1959–1966.
165. Faudale, M., Viladomat, F., Bastida, J., Poli, F., Codina, C., 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible, and medicinal fennel from different Mediterranean countries. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1912–1920.
166. Ferrazzano, G.F., Roberto, L., Catania, M.R., Chiaviello, A., De Natale, A., Roscetto, E., Pinto, G., Pollio, A., Ingenito, A., Palumbo, G., 2013. Screening and scoring of antimicrobial and

- biological activities of italian vulnerary plants against major oral pathogenic bacteria. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2013.
167. Fidel, P.L., Vazquez, J. a, Sobel, J.D., 1999. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin. Microbiol. Rev. 12, 80–96.
168. Filipowicz, N., Kamiński, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M., Ochocka, J.R., 2003. Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. Phyther. Res. 17, 227–231.
169. Fine, D.H., Markowitz, K., Furgang, D., Goldsmith, D., Ricci-Nittel, D., Charles, C.H., Peng, P., Lynch, M.C., 2007. Effect of rinsing with an essential oil-containing mouthrinse on subgingival periodontopathogens. J. Periodontol. 78, 1935–1942.
170. Fong, I.W., Laurel, M., Burford-Mason, A., 1997. Asymptomatic oral carriage of *Candida albicans* in patients with HIV infection. Clin. Investig. Med. 20, 85–93.
171. Frank, M.B., Yang, Q., Osban, J., Azzarello, J.T., Saban, M.R., Saban, R., Ashley, R.A., Welter, J.C., Fung, K.-M., Lin, H.-K., 2009. Frankincense oil derived from *Boswellia carterii* induces tumor cell specific cytotoxicity. BMC Complement. Altern. Med. 9, 6.
172. Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Ricci, D., Epifano, F., Genovese, S., Curini, M., 2007. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja montana* from central Italy. Chem. Nat. Compd. 43, 622–624.
173. Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pisseri, F., Ebani, V.V., Pistelli, L., Pistelli, L., 2014. Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. Fitoterapia 96, 1–7.
174. Fukuyama, N., Ino, C., Suzuki, Y., Kobayashi, N., Hamamoto, H., Sekimizu, K., Orihara, Y., 2011. Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L. Nat. Prod. Res. 25, 1295–1303.
175. Gad, S.C., 2009. Alternatives to *In vivo* Studies in Toxicology, in: General and Applied Toxicology. John Wiley & Sons, Ltd.
176. Gaworski, C.L., Vollmuth, T.A., York, R.G., Heck, J.D., Aranyi, C., 1992. Developmental toxicity evaluation of inhaled citral in Sprague-Dawley rats. Food Chem. Toxicol. 30, 269–275.
177. Gaydou, E.M., Randriamiharisoa, R., Bianchini, J.-P., 1986. Composition of the essential oil of ylang-ylang (*Cananga odorata* hook fil. et Thomson forma genuina) from Madagascar. J. Agric. Food Chem. 34, 481–487.
178. Gaylor, R., Michel, J., Thierry, D., Panja, R., Fanja, F., Pascal, D., 2014. Bud, leaf and stem essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from Madagascar, Indonesia and Zanzibar. Int. J. Basic Appl. Sci. 3.



179. Gellatly, S.L., Hancock, R.E.W., 2013. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathog. Dis.* 67, 159–173.
180. Gameda, N., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., Debella, A., 2014. Effect of essential oils on *Aspergillus* spore germination, growth and mycotoxin production: a potential source of botanical food preservative. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4, S373–S381.
181. Gera, K., McIver, K.S., 2013. Laboratory Growth and Maintenance of *Streptococcus pyogenes* (The Group A *Streptococcus*, GAS), in: *Current Protocols in Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, pp. 9D.2.1–9D.2.13.
182. Gerson, L.W., 1972. Expectations of “sick role” exemptions for dental problems. *J. Can. Dent. Assoc. (Tor)*. 38, 370–372.
183. Ghazghazi, H., Chedia, A., Weslati, M., Trakhna, F., Houssine, S., Abderrazak, M., Brahim, H., 2013. Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activities of *Mentha pulegium* leaves extracts against foodborne pathogens. *J. Food Saf.* 33, 239–246.
184. Giweli, A.A., Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M.S., Marin, P.D., 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Cent. Eur. J. Biol.* 8, 504–511.
185. Glamočlija, J., Soković, M., Vukojević, J., Milenković, I., Brkić, D., Van, G., 2005. Antifungal activity of essential oil *Hyssopus officinalis* L. against micopathogen *Mycogone pernicioso* (Mang). *Zb. Matice Srp. za Prir. Nauk.* 188.
186. Glisic, S., Milojevic, S., Dimitrijevic, S., Orlovic, A., Skala, D., 2007. Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics. *J. Serbian Chem. Soc.* 72, 311–320.
187. Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., Nerín, C., 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chem.* 116, 982–989.
188. Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., Elseviers, M., 2005. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: A cross-national database study. *Lancet* 365, 579–587.
189. Godišnji izveštaj, 201. Istraživanje zdravlja stanovnika Republike Srbije. Ipsos Strategic Marketing, 1-53.
190. Gorunović, M., Lukić P. (2001): *Osnovi farmakognozije*, Momčilo Gorunović, Beograd., n.d.
191. Gresham, G.A., Whittle, C.H., 1962. Studies of the invasive, mycelial form of *Candida albicans*. *Med. Mycol.* 1, 30–33.



192. Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N., 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J.* 14, 322–332.
193. Groppo, F.C., Ramacciato, J.C., Simões, R.P., Flório, F.M., Sartoratto, A., 2002. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms, *International dental journal.* 52, 433-7.
194. Grzegorzczuk, I., Matkowski, A., Wysokińska, H., 2007. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chem.* 104, 536–541.
195. Guenther, E., 1948. *The Essential Oils.* D. Van Nostrand, New York, n.d.
196. Guerra, F., Mendes, J., 2013. Antibacterial activity of the essential oil of *Citrus limon* against multidrug resistant *Acinetobacter* strains. *Rev. Bras.* 94, 142–147.
197. Guesmi, F., Ben Ali, M., Barkaoui, T., Tahri, W., Mejri, M., Ben-Attia, M., Bellamine, H., Landoulsi, A., 2014. Effects of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) essential oil on healing gastric ulcers according to sex. *Lipids Health Dis.* 13, 138.
198. Gupta, P., Chauhan, N.S., Pande, M., Pathak, A., 2012. Phytochemical and pharmacological review on *Butea monosperma* (Palash) 3, 255–258.
199. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P., 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.* 124, 91–97.
200. Hahn, H.P., 1997. The type-4 pilus is the major virulence-associated adhesin of *Pseudomonas aeruginosa* - A review, in: *Gene.* pp. 99–108.
201. Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., Bakhrouf, A., H. Hajlaoui, N. Trabelsi, E. Noumi, M. Snoussi, H. Fallah, R. Ksouri, A.B., 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 2227–2238.
202. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V., 1996. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Am. J. Infect. Control* 24, 186–189.
203. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V., 1998. *In-vitro* activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. *J Antimicrob. Chemother* 42, 591–595.
204. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86, 985–990.

205. Hammer, K.A., Dry, L., Johnson, M., Michalak, E.M., Carson, C.F., Riley, T. V., 2003. Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in vitro. *Oral Microbiol. Immunol.* 18, 389–392.
206. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., 2004. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 53, 1081–1085.
207. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V., Nielsen, J.B., 2006. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food Chem. Toxicol.* 44, 616–625.
208. Hanel, H., Raether, W., 1988. A more sophisticated method of determining the fungicidal effect of water-insoluble preparations with a cell harvester, using miconazole as an example. *Mycoses* 31, 148–154.
209. Hanuš, L.O., Rosenthal, D., Řezanka, T., Dembitsky, V.M., Moussaief, A., 2008. Fast and easy GC/MS identification of myrrh resins. *Pharm. Chem. J.* 42, 719–720.
210. Hassiotis, C.N., 2010. Evaluation of essential oil antifungal activity against mycorrhizal fungi—the case of *Laurus nobilis* essential oil. *Isr. J. Ecol. Evol.* 56, 35–54.
211. Hassiotis, C.N., Lazari, D.M., Vlachonasios, K.E., 2010. The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolia* mill. *Fresenius Environ. Bull.* 19, 1491–1498.
212. Hassiotis, C.N., Tarantilis, P.A., Daferera, D., Polissiou, M.G., 2010. Etherio, a new variety of *Lavandula angustifolia* with improved essential oil production and composition from natural selected genotypes growing in Greece. *Ind. Crops Prod.* 32, 77–82.
213. Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., 2006. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem.* 54, 6314–6321.
214. Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., 2009. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem.* 116, 714–721.
215. Heather, N., Hassan, E., 2012. Efficacy of *Leptospermum petersonii* oil, on *Plutella xylostella*, and Its Parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *J. Econ. Entomol.* 105, 1379–1384.
216. Heinrich, M., Frei Haller, B., Leonti, M., 2014. A perspective on natural products research and ethnopharmacology in Mexico: The eagle and the serpent on the prickly pear cactus. *J. Nat. Prod.* 77, 678–689.
217. Hendrix, S.D., Trapp, E.J., 1989. Floral herbivory in *Pastinaca sativa* - Do compensatory responses offset reductions in fitness. *Evolution (N. Y.)* 43, 891–895.

218. Herman, A., Herman, A.P., Domagalska, B.W., Młynarczyk, A., 2013. Essential Oils and Herbal Extracts as Antimicrobial Agents in Cosmetic Emulsion. *Indian J. Microbiol.* 53, 232–237.
219. Herman, A., Młynarczyk, A., 2014. Essential oils and plant extracts with activity against oral microorganisms: prevention and treatment of oral diseases. *Isr. J. Plant Sci.* 1-10.
220. Hernández-Sierra, J.F., Ruiz, F., Cruz Pena, D.C., Martínez-Gutiérrez, F., Martínez, A.E., de Jesús Pozos Guillén, A., Tapia-Pérez, H., Martínez Castañón, G., 2008. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 4, 237–240.
221. Higgins, P.G., Coleman, K., Amyes, S.G., 2000. Bactericidal and bacteriostatic activity of gemifloxacin against *Acinetobacter* spp. *in vitro*. *J. Antimicrob. Chemother.* 45 Suppl 1, 71–77.
222. Hitchcock, C.A., Pye, G.W., Troke, P.F., Johnson, E.M., Warnock, D.W., 1993. Fluconazole resistance in *Candida glabrata*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 1962–1965.
223. Höferl, M., Stoilova, I., Schmidt, E., Wanner, J., Jirovetz, L., Trifonova, D., Krastev, L., Krastanov, A., 2014. Chemical composition and antioxidant properties of juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. *Antioxidants* 3, 81–98.
224. Holland, T.L., Arnold, C., Fowler, V.G., 2014. Clinical management of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a review. *Jama.* 312, 1330-1341.
225. Holmes, J., 2003. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology* 20, 106-114.
226. Hongratanaworakit, T., Buchbauer, C., 2004. Evaluation of the harmonizing effect of ylang-ylang oil on humans after inhalation. *Planta Med.* 70, 632–636.
227. Hood, J.R., Burton, D., Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M.A., 2009. Antifungal activity of *Leptospermum petersonii* oil volatiles against *Aspergillus* spp. *in vitro* and *in vivo*. *J. Antimicrob. Chemother.* 65, 285–288.
228. Hood, J.R., Burton, D.M., Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M.A., 2010. The effect of *Leptospermum petersonii* essential oil on *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Med. Mycol.* 48, 922–931.
229. Horne, D., Holm, M., Oberg, C., Chao, S., Young, D.G., 2001. Antimicrobial effects of essential oils on *Streptococcus pneumoniae*. *J. Essent. Oil Res.* 13, 387–392.
230. Horvathova, E., Sramková, M., Lábaj, J., Slamenová, D., 2006. Study of cytotoxic, genotoxic and DNA-protective effects of selected plant essential oils on human cells cultured *in vitro*. *Neuro Endocrinol. Lett.* 27 Suppl 2, 44–47.

231. Horvath, G., Jámbor, N., Végh, A., Böszörményi, A., Lemberkovics, É., Héthelyi, É., Kovács, K., Kocsis, B., 2010. Antimicrobial activity of essential oils: The possibilities of TLC-bioautography. *Flavour Fragr. J.* 25, 178–182.
232. Huang, S.H., Xian, J.D., Kong, S.Z., Li, Y.C., Xie, J.H., Lin, J., Chen, J.N., Wang, H.F., Su, Z.R., 2014. Insecticidal activity of pogostone against *Spodoptera litura* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* 70, 510–516.
233. Hunt, Richard S. 1993. *Abies*. Flora of North America Editorial Committee (eds.): Flora of North America North of Mexico, Vol. 2. Oxford University Press., n.d.
234. Hussain, A.I., Anwar, F., Chatha, S.A.S., Latif, S., Sherazi, S.T.H., Ahmad, A., Worthington, J., Sarker, S.D., 2013. Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 185–192.
235. Huth, K.C., Jakob, F.M., Saugel, B., Cappello, C., Paschos, E., Hollweck, R., Hickel, R., Brand, K., 2006. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur. J. Oral Sci.* 114, 435–440.
236. Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L., 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* 3, 1-10.
237. Inouye, S., Yamaguchi, H., Takizawa, T., 2001. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J. Infect. Chemother.* 7, 251–254.
238. International standards organization. Oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (tea tree). ISO 4730, 2004. n.d.
239. Iroha, I.R., Amadi, E.S., Orji, J.O., Esimone, C.O., 2008. *In vitro* evaluation of the activity of colloidal silver concentrate against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from postoperative wound infection. *Sci. Res. Essay* 3, 209–211.
240. Işcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, K.H.C., Demirci, F., 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3943–3946.
241. ISO 3526, 2005. Oil of sage, Spanish *Salvia lavandulifolia*, n.d.
242. Istraživanje zdravlja stanovnika republike srbije, Izvestaj 2013. Ipsos strategic marketing
243. Ivanović, M., Carević, M., Marković, D., 2011. Program for prevention in children and adolescents in Republic of Serbia. *Serbian Dental J.*, 36-44.
244. Jacobsen, I.D., Wilson, D., Wächtler, B., Brunke, S., Naglik, J.R., Hube, B., 2012. As a Therapeutic Target. *Talk. Democr.* 10, 85–93.
245. Jacqueline, C., Navas, D., Batard, E., Miegerville, A.F., Le Mabecque, V., Kergueris, M.F., Bugnon, D., Potel, G., Caillon, J., 2005. *In vitro* and *in vivo* synergistic activities of linezolid

- combined with subinhibitory concentrations of imipenem against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 49, 45–51.
246. Jagella, T., Grosch, W., 1999. Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.). Eur. Food Res. Technol. 209, 27-31.
247. Javed, S., Shoaib, A., Mahmood, Z., Mushtaq, S., Iftikhar, S., 2012. Analysis of phytochemical constituents of *Eucalyptus citriodora* L. responsible for antifungal activity against post-harvest fungi. Nat. Prod. Res. 26, 1732-1736.
248. Jeena, K., Liju, V.B., Kuttan, R., 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. Indian J. Physiol. Pharmacol. 57, 51–62.
249. Jeevan Ram, A., Bhakshu, L.M., Venkata Raju, R.R., 2004. *In vitro* antimicrobial activity of certain medicinal plants from Eastern Ghats, India, used for skin diseases. J. Ethnopharmacol. 90, 353–357.
250. Jeršek, B., Poklar Ulrih, N., Skrt, M., Gavarić, N., Božin, B., Smole Možina, S., 2014. Effects of selected essential oils on the growth and production of ochratoxin A by *Penicillium verrucosum*. Arch. Ind. Hyg. Toxicol. 65, 199-208.
251. Jianu, C., Pop, G., Gruia, A.T., Horhat, F.G., 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. Int. J. Agric. Biol. 15, 772–776.
252. Jing, L., Lei, Z., Li, L., Xie, R., Xi, W., Guan, Y., Sumner, L.W., Zhou, Z., 2014. Antifungal activity of citrus essential oils. J. Agric. Food Chem. 62, 3011–3033.
253. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Nikiforov, A., 1994. Comparative analysis of different dill herb and dill seed oils constituents by means of GC/FID and GC/MS. Ernährung/Nutrition. 18, 534-536.
254. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Albena S. Stoyanova, M., Georgiev, E.V., Damianova, S.T., (2003). Composition, Quality Control, and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Long-Time Stored Dill (*Anethum graveolens* L.) Seeds from Bulgaria J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 3854-3857.
255. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E. V, Damianova, S.T., 2003. Composition, quality control, and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. J. Agric. Food Chem. 51, 3854–3857.
256. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Denkova, Z., Slavchev, A., Stoyanova, A., Schmidt, E., 2006. Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of various *Salvia* sp . and *Thuja* sp . essential oils. Zusammensetzung, C., Geruchsbe. 30, 152–159.

257. Jitendra, J., Vineeta, T., Ashok, K., Brijesh, K., Singh, P., 2012. *Rosa ventifolia* .Plant Rev. 2, 794–796.
258. Johansson, E., Claesson, R., van Dijken, J.W. V, 2009. Antibacterial effect of ozone on cariogenic bacterial species. J. Dent. 37, 449–453.
259. Johnston, W.H., Karchesy, J.J., Constantine, G.H., Craig, A.M., 2001. Antimicrobial activity of some Pacific Northwest woods against anaerobic bacteria and yeast. Phytother. Res. 15, 586–588.
260. Jordán, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S., Sotomayor, J.A., 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Food Control 30, 463–468.
261. Joshi, R.K., 2013. Pulegone and menthone chemotypes of *Mentha spicata* Linn. from Western Ghats Region of North West Karnataka, India. Natl. Acad. Sci. Lett. 36, 349–352.
262. Jovanović, B., 1992. *Juniperus* L. U Sarić M. R. Flora Srbije, Beograd, SRJ. Srp. Akad. Nauk. Umet. 1.
263. Kačaniova, M., Vuković, N., Horská, E., Salamon, I., Bobková, A., Hleba, L., Fiskelová, M., Vatřák, A., Petrová, J., Bobko, M., 2014. Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. J. Environ. Sci. Health. B. 49, 505–512.
264. Kadambari, T. Neeraj, K.S., Abhilasha, S., Vijendra S., 2010. Isolation and characterization of total volatile components from leaves of *Citrus limon* Linn. J. Adv. Pharm. Technol. Res. 1, 49–55.
265. Kaim, J.M., Gultz, J., Do, L., Scherer, W., 1998. An *in vitro* investigation of the antimicrobial activity of an herbal mouthrinse. J. Clin. Dent. 9, 46–48.
266. Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., 2010. A review of the application and pharmacological properties of  $\alpha$ -bisabolol and  $\alpha$ -bisabolol-rich oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 87, 1-7.
267. Kaminskyj, S.G.W., Dahms, T.E.S., 2008. High spatial resolution surface imaging and analysis of fungal cells using SEM and AFM. Micron. 39, 349-361.
268. Kantheti, L.C., Reddy, B., Ravikumar, S., Anuradha, C., Chandrasekhar, P., Rajeswari, Mr., 2012. Isolation, identification, and carriage of candidal species in PHLAs and their correlation with immunological status in cases with and without HAART. J. Oral Maxillofac. Pathol. 16, 38.
269. Karaman, I., řahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., řengül, M., Adigüzel, A., 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. J. Ethnopharmacol. 85, 231–235.



270. Karatzas, A.K., Kets, E.P.W., Smid, E.J., Bennik, M.H.J., 2001. The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* Scott A. J. Appl. Microbiol. 90, 463–469.
271. Karuppusamy, S., Rajasekaran, K.M., 2009. High throughput antibacterial screening of plant extracts by resazurin redox with special reference to medicinal plants of Western Ghats. Glob. J. Pharmacol. 3, 63–68.
272. Katiyar, S., Pfaller, M., Edlind, T., 2006. *Candida albicans* and *Candida glabrata* clinical isolates exhibiting reduced echinocandin susceptibility. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 2892–2894.
273. Kaur, G.J., Arora, D.S., 2008. *In vitro* antibacterial activity of three plants belonging to the family Umbelliferae. Int. J. Antimicrob. Agents. 31, 393–395.
274. Kavanaugh, N.L., Ribbeck, K., 2012. Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 78, 4057–4061.
275. Kayaoglu, G., Ørstavik, D., 2004. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 15, 308–320.
276. Kearns, D.B., Robinson, J., Shimkets, L.J., 2001. *Pseudomonas aeruginosa* exhibits directed twitching motility up phosphatidylethanolamine gradients. J. Bacteriol. 183, 763–767.
277. Keifer, D., Ulbricht, C., Abrams, T.R., Basch, E., Giese, N., Giles, M., DeFranco Kirkwood, C., Miranda, M., Woods, J., 2007. Peppermint (*Mentha piperita*): an evidence-based systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. J. Herb. Pharmacother. 7, 91–143.
278. Kelly, D.J., 1998. The physiology and metabolism of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Adv. Microb. Physiol. 40, 137–189.
279. Kerekes, E.B., Deák, É., Takó, M., Tserennadmid, R., Petkovits, T., Vágvölgyi, C., Krisch, J., 2013. Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential oils and their main components on food-related micro-organisms. J. Appl. Microbiol. 115, 933–942.
280. Khadre, M. a, Yousef, a E., Kim, J.G., 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. J. Food Sci. 66, 1242–1252.
281. Khan, M.A., Shoaib-Ur-Rehman, 2005. Extraction and analysis of essential oil of *Rosa* species. Int. J. Agric. Biol. 7, 973–974.
282. Khodabakhsh, P., Shafaroodi, H., Asgarpanah, J., 2015. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrus aurantium* L. blossoms essential oil (neroli): involvement of the nitric oxide/cyclic-guanosine monophosphate pathway. J. Nat. Med. 69, 324–331.



283. Khosravi S.M., Mahmoodian, H., Moghadamnia, A., Poorsattar B.M.A., Chitsazan, M., 2011. The effect of Frankincense in the treatment of moderate plaque-induced gingivitis: a double blinded randomized clinical trial. *Daru* 19, 288–294.
284. Kim, J., Marshall, M.R., Wei, C., 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2839–2845.
285. Kim, K.J., Sung, W.S., Moon, S.K., Choi, J.S., Kim, J.G., Lee, D.G., 2008. Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 1482–1484.
286. Kim, S., Kim, H.-J., Yeo, J.-S., Hong, S.-J., Lee, J.-M., Jeon, Y., 2011. The effect of lavender oil on stress, bispectral index values, and needle insertion pain in volunteers. *J. Altern. Complement. Med.* 17, 823–826.
287. Kirui, J.K., Ngure, R., Bii, C., Karimi, P.N., Mutai, C., Amugune, B.K., 2014. Combined antibacterial and antifungal activities of *Eucalyptus citriodora* and *Syzygium aromaticum* essential oils. *African J. Pharm. Ther.* 3, 29–37.
288. Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E., Granqvist, C.G., 1999. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 13611–13614.
289. Koh, C.L., Sam, C.K., Yin, W.F., Tan, L.Y., Krishnan, T., Chong, Y.M., Chan, K.G., 2013. Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. *Sensors (Basel)* 13, 6217–6228.
290. Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Kustrak, D., 2005. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharm.* 55, 377–385.
291. Kosar, M., Tunalier, Z., Özek, T., Kürkcüoğlu, M., Baser, K.H.C., 2005. A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave-assisted hydrodistillation. *Zeitschrift für Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* 60, 501–504.
292. Kostić, I., Marković, T., Krnjajić, S., 2012. Sekretorne strukture aromatičnih biljaka sa posebnim osvrtom na strukture sa etarskim uljima, mesta sinteze ulja i njihove važnije funkcije. *Lekovite sirovine.* 32, 3-25.
293. Kovatcheva, N., Zheljazkov, V.D., Astatkie, T., 2011. Productivity, oil content, composition, and bioactivity of oil-bearing rose accessions. *HortScience* 46, 710–714.
294. Krishnan, T., Yin, W.F., Chan, K.G., 2012. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by ayurveda spice clove (*Syzygium aromaticum*) bud extract. *Sensors* 12, 4016–4030.
295. Kucharikova, S., Tournu, H., Lagrou, K., Van Dijck, P., Bujdakova, H., 2011. Detailed comparison of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms under different conditions and their susceptibility to caspofungin and anidulafungin. *J. Med. Microbiol.* 60, 1261–1269.

296. Kuete, V., 2010. Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: A review. *Planta Med.* 76, 1479-1491.
297. Kuhn, D.M., Mukherjee, P.K., Clark, T.A., Pujol, C., Chandra, J., Hajjeh, R.A., Warnock, D.W., Soll, D.R., Ghannoum, M.A., 2004. *Candida parapsilosis* characterization in an outbreak setting. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 1074–1081.
298. Kundaković, T., Stanojković, T., Kolundžija, B., Marković, S., Sukilović, B., Milenković, M., Lakušić, B. 2014. Cytotoxicity and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja montana* subsp. *pisidica* (Lamiaceae). *Nat. Prod. Commun.* 4, 569-72.
299. Kuramitsu, H.K., 1993. Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 4, 159–176.
300. Kwon, Y.S., Choi, W.G., Kim, W.J., Kim, W.K., Kim, M.J., Kang, W.H., Kim, C.M., 2002. Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. *Arch. Pharm. Res.* 25, 154–157.
301. Lako, B., 2013. Procena antimikrobnog i citotoksičnog potencijala etarskih ulja na endometrijum krava u uslovima *in vitro*. Doktorska disertacija.
302. Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., Nychas, G.J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91, 453–462.
303. Lambert, P. A., 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. R. Soc. Med.* 95 Suppl 4, 22–26.
304. Lansdown, A.B.G., 2002. Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action. *J. Wound Care* 11, 125–130.
305. Lawless, J., 2001. *The Eciklopedia of Essential oils*. Thorsons.
306. Lawrence, B.M., *Essential Oils*, 1976–1978, Allured Publishing Corporation, USA (1979).
307. Lee, S.-J., Han, J.-I., Lee, G.-S., Park, M.-J., Choi, I.-G., Na, K.-J., Jeung, E.-B., 2007. Antifungal effect of eugenol and nerolidol against *Microsporium gypseum* in a guinea pig model. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 184–188.
308. Lee, Y.S., Kim, J., Shin, S.C., Lee, S.G., Park, I.K., 2008. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour Fragr. J.* 23, 23–28.
309. Lee, J.-H., Park, J.-H., Cho, H.S., Joo, S.W., Cho, M.H., Lee, J., 2013. Anti-biofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling* 29, 491–499.
310. Lehrner, J., Marwinski, G., Lehr, S., Johren, P., Deecke, L., 2005. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiol. Behav.* 86, 92–95.

311. Lemos, J.A., Quivey, R.G., Koo, H., Abranches, J., 2013. *Streptococcus mutans*: A new Gram-positive paradigm? Microbiol. (United Kingdom) 159, 436–445.
312. Lesjak, M., 2011. Biopotencijal i hemijska karakterizacija ekstrakata i etarskih ulja vrsta roda *Juniperus* L. (Cupressaceae). Doktorska Disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine. Novi Sad, Srbija.
313. Li, W.-R., Xie, X.-B., Shi, Q.-S., Duan, S.-S., Ouyang, Y.-S., Chen, Y.-B., 2011. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. Biometals 24, 135–141.
314. Lichtenstein, J.C.M., Marvin, B., 1956. The *in vitro* antibacterial activity of oils. J. Am. Pharm. Assoc. 45, 378–381.
315. Lin, L., Cui, H., Zhou, H., Zhang, X., Bortolini, C., Chen, M., Liu, L., Dong, M., 2015. Nanoliposomes containing *Eucalyptus citriodora* as antibiotic with specific antimicrobial activity. Chem. Commun. 51, 2653–2655.
316. Lis-Balchin, M., Deans, S.G., Hart, S., 1996. Bioactivity of *Geranium* oils from different commercial sources. J. Essent. Oil Res. 8, 281-290.
317. Lis-Balchin, M., Hart, S.L., Deans, S.G., 2000. Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum scoparium* or Manuka and *Kunzea ericoides* or Kanuka), originating in Australia and New Zealand. Phyther. Res. 14, 623–629.
318. Lister, P.D., Wolter, D.J., Hanson, N.D., 2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistancemMechanisms. Clin. Microbiol. Rev. 22, 582–610.
319. Liu, L., Song, G., Hu, Y., 2007. GC–MS Analysis of the essential oils of *Piper nigrum* L. and *Piper longum* L. Chromatographia. 66, 785-790.
320. Liu, G.Y., 2009. Molecular pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Infection. Pediatr. Res. 65, 71R–77R.
321. Liu, X., Zu, Y., Fu, Y., Yao, L., Gu, C., Wang, W., Efferth, T., 2009. Antimicrobial activity and cytotoxicity towards cancer cells of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. Eur. Food Res. Technol. 229, 247–253.
322. Liu, W.R., Qiao, W.L., Liu, Z.Z., Wang, X.H., Jiang, R., Li, S.Y., Shi, R.B., She, G.M., 2013. *Gaultheria*: Phytochemical and pharmacological characteristics. Molecules 18, 12071-12108.
323. Liu, X.C., Li, Y.P., Li, H.Q., Deng, Z.W., Zhou, L., Liu, Z.L., Du, S.S., 2013. Identification of repellent and insecticidal constituents of the essential oil of *Artemisia rupestris* L. aerial parts against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. Molecules 18, 10733–10746.

324. Loesche W.J. Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 99., n.d.
325. Lu, M., Han, Z., Yao, L., 2013. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial efficacy of essential oils and individual compounds against *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. J. Appl. Microbiol. 115, 187–198.
326. Luqman, G.R., Dwivedi, M.P., Darokar, A., Kalra, S. P. K., 2008. Antimicrobial activity of *Eucalyptus citriodora* essential. Int. J. Essent. Oil Ther. 2, 69–75.
327. Lynch, E., 2008. Evidence-based caries reversal using ozone. J. Esthet. Restor. Dent. 20, 218-222.
328. MacKinnon, Andy; Jim Pojar and Ray Coupé (eds.). 1992. Plants of northern British Columbia. Vancouver, BC: Lone Pine., n.d. MacKinnon, Andy; Jim Pojar and Ray Coupé (eds.). 1992. Plants of northern British Columbia. Vancouver, BC: Lone Pine.
329. Mahady, G.B., Pendland, S.L., Stoia, A., Hamill, F.A., Fabricant, D., Dietz, B.M., Chadwick, L.R., 2005. *In vitro* susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. Phyther. Res. 19, 988–991.
330. Mahboubi, M., Haghi, G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J. Ethnopharmacol. 119, 325–327.
331. Maia, B.H.L.N.S., De Paula, J.R., Sant'Ana, J., Da Silva, M.F.D.G.F., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Costa, M.D.S.S., Ohashi, O.S., Silva, J.N.M., 2000. Essential oils of *Toona* and *Cedrela* species (Meliaceae): Taxonomic and ecological implications. J. Braz. Chem. Soc. 11, 629–639.
332. Maksimović, Z., Milenković, M., Vučićević, D., Ristić, M., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae) essential oil. Cent. Eur. J. Biol. 3, 149-154.
333. Malik, T., Singh, P., Pant, S., Chauhan, N., Lohani, H., 2011. Potentiation of antimicrobial activity of ciprofloxacin by *Pelargonium graveolens* essential oil against selected uropathogens. Phyther. Res. 25, 1225–1228.
334. Mallavarapu, G.R., Prakasa Rao, E.V.S., Ramesh, S., Narayana, M.R., 1993. Chemical and agronomical investigations of a new chemotype of geranium. J. Essent. Oil Res. 5, 433–438.
335. Manosroi, J., Dhumtanom, P., Manosroi, A., 2006. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. Cancer Lett. 235, 114–120.
336. Mansourian, A., Boojarpour, N., Ashnagar, S., Momen Beitollahi, J., Shamshiri, A.R., 2014. The comparative study of antifungal activity of *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum* and

- nystatin on *Candida albicans*; An *in vitro* study. J. Mycol. Médicale / J. Med. Mycol. 24, e163–e168.
337. Marin, P.M. Biohemijska i molekularna sistematika biljaka. 2003. NNK Internacional, Beograd, n.d.
338. Marković, T., 2011. Etarska ulja i njihova bezbedna primena. Naučna monografija. Institut za lekovito bilje “Dr Josif Pančić”
339. Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Scorciapino, A., 2005. Chemical composition of the essential oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. and of *Acorus calamus* L. J. Agric. Food Chem. 53, 7939–7943.
340. Martins, N., Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Silva, S., Henriques, M., 2014. Candidiasis: Predisposing factors, prevention, diagnosis and alternative treatment. Mycopathologia 177, 223–240.
341. Mastelić, J., Jerkovi, I., 2003. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glycoconjugated aroma compounds of seasonally collected *Satureja montana* L. Food Chem. 80, 135–140.
342. Mastelić, J., Politeo, O., Jerkovic, I., Radosevic, N., 2005. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. Chem. Nat. Compd. 41, 35–40.
343. Mastromatteo, M., Lucera, A., Sinigaglia, M., Corbo, M.R., 2009. Combined effects of thymol, carvacrol and temperature on the quality of non conventional poultry patties. Meat Sci. 83, 246–254.
344. Matejić, J.S., Džamić, A.M., Mihajilov-krstev, T., Randelović, V.N., Krivošej, Z.Đ., Marin, P.D., 2014. Antimicrobial potential of essential oil from *Pastinaca sativa* L. Biologica Nyssana 5, 31–35.
345. Máthé, I., Hohmann, J., Janicsák, G., Nagy, G., Dora, R., 2007. Chemical diversity of the biological active ingredients of *Salvia officinalis* and some closely related species. Acta Pharm. Hung. 77, 37–45.
346. Maudsley, F., Kerr, K.G., 1999. Microbiological safety of essential oils used in complementary therapies and the activity of these compounds against bacterial and fungal pathogens. Support. Care Cancer 7, 100–102.
347. Mazzanti, G., Battinelli, L., Salvatore, G., 1998. Antimicrobial properties of the linalol-rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. *vardecumbens* (Lamiaceae). Flavour Fragr. J. 13, 289–294.

348. McKay, D.L., Blumberg, J.B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phyther. Res.* 20, 519-530.
349. Mediouni B.J.J., Tersim, N., Toudert, K.T., Khouja, M.L., 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *J. Stored Prod. Res.* 48, 97–104.
350. Miguel, M.G., 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules* 15, 9252–87.
351. Miguel, M.G., Cruz, C., Faleiro, L., Simões, M.T.F., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., 2010. *Foeniculum vulgare* essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Nat. Prod. Commun.* 5, 319–328.
352. Miladi, H., Ben Slama, R., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., Ammar, E., 2013. Chemical composition and cytotoxic and antioxidant activities of *Satureja montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella* spp. strains. *J. Chem.* 2013, Article ID 275698.
353. Milosavljević, P. N., Veličković, T. D., Ranđelović, V. N. (2000). Antibacterial Activity and chemical composition of essential oil of savory (*Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff.). Proceeding of 6th Symposium on Flora of the Southeastern Serbia, Sokobanja, n.d.
354. Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Simin, N., 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2485–2489.
355. Mimica-Dukić, N., Božin, B., 2008. *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Curr. Pharm. Des.* 14, 3141–3150.
356. Mogana, R., Wiart, C., 2011. *Canarium* L.: A Phytochemical and Pharmacological Review. *J. Pharm. Res.* 4, 2482–2489.
357. Mohamed, A.A., Ali, S.I., EL-Baz, F.K., Hegazy, A.K., Kord, M.A., 2014. Chemical composition of essential oil and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Commiphora myrrha* resin. *Ind. Crops Prod.* 57, 10–16.
358. Mohandas, V., Ballal, M., 2011. Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: Biofilm formation, proteinase and phospholipase production: A study on hospitalized patients in Southern India. *J. Glob. Infect. Dis.* 3, 4.
359. Mohsenzadeh, M., 2007. Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10, 3693–3697.
360. Molander, A., Reit, C., Dahlén, G., Kvist, T., 1998. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.* 31, 1–7.



361. Molero, G., Dfcz-Orejas, R., Navarro-García, F., Monleoliva, L., Pla, J., Gil, C., Sánchez-Pérez, M., Nombela, C., 1998. *Candida albicans*: Genetics, dimorphism and pathogenicity. *Int. Microbiol.* 1, 95–106.
362. Moleyar, V., Narasimham, P., 1987. Detoxification of essential oil components (citral and menthol) by *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *J. Sci. Food Agric.* 39, 239–246.
363. Monajemi, R., Oryan, S., Haeri-roohani, A., 2005. Cytotoxic Effects of Essential Oils of Some Iranian Citrus Peels. *Iran. J. Pharm. Res.* 3, 183–187.
364. Monsef-esfahani, H.R., Amanzade, Y., Alhani, Z., Faramarzi, M.A., 2004. GC / MS analysis of *Citrus aurantium* L . hydrolate and its comparison with the commercial samples. *Iran. J. Pharm. Res.* 3, 177–179.
365. Morozumi, T., Kubota, T., Abe, D., Shimizu, T., Nohno, K., Yoshie, H., 2013. Microbiological effect of essential oils in combination with subgingival ultrasonic instrumentation and mouth rinsing in chronic periodontitis patients. *Int. J. Dent.* 146479.
366. Morris, A. Khettry, E.W.S., 1979. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56, 595–603.
367. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., 2003. Constituents of the Essential Oil of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. var. *molmol*. *J. Essent. Oil Res.* 15, 50–51.
368. Mulcahy, H., Charron-Mazenod, L., Lewenza, S., 2008. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS Pathog.* 4.
369. Müller, P., Guggenheim, B., Schmidlin, P.R., 2007. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm *in vitro*. *Eur. J. Oral Sci.* 115, 77–80.
370. Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M., 2010. Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of eucalyptus globulus against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine* 17, 1061–1066.
371. Muzika, R. M., K. S. Pregitzer and J. W. Hanover. 1989. Changes in terpene production following nitrogen fertilization of grand fir (*Abies grandis* (Dougl.) Lindl.) seedlings. *Oecologia* 80: 485-489.,
372. Muzika, R. M., C. L. Campbell and J. W. Hanover. 1990. Comparison of techniques for extracting volatile compounds from conifer needles. *J. Chem. Ecol.* 16: 2713-2722.,
373. Nadim, M.M., Malik, A.A., Ahmad, J., Bakshi, S.K., 2011. The essential oil composition of *Achillea millefolium* L . cultivated under tropical condition in India 7, 561–565.



374. Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Kitamura, C., Yano, J., Terashita, M., Nishihara, T., 2004. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol. Immunol.* 19, 240–246.
375. Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T., Terashita, M., 2004. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J. Endod.* 30, 778–781.
376. Namkinga, L.A., Matee, M.I.N., Kivaisi, A.K., Kullaya, A., Mneney, E.E., 2005. Identification of *Candida* strains isolated from Tanzanian pregnant women with vaginal candidiasis. *East Afr. Med. J.* 82, 226–234.
377. Naples, J.M., Shiff, C., Halden, R.U., 2005. Reduction of infectivity of schistosome cercariae by application of cercaricidal oil to water. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73, 956–961.
378. Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., Pulkrabek, J., 2009. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control* 20, 157–160.
379. Nezhadali, A., Nabavi, M., Rajabian, M., Akbarpour, M., Pourali, P., Amini, F., 2014. Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and *in vitro* antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Lamiaceae, from Iran. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* 3, 87–92.
380. Nicolas, G.G., Lavoie, M.C., 2011. *Streptococcus mutans* and oral streptococci in dental plaque. *Can. J. Microbiol.* 57, 1–20.
381. Nikolić, M., Marković, T., Marković, D., Perić, T., Glamočlija, J., Stojković, D., Soković, M., 2012. Screening of antimicrobial and antioxidant activity of commercial *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oils. *J. Med. Plants Res.* 6, 3852–3858.
382. Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I.C.F.R., Calhelha, R.C., Fernandes, Â., Marković, T., Marković, D., Giweli, A., Soković, M., 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Ind. Crops Prod.* 52, 183–190.
383. Noites, R., Pina-Vaz, C., Rocha, R., Carvalho, M.F., Gonçalves, A., Pina-vaz, I., 2014. Synergistic antimicrobial action of chlorhexidine and ozone in endodontic treatment. *Biomed Res. Int.* 2014, 1–6.
384. Nostro, A., Cannatelli, M.A., Musolino, A.D., Procopio, F., Alonzo, V., 2002. *Helichrysum italicum* extract interferes with the production of enterotoxins by *Staphylococcus aureus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 35, 181–184.
385. Novick, R.P., 2005. Interrupters on the bacterial party line. *Nat. Chem. Biol.* 1, 321–322.

386. O'Malley, Y.Q., Reszka, K.J., Rasmussen, G.T., Abdalla, M.Y., Denning, G.M., Britigan, B.E., 2003. The *Pseudomonas* secretory product pyocyanin inhibits catalase activity in human lung epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 285, L1077–L1086.
387. Odds, F.C., Bernaerts, R., 1994. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J. Clin. Microbiol.* 32, 1923–1929.
388. Olivero, V., Jesús, T.; Pajaro, C., Nerlis, P., Stashenko, E. 2011. Antiquorum sensing activity of essential oils isolated from different species of the genus *Piper*. *Vitae* [online]. 18, 77-82.
389. Oloyede, G.K., 2011. Toxicity, antimicrobial and antioxidant activities of methyl salicylate dominated essential oils of *Laportea aestuans* (Gaud). *Arab. J. Chem.* 1-10.
390. Oniga, I., Oprean, R., Toiu, A., Benedec, D., 2010. Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Romania. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi* 114, 593–595.
391. Orav, A., Raal, A., Arak, E., 2008. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Nat. Prod. Res.* 22, 227–232.
392. Orav, A., Raal, A., Arak, E., 2010. Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. *Nat. Prod. Res.* 24, 48–55.
393. Ouariachi, E. mokhtar El, Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Costa, J., Paolini, J., Chetouani, A., 2014. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 4, 281–286.
394. Owlia, P., Najafabadi, L.M., Nadoshan, S.M., Rasooli, I., Saderi, H., 2010. Effects of sub - minimal inhibitory concentrations of some essential oils on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* 13, 465–476.
395. Ozaki, F., Pannuti, C.M., Imbronito, A.V., Pessotti, W., Saraiva, L., de Freitas, N.M., Ferrari, G., Cabral, V.N., 2006. Efficacy of a herbal toothpaste on patients with established gingivitis--a randomized controlled trial. *Braz. Oral Res.* 20, 172–177.
396. Ozean, M., Erkmén, O., 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *Eur. Food Res. Technol.* 212, 658–660.
397. Pai, M.B.H., Prashant, G.M., Murlikrishna, K.S., Shivakumar, K.M., Chandu, G.N., 2010. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: an *in vitro* study. *Indian J. Dent. Res.* 21, 334–336.

398. Paik, S., Senty, L., Das, S., Noe, J.C., Munro, C.L., Kitten, T., 2005. Identification of virulence determinants for endocarditis in *Streptococcus sanguinis* by signature-tagged mutagenesis. *Infect. Immun.* 73, 6064–6074.
399. Pannuti, C.S., Grinbaum, R.S., 1995. An overview of nosocomial infection control in Brazil. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 16, 170–174.
400. Park, M.-J., Gwak, K.-S., Yang, I., Choi, W.-S., Jo, H.-J., Chang, J.-W., Jeung, E.-B., Choi, I.-G., 2007. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. *J. Microbiol.* 45, 460–465.
401. Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., Jin, D., Kook, J.K., 2012. Antimicrobial effect of linalool and  $\alpha$ -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe* 18, 369–372.
402. Paster, B.J., Olsen, I., Aas, J.A., Dewhirst, F.E., 2000. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol.* 42, 80-87.
403. Peana, A.T., Moretti, M.D., Juliano, C., 1999. Chemical composition and antimicrobial action of the essential oils of *Salvia desoleana* and *S. sclarea*. *Planta Med.* 65, 752-4.
404. Pei, R.S., Zhou, F., Ji, B.P., Xu, J., 2009. Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *J. Food Sci.* 74. M379–M383.
405. Pekmezović, M., Rajković, K., Barać, A., Senerović, L., Arsenijević, V.A., 2015. Development of kinetic model for testing antifungal effect of *Thymus vulgaris* L. and *Cinnamomum cassia* L. essential oils on *Aspergillus flavus* spores and application for optimization of synergistic effect. *Biochem. Eng. J.* 99, 131–137.
406. Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z., Blazević, N., 2005. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). *Acta Pharm.* 55, 417–422.
407. Pfaller, M.A., Diekema, D.J., Gibbs, D.L., Newell, V.A., Nagy, E., Dobiasova, S., Rinaldi, M., Barton, R., Veselov, A., 2008. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program, 2001 to 2005. *J. Clin. Microbiol.* 46, 515–521.
408. Pichersky, E., Noel, J.P., Dudareva, N., 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science* 311, 808–811.
409. Pierce, C.G., Uppuluri, P., Tristan, A.R., Wormley, F.L., Mowat, E., Ramage, G., Lopez-Ribot, J.L., 2008. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat. Protoc.* 3, 1494–1500.

410. Pierozan, M.K., Pauletti, G.F., Rota, L., Santos, A.C.A. dos, Lerin, L.A., di Luccio, M., Mossi, A.J., Atti-Serafini, L., Cansian, R.L., Oliveira, J.V., 2009. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 29, 764-770.
411. Pinto, E., Hrimpeng, K., Lopes, G., Vaz, S., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., 2013. Antifungal activity of *Ferulago capillaris* essential oil against *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 32, 1311–1320.
412. Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J. Med. Microbiol.* 58, 1454–1462.
413. Plants, A., 1993. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. *Wild.* 19, 0–4.
414. Plata, K., Rosato, A.E., Wegrzyn, G., 2009. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: Overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochim. Pol.* 56, 597–612.
415. Polydorou, O., Halili, A., Wittmer, A., Pelz, K., Hahn, P., 2012. The antibacterial effect of gas ozone after 2 months of *in vitro* evaluation. *Clin. Oral Investig.* 16, 545–550.
416. Porter, N.G., Wilkins, A.L., 1998. Chemical, physical and antimicrobial properties of essential oils of *Leptospermum scoparium* and *Kunzea ericoides*. *Phytochemistry* 50, 407–415.
417. Prasad, C.S., Shukla, R., Kumar, A., Dubey, N.K., 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. *Mycoses* 53, 123–129.
418. Prashara, A., Hili, P., Veness, R.G., Evans, C.S., 2003. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry* 63, 569–575.
419. Prskalo, K., Tarle, Z., 2013. Antimikrobni učinak intrakanalne primjene ozona. *Acta Stom. Cro.* 47, 127–136.
420. Prusinowska, R., Śmigielski, K.B., 2014. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L). A review. *Herba Pol.* 60, 56-66.
421. Raal, A., Paaver, U., Arak, E., Orav, A., 2004. Content and composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* L. growing wild in Estonia. *Medicina (Kaunas)*. 40, 795–800.
422. Rabadia, A.G., Kamat, S.D., Kamat, D. V., 2011. Antifungal activity of essential oils against Fluconazole resistant fungi. *Int. J. Phytomedicine* 3, 506–510.
423. Radonić, A., Miloš, M., 2003. Chemical composition and *in vitro* evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L. *Free Radic. Res.* 37, 673–679.

424. Raffa, R.B., Iannuzzo, J.R., Levine, D.R., Saeid, K.K., Schwartz, R.C., Sucic, N.T., Terleckyj, O.D., Young, J.M., 2005. Bacterial communication (“quorum sensing”) via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 312, 417–23.
425. Rahimi, R., Ardekani, M.R.S., 2013. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. *Chin. J. Integr. Med.* 19, 73-79.
426. Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Syamasundar, K. V., Khanuja, S.P.S., 2003. Essential oil composition of *Cymbopogon martinii* from different places in India. *Flavour Fragr. J.* 18, 312–315.
427. Rajeswara Rao, B.R., Rajput, D.K., Patel, R.P., 2009. Essential Oil Profiles of Different Parts of Palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. *motia* Burk.) *J. Essent. Oil Res.* 21, 519-521.
428. Ramanoelina, P. a. R., Viano, J., Bianchini, J.-P., Gaydou, E.M., 1994. Occurrence of Various Chemotypes in Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) Essential Oils from Madagascar Using Multivariate Statistical Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1177–1182.
429. Rams, T.E., Feik, D., Young, V., Hammond, B.F., Slots, J., 1992. *Enterococci* in human periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 7, 249–252.
430. Ranasinghe, L., Jayawardena, B., Abeywickrama, K., 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Lett. Appl. Microbiol.* 35, 208–211.
431. Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., Mikov, M., 2014. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 225.
432. Rasooli, I., Mirmostafa, S.A., 2002. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. *Fitoterapia* 73, 244–250.
433. Rather, M.A., Dar, B.A., Sofi, S.N., Bhat, B.A., Qurishi, M.A., 2012. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arab. J. Chem.* 1-10.
434. Riella, K.R., Marinho, R.R., Santos, J.S., Pereira-Filho, R.N., Cardoso, J.C., Albuquerque-Junior, R.L.C., Thomazzi, S.M., 2012. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 143, 656–663.
435. Rioba, N.B., Itulya, F.M., Saidi, M., Dudai, N., Bernstein, N., 2015. Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 2, 21–29.

436. Ríos, J.L., Recio, M.C., 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 100, 80-84.
437. Rosa, L., Rosa, L., Mill, R., 2014. Assessment report on *Rosa gallica* L., *Rosa centifolia* L., *Rosa damascena* Mill., Flos 44, 1–20.
438. Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., Antonietta Milillo, M., 2007. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine* 14, 727–732.
439. Rosato, A., Piarulli, M., Corbo, F., Muraglia, M., Carone, A., Vitali, M.E., Vitali, C., 2010. *In vitro* synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Curr. Med. Chem.* 17, 3289–3295.
440. Rosato, A., Vitali, C., Piarulli, M., Mazzotta, M., Argentieri, M.P., Mallamaci, R., 2009. *In vitro* synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some *Candida* species. *Phytomedicine* 16, 972–975.
441. Rota, C., Carramiñana, J.J., Burillo, J., Herrera, A., Rota, C.; Carramiñana, J. J.; Burillo, J.; Herrera, A., 2004. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 67, 1252–1256.
442. Rota, M.C., Herrera, A., Martínez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordán, M.J., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control* 19, 681–687.
443. Ruiz-Aragón, J., Rodríguez López, R., Molina Linde, J.M., 2010. Evaluation of rapid methods for detecting *Streptococcus pyogenes*. Systematic review and meta-analysis. *An. Pediatr. (Barc.)* 72, 391–402.
444. Russell, A.D., Hugo, W.B., 1994. 7 Antimicrobial activity and action of silver. *Prog. Med. Chem.* 31, 351–370.
445. Rutherford, S.T., Bassler, B.L., 2012. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, 1-25.
446. Ryall, B., Carrara, M., Zlosnik, J.E.A., Behrends, V., Lee, X., Wong, Z., Loughheed, K.E., Williams, H.D., 2014. The mucoid switch in *Pseudomonas aeruginosa* represses quorum sensing systems and leads to complex changes to stationary phase virulence factor regulation. *PLoS One* 9, 1-11.
447. S. Kokkini, D.V., 1989. *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. *Econ. Bot.* 43, 192–202.
448. Sá, J.M., Chong, J.L., Wellems, T.E., 2011. Malaria drug resistance: new observations and developments. *Essays Biochem.* 51, 137–60.



449. Sabra, S.M.M., Al-masoudi, L.M.R., 2014. The Effect of using Frankincense (*Boswellia sacra*) chewing gum on the microbial contents of buccal / oral cavity, Taif , KSA 13, 77–82.
450. Sabzghabae, A.M., Shirdare, Z., Ebadian, B., Aslani, A., Ghannadi, A., 2011. Clinical evaluation of the essential oil of *Pelargonium graveolens* for the treatment of denture stomatitis. Dent. Res. J. (Isfahan). 8, S105–108.
451. Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chem. 91, 621–632.
452. Sadiki, M., Balouiri, M., Barkai, H., Maataoui, H., Koraiichi, S.I., Elabed, S., 2014. Synergistic antibacterial effect of *Myrtus communis* and *Thymus vulgaris* essential oils fractional inhibitory concentration index. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 6, 121–124.
453. Saeidnia, S., Gohari, A., Mokhber-Dezfuli, N., Kiuchi, F., 2011. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. Daru 19, 173–86.
454. Saharkhiz, M.J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., Hemyari, K., 2012. Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. ISRN Pharm. 718645, 1-6.
455. Saini, R., 2011. Ozone therapy in dentistry: A strategic review. J. Nat. Sci. Biol. Med. 2, 151.
456. Samaranayake, Y.H., Samaranayake, L.P., 1994. *Candida krusei*: Biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. J. Med. Microbiol. 41, 295-310.
457. Sanders, M.E., Klaenhammer, T.R., 2001. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. J. Dairy Sci. 84, 319–331.
458. Sandy SM, Foong-Yee T. 2012. Anti-quorum sensing and antimicrobial activities of some traditional Chinese medicinal plants commonly used in South-East Asia. Malaysian J. Microb. 8:11–20.
459. Sangetha, S., Zuraini, Z., Suryani, S., Sasidharan, S., 2009. *In situ* TEM and SEM studies on the antimicrobial activity and prevention of *Candida albicans* biofilm by *Cassia spectabilis* extract. Micron 40, 439–443.
460. Sangun, M.K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M., Ozkan, A., 2007. Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. J. Environ. Biol. 28, 731–733.



461. Santiesteban-López, A., Palou, E., López-Malo, A., 2007. Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected aw and pH. *J. Appl. Microbiol.* 102, 486–497.
462. Santos-Gomes, P.C., Fernandes-Ferreira, M., 2001. Organ- and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2908–2916.
463. Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J., Reglero, G., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Prot.* 68, 790–795.
464. Sasidharan, I., Menon, A.N., 2010. Comparative chemical composition and antimicrobial activity of berry and leaf essential oils of *Piper nigrum* l. 3, 215–218.
465. Sauer, K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W., Davies, D.G., 2002. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol.* 184, 1140–1154.
466. Savelev, S., Okello, E., Perry, N.S.L., Wilkins, R.M., Perry, E.K., 2003. Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 661–668.
467. Saviuc, C.M., Drumea, V., Olariu, L., Chifiriuc, M.-C., Bezirtzoglou, E., Lazăr, V., 2015. Essential oils with microbicidal and antibiofilm activity. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 16, 137–51.
468. Schmidt, Norman E.; Sandoval, N.M., 2013. Using GC-MS to observe changes in the essential oil concentrations in cedar tree (*Juniperus virginiana*) leaves during a drought year. *Spectroscopy.* 31, 1-8.
469. Scollard, J., Francis, G.A., O’Beirne, D., 2009. Effects of essential oil treatment, gas atmosphere, and storage temperature on *Listeria monocytogenes* in a model vegetable system. *J. Food Prot.* 72, 1209–1215.
470. Scully, C., 1994. Candida and Oral Candidosis: A Review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine.* 5, 125-157.
471. Seatlholo, S., 2007. The biological activity of specific essential oil constituents. PhD thesis.
472. Sedgley, C.M., Molander, A., Flannagan, S.E., Nagel, A.C., Appelbe, O.K., Clewell, D.B., Dahlén, G., 2005. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. *Oral Microbiol. Immunol.* 20, 10–19.
473. Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G., Kulevanova, S., 2012. Chemical composition of berry essential oils from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) growing wild in Republic of

- Macedonia and assessment of the chemical composition in accordance to European Pharmacopoeia. *Maced. Pharm. Bull.* 57, 43–51.
474. Selim, S. a, Adam, M.E., Hassan, S.M., Albalawi, A.R., 2014. Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 179.
475. Seo, S.-M., Kim, J., Park, I.-K., 2011. Nematicidal activity of plant essential oils and components from *Gaultheria fragrantissima* and *Zanthoxylum alatum* against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Nematology* 13, 87–93.
476. Seow, Y.X., Yeo, C.R., Chung, H.L., Yuk, H.-G., 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 625–44.
477. Sepahi, E., Tarighi, S., Ahmadi, F.S., Bagheri, A., 2015. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by two herbal essential oils from Apiaceae family. *J. Microbiol.* 53, 176–180.
478. Sfaei-Ghomi, J., Meshkatsadat, M.H., Shamai, S., Hasheminejad, M., Hassani, A., 2009. Chemical characterization of bioactive volatile molecules of four *Thymus* species using nanoscale injection method. *Dig. J. Nanomater. Biostructures* 4, 835–841.
479. Shaaban, H.A.E., El-Ghorab, A.H., Shibamoto, T., 2012. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *J. Essent. Oil Res.* 24, 203–212.
480. Shabnum, S., Wagay, M., 2011. Essential oil composition of *Thymus vulgaris* L. and their uses. *J. Res. Dev.* 11, 83–94.
481. Shekhawat, G., Jana, S., 2010. *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice. *Pharmacogn. Rev.* 4, 179–184.
482. Sheppard, D.C., Locas, M.C., Restieri, C., Laverdiere, M., 2008. Utility of the germ tube test for direct identification of *Candida albicans* from positive blood culture bottles. *J. Clin. Microbiol.* 46, 3508–3509.
483. Shirazi, M.T., Gholami, H., Kavooosi, G., Rowshan, V., Tafsiroy, A., 2014. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. *Food Sci. Nutr.* 2, 146–55.
484. Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E.S.S., Bazaid, S.A., Maghrabi, I., 2014. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Glob. J. Pharmacol.* 8, 1–7.
485. Shojaii, A., Abdollahi Fard, M., 2012. Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN Pharm.* 510795, 1-8.

486. Siddiqui, N., Garg, S.C., 1990. Chemical composition of *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats var. *martinii*. J. Essent. Oil Res. 2, 93-94.
487. Sienkiewicz, M., 2011. Antibacterial activity of *Thyme* and *Lavender* essential oils. Med. Chem. 7, 674-689.
488. Silva, A.C., Lopes, P.M., Azevedo, M.M., Costa, D.C., Alviano, C.S., Alviano, D.S., 2012. Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. Molecules 17, 6305–6316.
489. Simić, A., Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D., 2004. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their anti- fungal activities. Phytother. Res 18, 713–717.
490. Simon, J.E., 1990. Essential oils and culinary herbs. In: Advances in New Crops. Timber Press, Portland, OR, pp. pp. 472–83.
491. Singh, G., Marimuthu, P., Catalan, C., Delampasona, M.P., 2004. Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract. J. Sci. Food Agric. 84, 1878–1884.
492. Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M.P., Catalan, C., 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control 17, 745–752.
493. Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., Srivastava, M., 2011. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Pharmacogn. Rev. 5, 82–95.
494. Singh, H.P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D.R., Kohli, R.K., 2012. Assessment of *in vitro* antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalyptus; Myrtaceae) and its major constituents. LWT - Food Sci. Technol. 48, 237–241.
495. Singh, V., Rohilla, A., Dixit, A., 2012. *Eucalyptus globulus*: A New Perspective in Therapeutics. Int. J. Pharm. Chem. Sci. 1, 1678–1683.
496. Skočibušić, M., Bežić, N., Dunkić, V., 2006. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. Food Chem. 96, 20–28.
497. Slavkowska, V., Jancić, R., Bojović, S., Milosavljević, S., Djoković, D., 2001. Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. from the central part of the Balkan peninsula. Phytochemistry 57, 71–76.
498. Slots, J., Feik, D., Rams, T.E., 1990. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis. Oral Microbiol. Immunol. 5, 149–154.

499. Smith, A.J., Robertson, D., Tang, M.K., Jackson, M.S., MacKenzie, D., Bagg, J., 2003. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *Br. Dent. J.* 195, 701–703;
500. Smith, R.S., Iglewski, B.H., 2003. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *J. Clin. Invest.* 112, 1460-1465.
501. Soares, P.M., Assreuy, A.M.S., Souza, E.P., Lima, R.F., Silva, T.O., Fontenele, S.R., Criddle, D.N., 2005. Inhibitory effects of the essential oil of *Mentha pulegium* on the isolated rat myometrium. *Planta Med.* 71, 214–218.
502. Soković, M., 2001. Antifungalna aktivnost etarskih ulja odabranih aromatičnih i lekovitih biljaka *in vitro* i *in vivo*. Doktorska disertacija.
503. Soković, M., Glamoclija, J., Cirić, A., Kataranovski, D., Marin, P.D., Vukojević, J., Brkić, D., 2008. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. and thymol on experimentally induced dermatomycoses. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 34, 1388–1393.
504. Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, D.D., Vajs, V., van Griensven, L.J.L.D., 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 14, 238–249.
505. Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., van Griensven, L.J.L.D., 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. *Molecules* 15, 7532–7546.
506. Sousa, A., Pereira, M., 2014. *Pseudomonas aeruginosa* diversification during infection development in cystic fibrosis lungs - A Review. *Pathogens*, 680–703.
507. Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E.M., Kurt, Ş., 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Appl. Microbiol.* 103, 1021–1030.
508. Srivastava, J.K., Shankar, E., Gupta, S., 2010. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (review). *Mol. Med. Rep.* 3, 895-901.
509. Stahl, E. (1981). Variation of Myristicin Content in Cultivated Parsnip Roots (*Pastinaca sativa* ssp. *sativa* var. *hortensis*). *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 29, No. 4, 890-892.
510. Stahl, E., 1981. Variation of myristicin content in cultivated parsnip roots (*Pastinaca sativa* ssp. *sativa* var. *hortensis*). *J. Agric. Food Chem.* 29, 890–892.
511. Stashenko, E., Torres, W., Martinez Morales, J.R., 1995. Study of the compositional variation of the essential oil of ylang-ylang (*Cananga odorata* Hook fil. et Thomson, forma genuina) during flower development. *J. High Resol. Chromatogr.* 18, 101–104.

512. Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., Švabić-Vlahović, M., 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods* 40, 175–179.
513. Stephens, J.M.C., Molan, P.C., Clarkson, B.D., 2005. A review of *Leptospermum scoparium* (Myrtaceae) in New Zealand. *New Zeal. J. Bot.* 43, 431–449.
514. Stewart, P.S., Costerton, J.W., 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet.* 358, 135-138.
515. Stover, C.K., Pham, X.Q., Erwin, A.L., Mizoguchi, S.D., Warrenner, P., Hickey, M.J., Brinkman, F.S., Hufnagle, W.O., Kowalik, D.J., Lagrou, M., Garber, R.L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L.L., Coulter, S.N., Folger, K.R., Kas, A., Larbig, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G.K., Wu, Z., Paulsen, I.T., Reizer, J., Saier, M.H., Hancock, R.E., Lory, S., Olson, M. V, 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 406, 959–964.
516. Stupar, M., Grbić, M.L., Džamić, A., Unković, N., Ristić, M., Jelikić, A., Vukojević, J., 2014. Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *South African J. Bot.* 93, 118–124.
517. Su, S., Wang, T., Duan, J.A., Zhou, W., Hua, Y.Q., Tang, Y.P., Yu, L., Qian, D.W., 2011. Anti-inflammatory and analgesic activity of different extracts of *Commiphora myrrha*. *J. Ethnopharmacol.* 134, 251–258.
518. Sudbery, P., Gow, N., Berman, J., 2004. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.* 12, 317-324.
519. Supino, R., 1995. MTT Assays, in: *In Vitro Toxicity Testing Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 137–149.
520. Taarit, M. Ben, Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B., 2010. Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chem.* 119, 951–956.
521. Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S. a., Cliver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21, 1199–1218.
522. Teitzel, G.M., Parsek, M.R., 2003. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2313–2320.
523. Teplitski, M., Robinson, J.B., Bauer, W.D., 2000. Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 13, 637–648.

524. Tesch, N.R., Mora, F., Rojas, L., Díaz, T., Velasco, J., Yáñez, C., Rios, N., Carmona, J., Pasquale, S., 2011. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Lantana camara* var. *moritziana*. *Nat. Prod. Commun.* 6, 1031–1034.
525. The Lancet, 2009. Oral health: prevention is key. *Lancet* 373, 1.
526. Thompson, J.D., Chalchat, J.C., Michet, A., Linhart, Y.B., Ehlers, B., 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.* 29, 859–880.
527. Tobyn, G., Denham, A., Whitelegg, M., 2011. *Medical Herbs*, Medical Herbs. Elsevier.
528. Tolker-Nielsen, T., 2014. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. *APMIS* 122, 1–51.
529. Toska, I.E.H., Baldisserotto, V., Goci, A., Vertuani, E.S., 2014. Evaluation of antifungal activity of *Satureja montana* essential oil before and after inclusion in beta – cyclodextrine. *Int. J. Pharm. Sci.* 6, 16–18.
530. Tsai, M. L., Lin, C. C., Lin, W. C., Yang, C. H., 2011. Antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of essential oils from five selected herbs. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75, 1977-1983.
531. Tsukatani, T., Suenaga, H., Shiga, M., Noguchi, K., Ishiyama, M., Ezoe, T., Matsumoto, K., 2012. Comparison of the WST-8 colorimetric method and the CLSI broth microdilution method for susceptibility testing against drug-resistant bacteria. *J. Microbiol. Methods* 90, 160–166.
532. Tularat, S., Srithavaj, T., Thaweboon, S., Thaweboon, B., Shrestha, B., 2013. *In vitro* effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3, 376–380.
533. Tyagi, A.K., Malik, A., 2010. Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complement. Altern. Med.* 10, 65.
534. Tyagi, A.K., Malik, A., 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chem.* 126, 228–235.
535. Über ätherische Öle der Apiaceae (Umbelliferae) - VI. Untersuchungen zum Vorkommen von Chemotypen bei *Pastinaca sativa* L. (Essential oils of Apiaceae (Umbelliferae) (1979) VI. Studies on the occurrence of chemotypes in *Pastinaca sativa* Elisabeth Stahl, PhD.
536. Ulbricht, C., Abrams, T.R., Brigham, A., Ceurvels, J., Clubb, J., Curtiss, W., Kirkwood, C.D., Giese, N., Hoehn, K., Iovin, R., Isaac, R., Rusie, E., Serrano, J.M.G., Varghese, M., Weissner,



- W., Windsor, R.C., 2010. An evidence-based systematic review of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by the Natural Standard Research Collaboration. *J. Diet. Suppl.* 7, 351–413.
537. Unlu, M., Daferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., Sökmen, A., 2002. Compositions and the *in vitro* antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *J. Ethnopharmacol.* 83, 117–121.
538. Usano-Aleman, J., Herraiz-Peñalver, D., Cuadrado, J., Díaz, S., Santa-Cruz, M., Palá-Paúl, J., 2012. Seasonal variation of the essential oils of *Salvia lavandulifolia*: Antibacterial activity. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 15, 195–203.
539. Ustun, O., Sezik, E., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., 2006. Study of the essential oil composition of *Pinus sylvestris* from Turkey. *Chem. Nat. Compd.* 42, 26–31.
540. Valimaa, A.L., Honkalampi-Hämäläinen, U., Pietarinen, S., Willför, S., Holmbom, B., von Wright, A., 2007. Antimicrobial and cytotoxic knotwood extracts and related pure compounds and their effects on food-associated microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 115, 235–243.
541. Van Hasselt, P., Gashe, B.A., Ahmad, J., 2004. Colloidal silver as an antimicrobial agent: fact or fiction? *J. Wound Care* 13, 154–155.
542. Van Vuuren, S.F., 2008. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 119, 462–472.
543. Van Vuuren, S.F., Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., 2010. Volatile composition and antimicrobial activity of twenty commercial frankincense essential oil samples. *South African J. Bot.* 76, 686–691.
544. Van Vuuren, S.F., Docrat, Y., Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., 2014. Essential oil composition and antimicrobial interactions of understudied tea tree species. *South African J. Bot.* 92, 7–14.
545. Varcoe, J.J., Krejcarek, G., Busta, F., Brady, L., 2003. Prophylactic feeding of *Lactobacillus acidophilus* NCFM to mice attenuates overt colonic hyperplasia. *J. Food Prot.* 66, 457–465.
546. Vasavi, H.S., Arun, A.B., Rekha, P.D., 2013. Inhibition of quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* by *Syzygium cumini* L. and *Pimenta dioica* L. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3, 954–959.
547. Vaughn, S.F., Spencer, G.F., 1994. Antifungal activity of natural compounds against thiabendazole-resistant *Fusarium sambucinum* strains. *J. Agric. Food Chem.* 42, 200–203.
548. Venskutonis, P.R., Vyskupaityte, K., Plausinaitis, R., 2000. L. Composition of Essential Oils of *Pinus sylvestris* L. from Different Locations of Lithuania. *J. Essent. Oil Res.* 12, 559–565.



549. Veres, K., Csupor-Löffler, B., Lázár, A., Hohmann, J., 2012. Antifungal activity and composition of essential oils of *Conyza canadensis* Herbs and Roots. *Sci. World J.* 489646, 1-5.
550. Vergnes, S., Ladouce, N., Fournier, S., Ferhout, H., Attia, F., Dumas, B., 2014. Foliar treatments with *Gaultheria procumbens* essential oil induce defense responses and resistance against a fungal pathogen in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 5, 477.
551. Verma, R.S.R.K., Rahman, L. ur, Chanotiya, C.S., Verma, R.S.R.K., Singh, A.A.K., Yadav, A.K.A., Chauhan, A., Yadav, A.K.A., Singh, A.A.K., 2009. Essential oil composition of *Thymus serpyllum* cultivated in the Kumaon region of western Himalaya, India. *Nat. Prod. Commun.* 4, 987–988.
552. Verma, R.S., Verma, R.K., Yadav, a. K., Chauhan, A., 2010. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. *Indian J. Nat. Prod. Resour.* 1, 367–370.
553. Viegas A., D., Palmeira-De-Oliveira, A., Salgueiro, L., Martinez-De-Oliveira, J., Palmeira-De-Oliveira, R., 2014. *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. *J. Ethnopharmacol.* 151, 54–65.
554. Vikram, A., Jesudhasan, P.R., Jayaprakasha, G.K., Pillai, B.S., Patil, B.S., 2010. Grapefruit bioactive limonoids modulate *E. coli* O157:H7 TTSS and biofilm. *Int. J. Food Microbiol.* 140, 109–
555. Vilela, G.R., de Almeida, G.S., D&apos;Arce, M.A.B.R., Moraes, M.H.D., Brito, J.O., da Silva, M.F. das G.F., Silva, S.C., de Stefano Piedade, S.M., Calori-Domingues, M.A., da Gloria, E.M., 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *J. Stored Prod. Res.* 45, 108–111.
556. Villanueva, M.A., Torres, R.C., Başer, K.H.C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., 1993. The composition of Manila elemi oil. *Flavour Fragr. J.* 8, 35–37.
557. Von Rudloff, E., 1975. Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. *Biochem. Syst. Ecol.* 2, 131–167.
558. Von Rudloff, E., 1976. Chemosystematic studies in the genus *Abies*. II. Leaf oil analysis of grand fir. *Can. J. Bot.* 54, 1926–1931.
559. Vu, J., Carvalho, J., 2011. *Enterococcus*: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. *Front. Biol. (Beijing)*. 6, 357–366.
560. Wajs-Bonikowska, A., Sienkiewicz, M., Stobiecka, A., Maciąg, A., Szoka, Ł., Karna, E., 2015. Chemical composition and biological activity of *Abies alba* and *A. koreana* seed and cone essential oils and characterization of their seed hydrolates. *Chem. Biodivers.* 12, 407–418.

561. Walters, M.C., Roe, F., Bugnicourt, A., Franklin, M.J., Stewart, P.S., 2003. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 317–323.
562. Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., Schempp, C.M., 2007. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine* 14, 508–516.
563. Werner, E., Roe, F., Bugnicourt, A., Franklin, M.J., Heydorn, A., Molin, S., Pitts, B., Stewart, P.S., 2004. Stratified growth in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 6188–6196.
564. Wescombe, P. a, Hale, J.D.F., Heng, N.C.K., Tagg, J.R., 2012. Developing oral probiotics from *Streptococcus salivarius*. *Future Microbiol.* 7, 1355–71.
565. Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M.A., 2005. Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. *Phytother. Res.* 19, 643–646.
566. Williams, D.W., Lewis, M. a O., 2000. Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. *Oral Dis.* 6, 3–11.
567. Wilson, M., Martin, R., Walk, S.T., Young, C., Grossman, S., McKean, E.L., Aronoff, D.M., 2012. Clinical and laboratory features of *Streptococcus salivarius* meningitis: A case report and literature review. *Clin. Med. Res.* 10, 15–25. doi:10.3121/cmr.2011.1001
568. Wimpenny, J.W.T., Colasanti, R., 1997. A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models. *FEMS Microbiol. Ecol.* 22, 1-16.
569. Wink, M. Functions of Plant secondary metabolites and their exploitation in Biotechnology; Sheffield Academic Press: Sheffield, UK, 1999; p. 362.
570. Woolley, C.L., Suhail, M.M., Smith, B.L., Boren, K.E., Taylor, L.C., Schreuder, M.F., Chai, J.K., Casabianca, H., Haq, S., Lin, H.K., Al-Shahri, A.A., Al-Hatmi, S., Young, D.G., 2012. Chemical differentiation of *Boswellia sacra* and *Boswellia carterii* essential oils by gas chromatography and chiral gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1261, 158–163.
571. World Health Organization. Constitution of the World Health Organization. Geneva: World Health Organization, 1948.
572. Worthington, H. V, Clarkson, J.E., 2002. Prevention of oral mucositis and oral candidiasis for patients with cancer treated with chemotherapy: cochrane systematic review. *J. Dent. Educ.* 66, 903–911.

573. Xavier, K.B., Bassler, B.L., 2003. LuxS quorum sensing: More than just a numbers game. *Curr. Opin. Microbiol.* 6, 191-7.
574. Xu, P., Alves, J.M., Kitten, T., Brown, A., Chen, Z., Ozaki, L.S., Manque, P., Ge, X., Serrano, M.G., Puiu, D., Hendricks, S., Wang, Y., Chaplin, M.D., Akan, D., Paik, S., Peterson, D.L., Macrina, F.L., Buck, G.A., 2007. Genome of the opportunistic pathogen *Streptococcus sanguinis*. *J. Bacteriol.* 189, 3166–3175.
575. Yang, X.W., Li, S.M., Shen, Y.H., Zhang, W.D., 2008. Phytochemical and biological studies of *Abies* species. *Chem. Biodivers.* 5, 56-81.
576. Yang, S.-A., Jeon, S.-K., Lee, E.-J., Im, N.-K., Jhee, K.-H., Lee, S.-P., Lee, I.-S., 2009. Radical scavenging activity of the essential oil of silver fir (*Abies alba*). *J. Clin. Biochem. Nutr.* 44, 253–259.
577. Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, O.F., Bilaloglu, V., 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), sage (*Salvia triloba* L.), and Black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5030–5034.
578. Yonzon, M., Lee, D.J., Yokochi, T., Kawano, Y., Nakahara, T., 2005. Antimicrobial activities of essential oils of Nepal. *J. Essent. Oil Res.* 17, 107-111.
579. Zavarin, E., Critchfield, W.B., Snajberk, K., 1978. Geographic differentiation of monoterpenes from *Abies procera* and *Abies magnifica*. *Biochem. Syst. Ecol.* 6, 267-278.
580. Zheng, H., Zhong, Z., Lai, X., Chen, W.X., Li, S., Zhu, J., 2006. A LuxR/LuxI-type quorum-sensing system in a plant bacterium, *Mesorhizobium tianshanense*, controls symbiotic nodulation. *J. Bacteriol.* 188, 1943–1949.
581. Zijngge, V., Van Leeuwen, M.B.M., Degener, J.E., Abbas, F., Thurnheer, T., Gmür, R., Harmsen, H.J.M., 2010. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One* 5, 1-9.
582. Zore, G.B., Thakre, A.D., Jadhav, S., Karuppayil, S.M., 2011. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. *Phytomedicine* 18, 1181–1190.
583. Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Karray, A., Neffati, M., Ayadi, M.A., 2011. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food Bioprod. Process.* 89, 257–265.
584. Zouari, N., Ayadi, I., Fakhfakh, N., Rebai, A., Zouari, S., 2012. Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic Species. *Lipids Health Dis.* 11, 1-13.

585. Zu, Y., Yu, H., Liang, L., Fu, Y., Efferth, T., Liu, X., Wu, N., 2010. Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Molecules* 15, 3200–3210.

## BIOGRAFIJA AUTORA

Miloš (Mihajlo) Nikolić rođen je 13. septembra 1985. godine u Leskovcu. Osnovnu i srednju školu završio je u Leskovcu. Prirodno-matematički fakultet, odsek za biologiju i ekologiju, Univerziteta u Nišu, smer diplomirani biolog-ekolog, upisao je 2004. godine. Diplomirao je 2009 godine sa prosečnom ocenom 9.48/10. Iste godine upisuje doktorske studije na Biološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na modulu Eksperimentalna mikologija. U periodu od 2008. – 2009. kandidat je nagrađen od strane Nagradnog fonda grada Leskovca za najbolje studente, a u periodu od 2010. – 2012. godine bio je stipendista Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. U periodu od 2010 do 2012. godine radi je kao istraživač pripravnik u Institutu za biološka istraživanja “Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu, dok marta 2012. godine stiče zvanje istraživač saradnik.

Tokom istraživačke karijere Miloš M. Nikolić je bio angažovan na dva projekta Ministarstva prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije u okviru osnovnih istraživanja – “Taksosomska, biohemijska i molekularna istraživanja gljiva i biološki aktivnih komponenti“ (143041), u periodu od 2009-2010 i „Karakterizacija i primena metabolita gljiva i utvrđivanje potencijala novih biofungicida,, (173032) u periodu od 2011-2015. Takođe, kandidat je bio angažovan i na dva programa naučne i tehnološke saradnje između Republike Srbije i Republike Portugal pod naslovom “Determinacija metabolite mikroglijiva sa antimikrobnom i antioksidativnom aktivnošću” i Republike Slovenije pod naslovom “Kombinovana metodologija u cilju dobijanja novih, selektivnih inhibitora *Candida* CYP51“.

Koautor je ukupno 54 publikacija, od toga 27 radova sa SCI liste od čega je 7 radova proizašlo iz doktorske disertacije i to 4 M21 i dva M23 i jedan M51 kategorije i dvanaest (jedanaest M34 i jedan M64) saopštenja na međunarodnim i skupovima domaćeg značaja. Kandidat je objavio i šest radova M21, dva M22 i šesnaest M23 kategorije i dvanaest saopštenja (jedanaest M34 i jedan M64) iz uže naučne oblasti.

Miloš M. Nikolić je član Srpskog Biološkog društva i Evropskog udruženja za kliničku mikrobiologiju i infektivne bolesti (ECMID). Učestvovao je na manifestacijama za promociju nauke kao što su Festival nauke i Noć istraživača i aktivno deluje na približavanju naučnog poziva učenicima osnovnih i srednjih škola.