

Promjene sastava eteričnog ulja biljne vrste *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch u eksperimentalnom uzgoju

Vladimir-Knežević, Sanda; Blažević, Nikola; Kalodžera, Zdenka; Brkić,
Dragomir

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2000, 56, 329 - 334**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:238491>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and
Biochemistry University of Zagreb](#)



Promjene sastava eteričnog ulja biljne vrste
Micromeria thymifolia (Scop.) Fritsch
u eksperimentalnom uzgoju

SANDA VLADIMIR-KNEŽEVIĆ¹, NIKOLA BLAŽEVIĆ²
ZDENKA KALOĐERA¹ i DRAGOMIR BRKIĆ³

¹Zavod za farmakognoziju, ³Zavod za farmaceutsku botaniku
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu,
i ²Irex-Aroma, Zagreb

**Variations in the composition of the essential oil of *Micromeria thymifolia*
(Scop.) Fritsch in conditions of experimental cultivation**

S u m m a r y – The effect of experimental cultivation on the content and composition of the essential oil of *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch (Lamiaceae), which forms chemotypes during wild growth in various areas of its distribution, was investigated. The essential oil of the wild specimen belonging to the pulegone chemotype took on new features in conditions of experimental cultivation. The composition of the ketone fraction was modified and the percentage of the oxides within the most abundant group of cyclic oxygenated monoterpenes was increased. The total yield of the oil decreased. The content and composition of the essential oil from cultivated plant specimen, which in terms of origin belongs to the piperitenone oxide chemotype, were altered only insignificantly as compared with those of the wild specimen.

¹Department of Pharmacognosy, ³Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, and ²Irex-Aroma, Zagreb, Croatia

UVOD

Mnoge se aromatične vrste hrvatskoga biljnozemljopisnog područja danas podvrgavaju različitim kemijskim i biološkim ispitivanjima kako bi se otvorila mogućnost njihove primjene u suvremenoj fitoterapiji ili proizvodnji mirisa i aroma. Jedna od takvih je i gorska bresina (timijanolisni vrisić) – *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch, višegodišnji polugrm visine 20–40 cm iz porodice *Lamiaceae*. Izrazit je heliofit i hazmofit. Najčešće raste u pukotinama stijena, na kamenjaru i u škrapama građenim uglavnom od vapnenca i dolomita. Može se naći u širokom rasponu od 30 do blizu 2000 m nadmorske visine. Gorska bresina je pripadnica ilirskog flornog elementa, s manjim ek-sklavama prema sjeveru (Sjeverna Mađarska). Smatra se endemičnom vrstom Dinarskog gorja, jer se njezin areal uglavnom poklapa s područjem Dinarida (1,2).

Dosadašnja ispitivanja kemijskoga sastava gorske bresine pokazala su prisutnost eteričnog ulja (3,4), flavonoida (5–7), triterpena (8) i saponina (9). Ispitivanjem uzoraka s različitih nalazišta u Hrvatskoj te Bosni i Hercegovini, utvrđeno je da ta biljna vrsta sadrži 0,60–1,52% (V/m) eteričnog ulja, u kojemu su najzastupljenije sastavnice ciklični monoterpeni s kisikom (72,21–93,91%), a ostali spojevi pripadaju monoterpenskim ugljikovodicima, alifatskim monoterpenskim alkoholima i seskviterpenskim spojevima. Utvrđene su znatne razlike u sastavu ispitanih eteričnih ulja. Zabilježena je velika varijabilnost u udjelima ketonske, oksidne i alkoholne frakcije. Pokazalo se da *M. thymifolia* razvija kemotipove samoniklim rastom unutar svog širokog dinarsko-ilirskog areala: pulegonski, piperitenon-oksidni i izomentolni kemotip (10,11).

Provedena su i biološka istraživanja, kojima je utvrđen snažan antimikrobni i diuretični učinak gorske bresine (12–15). Široki spektar antimikrobnog djelovanja eteričnog ulja i etanolnog ekstrakta te biljne vrste osnova je za njenu potencijalnu primjenu kao antiseptika. Rezultati ispitivanja antifungalnoga učinka posebno su uputili na mogućnost primjene gorske bresine u liječenju gljivičnih oboljenja koje uzrokuju dermatofiti. Na osnovi pozitivnih rezultata istraživanja učinka eteričnog ulja, etanolnog ekstrakta i infuza na izlučivanje urina u pokusnih životinja, ispitivana vrsta može se svrstati i u skupinu biljnih diuretika.

Utvrđena biološka svojstva bila su valjan razlog za eksperimentalni uzgoj i nastavak istraživanja biljne vrste *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch. U ovom radu iznosimo rezultate ispitivanja utjecaja eksperimentalnoga uzgoja na količinu i sastav eteričnog ulja.

EKSPERIMENTALNI DIO

1. Ispitivani biljni materijal

Ispitivanjima su podvrgnuti nadzemni dijelovi biljne vrste *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch, eksperimentalno uzgojene u kljajalištima Farmaceutskog botaničkog vrta »Fran Kušan« Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Slika 1.) Prvi uzorci su uzgojeni iz sjemena biljaka sabranih na nalazištu Dariva (okolica Sarajeva, 680 m, kolovoz 1994.), a potom je primijenjen klasičan postupak vegetativnog razmnožavanja. Vegetativno su razmnožavani i živi primjerci doneseni s Učke (1200 m, srpanj 1994). Odvojeni uzgoj navedenih uzoraka provodio se u keramičkim posudama sa supstratom: kompost-ilovača-dolomitni šljunak (5:2:1), uz dodavanje vlage po potrebi. Tijekom zime kljajališta su bila zaštićena, pa su biljke dočekale početak vegetacijske sezone na temperaturama višim od 0 °C. Ljeti su bile izložene temperaturama do +30 °C.

Ispitivani biljni materijal sabran je u kolovozu 1997. godine, a zatim osušen na zraku pri sobnoj temperaturi.

2. Izolacija eteričnog ulja

Eterično ulje izolirano je iz osušenih nadzemnih dijelova ispitivane biljne vrste postupkom hidrodestilacije u Clevenger-aparaturi. Destilacija je trajala 3 sata, a 30 minuta nakon završetka destilacije očitao je volumen dobivenog ulja. Ulje je otopljeno u pentanu te izdvojeno iz graduirane cijevi. Zaostala voda uklonjena je bezvodnim natrij-sulfatom. Nakon filtriranja, pentan je otparen na sobnoj temperaturi.



Slika 1. Eksperimentalno uzgojena biljna vrsta *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch (Farmaceutski botanički vrt »Fran Kušan« Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu)

3. Analiza eteričnog ulja u vezanom sustavu: plinski kromatograf-spektrometar masa

GC-MS analizi podvrgnuto je eterično ulje izolirano postupkom hidrodestilacije. Analiza je provedena na plinskom kromatografu Pye Unicam PU 4550 s plamenoionizacijskim detektorom (FID) i spektrometru masa Shimadzu QP 1000 (EI 70 eV). Odjeljivanje sastavnica eteričnog ulja postignuto je u kapilarnoj koloni sa sinteriranim silicij-oksidiom: WCOT fused silica CP-Sil 8CB, 25 m × 0,32 mm ID. Temperatura injekcijskog bloka bila je 220 °C, a temperatura detektora 250 °C. Primijenjen je sljedeći temperaturni program: 60 °C (1 min) → (4 °C/min) → 240 °C (30 min). Plin nositelj bio je vodik s protokom 0,3 mL/min. Podaci su obrađeni pomoću PU 4810 mikroručunala.

REZULTATI I RASPRAVA

Određivanje količine eteričnog ulja u nadzemnim dijelovima ispitivane biljne vrste provedeno je metodom hidroddestilacije. Eksperimentalno uzgojeni biljni materijal (uzorak A) podrijetlom s Učke sadržavao je 0,89% (V/m) eteričnog ulja, dok je iz uzgojenog materijala (uzorak B) podrijetlom s nalazišta Dariva izolirano 0,40% (V/m). Samonikli uzorak s Učke sadržavao je 1,52% eteričnog ulja, a uzorak s nalazišta Dariva 0,60% (10).

Primjenom plinske kromatografije i spektrometrije masa provedena je kvalitativna i kvantitativna analiza eteričnih ulja, a rezultati su prikazani u tablici 1. U eteričnom ulju uzorka A utvrđena je prisutnost 25 sastavnica, od kojih je 17 identificirano (97,40% ulja). Utvrđena je vrlo velika zastupljenost cikličnih monoterpena s kisikom u količini od 95,07% (ketoni 62,67%, oksidi 32,38%, fenoli 0,02%). Pojedinačni udio ostalih skupina spojeva bio je manji od 1% (alifatski monoterpeni s kisikom 0,76%, monoterpenski ugljikovodici 0,82%, seskviterpeni 0,75%). Pulegon (36,85%), piperitenon (23,80%) i piperitenon-oksidi (32,38%) bili su osnovne sastavnice ulja.

Eterično ulje izolirano iz uzorka B sadržavalo je 30 sastavnica. Identificirano je 98,37% ulja (21 sastavnica). Najzastupljeniji spojevi pripadali su skupini cikličnih monoterpena s kisikom (93,37%): oksidi (60,51%), ketoni (32,31%), alkoholi (0,44%) i fenoli (0,11%). Alifatskih monoterpena s kisikom bilo je 1,33%, monoterpenskih ugljikovodika 0,89% te seskviterpenskih ugljikovodika i alkohola 2,78%. Osnovnu frakciju ulja činili su piperitenon-oksidi (60,51%), pulegon (20,29%) i izopulegon (11,35%).

U tablici 2. navedeni su udjeli pojedinih skupina spojeva i osnovnih sastavnica eteričnih ulja uzgojenih uzoraka te samoniklih uzoraka koji pripadaju pulegonskom (uzorak A) i piperitenon-oksidsnom kemotipu (uzorak B). Vidljivo je da se količina najzastupljenijih cikličnih monoterpena s kisikom u eteričnom ulju uzgojenog uzorka A povećala, a udio ostalih sastavnica smanjio, u odnosu na samonikli uzorak. Ketonsku frakciju samoniklog uzorka s Učke čini uglavnom pulegon. Međutim, u uvjetima eksperimentalnoga uzgoja izrazito se povećala količina piperitenona, a smanjio udio pulegona. Piperitenon-oksidi, poput piperitenona, pojavljuje se u samoniklom uzorku samo u tragovima, dok u uzgojenom materijalu pripada osnovnim sastavnicama.

U uzgojenom uzorku B nisu zabilježene značajnije promjene sastava eteričnoga ulja u odnosu na samonikli uzorak. Piperitenon-oksidi i pulegon ostaju vodeće sastavnice ulja, međutim, izopulegon zamjenjuje mjesto s piperitenonom u nešto povećanoj ketonskoj frakciji uzgojenog materijala.

ZAKLJUČAK

Istražen je utjecaj eksperimentalnoga uzgoja na količinu i sastav eteričnog ulja gorske bresine *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch (*Lamiaceae*), koja samoniklim rastom na različitim područjima svog areala stvara kemotipove. Uspješno su uzgojeni biljni uzorci podrijetlom s Učke (uzorak A) i s

Tablica 1.
Sastav eteričnog ulja eksperimentalno uzgojenih uzoraka biljne vrste *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch

SASTAVNICA	Retencijsko vrijeme (min)	UDIO (%)	
		Uzorak A	Uzorak B
α -tujen	2,19	–	0,09
α -pinen	2,28	0,30	0,17
sabinen	2,72	0,23	0,22
mircen	3,18	0,22	0,31
α -terpinen	3,52	0,04	–
limonen + 1,8-cineol	3,88	0,03	0,10
neidentificirana	6,30	0,25	0,09
neidentificirana	7,24	0,45	0,22
linalool	7,79	0,76	1,33
kamfor	8,80	0,42	0,33
mentol	10,04	–	0,21
izomentol	10,94	–	0,23
pulegon	12,15	36,85	20,29
izopulegon	12,26	0,82	11,35
piperiton	12,55	0,36	0,17
karvon	12,95	0,34	0,04
timol	13,28	0,02	0,03
karvakrol	13,55	–	0,08
neidentificirana	13,70	–	–
neidentificirana	15,32	–	0,06
piperitenon	15,75	23,80	0,13
piperitenon-oksidi	16,06	32,38	60,51
kariofilen	17,44	0,55	1,64
kadinen	17,81	0,12	0,20
neidentificirana	18,66	1,16	0,18
neidentificirana	19,35	0,30	0,06
ledol	23,28	0,08	0,27
neidentificirana	25,22	0,06	0,36
neidentificirana	25,56	0,08	0,31
neidentificirana	25,98	0,02	0,15
neidentificirana	27,04	0,24	0,37
neidentificirana	27,04	–	0,37
elemol	37,54	–	0,67

Uzorak A – uzgojeni biljni materijal podrijetlom s Učke

Uzorak B – uzgojeni biljni materijal podrijetlom s nalazišta Dariva u okolici Sarajeva

nalazišta Dariva u okolici Sarajeva (uzorak B), za koje je prethodno utvrđeno da pripadaju pulegonskom i piperitenon-oksidsnom kemotipu.

Eterično ulje samoniklog uzorka, koji predstavlja pulegonski kemotip, poprimio je nova obilježja u uvjetima eksperimentalnog uzgoja (uzorak A). Promijenio se sastav ketonske frakcije i povećao udio oksida unutar najza-

Tablica 2.

Udio pojedinih skupina spojeva i osnovnih sastavnica eteričnih ulja eksperimentalno uzgojenih i samoniklih uzoraka biljne vrste *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch

SASTAVNICE	UDIO (%)			
	Uzorak A		Uzorak B	
	uzgojeni	samonikli*	uzgojeni	samonikli*
monoterpenski ugljikovodici	0,82	11,59	0,89	3,31
ciklični monoterpeni s kisikom:	95,07	72,21	93,37	93,90
<i>alkoholi</i>	—	2,30	0,44	1,08
<i>fenoli</i>	0,02	0,51	0,11	0,88
<i>ketoni</i>	62,67	69,29	32,31	22,02
<i>oksidi</i>	32,38	0,11	60,51	69,93
alifatski monoterpeni s kisikom	0,76	5,22	1,31	—
ciklični seskviterpenski ugljikovodici i alkoholi	0,75	7,33	2,78	1,13
osnovne sastavnice:				
<i>pulegon</i>	36,85	67,53	20,31	12,90
<i>izopulegon</i>	—	0,50	11,35	0,29
<i>piperiton</i>	0,36	0,10	0,17	7,31
<i>piperitenon</i>	23,80	0,16	0,13	1,20
<i>piperitenon-oksidi</i>	32,38	0,11	60,51	69,93

* rezultati prethodnih istraživanja (10)

stupljenjeje skupine cikličnih monoterpena s kisikom. Smanjio se i ukupan prinos ulja. Količina i sastav eteričnog ulja uzgojenog uzorka B, koji prema podrijetlu pripada piperitenon-oksidnom kemotipu, nisu se značajno promijenili u odnosu na samonikli uzorak.

Literatura – References

1. Č. Šilić, Monografija rodova Satureja L., Calamintha Miller, Micromeria Bentham, Acinos Miller i Clinopodium L. u flori Jugoslavije, Zemaljski muzej Bosne i Hercegovine, Sarajevo 1979, 172.
2. Z. Kalodera, S. Vladimirknežević, Farm. Glas. 48 (1992) 203.
3. G. Stanić, Z. Kalodera, J. Petričić, A. Todorčić, N. Blažević, Acta Pharm. Jugosl. 38 (1988) 251.
4. Lj. Karuza-Stojaković, S. Pavlović, P. Živanović, B. Todorčić, Arh. Farm. 39 (1989) 59.
5. A. Belino, A. Venturella, C. Marceno, Fitoterapia 51 (1980) 163.
6. F. A. Tomas-Barberan, S. Z. Husain, M. I. Gil, Biochem. Syst. Ecol. 16 (1988) 43.
7. F. A. Tomas-Barberan, M. I. Gil, P. D. Marin, F. Tomas-Lorente, Biochem. Syst. Ecol. 19 (1991) 697.
8. Z. Kalodera, N. Blažević, S. Vladimirknežević, Ž. Romić, Acta Pharm. 44 (1994) 193.
9. Z. Kalodera, S. Vladimirknežević, J. Petričić, Lek. Sirov. 9 (1990) 59.
10. S. Vladimirknežević, Z. Kalodera, N. Blažević, Pharmazie 55 (2000) 156.
11. S. Vladimirknežević, Z. Kalodera, R. Jurišić, Farm. Glas. 56 (2000) 301.
12. Z. Kalodera, S. Pepeljnjak, S. Vladimirknežević, Pharmazie 48 (1993) 311.
13. Z. Kalodera, S. Pepeljnjak, S. Vladimirknežević, N. Blažević, Pharmazie 49 (1994) 376.
14. S. Vladimirknežević, Z. Kalodera, S. Pepeljnjak, N. Blažević, K. Hazler, Period. Biol. 96 (1994) 389.
15. S. Vladimirknežević, Doktorska disertacija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb 1998.

Primljeno 25. IX. 2000.