



Har essensielle oljer en antibakteriell effekt?

Forfatter: Hedda Lilleås, Vardafjell videregående

Har essensielle oljer en antibakteriell effekt? Og er effekten på bakterieveksten i oljer bedre enn vann? Hensikten med dette forsøket var å undersøke utvalgte oljer sin antibakterielle effekt på *E.coli* bakterier, samt sammenligne de ulike oljene opp mot hverandre. Forsøket ble gjennomført med fem oljer fra en helsekostbutikk; oregano, peppermynte, salvie og rosmarin, og en chiliolje fra en dagligvarebutikk. Forsøket ble gjennomført med agar diffusions test. Resultatene viser at alle oljene har en antibakteriell effekt, men det var oregano- og peppermynteolje som hadde best effekt. Dårligst var chilioljen.

INNLEDNING

«I aromaterapien brukes plantenes eteriske oljer for å styrke helsen og lindre helseplager. Samtidig påvirker de gode duftene hjernen via det limbiske systemet» (Skauli, u.d.). Kvinnebladet KK har publisert en artikkel om at essensielle oljer skal hjelpe mot vinterdepresjonen (Rosholt, 2016), det vil si at oljene skal ha en lindrende og beroligende effekt. Også bloggen *passion4therapy* skryter av oljenes effekt på irritabel- og problem hud (*passion4therapy*, 2015). Essensielle oljer har blitt satt mye i fokus, og mange mener at løsningen til deres lidelser er gjennom disse oljene. Om oljene skal ha en effekt på fysiske plager som for eksempel akne, må de ha en antibakterielleffekt (Helsebiblioteket, 2016).

Essensielle oljer, også kaldt eteriske oljer, finnes i mange plantedeler. Ut ifra plantedelene blir oljen fremstilt ved destillasjon med vanndamp, uttrekking med organiske løsemidler eller ved behandling med fett (Nordeng, 2014). De fleste oljene har behagelig lukt og smak, og blir anvendt i parfymeindustrien, i likørfabrikasjoner og i medisinen til forbedring av legemidlenes smak. Noen essensielle oljer ble tidligere brukt som legemidler. Til forskjell fra fet olje er essensielle oljer flyktig og gir på papir fettflekk som forsvinner når oljen fordampes (Nordeng, 2014).

Hensikten med dette forsøket var å sjekke utvalgte essensielle oljer sin antibakterielle effekt på *E.coli* bakterier. Det ble testet fem oljer fra helsekostbutikken og en fra dagligvarebutikken. Forsøket ble gjennomført med *agar diffusions test* (Gold Biotechnology, 2013).

HYPOTESE

Noen oljer vil vise tegn til antibakteriell effekt.

TEORI

Metoden

Agar diffusions test er en metode som vi kan benytte for å teste hvor antibakterielt ett stoff er. Ved hjelp av *E. coli* bakterier, petriskål og papirlapper og det stoffet du vil teste, kan vi få et resultat som forteller om produktet er hensiktsmessig å bruke som antibakterielt stoff (Gold Biotechnology, 2013).

Metoden går ut på å sjekke bakterieveksten rundt en papirlapp som inneholder et mulig antibakterielt stoff. Små papirlapper får påført stoffet som du vil teste. Disse lappene blir deretter lagt i en petriskål med *E. coli* bakterier. Ved å la petriskålen stå i et varmeskap i løpt av natten får bakteriene gode vilkår å vokse i. Om stoffet som blir testet er antibakterielt, vil det oppstå en oppklaringszone (hemningssone) rundt papirlappen fordi bakteriene hindres i å vokse der. Diameteren til hemningssonen forteller hvor antibakterielt stoffet er (Gold Biotechnology, 2013).

METODE

Forsøket ble reproduisert fire ganger. For å unngå uønskede bakterier ble håndsprit brukt konsekvent, i tillegg ble alt utstyr sterilisert mellom hver gang det ble brukt ved hjelp av sprit og gassbrenner. Utstyr som var i kontakt med *E.coli* bakterier ble desinfisert med klor.

På grunn av min måte å gjennomføre forsøket på, gir metoden noen begrensninger. Derfor er den maksimale hemningssonen i dette forsøket definert som 2,0 cm fra sentrum og ut til der bakterieveksten stopper.

UTSTYR

Tillaging av agarplater

- Agarpulver
- Deionisert vann
- Kjøleskap
- Mikrobølgeovn
- Målekolbe
- Målesylinder
- Petriskåler av plastikk
- Sirkelformede papirlapper med diameter 1cm.
- Varmeskap

Utførelse

- *E.coli* bakterier
- Essensielle oljer; oreganolje, salvieolje, peppermynteolje, rosmarinolje, chiliolje og fenikkelolje
- Gassbrenner
- Glasstav med vinkel
- Begerglass
- Klor
- Papirlapper
- Petriskål av glass med lokk
- Pipette (100 ml)
- Pipette (20 ml)
- Sprit
- Sterilt vann

Tillaging av agarplater

En blanding av 3,5 g agarpulver og 200 ml ionisert vann ble kokt opp i en mikrobølgeovn, og avkjølt i et par minutter. Løsningen ble deretter jevnt fordelt i ca. 10 petriskåler. Petriskålene med agarløsning fikk stå og hvile i 20-30 minutter før de ble snudd med lokket ned og lagt inni kjøleskapet. Om agarløsningen ikke var stivnet, måtte de stå i noen minutter til.

Agarplatene ble laget dagen før det planlagte forsøket slik at platene fikk hvile og stivne helt.

Utførelse

Om lag 35 papirlapper ble sterilisert ved å varme de i ca. to minutter i en mikrobølgeovn. Bakterieløsningen ble laget ved å blande E.coli bakterier i sterilisert vann, da i form av øyendråper. Det ble fordelt 100 µL bakterieløsning med en vinkelrett glasstav på sju agarplater. I alt ble det brukt åtte agarplater under forsøket; seks til forsøksoljene, og to kontrollplater med og uten E. coli. En til å observere en upåvirket bakterievekst, og en til å kontrollere at det ikke var noe gale med agarløsningen. I syv rene petriskåler ble det lagt fem steriliserte papirlapper, der hver skål representerte en olje. I den syvende skulle det være et nøytralt stoff, det vil si et stoff som ikke er antibakterielt. Og i dette tilfelle var vann fra springen det nøytrale kontrollstoffet. Papirlappene ble tilført 20 µl av den utvalgte oljen. Oljene fikk trekke i om lag fem minutter før lappene ble overført til hver sin agarplate merket med oljens navn. I kontrollplaten med E.coli bakterier ble fem lapper med 20 µL vann plassert. Platene ble så lagt inn i et varmeskap, innstilt på 37°C i 24 timer.

Etterarbeid

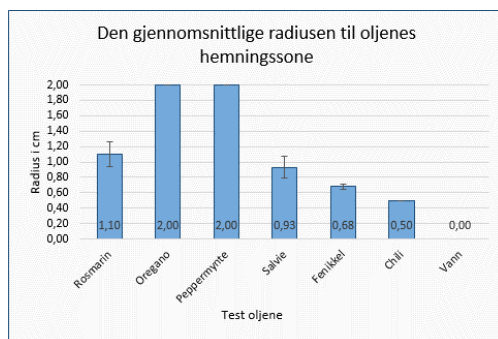
For å måle hemningssonen ble det brukt en linjal. For hver lapp ble radiusen målt på tre ulike plasser, og snittet av disse radiusen ble angitt som lappens hemningssone. Den totale hemningssonen til oljen ble definert som gjennomsnitte av radiusen til de fem lappene.

RESULTAT

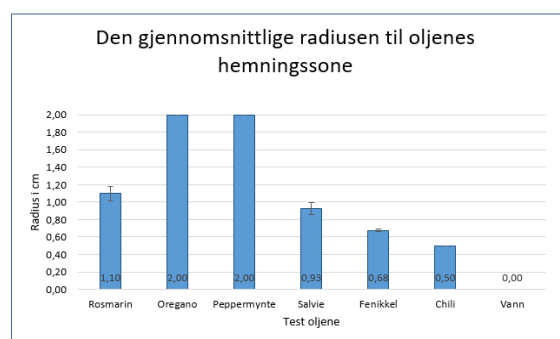
Resultatene ble utformet ut i fra gjennomsnittet til det totale gjennomsnittet til de fire forsøkene.. Figur 3 visualiserer et eksempel på hemningssonene til de utvalgte oljene. Ut ifra figuren kan vi enkelt se forskjellen mellom oljenes effekt på bakterieveksten.

Det ble i tillegg gjennomført en tosidig heteroskedastisk T-test (se tabell 2). Det var ikke mulig å gjennomføre t-test på oregano-, peppermynthe- og chiliolje. Disse oljene hadde ingen variasjon i verdiene hos hemningssonen, og derfor var det ingen differanse å sammenligne.

Figur 2 visualiserer forskjellen hos oljene. For å sammenligne oljene må vi se på standardfeilen. Ut ifra figuren kan vi se at standardfeilen til rosmarin- og salvieolje overlapper hverandre. Det vil si at der et en sjans for at disse oljene har like stor effekt, men at det ikke har vist seg under forsøkene. For å teste dette ble det gjennomført en tosidig heteroskedastisk t-test mellom disse to oljene (se tabell 3). T-testen viser at det er 16,8% sjans for at resultatene bare var tilfeldige og at disse oljene har lik effekt.



Figur 1: en graf over den gjennomsnittlige radiusen til oljenes hemningssone, med standardavvik. Standardavvik verdiene er oppført i tabell 2.



Figur 2: en graf over den gjennomsnittlige radiusen til oljenes hemningssone, med standardfeil. Standardfeil verdiene er oppført i tabell 2.

Tabell 1: Gjennomsnittlig radius av hemningssonene, i tillegg til standardavvik og standardfeil til de utvalgte oljene.

	Rosmarin	Oregano	Peppermynthe	Salvie	Fenikkel	Chili	Vann
Gjennomsnitt (cm)	1,10	2,00	2,00	0,93	0,68	0,50	0,00
Standardavvik (cm)	0,16	0,00	0,00	0,14	0,03	0,00	0,00
Standardfeil (cm)	0,08	0,00	0,00	0,07	0,01	0,00	0,00

Tabell 2: Tosidig heteroskedastisk t-test mellom de utvalgte oljene og vann

T-test mellom olje og vann	Rosmarin	Oregano	Peppermynthe	Salvie	Fenikkel	Chili	Vann
Den gjennomsnittlige hemningssonen til oljene i cm	1,00	2,00	2,00	0,81	0,71	0,50	0,00
	1,33	2,00	2,00	0,98	0,69	0,50	0,00
	1,09	2,00	2,00	0,83	0,64	0,50	0,00
	0,97	2,00	2,00	1,10	0,67	0,50	0,00
Ttest (cm)	0,00089	-	-	0,00085	0,00002	-	-
Prosent (%)	0,089 %	-	-	0,085 %	0,002 %	-	-

Tabell 3: Tosidig heteroskedastisk t-test mellom rosmarin og salvie

T-test mellom olje og vann	Rosmarin	Oregano	Peppermynthe	Salvie	Fenikkel	Chili	Vann
Den gjennomsnittlige hemningssonen til oljene i cm	1,00	2,00	2,00	0,81	0,71	0,50	0,00
	1,33	2,00	2,00	0,98	0,69	0,50	0,00
	1,09	2,00	2,00	0,83	0,64	0,50	0,00
	0,97	2,00	2,00	1,10	0,67	0,50	0,00
Ttest (cm)	0,00089	-	-	0,00085	0,00002	-	-
Prosent (%)	0,089 %	-	-	0,085 %	0,002 %	-	-



Figur 3: Eksempel på hvordan resultatet fra forsøket til hver enkel olje så ut

DISKUSJON

Figur 1 visualiserer hemningssonen til de ulike oljene, med standardavvik. Ut ifra tabell 1 ser vi at oregano- og peppermyntheolje har den største hemningssonen, etterfulgt av rosmarin. Dårligs ut kom chiliolje, som bare hindret bakterieveksten rundt papirlappen (se tabell 1). Figuren viser at det er størst spredning i verdiene hos rosmarin og salvie. Jevnt over var spredningen av verdiene hos de fleste oljene minimal (se tabell 1, standardavvik), og derfor kan resultatene tolkes på en pålitelig måte

Resultat av t-testen viser at det er en signifikant forskjell mellom oljene og vann. Derfor har også alle oljene en større hemningssone enn vann, og det indikerer antibakterielle egenskaper.

Usikkerhet ved metoden

Selv om metoden gav et godt innblikk i hvor godt oljene klarte å hindre bakterievekst, fantes det noen begrensninger. For det første begrenset metoden verdien til den maksimale hemningssonen til 2,0 cm.

Agarplaten hadde en begrenset størrelse, og derfor fikk hver av lappene et begrenset areal av bakterievekst å hindre. I flere av petriskålene var det betydelig mindre bakterievekst i sentrum enn ut på kantene, og det tyder på at de fem lappene sammen har hindret veksten i sentrum. Derfor vil ikke sentrum gi en helt nøyaktig verdi på hver enkelt lapp sin hemningssone. Dette gikk spesielt utover peppermynte- og oreganoolje der bakterieveksten ble hindret fullstendig. Om forsøket skulle blitt gjentatt en annen gang hadde det vært lurt å bare ha en lapp i sentrum av petriskålen. På denne måten hadde det også vært mulig å skille effekten av peppermynteolje fra effekten av oreganoolje.

Selv om radiusen ble målt tre ganger på en lapp, blir ikke resultatet helt nøyaktig. Om vi skulle fått en helt korrekt verdi på hemningssonen, burde det blitt tatt et helt nøyaktig mål rundt hele lappen.

Til tross for disse usikkerheten i metoden gir fortsatt resultatene en god indikasjon på oljenes antibakterielle effekt. Grunnen til det er at resultatene viser at alle oljene har en større hemningssone enn vann, og det tyder på at alle er antibakterielle. På en annen side forteller ikke metoden hvilken effekt oljene vil gi, annet enn at de hindrer en bakterievekst. Hensikten med forsøket var å undersøke utvalgte essensielle oljer sin antibakterielle effekt, og derfor er det ingen feilkilde at resultatene ikke kan definere nytteverdien til oljene. Likevel kan disse resultatene støtte opp under videre forskning om essensielle oljer har en antibakteriell effekt.

Usikkerhet ved resultatet

Resultat viser at chiliolje har minst antibakteriell effekt. På en annen side er ikke resultatet av chiliolje like sikkert som de andre oljene. Hensikten med forsøket var å teste essensielle oljer sin antibakterielle effekt, derfor er ikke resultatene av chilioljen relevant, annet enn at vi kan se en forskjell mellom matolje og essensiell olje sin antibakterielle effekt. Det kan tyde på at konsentrasjonen av de ingrediensene som hindrer bakterievekst er mindre i matolje enn i essensielle oljer.

At t-testen mellom rosmarin og salvie gav et utslag på 16,8%, betyr at disse to oljene skal ha lik effekt.. Selv om rosmarin i prosjektet har hatt litt større hemningssone viser utregningene og standardfeilen at oljene har lik effekt. For å sjekke om dette stemmer trengs det videre forskning.

Selv om metoden har ført til at resultatene har fått en viss usikkerhet, underbygger statistiske utregninger en troverdighet i resultatet; t-testen indikerer at det er svært liten sannsynlighet for at effekten av vann og oljene skal være lik (se tabell 3). I tillegg blir også forskjellene fremstilt visuelt i figur 2, der man tydelig kan se at ingen av standardfeilene overlapper søylen som representerer vann. Derfor er resultatene pålitelige i den forstand at vi kan si med sikkerhet at disse oljene som er blitt testet har større antibakteriell effekt enn vann.

KONKLUSJON

Til tross for usikkerhet rundt metoden og resultatene, støtter likevel statistiske utregninger under spørsmålet om essensielle oljers antibakterielle effekt. Resultatene viser at oljene har en negativ effekt på bakterievekst, og fungerer derfor som et antibakterielt middel. T-testen viser at det er en signifikant forskjell mellom de utvalgte oljene og vann, og derfor har oljene en større virkning på bakterier enn vann. På en annen side sier ikke resultatene noe om andre essensielle oljers antibakterielle effekt, og derfor er resultatene kun rettet mot disse utvalgte oljene. Oregano- og peppermynte olje har størst effekt, chilioljen har den minste effekten.

REFERANSER

Gold Biotechnology, I. (Regissør). (2013). *Testing an Antibiotic Using a Disk diffusion Assay-Kirby Bauer Method* [Film]. Hentet oktober 19, 2016 fra <https://www.youtube.com/watch?v=sx1uDYSfINA>
Helsebiblioteket. (2016, september 12). *Kviser*. Hentet fra helsebiblioteket.no: <http://www.helsebiblioteket.no/pasientinformasjon/hud/akne>

- Nordeng, H. (2014, juli 22). *eterisk olje*. Hentet desember 16, 2016 fra Store Norske Leksikon: https://sml.snl.no/eterisk_olje
- passion4therapy. (2015, oktober 08). *Eteriske oljer og akne*. Hentet januar 12, 2016 fra passion4therapy.blogg.no: http://passion4therapy.blogg.no/1443893066_03102015.html
- Rosholt, E. (2016, november). *Yin yoga og eteriske oljer kan hjelpe mot vinterdepresjonen*. Hentet januar 12, 2017 fra kk: <http://www.kk.no/helse-kosthold-trening/yin-yoga-og-eteriske-oljer-kan-hjelpe-mot-vinterdepresjon-41268>
- Skauli, H. (u.d.). *Eteriske oljer*. Hentet januar 12, 2017 fra Norsk opplysningskontor for helsekost: <http://www.helsekostopplysningen.no/Innhold/Kost--Kosttilskudd/Planter/Eteriske-oljer/>