

SASTAV ETERIČNIH ULJA IZ IGLICA *Pinus sylvestris* L., *P. nigra* Arnold, *P. densiflora* Sieb. et Zucc. i *P. thunbergiana* Franco

COMPOSITION OF VOLATILES FROM NEEDLES OF *Pinus sylvestris* L., *P. nigra* Arnold,
P. densiflora Sieb. et Zucc. and *P. thunbergiana* Franco

Marilena IDŽOJTIĆ*

SAŽETAK: Analiziran je sastav eteričnih ulja iglica običnog bora (*Pinus sylvestris* L. = sy), europskog crnog bora (*P. nigra* Arnold = ni), japanskog crvenog bora (*P. densiflora* Sieb. et Zucc. = de) i japanskog crnog bora (*P. thunbergiana* Franco = th). Analiza je rađena plinskom kromatografijom (GC) i plinskom kromatografijom/spektrometrijom masa (GC/MS).

Broj detektiranih komponenti je različit za pojedine vrste (europski crni bor 122, obični bor 116, japanski crveni bor 122, japanski crni bor 87). Ukupno je identificirano 55 komponenti. Od ukupnog sadržaja eteričnog ulja identificirane komponente čine 90,1 % za obični bor, 94,4 % za europski crni bor, 81,3 % za japanski crveni bor i 94,9 % za japanski crni bor. Sve su identificirane komponente terpeni, osim trans-2-heksenala, koji je n-alken. Najveći je udio monoterpena (sy 54,3 %, ni 64,9 %, de 61,7 %, th 77,3 %), zatim seskviterpena (sy 35,5 %, ni 27,1 %, de 13,6 %, th 16,4 %) i diterpena (sy 0,2 %, ni 2,3 %, de 5,9 %, th 0,73 %).

Cluster analiza pokazuje da su prema sastavu eteričnih ulja iglica najbližnji obični bor i japanski crveni bor. Njima je sličan europski crni bor, a japanski crni bor se znatno razlikuje od ostale tri analizirane vrste.

Ključne riječi: *Pinus sylvestris* L., *P. nigra* Arnold, *P. densiflora* Sieb. et Zucc., *P. thunbergiana* Franco, eterična ulja, terpeni, GC, GC/MS, cluster analiza.

UVOD – Introduction

Eterična ulja su hlapljive, mirisne tekućine, smjese ugljikovodika različitog sastava. Prozirna su, bezbojna, na zraku potamne, otapaju se u organskim otapalima, biljnim i životinjskim uljima i mastima, ne miješaju se s vodom. Karakteristični sastojci eteričnih ulja su terpeni.

Terpeni su ugljikovodici opće formule $(C_5H_8)_n$, a neki terpeni sadrže i kisik. Osnovna je jedinica nezasićeni ugljikovodik izopren: $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$. Prema broju jedinica izoprena terpeni se dijele na monoterpena (2), seskviterpena (3), diterpena (4), triterpena (6) i

tetraterpena (8). Terpeni se kod crnogorice nalaze u eteričnom ulju iglica, u smoli iz kore i iz drva. Svaki od ovih izvora predstavlja neovisan sustav, jer smolni kanali različitih biljnih organa nisu međusobno povezani (von R u d l o f f 1975). Igllice borova sadrže 0,4 - 0,5 % eteričnih ulja.

Mnoge se vrste roda *Pinus* koriste za dobivanje eteričnih ulja. Ovisno o dominantnoj vrsti u regiji, različito je porijeklo ulja borovih iglica. Skandinavsko ulje se dobiva iz iglica *P. sylvestris* L., dok se ulje koje potječe iz Alpa, Karpata i Sibira sastoji od *P. sylvestris* i *P. cembra* L. Francusko ulje se većinom dobiva iz iglica *P. pinaster* Ait., španjolsko iz *P. halepensis* Mill., indijsko iz *P. wallichiana* Jacks., a ulje iz istočne Azije pretežno iz iglica *P. densiflora* Sieb. et Zucc. U Americi se ulje najčešće

* Mr. sc. Marilena Idžojtić, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25

dobiva iz iglica vrsta *P. caribaea* Mor., *P. lambertiana* Dougl., *P. palustris* Mill., *P. taeda* L., *P. ponderosa* Dougl. ex P. et C. Laws. i *P. sabiniana* Dougl. (K u b e c -

zka & Schultze 1987). Eterična ulja se iz iglica dobivaju destilacijom, a koriste se kao mirisi u proizvodnji parfema i sapuna, u medicini i u prehrambenoj industriji.

MATERIJAL I METODE – Material and Methods

Biljni materijal i pripremanje uzoraka – Plant Material and Sample Preparation

Iglice su sakupljene u listopadu 1996. godine s potpuno razvijenih, svježe ubranih jednogodišnjih izbojaka. Izbojci su za obični bor ubrani sa 29 stabala, za europski crni bor sa 41 stabla, za japanski crveni bor sa 40

stabala i za japanski crni bor sa 9 stabala. Za svaku je vrstu destilirano 15 g iglica u aparatu tipa Karlsruher. Destilacija je trajala 6 sati. Eterična ulja su sakupljena u 1 ml n-pentan.

Plinska kromatografija (GC) i plinska kromatografija/spektrometrija masa (GC/MS)

Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)

Plinska kromatografija je instrumentalna kemijska metoda koja se upotrebljava za razdvajanje i analizu kemijskih smjesa i identifikaciju jednostavnih i složenih kemijskih spojeva. Služi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu, a za analizu su potrebne male količine uzoraka. Tom metodom je moguće analizirati kemijski vrlo slične spojeve i one koje nije moguće analizirati drugim kemijskim metodama.

Oprema na kojoj je rađena plinska kromatografija za ovaj rad su DANI 8610 i DANI 8400 kapilarni plinski kromatografi (DANI, Monza, Italija). Svaki je opremljen PTV injekcijskim sustavom (*programmed temperature vaporiser*), FID detektorom (*flame ionization detector*) i LDC/Milton Roy CI - 10 B integrotrom (LCD/Milton Roy, Riviera Beach, Florida). Kapilarne kolone ispunjene su stacionarnim fazama različite polariteta.

Nepolarni sustav sadrži CP-Sil 5 CB (dimethylpolysiloxane; 50 m x 0,22 mm; debljine filma 0,13 µm) kapilarnu kolonu (Chrompack International BV, Middelburg, Nizozemska). Brzina nosivog plina (vodika) bila je 43 cm/s. Programirana temperatura kolone iznosila je: 40 - 300 °C, s porastom 4 °C/min i 300 °C izotermno u trajanju 10 minuta. PTV temperatura je bila 50 °C za vrijeme injektiranja, a zatim je naglo zagrijan na temperaturu 280 °C. FID je bio na temperaturi 310 °C.

Polarni sustav sastojao se od DB-Wax (polyethylene glycol; 60 m x 0,32 µm; debljine filma 0,25 mm) kapilarne kolone (J & W Scientific, Folsom, SAD). Nosivi plin (vodik) kretao se brzinom 53 cm/s. Programirana temperatura kolone iznosila je: 40 °C pet minuta, a zatim

je zagrijana brzinom od 2,5 °C/min od 40-250 °C. PTV temperatura bila je 50 °C za vrijeme injektiranja, a zatim je naglo zagrijan na 250 °C. FID je radio na 260 °C.

Plinska kromatografija u kombinaciji sa spektrometrijom masa je sigurno jedan od najmoćnijih analitičkih instrumentalnih metoda, koja se danas koristi u analitičkoj kemiji. Plinskom kromatografijom se razdvoje pojedine komponente smjese, a spektrometrija masa služi za izravnu identifikaciju komponenata.

Oprema na kojoj je rađena plinska kromatografija/spektrometrija masa za ovaj rad bila je Hewlett Packard (HP, Paolo Alto, SAD) G 1800A GCD sustav (napon 70 eV, temperatura 320 °C, raspon masa 30-425 amu). Spojevi iz smjese su razdvojeni u Db-1 kapilarnoj koloni (dimethylpolysiloxane; 50 m x 0,20 mm; debljine filma 0,33 µm; J & W Scientific). Nosivi plin (helij) kretao se brzinom 1 mL/min. Programirana temperatura kolone: početna temperatura 50 °C tri minute, zatim od 50-320 °C zagrijavanje 4 °C/min, temperatura 320 °C pet minuta. Uređaj je opremljen Wiley 275 bazom podataka i ona je korištena pri analizi uzoraka.

Komponente su identificirane korištenjem i kromatografskih i spektrometrijskih kriterija. Wiley 275 baza podataka korištena je za automatsku identifikaciju GC/MS vrhova. Dodatno su linearni retencijski indeksi (prema Van den Dool & Kratz 1963) dobiveni na polarnoj i nepolarnoj koloni, uspoređeni s objavljenim podacima (Davies 1990). Kvantifikacija je rađena iz GC-FID profila na nepolarnoj koloni, prema metodi postotnog udjela površina ispod vrhova prema ukupnoj površini izračunatoj integrotrom.

Cluster analiza – Cluster Analysis

Da bi se utvrdio stupanj sličnosti vrsta prema satavu eteričnih ulja iglica, rađena je cluster analiza. Ulazni podaci bili su postotni udjeli svih detektiranih komponenti. Korištena je hijerarhijska metoda udruživanja objekata (*joining*), algoritam izrade stabla (*tree clustering*

algorithm). Kao mjera udaljenosti korištena je Euklidova udaljenost, a za udruživanje clustera korištena je metoda potpunog povezivanja (*complete linkage*), kod koje je udaljenost između dva clustera određena najvećom udaljenošću bilo koja dva objekta iz tih clustera.

REZULTATI I DISKUSIJA – Results and Discussion

Broj detektiranih komponenti je različit za pojedine vrste. Za obični bor detektirano je 116 komponenti, za europski crni bor 122 komponente, isto toliko za japanski crveni bor, a za japanski crni bor 87 komponenti. U tablici 1 navedene su identificirane komponente. Ukupno je identificirano 50 komponenti za obični bor i za japanski crni bor, te 53 komponente za europski crni bor i za japanski crveni bor. Od ukupnog sadržaja eteričnih ulja identificirane komponente čine 90,1 % za obi-

čni bor, 94,4 % za europski crni bor, 81,3 % za japanski crveni bor i 94,9 % za japanski crni bor. Ostatak sadržaja do 100 % čine komponente koje nije bilo moguće sa sigurnošću identificirati, a uglavnom su prisutne u malim količinama. Za komponente koje na kromatogramu pokazuju otklon, ali nisu numerički registrirane, jer dolaze u vrlo malim količinama, u tablici je naznačeno da dolaze u tragovima.

Obični bor, *Pinus sylvestris* L.

Ukupno je detektirano 116 komponenti, od kojih je 50 identificirano. Identificirane komponente čine 90,1 % ukupnog sadržaja eteričnog ulja iglica običnog bora. Sve su identificirane komponente terpeni (89,98 %), osim *trans*-2-heksenala (0,12 %), koji je n-alken (vrh 1 u tablici 1).

Glavna grupa spojeva su monoterpeni, kojih je 28 (vrhovi 2 - 18, 20 - 29) i participiraju u ukupnom sadržaju eteričnog ulja 54,25 %, što znači da više od polovice sadržaja eteričnog ulja iglica običnog bora čine monoterpeni. Glavne komponente iz ove grupe spojeva su α -pinen (32,91 %), Δ^3 -karen (8,86 %) i kamfen (3 %).

Druga po važnosti grupa spojeva su seskviterpeni, kojih ima 19 (35,48 %) (vrhovi 30, 32 - 40, 42 - 46, 48 - 51 u tablici 1). Glavne komponente iz ove grupe spojeva su *endo*-1-bourbonanol (9,86 %), α -murolen (4,3 %), β -kariofilen (4,05 %), δ -kadinen (3,9 %) i germakren D (3,45 %).

Dva su identificirana diterpena, 13-epimanoil-oksidi (0,2 %) i tunbergol (u tragovima).

U literaturi su opisana dva kemotipa *P. sylvestris*, koji se razlikuju po sadržaju Δ^3 -karena (Yazdani et al. 1985, Chalchat et al. 1985, Hiltunen & Laasko 1995, Orav et al. 1996). Stabla običnog bora autoktona u Hrvatskoj, čije su iglice analizirane u ovome radu, pripadaju kemotipu s niskim sadržajem Δ^3 -karena (8,86 %). Prema materijalu i metodi rada, rezultati su usporedivi s rezultatima koje su Orav et al. (1996) dobili za obični bor iz Estonije, koji ima 23,7 % Δ^3 -karena i pripada kemotipu s visokim sadržajem ovoga monoterpena. Također postoji razlika u sadržaju kariofilen-oksida, koji nije detektiran u eteričnom ulju običnog bora iz Hrvatske, a u uzorku iz Estonije participira 4,9 %.

Kubeczka & Schultze (1987) analizirali su sastav eteričnih ulja iz iglica šest vrsta borova, među kojima su obični bor i europski crni bor. Za obični bor su naveli nešto veći udio α -pinena (42 %) i β -felandrena + limonena (5,5 %) nego što je to u ovome radu. Udio Δ^3 -karena je također bio visok (20,6 %). Provenijencija analiziranih uzoraka nije navedena.

Europski crni bor, *Pinus nigra* Arnold

Detektirane su 122 komponente, od kojih je 53 identificirano. Identificirane komponente čine 94,4 % ukupnog sadržaja eteričnog ulja iglica europskog crnog bora. Sve su identificirane komponente terpeni (93,4 %), osim *trans*-2-heksenala (0,1 %), koji je n-alken (vrh 1 u tablici 1).

Identificirano je 29 monoterpena, koji čine 64,9 % sadržaja eteričnog ulja iglica, odnosno 10 % više nego kod iglica običnog bora. Monoterpeni su komponente s vrhovima 2 - 29 u tablici 1. Glavne komponente su α -pinen (42,66 %) i β -pinen (11,64 %).

Sljedeća grupa komponenti su seskviterpeni, a ima ih 21 (vrhovi 30 - 34, 36 - 37, 39 - 52 u tablici 1). Oni čine 27,06 % sadržaja eteričnog ulja europskog crnog bora. Glavne komponente su germakren D (17,72 %) i β -kariofilen (5,62 %).

Identificirana su dva diterpena koji čine 2,34 % sadržaja eteričnog ulja iglica.

Sastav eteričnog ulja *P. nigra* Arnold ssp. *nigra* (Arn., Hayek), iz Bosne i Hercegovine, analizirali su

Chalchat & Gorunovic (1995). Identificiran je veći broj komponenti (91) nego u ovome radu, a te su komponente činile 90 % sadržaja eteričnog ulja. Osim kvalitativne razlike, najveća kvantitativna razlika je u sadržaju germakrena D, za kojega je navedeno da dolazi u tragovima. U eteričnom ulju analiziranom u ovome radu, germakren D je po udjelu druga komponenta (17,7 %), poslije α -pinena. Eterično ulje iglica analiziranih u radu Chalchat & Gorunovic (1995) imalo je veći udio α -pinena (66,5 %) i β -felandrena + limonena (6 %), a manji udio β -pinena (5,3 %) nego eterično ulje iglica analiziranih u ovome radu.

Kvantitativno je sadržaj terpena dobiven u ovome radu vrlo sličan rezultatima dobivenima u radu Kubeczka & Schultze (1987). Udio germakrena D je 18,6 %, a u ovome radu 17,7 %, a također je to druga komponenta po udjelu u eteričnom ulju, poslije α -pinena. Postoje kvalitativne razlike, jer su Kubeczka & Schultze (1987) identificirali samo 25 komponenti.

Japanski crveni bor, *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.

Detektirane su 122 komponente, od kojih je 53 identificirano. Identificirane komponente čine 81,33 % ukupnog sadržaja eteričnog ulja iglica. Postotak identificiranih komponenti je manji u odnosu prema ostalim analiziranim vrstama. Nekoliko komponenti, od kojih neke participiraju i s više od 3 % u ukupnom sadržaju eteričnog ulja, nije bilo moguće identificirati niti GC/MS metodom. To su komponente s linearnim indeksima većima od 2000. Te iste komponente se kod ostalih analiziranih vrsta nalaze u vrlo malim količinama ili samo u tragovima.

Sve su identificirane komponente terpeni (81,23 %), osim *trans*-2-heksenala (0,1 %), koji je n-alken (vrh 1 u tablici 1).

Glavna grupa spojeva su monoterpeni, kojih je 28 i čine 61,72 % sadržaja eteričnog ulja iglica (vrhovi 2 - 26, 28 i 29 u tablici 1). Glavne komponente su α -pinen (25,78 %), β -felandren + limonen (10,68 %), mircen (8,01 %) i β -pinen (5,78 %).

Druga grupa su seskviterpeni, ima ih 22 (vrhovi 30 i 32 - 52 u tablici 1) i čine 13,63 % sadržaja eteričnog ulja iglica japanskog crvenog bora. Glavne su komponente germakren D (4,49 %) i β -kariofilen (3,77 %).

Identificirana su dva diterpena, koji čine 5,88 % sadržaja eteričnog ulja (vrhovi 53 i 54 u tablici 1). Postotni udio tunbergola (5,56 %) je kod japanskog crvenog bora znatno veći nego kod ostale tri analizirane vrste.

Japanski crni bor, *Pinus thunbergiana* Franco

Detektirano je 87 komponenti, od kojih je 50 identificirano. Kod japanskog crnog bora detektirano je manje komponenti nego kod ostalih analiziranih vrsta, a identificirane komponente čine 94,85 % ukupnog sadržaja eteričnog ulja iglica, što je više u usporedbi s ostale tri vrste. Sve su identificirane komponente terpeni (94,36 %), osim *trans*-2-heksenala (0,49 %), koji je n-alken (vrh 1 u tablici 1).

Identificiranih monoterpena je 28 i čine 77,26 % sadržaja eteričnog ulja iglica (vrhovi 2 - 26, 28 i 29 u tablici 1). Postotni udio monoterpena u sadržaju eteričnog ulja iglica je kod japanskog crnog bora veći u usporedbi s ostalim vrstama (sy 54,25 %, ni 64,9 %, de

61,72 %). Glavne komponente su β -pinen (34,13 %), α -pinen (19,56 %) i β -felandren + limonen (10,56 %). U usporedbi s ostalim analiziranim vrstama, japanski crni bor ima znatno veći sadržaj β -pinena i to je komponenta koja participira s najvećim postotkom u eteričnom ulju. Kod ostalih je vrsta najveći postotni udio α -pinena.

Seskviterpena ima 20 i oni čine 16,36 % sadržaja eteričnog ulja iglica. Glavne su komponente germakren D (8,33 %) i β -kariofilen (3,42 %).

Identificirana su dva diterpena, koji čine 0,73 % sadržaja eteričnog ulja iglica (vrhovi 53 i 54 u tablici 1).

Tablica 1. Sastav eteričnih ulja iglica *Pinus sylvestris* (= sy), *P. nigra* (= ni), *P. densiflora* (= de) i *P. thunbergiana* (= th). Za identificirane komponente je naveden postotni udio u ukupnom sadržaju eteričnog ulja i linearni retencijski indeks na nepolarnoj koloni.

Table 1. Volatile compounds in needle oil of *Pinus sylvestris* (= sy), *P. nigra* (= ni), *P. densiflora* (= de) and *P. thunbergiana* (= th). Linear retention indices on the apolar column and quantification for all compounds are shown.

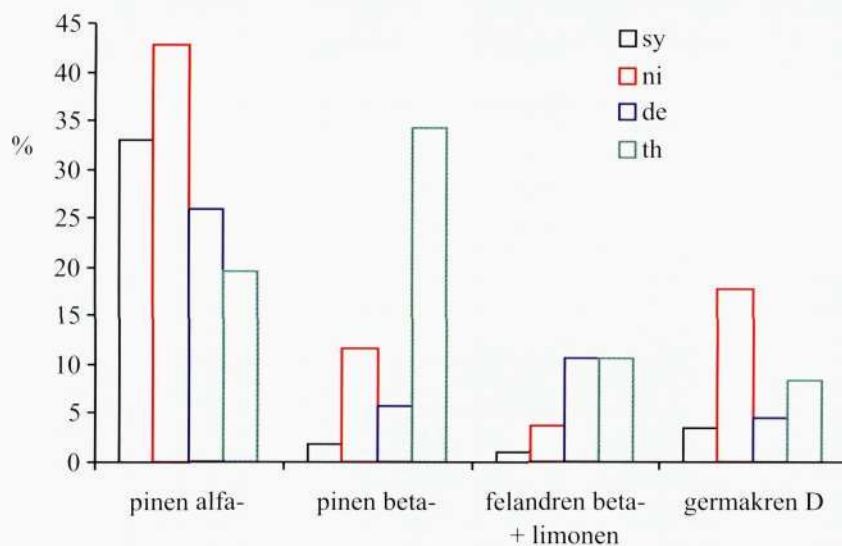
Vrh	Komponenta	sy		ni		de		th	
		%	Linearni indeks	%	Linearni indeks	%	Linearni indeks	%	Linearni indeks
1	<i>trans</i> -2-heksenal	0,12	834	0,1	835	0,1	835	0,49	832
2	triciklen	0,7	917	0,19	920	0,9	918	0,44	918
3	α -tujen	0,1	922	0,28	925	0,05	922	0,04	923
4	α -pinen	32,91	929	42,66	935	25,78	930	19,56	929
5	kamfen	3	940	1,13	943	3,41	940	1,8	940
6	sabinen	0,33	963	tragovi		0,37	963	tragovi	
7	β -pinen	1,93	966	11,64	971	5,78	967	34,13	969
8	mircen	1,37	982	1,39	986	8,01	983	4,7	984
9	α -felandren	0,04	995	0,06	998	0,09	995	0,12	996
10	Δ -3-karen	8,86	1003	0,2	1005	0,03	1002	0,03	1004
11	α -terpinen	0,09	1007	0,06	1010	0,08	1007	0,05	1008
12	<i>p</i> -cimen	tragovi		0,02	1014	0,02	1011	tragovi	
13	β -felandren + limonen	1	1018	3,66	1022	10,68	1018	10,56	1019

Vrh	Komponenta	sy		ni		de		th	
		%	Linearni indeks	%	Linearni indeks	%	Linearni indeks	%	Linearni indeks
14	<i>cis</i> -ocimen	0,04	1027	0,02	1030	tragovi		tragovi	
15	<i>trans</i> - β -ocimen	1,98	1038	1,03	1041	tragovi		tragovi	
16	γ -terpinen	0,16	1047	0,05	1050	0,11	1046	0,08	1047
17	α -terpinolen	1,16	1076	0,61	1079	3,06	1076	2,64	1077
18	linalol	tragovi		0,06	1088	0,04	1085	0,06	1086
19	α -kamfolen-aldehid	0		0,03	1107	0,03	1105	0,03	1106
20	kamfor	tragovi		0,05	1122	0,02	1122	0,03	1121
21	borneol	tragovi		0,05	1148	0,05	1145	0,06	1147
22	terpinen-4-ol	0,04	1159	0,05	1161	0,09	1158	0,08	1159
23	α -terpinol	tragovi		0,19	1173	0,15	1170	0,45	1171
24	metil-timil-eter	tragovi		0,04	1218	0,18	1215	0,18	1216
25	linalil-acetat	0,03	1240	0,22	1244	tragovi		tragovi	
26	bornil-acetat	0,24	1267	0,81	1269	2,62	1267	1,94	1267
27	α -terpinil-acetat	0,2	1330	0,37	1333	0		0	
28	bicikloelemen	0,07	1341	0,02	1343	0,02	1340	0,03	1341
29	geranil-acetat	tragovi		0,01	1364	0,15	1363	0,25	1364
30	α -kopen	0,19	1366	0,07	1368	0,03	1365	0,04	1366
31	β -bourbonen	0		0,23	1378	0		0	
32	β -elemen	0,27	1380	0,02	1383	0,05	1380	0,05	1379
33	β -kariofilen	4,05	1406	5,62	1411	3,77	1406	3,42	1407
34	β -kubeben	0,05	1415	0,03	1418	tragovi		0,03	1416
35	aromadendren	0,15	1425	0		0,03	1425	0,08	1426
36	α -humulen	0,68	1438	0,9	1442	0,59	1438	0,56	1439
37	seskviterpen (M 204)	0,3	1447	0,07	1450	0,04	1445	0,03	1446
38	γ -murolen	0,49	1462	0		0,16	1462	0,29	1463
39	germakren D	3,45	1466	17,72	1474	4,49	1466	8,33	1467
40	α -murolen	4,3	1481	0,26	1484	0,84	1481	0,71	1481
41	β -kadinen	0		0,03	1494	0,03	1491	0,06	1492
42	γ -kadinen	2,7	1497	0,25	1500	0,33	1497	0,47	1497
43	δ -kadinen	3,9	1508	0,48	1510	0,61	1507	0,82	1507
44	4,10-dimethyl-7-isopropyl (4,4,0)-bicyclo-1,4-decadien	0,07	1515	0,01	1518	tragovi		0	
45	α -kadinen	0,17	1521	0,03	1524	0,04	1521	0,04	1521
46	endo-1-bourbonanol	9,86	1557	0,58	1558	1,03	1555	0,66	1555
47	kariofilen-oksid	0		0,1	1561	0,05	1558	tragovi	
48	oksidirani seskviterpen (M 222)	0,13	1605	0,02	1608	0,05	1606	0	
49	α -kadinol	2,07	1618	0,23	1621	0,57	1618	0,3	1618
50	seskviterpen (M 204)	0,24	1621	0,05	1624	0,14	1621	0,08	1621
51	T-murolol	2,41	1630	0,27	1633	0,75	1630	0,35	1630
52	oksidirani seskviterpen (M 220)	0		0,09	1662	0,03	1659	0,04	1658
53	13-epimanoil-oksid	0,2	1967	2,25	1973	0,32	1969	0,07	1968
54	tunbergol	tragovi		0,09	2031	5,56	2032	0,67	2027
Σ		90,1		94,4		81,3		94,9	

Na slikama 1 i 2 su grafički, histogramima, prikazane komponente koje u ukupnom sadržaju eteričnog ulja barem za jednu vrstu participiraju više od 10 % (slika 1) i 5 % (slika 2).

Od svih komponenti prisutnih u eteričnom ulju iglica, kod običnog bora, europskog crnog bora i japan-

skog crvenog bora najveći je udio α -pinena (sy 32,91 %, ni 42,66 %, de 25,78 %). Kod japanskog crnog bora najveći udio u ukupnom sadržaju eteričnog ulja ima β -pinen, 34,13 %, dok je udio tog monoterpena kod ostalih vrsta puno manji (sy 1,93 %, ni 11,64 %, de 5,78 %) (slika 1).



Slika 1. Komponente koje u ukupnom sadržaju eteričnog ulja iglica za barem jednu vrstu participiraju više od 10 %.

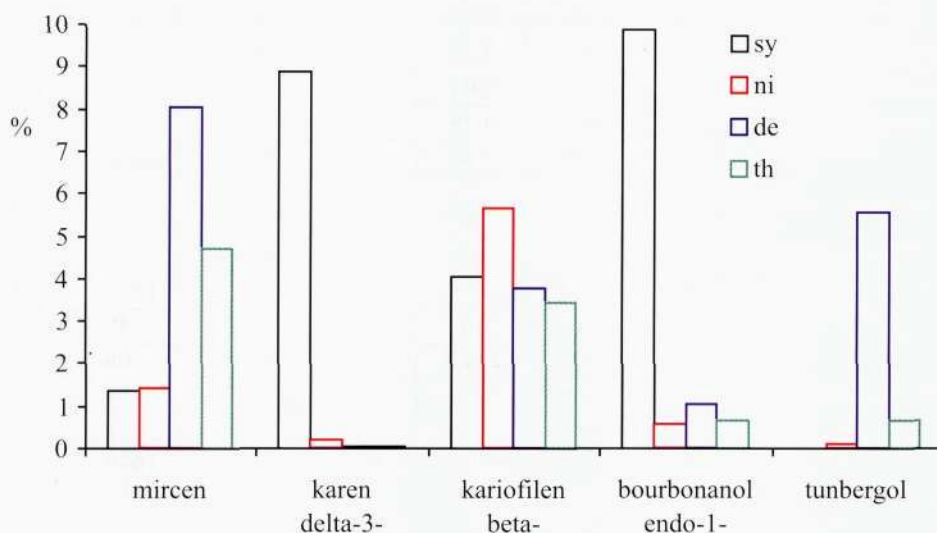
Figure 1. Components with more than 10 % of the total essential needle oil in at least one species.

β -felandren i limonen su dva monoterpena sadržaje kojih nije bilo moguće razdvojiti. Udio ovih komponenti je kod japanskog crvenog i japanskog crnog bora podjednak (de 10,68 %, th 10,56 %) i veći nego kod običnog bora i europskog crnog bora (sy 1 %, ni 3,66 %).

Germakren D je seskviterpen čiji je udio najveći kod europskog crnog bora (17,72 %) i za tu vrstu je po udje-

lu druga komponenta u ukupnom sadržaju eteričnog ulja iglica. Udio ove komponente je kod ostalih vrsta manji (sy 3,45 %, de 4,49 %, th 8,33 %).

Udio mircena je najveći kod japanskog crvenog bora (8,01 %), manji je kod japanskog crnog bora (4,7 %), a podjednak kod običnog bora i europskog crnog bora (sy 1,37 %, ni 1,39 %) (slika 2).



Slika 2. Komponente koje u ukupnom sadržaju eteričnog ulja iglica za barem jednu vrstu participiraju više od 5 %.

Figure 2. Components with more than 5 % of the total essential needle oil in at least one species.

Razlika u sadržaju Δ^3 -karena kod običnog bora i ostalih analiziranih vrsta jako je velika (sy 8,86 %, ni 0,2 %, de 0,03 %, th 0,03 %). Slično je i sa sadržajem endo-1-bourbanola (sy 9,86 %, ni 0,58 %, de 1,03 %, th 0,66 %).

Udio β -kariofilena je kod običnog bora 4,05 %, kod

europskog crnog bora 5,62 %, kod japanskog crvenog bora 3,77 % i kod japanskog crnog bora 3,42 %.

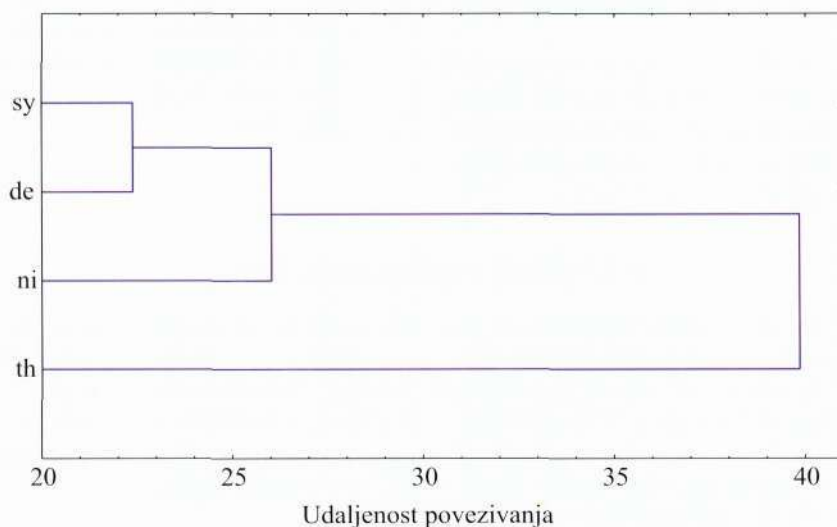
Tunbergol je diterpen koji je u najvećem postotku prisutan kod japanskog crvenog bora (5,56 %), a kod ostalih vrsta znatno manje (sy u tragovima, ni 0,09 %, th 0,67 %).

Cluster analiza

Za cluster analizu uključene su sve detektirane komponente. Na slici 3 je dendrogram, odnosno horizontalno hijerarhijsko stablo za četiri analizirane vrste borova.

Po sastavu eteričnih ulja iglica najbliži su obični bor i japanski crveni bor, koji se u cluster spajaju na uda-

ljenosti 22,4. Europski crni bor je pridružen ovome clusteru na udaljenosti 26, a zatim se na udaljenosti 39,8 pridružuje japanski crni bor. Prema tome se vidi da se japanski crni bor značajno razlikuje prema sastavu eteričnog ulja iglica od ostale tri analizirane vrste borova.



Slika 3. Horizontalno hijerarhijsko stablo za četiri analizirane vrste.
Figure 3. Horizontal hierarchical tree for four analyzed species.

ZAKLJUČAK – Conclusion

Pinus sylvestris, *P. nigra*, *P. densiflora* i *P. thunbergiana* se prema sastavu eteričnih ulja iz iglica kvalitativno bitno ne razlikuju, ali je velika kvantitativna razlika. Za obični bor detektirano je 116 komponenti, za europski crni bor 122 komponente, isto toliko za japanski crveni bor, a za japanski crni bor 87 komponenti. Ukupno je identificirano 50 komponenti za obični bor i za japanski crni bor, te 53 komponente za europski crni bor i za japanski crveni bor. Od ukupnog sadržaja eteričnih ulja identificirane komponente čine 90,1 % za obični bor, 94,4 % za europski crni bor, 81,3 % za japanski crveni bor i 94,9 % za japanski crni bor.

U ukupnom sadržaju eteričnih ulja najviše je monoterpena (sy 54,3 %, ni 64,9 %, de 61,7 %, th 77,3 %), zatim seskviterpena (sy 35,5 %, ni 27,1 %, de 13,6 %, th 16,4 %) i diterpena (sy 0,2 %, ni 2,3 %, de 5,9 %, th

0,73 %). Komponente koje su specifične za obični bor su Δ^3 -karen i endo-1-bourbonanol. Za europski crni bor karakterističan je germakren D, za japanski crveni bor tunbergol, a za japanski crni bor β -pinen. To su komponente koje u eteričnom ulju navedenih vrsta dolaze u značajno većem udjelu nego u eteričnom ulju ostalih analiziranih vrsta.

Od svih komponenti prisutnih u eteričnom ulju iglica, kod običnog bora, europskog crnog bora i japanskog crvenog bora najveći je udio α -pinena (sy 32,9 %, ni 42,7 %, de 25,8 %), dok je kod japanskog crnog bora najveći udio β -pinena (34,1 %).

Cluster analiza pokazala je da su po sastavu eteričnih ulja iz iglica najbliži obični bor i japanski crveni bor. Njima je sličan europski crni bor, dok se japanski crni bor bitno razlikuje od ostale tri analizirane vrste.

LITERATURA – References

- Chalchat, J. C., R. P. Garry, A. Michet & A. Remery, 1985: The essential oils of two chemotypes of *Pinus sylvestris*. *Phytochemistry* 24 (10): 2443-2444.
- Chalchat, J. C. & M. S. Gorunovic, 1995: Chemotaxonomy of pines native to the Balkans. Part

2: Illyrian black pine *Pinus nigra* Arnold ssp. *nigra* (Arn., Hayek), *Pinaceae*, according to location, plant part and age of specimens. *Pharmazie* 50 (4): 281-283.

Davies, N. W., 1990: Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on

- methyl silicone and Carbowax 20 M phases. J. Chromatogr. 503: 1-24.
- Hiltunen, R. & I. Laakso, 1995: Gas chromatographic analysis and biogenetic relationships of monoterpenes enantiomers in Scots pine and juniper needle oils. Flavour Fragr. J. 10: 203-210.
- Kubeczka, K. H. & W. Schultze, 1987: Biology and chemistry of conifer oils. Flavour Fragr. J. 2: 137-148.
- Orav, A., T. Kailas & M. Liiv, 1996: Analysis of terpenoid composition of conifer needle oils by steam distillation/extraction, gas chromatography and gas chromatography - mass spectrometry. Chromatographia 43 (3/4): 215-220.
- Van den Dool, H. & P. D. Kratz, 1963: A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. 11: 463-471.
- Von Rudloff, E., 1975: Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. Biochem. Syst. Ecol. 2: 131 - 167.
- Yazdani, R., J. E. Nilsson & T. Ericsson, 1985: Geographical variation in the relative proportion of monoterpenes in cortical oleoresin of *Pinus sylvestris* in Sweden. Silvae Genet. 34 (6): 201-208.

ZAHVALA - Acknowledgement

Ovaj je rad rađen u okviru projekta "Istraživanje varijabilnosti različitih familija međuvrtnih hibrida dvoigličavih borova" financiranog od Javnog poduzeća "Hrvatske šume" p.o. Zagreb i projekta "Hibridi četiriju vrsta borova i njihovo određivanje" financiranog od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske. Zahvaljujem prof. dr. sc. Želimiru Borzanu što

mi je stavio na raspolaganje biljke zasadene na pokusnim plohama u Đurđevačkim peskima i u Arboretumu Lisičine. Također zahvaljujem dr. Hartwigu W. Pfeifferu s Instituta za fiziologiju bilja Sveučilišta u Grazu, koji mi je stavio na raspolaganje opremu za rad na ovim istraživanjima.

SUMMARY: The composition of needle volatiles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L. = sy), European black pine (*P. nigra* Arnold = ni), Japanese red pine (*P. densiflora* Sieb. et Zucc. = de) and Japanese black pine (*P. thunbergiana* Franco = th) was investigated with gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).

The number of detected components differs for individual species (European black pine 122, Scots pine 116, Japanese red pine 122, Japanese black pine 87). A total of 55 components was identified. The identified components accounted for 90.1 % w/w sample of Scots pine, 94.4 % w/w sample of European black pine, 81.3 % w/w sample of Japanese red pine and 94.9 % w/w sample of Japanese black pine. All identified components were terpenes, except trans-2-hexenal, which is n-alkene. The amount of monoterpenes was the highest (sy 54.3 %, ni 64.9 %, de 61.7 %, th 77.3 %), followed by sesquiterpenes (sy 35.5 %, ni 27.1 %, de 13.6 %, th 16.4 %) and diterpenes (sy 0.2 %, ni 2.3 %, de 5.9 %, th 0.73 %).

In terms of the composition of needle essential oil, *P. sylvestris*, *P. nigra*, *P. densiflora* and *P. thunbergiana* do not differ qualitatively, but their quantitative difference is considerable. The components that are specific for Scots pine are Δ^1 -carene and endo-1-bourbonanol. Germacrene D is characteristic for European black pine, thunbergol for Japanese red pine, and β -pinene for Japanese black pine. These components occur in a significantly higher amount in essential oils of the mentioned species than in those of other analysed species.

Of all the components present in the needle essential oils, the amount of α -pinene is the highest in Scots pine, European black pine and Japanese red pine (sy 32.9 %, ni 42.7 %, de 25.8 %), while that of β -pinene is the highest in Japanese red pine (34.1 %).

It has been shown with cluster analysis that Scots pine and Japanese red pine are the most similar in terms of needle essential oil composition. European black pine is similar to them, while Japanese black pine differs considerably from the other three analysed species.

Key words: *Pinus sylvestris* L., *P. nigra* Arnold, *P. densiflora* Sieb. et Zucc., *P. thunbergiana* Franco, essential oils, terpenes, GC, GC/MS, cluster analysis.