

# Flugrepellenter ur extrakt från *Mentha spicata* x *crispata* — studier med *Protophormia terraenovae*

Walborg Thorsell, Ailo Mikiver, Elisabeth Malm & Maarja Mikiver

Thorsell, W., Mikiver, A., Malm, E. & Mikiver, M.: Flugrepellenter ur extrakt från *Mentha spicata* x *crispata* — studier med *Protophormia terraenovae*. [Fly repellents from extracts of *Mentha spicata* x *crispata* — studies on *Protophormia terraenovae*.] — Ent. Tidskr. 110:109—112. Umeå, Sweden 1989. ISSN 0013—886x.

In order to prevent flies from transmission of disease causing agents to humans and animals repellents might be used. Such repellents can be found in various plants. This study describes the finding of fly repellents in *Mentha spicata* x *crispata*.

The plant material was extracted with toluene. The extract was analyzed by gaschromatography/masspectrometry. Several components were found which were tested for their ability to repel the fly, *Protophormia terraenovae*. The test was performed in a net cage with about 100 starved flies. A piece of meat treated with the identified compound in concentrations between 0.1 and 10.0 per cent was placed in the cage and the repelling effect was observed. Amongst the substances tested dihydrocarvone and carvone repelled on a distance at concentrations of about 2—11  $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ , whereas eucalyptol, limonene, p — cymene,  $\gamma$ -terpinene, dihydrocarvyl-acetate,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -myrcene, eugenol and  $\alpha$ -humulene seemed to have a deterrent effect mainly by contact of the fly with the treated bait and at concentrations of 17—25  $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ .

W. Thorsell, Karlskronavägen 45, S—121 52 Johanneshov, Sweden.  
A. Mikiver, E. Malm & M. Mikiver, Swedish Defence Research Establishment, Department 5, S—102 54 Stockholm, Sweden.

Flugor kan bära olika smittämnen med sina kroppshår, fötter och mundelar. Överföring kan ske direkt eller indirekt till människor och djur, som då kan drabbas av sjukdom. Den pågående resistensutvecklingen hos flugor mot nyttjade insektsgifter accentuerar behovet av nya medel och åtgärder.

I tidigare studier har ett stort antal växtextrakt studerats betr. flugavvisande effekt. Bland dessa är särskilt extrakt från krusmynta och kamomill verksamma (Thorsell et al. 1986). Sådana extrakt kan innehålla många ämnen, varav troligen endast några är verksamma. Syftet med följande studie har varit att söka identifiera ämnena i extrakt från krusmynta samt att testa dessa ämnen, främst de kvantitativt dominerande, på flugavvisande egenskaper.

## Material och metoder

### Extrakt och kemiskt analysförfarande

Ovanjordiska delar av krusmynta, *Mentha spicata* x *crispata* finfördelades och extraherades med toluen vid +20° C. Extraktet indunstades till torrhet vid +30±1° C och 1,3—2,0 kPa. Därigenom eliminerades de flyktigaste ämnena. Återstoden användes för att framställa lösningar för analys. Analyserna utfördes gaskromatografiskt med kvartskapillärkolonn 30 m×0,32 mm bonded FSOT med RLS®—150 som fas. Bärargasen utgjordes av helium och flödes hastigheten var 2 ml/min. Splitinställningen var 1,8/100. Starttemperaturen +80° C hölls konstant i 2 min. varefter temperaturen ökades 16°/min upp till +200° C. Erhållna fraktioner analyserades med masspek-

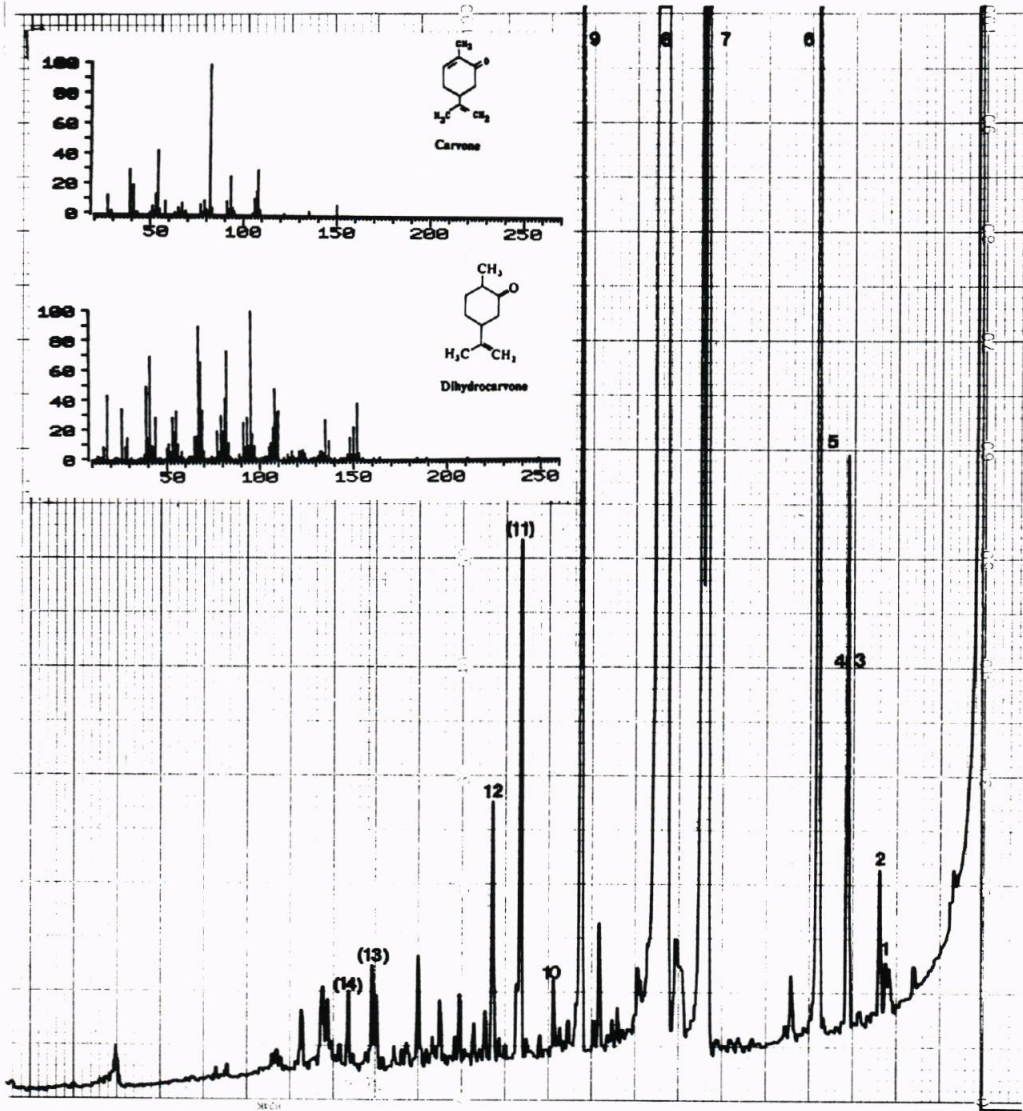


Fig. 1. Gaskromatogram av toluenextrakt från krusmynta, *Mentha spicata x crispata*. Siffrorna anger referenssubstanser, som ger samma masspektra som besiffrade fraktioner; (11), (13) och (14) enl. masspektra i litteraturen. 1. Pinen; 2. Myrcen; 3. 1,8-Cineol; 4. Limonen; 5. p-Cymen; 6.  $\gamma$ -Terpinen; 7. Dihydrokarvon; 8. Karvon; 9. Dihydrokarvylacetat; 10. Eugenol; (11). Bourbonen; 12. Caryophyllen; (13). Caryophyllen oxid; (14). Copaen. Infällt är masspektra av karvon och dihydrokarvon.

Gaschromatogram from toluene extract of *Mentha spicata x crispata*. The numbers refer to substances giving identical masspektra with the numbered fractions; (11), (13) and (14) agree with the masspektra from the literature. Inset is the masspektra of carvone and dihydrocarvone.

Tab. 1. Flugavvisande effekt hos föreningar, kommersiellt tillgängliga (numrerade enl. Fig. 1), som enl. GC/MS kan förekomma i toluenextrakt från *Mentha spicata x crispata*. Medelvärde ( $\bar{x}$ ) och standardavvikelse (SD) anges för 5 replikat per ämne och koncentration. A anger antal flugor som vidrört/landat på provet och flugit bort före kontrolltidens utgång. B anger antal flugor som vidrört/landat på provet och stannat kvar till kontrolltidens utgång.

Flyrepelling effect of compounds, commercially available, (numbered, as in Fig. 1) which according to GC/MS may occur in toluene extracts of *Mentha spicata x crispata*. Average value ( $\bar{x}$ ) and standard deviation (SD) are given of 5 replicates per substance and concentration. A gives the number of flies which touched/landed on the bait and left it before the end of the time of the control. B gives the number of flies which touched/landed on the bait and stayed till the end of the time of the control.

Substanser/Substances	Koncentration/Concentration															
	10,0%		5,0%		1,0%		0,1%									
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B				
<i>Stora toppar/Major peaks</i>																
3. 1.8-Cineol (Eucalyptol)	5	3	0	0	0	0	15	1	1	1	12	4	0	0	15	1
4. (+) Limonen	9	5	0	0	15	1	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1
(-) Limonen	10	5	0	0	11	3	0	0	1	1	12	2	0	0	15	1
5. p-Cymen (p-Cymol)	15	1	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1	0	0	15	1
6. $\gamma$ -Terpinen	10	3	0	0	15	1	0	0	0	0	12	3	0	0	13	3
7. (+) Dihydrokarvon	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	12	6	0	0
8. (+) Karvon	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	0	0	9	5	0	0
(-) Karvon	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	4	4	0	0
9. (-) Dihydrokarvylacetat	11	3	0	0	15	2	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1
<i>Små toppar/Minor peaks</i>																
1. $\beta$ -Pinen	16	6	0	0	12	5	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1
2. $\beta$ -Myrcen	14	3	0	0	15	2	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1
10. Eugenol	13	3	0	0	15	1	0	0	0	0	15	1	0	0	15	1
12. $\alpha$ -Caryophyllen ( $\alpha$ -Humulen)	14	2	0	0	14	4	0	0	0	0	13	3	0	0	15	1
Kontroll/Control	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0

trometer LKB 9000. De erhållna masspektra jämfördes därpå med masspektra i litteraturen. Härigenom erhöles förslag på ämnen. En del av dessa ämnen var kommersiellt tillgängliga. Dessa referensämnen analyserades på motsvarande sätt som extraktet. Erhållna resultat jämfördes. En sammanställning gjordes därpå av de ämnen som visade överensstämmelse betr. gaskromatografi och masspektrometri (jfr Fig. 1).

*Kommersiellt tillgängliga referenssubstanser*

1,8 cineol = eucalyptol, Merck DAB6; R (+) limonen, Fluka > 98% (GC), S (-) limonen, Fluka ca 97% (GC); p-cymen = p-cymol, ICN;  $\gamma$ -terpinen, Sarsynthèse ca 97% (GC); (+) dihydrokarvon, Sarsynthèse; (+) resp (-) karvon, Fluka >99% (GC); (-) dihydrokarvylacetat, Sarsynthèse;  $\beta$ -pinen, Fluka >95% (GC);  $\beta$ -myrcen, Sigma, approx 90%; eugenol, Fluka  $\geq$ 99% (GC);  $\alpha$ -caryophyllen =  $\alpha$ -humelen, Sarsynthèse.

*Biologiskt testförfarande*

Försöken utfördes i insektarium vid +20±1° C och en relativ fuktighet av 50±5%. Flugorna utgjordes av *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830), (Calliphoridae, spyflugor), vilka bl a livnär sig på animaliska ämnen och som är relativt lätta att odla. Ett 100-tal flugor mer än 4 d. gamla fick svälta 3 till 5 timmar varpå de placeras i nätbur. Kontrollförsöken utfördes enligt följande: 0,8 g finfördelat kött med en yta av 4,5±0,5 cm<sup>2</sup> insattes i buren. Köttet var i förväg blandat med 0,15 ml etanol och lufttorkat. Vid tiden 0 då köttet infördes i buren fanns inte någon fluga på köttet. Tiden noterades då 15 flugor satt sig på köttet. Denna tid, kontrolltiden, varierade mellan 2,0 och 5,0 min i de utförda kontrollerna (n = 260). Bakgrunden till valet av kontrolltid för 15 flugor var baserat på orienterande försök, 5 repli-

kat i samma bur, utförda med 15 minuters intervall. Under  $2,00 \pm 0,04$  min blev köttet helt täckt av flugor ( $15 \pm 1$ ). Inte någon fluga flög bort under denna tid. Vid prov av de definierade ämnena utformades experimenten enligt ovan, men köttet hade blandats med en etanollösning/suspension av studerat ämne i olika koncentrationer. Prov utfördes alltid i samma bur, där kontrolltiden mätts 15 min tidigare. I provförsöken noterades därpå antalet flugor, som vidrört köttet och flugit bort före kontrolltidens utgång resp stannat kontrolltiden ut (jfr Tab. 1). Samtliga prov med tillhörande kontroller har utförts 5 gånger.

### Resultat

De gaskromatografiska och masspektrometriska resultaten är sammanfattade i Fig. 1. De största koncentrationerna förekommer bland ämnena som motsvarar: 1.8-cineol, limonen, p-cymen,  $\gamma$ -terpinen, dihydrokarvon (patentsökt), karvon och dihydrokarvylacetat. Ämnena i lägre koncentration motsvarar bl a: pinen, myrcen, eugenol, bourbonen,  $\alpha$ -caryophyllen, caryophyllen oxid och copan. En del ämnena i låg koncentration har ej identifierats.

Flugexperimenten är redovisade i Tab. 1. Bland de testade ämnena är dihydrokarvon och karvon avvisande på avstånd och i låga koncentrationer. 1.8-cineol, limonen, p-cymen,  $\gamma$ -terpinen, dihydrokarvylacetat,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -myrcen, eugenol och  $\alpha$ -caryophyllen förefaller att avvisa vid kontakt och vid höga koncentrationer.

### Diskussion

Effektivt skydd mot flugor kräver ofta att flera olika åtgärder vidtas, eventuellt samtidigt. Önskvärt är att dessa inte stör den biologiska balansen alltför mycket. I sammanhanget kan repellenter vara av intresse. Dessa påverkar insekten så att den rör sig bort från ämnena i fråga.

Den utförda studien visar, att en av våra inhemska växter, krusmynta, som traditionellt använts inom folkmedicinen, innehåller minst två extraherbara flugrepellenter. Dihydrokarvon och karvon verkar på avstånd och i koncentrationer mellan 1 och 5% eller 2 till  $11 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ . Detta innebär att smittat material/materiel, som behandlas med sådana ämnena kan, under en viss tid, hindra flugor att komma i kontakt med smittäm-

nen, som de annars skulle kunna överföra till människor och djur.

Några ämnena i extraktet förefaller att verka vid kontakt och i koncentrationer mellan 5 och 10% eller 17 till  $25 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ . Dessa ämnena hindrar inte flugorna att få kontakt med nedsmittat och behandlat material/materiel. De kan dock ha betydelse i repellentsammanhang ifall de är verksamma som synergister.

De båda repellenterna med avståndsverkan är strukturellt likartade. De är ketoner av terpennatur. Ämnena, som visade tendens att avvisa flugorna vid kontakt tillhör andra typer av strukturer av varierande slag. Limonen,  $\gamma$ -terpinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -myrcen och  $\alpha$ -caryophyllen är terpenoida kolväten, eucalyptol är en epoxiförening med terpenkaraktär och dihydrokarvylacetat är en ester av terpennatur. Även aromatiska föreningar såsom kolvätet p-cymen och fenoletern eugenol återfinns bland dessa ämnena.

Karvon beskrivs också ha avskräckande effekt på husfluga (Sharma & Saxena 1974), som tillhör en annan familj än *Protophormia terraenovae*. Karvon har också rapporterats ha repellerande effekt på tysk kackerlacka (Inazuka 1982) och mal (Sugimoto et al. 1980), vilka tillhör helt andra ordningar. Oberoende av om dessa effekter kan hänföras till en eller flera mekanismer är resultaten intressanta, då de antyder en bredbandseffekt hos en i växtriket ej helt ovanlig terpen.

Tack framföres till STU för ekonomiskt stöd — projektnummer 85—03330P —, till Stockholms Universitet, Zoologiska Institutionen, som bidragit med laboratoriemöjligheter, till prof. B. Kulenberg och dr A.-K. Borg Karlson, båda vid Uppsala Universitets Ekologiska Forskningsstation, till prof. E. Sylvé, Naturhistoriska riksmuseet, laborator U. Bergh och institutionschef L. Wennberg, FOA 5, Stockholm, vilka bidragit med värdefulla synpunkter på manuskriptet.

### Litteratur

- Inazuka, S. 1982. Cockroach repellents contained in oils of Japanese mint and Scotch spearmint. — *J. Pest. Sci.* 7:145—154.
- Sharma, R.N. & Saxena, K.N. 1974. Orientation and developmental inhibition in the housefly by certain terpenoids. — *J. Med. Ent.* 11:617—621.
- Sugimoto, M., Sato, H., Hayashi, H. 1980. Répulsif parfumé pour insectes — Franskt patent 2433298.
- Thorsell, W., Malm, E., Mikiver, A. & Mikiver, M. 1986. Flugkontroll med växtextrakt. Studier med *Prothormia terraenovae*. — FOA-rapport C50040—H1.