

# APARATURA

## BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

### Porównanie składu olejków eterycznych igliwia jodły (*Abies alba* Mill.) pochodzącej ze stanowisk zróżnicowanych pod względem wysokości nad poziomem morza

PAULA KUŻMA<sup>1</sup>, ALEKSANDER BALCER<sup>2</sup>, PAWEŁ STANISZEWSKI<sup>2</sup>,  
MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI<sup>1</sup>

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE,

<sup>1</sup>WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSCI, KATEDRA BIOTECHNOLOGII, MIKROBIOLOGII I OCENY ŻYWNOSCI,

<sup>2</sup>WYDZIAŁ LEŚNY, KATEDRA UŻYTKOWANIA LASU

**Słowa kluczowe:** jodła pospolita, GC-MS, olejek eteryczny

#### STRESZCZENIE

Igły jodły pospolitej wykazują działanie bioaktywne i lecznicze ze względu na obecność w nich olejku eterycznego, który wykazuje pozytywne działanie m.in. w schorzeniach układu oddechowego, w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych, jest także stosowany jako środek dezynfekujący i antybakteryjny. Celem badań było porównanie składu chemicznego olejku eterycznego igliwia jodły pospolitej pozyskanego ze stanowisk o różnej wysokości nad poziomem morza: 650 m i 1050 m. Analizę składu chemicznego olejku eterycznego przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas.

### Comparison of chemical components of essential oils in needles of Silver fir (*Abies alba* Mill.) obtained from the positions at different heights above sea level

**Keywords:** Silver fir, GC-MS, essential oil

#### ABSTRACT

Fir needles essential oil has bioactive and pharmacological activities. It has a positive effect, e.g. in diseases of the respiratory system, in the treatment of cardiovascular diseases or as a disinfectant. The aim of the study was to compare the chemical composition of essential oils of Silver fir needles obtained from the positions at different heights above sea level: 650 meters and 1050 meters. The analysis of the chemical composition of the essential oil was carried out using a gas chromatograph coupled with a mass spectrometer.

## 1. WSTĘP

Jodła pospolita (*Abies Alba* Mill.) jest iglastym drzewem z rodziny sosnowatych (*Pinaceae*) osiągnięciem wysokości 30-60 m. W stanie naturalnym występuje w górach środkowej i południowej Europy z wyłączeniem Skandynawii, Anglii oraz Półwyspu Iberyjskiego (nie dotyczy Pirenejów). Polska jest jej naturalną północną granicą zasięgu (linia: Nowa Sól, Ostrów Wielkopolski, Łódź, Lublin, Zamość). W Polsce górną granicą jodły są stanowiska w Tatrach, gdzie niekiedy dochodzi do 1400 m n.p.m. Na terenie naszego kraju występuje przede wszystkim na południu (Karpaty, Sudety, Góry Świętokrzyskie, Roztocze). Posiada ona korony stożkowe, wąskie, luźno ugałęziona oraz strzelisty pień. Igły jodły pospolitej osiągają długość 1,5-3 cm i są osadzone spiralnie na gałęzi. Jest to drzewo ceniolubne o dużych wymaganiach wilgotnościowych i glebowych. Jest wrażliwa na zanieczyszczenia powietrza oraz niskie temperatury. Najczęściej tworzy lite drzewostany lub mieszane z bukiem pospolitym (*Fagus sylvatica* L.). Drewno jodły najczęściej wykorzystywane jest w przemyśle budowlanym oraz celulozowo-papierniczym. W niewielkim stopniu pozyskuje się stroisz bądź igliwie służące jako surowiec zielarski do otrzymywania olejku eterycznego [1, 2].

Igły jodły pospolitej wykazują działanie bioaktywne i lecznicze ze względu na obecność w nich olejku eterycznego. Jest on bezbarwną lub jasnożółtą cieczą o przyjemnym, słodkim, cytrusowym zapachu. Olejek eteryczny znajduje zastosowanie m.in. w schorzeniach układu oddechowego, jako środek antybakteryjny, dezynfekujący, łagodzący napięcia nerwowe, jest stosowany pomocniczo w leczeniu chorób układu krążenia. Jest bezpieczny do stosowania, gdyż nie wywołuje alergii ani fotouczulenia. Wykazuje także właściwości energetyczne i relaksacyjne [1, 3, 4].

W przemyśle spożywczym igliwie jodły wykorzystywane jest jako przyprawa lub marynata do pieczonych mięs, dodatek do piwa, nalewek, likierów oraz herbat, stosuje się go w różnych typach żywności jako czynnik relaksujący i stymulujący (głównie guma do żucia, cukierki). Olejek jodłowy w przemyśle kosmetycznym jest stosowany do produkcji odświeżaczy powietrza, mydeł, kosmetyków do kąpieli.

Olejek jodłowy jest względnie łatwy do pozyskania, ale mimo to niewykorzystany. Roczna produkcja w latach 60. XX wieku w Polsce wynosiła 10 ton

z tendencją malejącą. Obecnie nie ma aktualnych szczegółowych danych na ten temat, ale szacuje się, że niewielkie ilości olejku są otrzymywane głównie w Rumunii, Bułgarii, Albanii (dane na rok 2007), zaś w Polsce dostępny jest tylko na zamówienie [1].

Celem pracy było porównanie składu chemicznego olejku eterycznego igliwia jodły pospolitej pozyskanego ze stanowisk o różnej wysokości nad poziomem morza: 650 m i 1050 m. Analizę składu chemicznego olejku eterycznego przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas.

## 2. MATERIAŁ I METODYKA

Materiałem badawczym były igły jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) pozyskane w Polsce w paśmie górskim Gorce ze stanowisk zróżnicowanych pod względem wysokości nad poziomem morza: 650 metrów i 1050 m. Powierzchnie badawcze zlokalizowane były na terenie Ochotnicy Górnej należącej do Nadleśnictwa Krościenko. Drzewostany, z których pozyskano materiał do badań, były w dobrym stanie zdrowotnym i sanitarnym. Wybrane drzewa były w dobrej kondycji, bez widocznych oznak chorobowych i szkodników. Drzewa wyselekcjonowane do badań należały do jednej klasy wieku w celu wyeliminowania dodatkowych czynników mogących wpłynąć na uzyskiwane wyniki badań.

W celu określenia składu chemicznego olejków eterycznych igliwia jodły pospolitej poddano je destylacji z parą wodną w aparacie Derynga [5]. Surowiec pozyskany został tydzień przed poddaniem go destylacji i przetransportowany do laboratorium w plastikowych workach, a następnie przechowywany w pomieszczeniu o temperaturze nieprzekraczającej 10°C. Oddzielone od gałęzi igliwie, wstępnie oczyszczone z zanieczyszczeń mechanicznych, rozdrabniane było na fragmenty długości 2-3 mm w sposób mechaniczny przy pomocy noża i nożyczek. Następnie przy pomocy wagi laboratoryjnej odmierzane były stugramowe porcje (z dokładnością do 0,01 g). Przygotowany materiał po umieszczeniu w kolbie o pojemności 1000 ml zalewany był 500 ml wody destylowanej. Po umieszczeniu kolby w płaszczu grzewczym i podłączeniu do aparatu Derynga była ona podgrzewana od momentu doprowadzenia zawartości do wrzenia i uzyskania pierwszej kropli olejku (po 10-15 min) odmierzany był czas jednej

próby 45 min. Po ostygnięciu aparatury olejek był zlewany do szczelnie zamykanych fiolek. Badania obejmowały łącznie 90 destylacji z parą wodną i prowadzone były w dwóch etapach: pierwszy etap obejmował wykonanie 45 prób (3 drzewa po 15 prób) z użyciem materiału z wysokości 650 m n.p.m., w drugim etapie zostało wykonane 45 prób (3 drzewa po 15 prób) z użyciem materiału z wysokości 1050 m n.p.m.

Następnie przeprowadzono analizę składu chemicznego uzyskanych olejków eterycznych przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym firmy Shimadzu GCMS-QP2010. Zastosowano kolumnę niepolarną typu ZB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) firmy Zebron. Warunki analizy były następujące: temperatura komory nastrzykowej 230°C, dzielnik strumienia 100:1. Początkowa temperatura pracy kolumny wynosiła 60°C i była utrzymywana przez 2 minuty, następnie wzrost temp. z szybkością 4°C/min do 300°C i izoterma końcowa przez 3 min. Gazem nośnym był hel, a jego przepływ wynosił 0,90 ml/min. Temperatura łącza GC/MS wynosiła 220°C, temperatura źródła jonów 200°C, widma masowe przemieszczane były w zakresie masowym – m/z 100-600 przy zastosowaniu energii jonizacji wynoszącej 70eV. Identyfikacji związków dokonano poprzez porównanie ich widm masowych i indeksów retencji z następującymi bibliotekami widm masowych: NIST, Wiley, Pal oraz z danymi literaturowymi. Analizy każdej próbki wykonano w sześciu powtórzeniach. Analiza statystyczna obejmująca wyznaczanie miar rozkładu, tj. odchyłeń standardowych i średnich arytmetycznych dla każdej z badanych wysokości, została przeprowadzona przy pomocy programu Microsoft Excel 2010.

### 3. WYNIKI I Dyskusja

Wydajność destylacji olejków jodłowych wyniosła 1,01% dla próbek z wysokości 650 m n.p.m. i 0,89% dla próbek z wysokości 1050 m n.p.m. W olejkach eterycznych zidentyfikowano ponad 90 komponentów. 33 najważniejsze zidentyfikowane związki, których zawartość procentowa w próbkach była większa niż 0,20 %, stanowiły od 93,73% (dla jodły z wysokości 1050 m n.p.m.) do 94,43% (dla jodły z wysokości 650 m n.p.m.) składu badanych olejków. Zostały one scharakteryzowane w Tabeli 1.

W rezultacie przeprowadzonych analiz w olejkach jodłowych z obu wysokości zidentyfikowano te same związki, jednakże ich wzajemny stosunek nie był jednakowy (Tab. 1). Największy udział procentowy w składzie stanowiły węglowodory monoterpene, dla wysokości 650 m n.p.m. i 1050 m n.p.m. odpowiednio 59,78% i 56,84%. Uzyskane olejki charakteryzowały się mniejszym udziałem monoterpenu niż olejki jodły pospolitej analizowane przez innych badaczy, gdyż dane literaturowe donoszą, że zawartość węglowodorów monoterpenu w oleju jodłowym wynosi 64-95% [7, 9, 11]. Kolejną ważną grupą zidentyfikowanych związków są węglowodory seskwiterpenowe, które stanowią 20,64% (650 m n.p.m.) i 21,87% (1050 m n.p.m.) składu olejku, co jest porównywalne z wynikami innych badaczy (15-26%) [9]. Zidentyfikowano także pochodne terpenowe, w tym estry, tj. octan bornyłu, octan cytronellylu, octan geranylu, octan farnesyli, które stanowią mniejszy udział w składzie olejków, od 14,01% (dla wysokości 650 m n.p.m.) do 14,96% (dla wysokości 1050 m n.p.m.). Zarówno dane literaturowe, jak i przeprowadzone analizy wskazują, że wysoka zawartość węglowodorów monoterpenu a niska zawartość estrów są charakterystyczne dla olejków z igliwia jodły pospolitej *Abies alba* Mill. [7].

W obu grupach badanych olejków głównymi związkami były limonen i kamfen, których udział procentowy dla wysokości 650 m n.p.m. i 1050 m n.p.m. wynosił odpowiednio 18,42% i 19,20% dla limonenu oraz 13,26% i 14,67% dla kamfenu. W próbkach z obu wysokości limonen był dominantem, co jest zgodne z badaniami Wajs i wsp. [7], gdzie limonen także był głównym składnikiem, lecz jego udział był kilkukrotnie wyższy. W obu olejkach porównywalny jest też udział innych, zajmujących duży udział w składzie procentowym komponentów, tj.  $\alpha$ -pinenu, santeonu, tricyklenu, octanu bornyłu, kariofilenu. Główne dominanty olejków jodłowych zidentyfikowane przez innych badaczy to  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, limonen, octan bornyłu [5]. Potwierdzają to uzyskane wyniki. Zauważalne zmiany w składzie procentowym olejków pozyskanych ze stanowisk o różnej wysokości nad poziomem morza dotyczą  $\beta$ -pinenu. W olejkach z wysokości 650 m n.p.m. zawartość  $\beta$ -pinenu wynosiła 12,45%, zaś w olejkach ze stanowisk o większej wysokości udział  $\beta$ -pinenu był o połowę mniejszy i wynosił 6,23%.

**Tabela 1** Udział procentowy składników olejku jodły pospolitej uzyskanych ze stanowisk zróżnicowanych pod względem wysokości nad poziomem morza

**Table 1** Relative percentage composition of *Abies alba* Mill. essential oils obtained from the positions at different heights above sea level

Nazwa związku	Charakter	IR	650 m n.p.m.		1050 m n.p.m.	
			Udział [%]	s	Udział [%]	s
santen	M	882	1,78	0,07	1,42	0,20
tricyklen	M	924	2,66	0,33	2,81	0,28
$\alpha$ -pinen	M	935	10,05	0,85	11,42	2,62
kamfen	M	953	13,26	0,59	14,67	3,06
$\beta$ - pinen	M	980	12,45	1,62	6,23	5,96
$\beta$ - myrcen	M	989	0,86	0,10	0,83	0,15
limonen	M	1035	18,42	3,58	19,2	4,86
terpinolen	M	1085	0,31	0,08	0,28	0,05
borneol	M	1172	0,54	0,37	0,34	0,34
$\alpha$ -terpneol	MP	1194	0,27	0,04	0,25	0,11
citronellol	MP	1225	0,23	0,09	0,32	0,09
octan bornylylu	MP	1287	12,38	2,25	12,7	1,90
octan cytronellylu	MP	1349	0,56	0,17	1,15	0,24
longipinen	S	1351	1,45	0,03	1,26	0,30
octan geranylu	SP	1377	0,94	0,17	0,63	0,20
junipen	S	1410	1,12	0,06	1,32	0,25
kariofilen	S	1422	3,91	0,94	4,58	0,97
himachala-2,4-dien	S	1426	2,08	0,14	1,56	0,46
$\alpha$ -humulen	S	1457	1,12	0,46	1,55	0,41
germakren d	S	1484	0,89	0,05	0,85	0,23
guajen	S	1488	3,03	0,59	2,57	0,35
walencen	S	1490	0,20	0,31	0,81	0,40
$\alpha$ -selinen	S	1496	0,63	0,07	0,90	0,31
$\beta$ -himachalen	S	1501	0,95	0,12	0,67	0,43
$\beta$ -bisabolen	S	1508	0,27	0,03	0,51	0,23
<i>d</i> -amorfen	S	1514	0,68	0,05	0,9	0,29
<i>d</i> -cadinen	S	1519	1,27	0,05	1,67	0,51
longiborneol	SP	1602	0,39	0,06	0,31	0,19
kubenol	SP	1634	0,43	0,04	0,36	0,12
$\alpha$ -kadinol	SP	1642	0,30	0,04	0,31	0,19
$\alpha$ -bisabolol	SP	1655	0,58	0,02	0,65	0,23
9-oktadecenal	A	1803	0,29	0,04	0,22	0,13
octan farnesylylu	SP	1831	0,13	0,10	0,48	0,28

IR – indeksy retencji wyznaczone na podstawie porównania czasów retencji z czasami retencji węglowodorów  $C_7$ - $C_{20}$  z zastosowaniem kolumny niepolarniej DB5ms; s – odchylenie standardowe; M – monoterpeny; MP – pochodne monoterpenowe, S – seskwiterpeny, SP – pochodne seskwiterpenowe, A – aldehydy

Uzyskane wyniki różnią się od siebie oraz są znacznie niższe od danych literaturowych, które donoszą, że udział procentowy  $\beta$ -pinenu w olejku z jodły pospolitej z terenów Polski waha się w granicach 19,6-23,6% [9], zaś według innych źródeł 15% [1]. Uważa się, że dwa związki, które są charakterystyczne i swoiste tylko dla olejków uzyskanych z roślin z gatunku *Abies alba*, to santen i tricyklen [7]. Oba zostały zidentyfikowane w obu badanych próbach. Ponadto według badaczy udział procentowy octanu bornylu w olejkach z jodły pospolitej jest niższy niż w innych gatunkach jodły i kształtuje się w granicach 4-12% [1]. W przeprowadzonych badaniach uzyskano nieznacznie wyższe wartości, tj. 12,38% (650 m n.p.m.) oraz 12,7% (1050 m n.p.m.).

#### 4. WNIOSKI

- Analiza olejków eterycznych pozyskanych z różnych wysokości nad poziomem morza wykazała bogatą kompozycję olejku jodłowego oraz dużą różnorodność w profilu, ale z dominacją tych samych komponentów.
- Głównymi związkami są monoterpény, z największym udziałem procentowym limonenu i kamfenu.
- Skład badanych olejków eterycznych jodły pospolitej pochodzących z Polski jest zbliżony z danymi uzyskanymi przez innych badaczy, występują jedynie niewielkie różnice.
- Na różnice składu chemicznego badanych olejków pozyskanych z różnych wysokości nad poziomem morza mogło wpłynąć wiele czynników np. inne stadium rozwoju roślin lub czynniki środowiskowe, tj. ukształtowanie terenu, klimat, temperatura, dostęp do światła. Na odmienny skład chemiczny olejków może też wpływać ciśnienie atmosferyczne, które obniża się wraz ze wzrostem wysokości oraz skład chemiczny atmosfery, zwłaszcza natlenienie. Duże znaczenie mają też czynniki genetyczne, ponieważ jodła pospolita wykazuje duże zróżnicowanie genetyczne i bioróżnorodność ze względu na lotne węglowodory terpenowe w obrębie danej populacji [9, 10].
- Przeprowadzone badania miały na celu wzbogacenie i uaktualnienie wiedzy na temat składu chemicznego olejków eterycznych jodły pospolitej pochodzących z Polski. Uzyskane wyniki nie pozwalają jednoznacznie stwierdzić jaki wpływ ma wysokość stanowiska wzrostu jodły pospolitej na skład chemiczny olejku, w związku z czym wymagane są dalsze badania w tym kierunku.

#### LITERATURA

- [1] Góra J., Lis A., Najcenniejsze olejki eteryczne, Toruń, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, 2007, 134-145.
- [2] Tomanek J., Witkowska-Żuk L., Botanika leśna PWRiL, Warszawa 2008, 112-115.
- [3] Polakowska M., Leśne rośliny zielarskie, Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1987, 105.
- [4] Rhind J., Essential Oils: A Handbook for Aromatherapy Practice. Wielka Brytania, Singing Dragon, 2012, 237.
- [5] PN-A-79011-14:1998. Zawartość olejków eterycznych metodą destylacji z parą wodną.
- [6] Yang S., Jeon S., Lee E., Im N., Jhee K., Lee S., Lee I., Radical Scavenging activity of the essential oil of silver fir (*Abies alba*), J. Clin. Biochem. Nutr., 44, 2009, 253-259.
- [7] Serban E., Socaci S., Tofana M., Maier S., Bojita M., Advantages of "headspace" technique for GC/MS analysis of essential oils. Farmacia, 60 (2), 2012, 249-256.
- [8] Wajs A., Urbańska J., Zaleśkiewicz E., Bonikowski R., Composition of essential oil from seeds and cones of *Abies alba*. Nat. Prod. Commun., 5 (8), 2010, 1291-1294.
- [9] Zeneli G., Petrakis P., Naxakis G., Roussis V., Variability in foliar and cortex oleoresin of silver fir from natural forests of Albania, 1<sup>st</sup> Member's meeting of the Association for Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (AMAPSEEC), Belgrad, czerwiec 2001.
- [10] Baran S., Kalemba D., Pietrzykowski R., Zieliński W., Wykorzystanie wielowymiarowych metod statystycznych do badania bioróżnorodności jodły pospolitej *Abies alba* Mill., Colloquium Biometryczne, 35, 2005, 115-126.
- [11] Rose J., 375 Essential Oils and Hydrosols, USA, Frog Group, 1999, 182-18.