

Nela Drača¹, Krunoslav Aladić², Igor Jerković³,
Martina Bevardi⁴, Jasna Bošnir⁴, Marija Banožić⁵, Ivana Nemet¹

Izvorni znanstveni rad

Sastav eteričnog ulja kamilice s područja Virovitičko-podravske županije

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti kvalitetu i sastav eteričnog ulja pet uzoraka kamilice od kojih je jedan uzorak bio uzorak ekološki uzgojene kamilice dok su ostali uzorci bili iz konvencionalnog uzgoja s područja Virovitičko-podravske županije. Uzorci kamilice uzeti su od rane i kasne žetve tijekom mjeseca svibnja 2022. godine. Za fizikalno-kemijske analize korištene su sušene cvjetne glavice kamilice. Određivao se apigenin-7-glukozid na HPLC-u i sastav eteričnog ulja koristeći GC-MS. Sadržaj apigenin-7-glukozida kretao se od 0,49% do 0,85%. U eteričnom ulju identificiran je ukupno 71 spoj. Glavni spojevi eteričnog ulja bili su (E,E)-a-farnezen u rasponu od 28,6% do 10,8%, bisabolol oksid B u rasponu od 28,1% do 11,7% i (E)-β-farnezen u rasponu od 14,4% do 10,9%. Osim toga, detektirani su i brojni drugi spojevi koji doprinose bogatom kemijskom profilu ovog eteričnog ulja i koji su važan pokazatelj kvalitete i vrijednosti same sirovine.

Ključne riječi: kamilica, apigenin-7-glukozid, eterično ulje, ekološki uzgoj, konvencionalni uzgoj, bioaktivni spojevi

Uvod

Kamilica je ljekovita i aromatična biljka koja ima dugu povijest upotrebe u tradicionalnoj medicini, aromaterapiji, i prehrambenoj industriji. Kamilica (*Matricaria recutita L.*; *Chamomilla recutita L.* Rauschert.) pripada porodici Asteraceae (Compositae) (Satyal i sur., 2015). Iako su različite vrste kamilice prisutne u različitim dijelovima svijeta, najpoznatije su rimska kamilica (*Chamaemelum nobile*) i njemačka kamilica (*Matricaria chamomilla* ili *Matricaria recutita*) (Gupta i sur., 2010). Ove dvije vrste često se koriste u različitim tradicionalnim narodnim lijekovima i pripravcima, ali su također privukle značajnu pažnju znanstvene zajednice zbog svojih

- 1 Nela Drača, sveuč.spec., dipl.ing., Ivana Nemet, dipl.ing., Tehnološko-inovacijski centar Virovitica, Matije Gupca 78, 33000 Virovitica, Republika Hrvatska
- 2 doc.dr.sc. Krunoslav Aladić, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Republika Hrvatska
- 3 prof.dr.sc. Igor Jerković, Zavod za organsku kemiju, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Ul. Rudera Boškovića 35, 21000 Split, Republika Hrvatska
- 4 dr.sc. Martina Bevardi, dr.sc. Jasna Bošnir, Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Služba za zaštitu okoliša i zdravstvenu ekologiju, Odjel za zajedničke i potvrđne analitičke metode, Mirogojska cesta 16, 10000 Zagreb, Republika Hrvatska
- 5 doc.dr.sc. Marija Banožić, Sveučilište u Mostaru, Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Biskupa Čule bb, 88000 Mostar, Bosna i Hercegovina

Autor za korespondenciju: nela.drac@ticvt.hr

potencijalnih bioaktivnih svojstava (Wichtl, 2004; Sotiropoulou i sur., 2020.; McKay i sur., 2006).

Uzgoj i trgovina kamilicom imaju globalni značaj zbog visoke potražnje za njenim eteričnim uljem i ljekovitim svojstvima. Iako je vrsta porijeklom iz Europe i Azije, kamilica se uzgaja u različitim dijelovima svijeta, uključujući Europu, Sjevernu Ameriku i neke dijelove Azije. Glavni komercijalni proizvođači kamilice su Njemačka, Egipt, Mađarska i Poljska (Smith, 2019). Virovitičko-podravska županija je vodeća po proizvodnji kamilice u Republici Hrvatskoj. Na području Virovitičko-podravske županije 2021. godine je 2.336,62 ha bilo zasijano pod kamilicom što čini oko 90% ukupne površine zasijane ljekovitim biljem (APPRRR-ISAP, 2022).

Uzgoj kamilice može biti podložan izazovima kao što su štetočine i bolesti, pa se često primjenjuju pesticidi i herbicidi. Međutim, postoje i organski i ekološki uzgajane varijante kamilice koje su sve popularnije zbog rastuće svijesti o održivosti i ekološkim pitanjima (Smith, 2019). Uzgajivači kamilice, trgovci i potrošači sada sve više traže kvalitetne i certificirane proizvode koji odražavaju visoke standarde u pogledu čistoće i ljekovitih svojstava kamilice (Shabir i sur., 2016).

Za proizvodnju eteričnog ulja kamilice koriste se cvjetovi, a sama kvaliteta eteričnog ulja kamilice ovisi o mnogim faktorima, uključujući vrstu kamilice, faze berbe, uvjete uzgoja i proces destilacije. Sadržaj eteričnog ulja kamilice mijenja se tijekom vegetacije biljke, a maksimalan prinos od 0,3-1,5% doseže na početku cvatnje (Wichtl, 2004.; Salamon, 2009). Eterično ulje je plave boje zbog prisutnosti kamazulena, ali može polako oksidirati do zelene i smeđe boje. Općenito, glavni sastojci eteričnog ulja su α-bisabolol, bisabolol oksidi A i B, spiroeter, β-farnezen, kao i matricin koji se tijekom procesa destilacije pretvara u kamazulen (Wichtl, 2004; Orav i sur., 2010; Raal i sur., 2012). Glavni sastojci kamilice su terpenoidi α-bisabolol i njegovi oksidi (75%) (Reverchon i sur., 1994; Ghasemi i sur., 2013; Salamon i sur., 2010), cikloeteri (13%) (Reverchon i sur., 1994; Gupta i sur., 2010), matricin (Reverchon i sur., 1994; Gupta i sur., 2010; Ghasemi i sur., 2013; Ciko i sur., 2016). Postoje četiri različita kemotipa eteričnog ulja kamilice na temelju kemijskog sastava: kemotip A (dominira α-bisabolol oksid A), kemotip B (dominira α-bisabolol oksid B), kemotip C (dominira α-bisabolol), kemotip D (kombinacija α-bisabolola, α-bisabolol oksida A i α-bisabolol oksida B u gotovo jednakim koncentracijama) (Singh i sur., 2011; Gosztola i sur., 2010). Međutim, novija istraživanja ukazuju na kemotip bisabolon oksida A (Orav i sur., 2010), kemotip spiroetera (Taviani i sur., 2002) i moguće kemotipove gvajazulena (Owlia i sur., 2007) i (E)-β-farnezena (Heuskin i sur., 2009).

Drugi biološki aktivni spojevi u kamilici su flavonoidi (do 8%), uključujući apigenin, apigenin-7-O-glukozid, luteolin-7-O-glukozid, izoramnetin, fenolne kiseline kao što su kafeinska, siringinska, vanilinska kiselina; te kumarini s dominantnim hernijarinom i umbelliferonom (Raal i sur., 2012; Hagh i sur., 2014; Gosztola i sur., 2010).

Raznolikost biološki aktivnih spojeva koji se nalaze u cvjetovima kamilice i njihovo snažno djelovanje omogućavaju široku primjenu ove sirovine u farmaceutskoj, kozmetičkoj, parfumerijskoj i prehrabrenoj industriji (Bączek i sur., 2019). Utvrđeno je da ova biljka pokazuje antimikrobno, protuupalno, antioksidacijsko, antispazmodičko, antivirusno i sedativno djelovanje, a te biološke aktivnosti posljedica su prisustva raznih terpenoida, flavonoida, kumarina i spiroetera (Bruteton, 1999).

Cilj ovog rada je odrediti kemijski sastav eteričnih ulja kamilice s područja Virovitičko-podravske županije. Jedan uzorak kamilice je ekološki uzgojena kamilica dok su ostala 4 uzorka iz konvencionalnog uzgoja. Određivanje kemijskog sastava eteričnog ulja kamilice pomaže osigurati njegovu autentičnost, sigurnost i učinkovitost, čime se pridonosi pouzdanosti i kvaliteti proizvoda koji se koriste u aromaterapiji, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Materijali i metode

Biljni materijal i ekstrakcija

Kamilica je uzgajana na području Virovitičko-podravske županije. Uzorci su ubrani u periodu od 2. svibnja do 18. svibnja 2022 godine i osušeni u sušarama. Od 5 uzoraka, 1 uzorak (B1) je bio ekološki uzgojena kamilica gdje prema ekološkim principima nisu korištene nikakve agrokemikalije u borbi protiv korova, dok su ostala 4 uzorka uzgojena konvencionalnim postupcima. Ekstrakcija eteričnog ulja provedena je hidrodestilacijom u modificiranoj aparaturi tipa Clevenger (Clevenger, 1928.), a za ekstrakciju su korišteni nadzemni dijelovi kamilice.

Udio suhe tvari i vode u svih 5 uzoraka kamilice određena je standardnom metodom sušenja koja podrazumijeva određivanje mase uzorka kamilice nakon sušenja na temperaturi od 105 °C do konstantne mase prema ISO 6540:1980 (ISO, 1980).

Određivanje sadržaja apigenin-7-glukozida primjenom visokotlačne tekućinske kromatografije (HPLC)

Kvalitativno i kvantitativno određivanje apigenin 7-glukozida provedeno je visokotlačnom tekućinskom kromatografijom (HPLC) na 1200 HPLC sustavu (Agilent, Santa Clara, CA, SAD) opremljenim s kolonom za razdvajanje s ODS punjenjem dimenzija 4,6 x 250 mm i veličinom pora od 5 µm (Phenomenex, Torrance, CA, SAD). Mobilna faza sastojala se od dva eluensa (fosforna kiselina i redestilirana voda u omjeru 0,5:99,5; a faza B fosforna kiselina i acetonitril u omjeru 0,5:99,5). Gradijent eluacije je započet s eluensom A od 75% na 9 min, 25% na 10 min i održavan na 5 do kraja analize. Protok mobilne faze je bio 1 ml min⁻¹. Valna duljina detekcije postavljena je na 340 nm, a volumen injektiranja uzorka (volumen pripremljenog uzorka kojeg instrument uzima u postupak analiziranja) bio je 20 µL. Ukupno trajanje analize bilo je 23 min.

Uzorci su prije analize pripremljeni na sljedeći način: Osušeni i u prah samljeveni nadzemni dijelovi kamilice (0,2 g) prebačeni su u epruvetu za ekstrakciju s navojnim čepom i ekstrahirani s 10 mL 70% metanola u vodi (v/v⁻¹) na 75 °C tijekom 60 minuta. Nakon 60 minuta dodano je 5 mL 1,6% NaOH (w/v⁻¹) i miješano je još 60 minuta na 75 °C. Otopina je filtrirana kroz membranski filter veličine pora 0,2 µm (Haghi i sur., 2014; Eur.Ph., 2016).

Kvantitavno određivanje analita računa se prema slijedećoj jednadžbi:

$$\omega = \frac{\gamma * V}{m} * 100 [\%]$$

γ = očitana koncentracija s kromatograma (g/l)

V = volumen pripremljenog uzorka (l)

m = odvaga uzorka (g)

Identifikacija komponenti eteričnog ulja primjenom plinske kromatografije s spektrometrijom masa (GC-MS)

Određivanje kemijskog sastava eteričnog ulja kamilice provedeno je primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS) na uređaju Agilent Technologies (Palo Alto, CA, SAD) opremljenim s plinskim kromatografom (model 7890B) i masenim detektorem modela (5975C). Radni uvjeti analize su bili kako slijedi: kolona HP-5MS (5%-fenil-metil

polisilosan), $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ (unutarnji promjer), debljina stacionarnog premaza $0,25\text{ }\mu\text{m}$. Helij je bio plin nosioc na 1 ml min^{-1} , temperatura injektora bila je $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperaturni program je bio $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ izotermno 2 minute, a zatim povećano na $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ brzinom od $3\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ te se nakon toga držao izotermno 18 min. Omjer dijeljenja bio je 1:50, ionizacijski napon 70 eV ; temperatura ionskog izvora $230\text{ }^{\circ}\text{C}$; opseg skeniranja mase: 45-450 jedinica mase. Postotni sastav bio je izračunat s Kovats indeksom kao srednje vrijednosti iz duplikata GC-MS analize (Jokić i sur., 2017) analize svih izvoda.

Rezultati i rasprava

Kamilica je vrlo prilagodljiva kultura koja se može uzgajati na bilo kojoj vrsti tla te se dobro prilagođava temperaturnim promjenama od $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ali obično se izbjegava uzgoj usjeva na bogatim, teškim i vlažnim tlima. U Mađarskoj se intenzivno uzgaja na ilovastim i vapnenim tlima, koja su manje plodna i smatraju se presiromašnima za bilo koji drugi usjev. Kamilica posjeduje visok stupanj tolerancije na alkalnost tla. Biljke nakupljaju prilično velike količine natrija ($66\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$ suhog materijala), što pomaže u smanjenju koncentracije soli u površinskom sloju tla (Singh i sur., 2011). U tablici 1 prikazani su vrijeme žetve i vrsta tla na koje su uzorci kamilice korišteni u ovom istraživanju zasijani. Od pet uzoraka, tri uzorka kamilice zasijana su na području lako ilovastog tla, jedan uzorak na lako pjeskovitom tlu dok je B1 uzorak zasijan na pjeskovitom tlu, a taj uzorak je ujedno i ekološka kamilica. Svih pet uzoraka potječu od 3 proizvođača (H1 i H2 - jedan proizvođač; B1 = drugi proizvođač - ekološki uzgojena kamilica; PH1 i PH2 = treći proizvođač).

Tablica 1. Datum žetve kamilice i vrsta tla na kojoj je kamilica uzgajana

Table 1. The date of the chamomile harvest and the type of soil in which it was grown

Uzorak / Sample	Datum žetve / Date of harvest	Vrsta tla / Type of soil
H1 ^{*1}	10.5.2022.	lako ilovasto
H2 ^{*1}	18.5.2022.	lako ilovasto
B1 ^{*2}	15.5.2022.	pjeskovito
PH1 ^{*1}	2.5.2022.	lako pjeskovito
PH2 ^{*1}	18.5.2022.	lako ilovasto

*1 uzorci kamilice iz konvencionalnog uzgoja / chamomile samples of conventional cultivation

*2 uzorak kamilice iz ekološkog uzgoja / chamomile sample of organic cultivation

U tablici 2 dat je prikaz osnovnog kemijskog sastava (udio vlage, udio suhe tvari, udio eteričnog ulja) i apigenin-7-glukozida u uzorcima cvjetova kamilice. Udio vlage u uzorcima kretao se od $2,83 \pm 0,22$ do $5,30 \pm 0,13\%$, značajno niži nego u istraživanju Pekić i sur., (1999) gdje je udio vlage bio između 8.36-8.92%. Iz Tablice 1 i 2 ne može se zaključiti da vrsta tla ima direktni utjecaj na udio vlage u biljnem materijalu, no ono što je svakako primjetno da je kamilica uzgojena na ekološki način imala najveći udio sadržane vlage. Do sličnog zaključka su došli i Singh i sur., (2011) koji su zaključili da temperatura i svjetlosni uvjeti (sunčani sati) imaju veći učinak na kemijski sastav, odnosno sadržaj eteričnih nego vrsta tla. Udio ete-

ričnog ulja u uzorcima kretao se od 0,27 do 0,43%. U ovom istraživanju vrsta tla nije imala utjecaj na veći sadržaj eteričnog ulja. U dalnjem istraživanju trebalo bi napraviti detaljniju fizikalno-kemijsku analizu tla da bi se moglo analizirati ima li vrsta tla utjecaj na udio eteričnog ulja u uzorcima kamilice.

Tablica 2. Udio vlage, suhe tvari, apigenin-7-glukozida i eteričnog ulja u uzorcima kamilice
Table 2. Content of moisture, dry matter, apigenin-7-glucoside and essential oil in chamomile samples

Uzorak / Sample	Vлага / Moisture ^{*3} / %	Suha tvar / Dry matter ^{*3} / %	Apigenin-7-glukozid / Apigenin-7-glucoside / %	Udio eteričnog ulja / Proportion of essential oil ^{*3} / %
H1 ^{*1}	4,06	95,94	0,85	0,27
H2 ^{*1}	2,83	97,17	0,55	0,33
B1 ^{*2}	5,30	94,70	0,61	0,35
PH1 ^{*1}	3,16	96,84	0,49	0,27
PH2 ^{*1}	3,17	96,83	0,74	0,43

*¹ uzorci kamilice iz konvencionalnog uzgoja / chamomile samples of conventional cultivation

*² uzorak kamilice iz ekološkog uzgoja / chamomile sample of organic cultivation

*³ vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost 3 paralele / Data are presented as mean value of triplicate

H1 i PH1 su rane sorte kamilice, dok H2 i PH2 su kasne sorte kamilice. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da su rane sorte kamilice sadržavale manji udio eteričnog ulja u odnosu na kasne sorte kamilice, za razliku od istraživanja Rathore i sur., (2021) gdje su rane sorte imale veći udio cvjetova u ukupnom biljnom materijalu, a posljedično i viši udio eteričnog ulja (0,57%). Apigenin-7-glukozid kao fenolna komponenta spada u jednu od najzastupljenijih bioaktivnih spojeva kamilice. Prema Europskoj farmakopeji udio apigenina u eteričnom ulju kamilice mora biti minimalno 0,25% (Sah i sur., 2022). HPLC analiza u ovom istraživanju pokazala je da je udio apigenin-7-glukozida u rasponu od 0,49 do 0,85% što udovoljava zahtjevima Europske farmakopeje (Eur.Pharm., 2017) iz 2017. godine. Najveći sadržaj apigenin-7-glukozida (0,85%) je u uzorku kamilice H1 ubranoj 10. svibnja na lako ilovastom tlu dok je najmanji udio (0,49%) u uzorku kamilice PH1 ubranoj 2. svibnja na lako pjeskovitom tlu. Slični udjeli zabilježeni su u istraživanju Baczek i sur., (2019) gdje su udjeli eteričnog ulja varirali od 0,52% do 0,86%, dok su u istraživanju Hassanpour i sur., (2020) determinirani nešto veći udjeli apigenin-7-glukozida u iznosu od 1,57%.

Identifikacija komponenti eteričnog ulja

Eterično ulje kamilice je poznato po svojim bioaktivnim svojstvima, uključujući protuupalna, antimikrobnia i umirujuća svojstva. GC-MS analiza omogućava detaljno razumijevanje kemijskog sastava ovog ulja, što je ključno za razumijevanje njegovih terapeutskih učinaka. U svih pet ispitivanih uzoraka eteričnog ulja kamilice identificiran je ukupno 71 spoj, a ukupno je identificirano od 74,7% do 86,8% površine kromatograma uzoraka eteričnog ulja (Slika 1). Uz far-

nezen, eterično ulje uzorka kamilice pokazalo se bogato oksidiranim seskviterpenskim spojima poput bisabolol oksida B, bisabolol oksida A bisabolon oksida B i bisabolon oksida A.

Udjeli glavnih spojeva eteričnog ulja u ovom istraživanju su bili (E,E)- α -farnezen u rasponu od 10,8% u uzorku PH1 do 28,4% u uzorcima H1 i PH2, zatim slijede bisabolol oksid B od 11,7% u uzorcima H1 i B1 do 28,1% u uzorku PH1, (E)- β -farnezen u rasponu od 10,9% u uzorku B1 do 14,4% u uzorku PH1, bisabolol oksid A od 4,5% u uzorku PH2 do 8,8% u uzorku PH1, δ -kadinen od 1,6% u uzorku PH1 do 6,2% u uzorku B1, bisabolon oksid A od 2,3% u uzorku H1 do 3,9% u uzorku PH1, bisabolon oksid B od 1,7% u uzorku H1 do 2,6% u uzorku PH1, α -muurolen od 1,1% u uzorku PH1 do 2,8% u uzorku H1, ar-kurkumen od 0,9% u uzorku H1 do 1,5% u uzorku H1 (u uzorku PH1 nije identificiran), δ -selinen od 0,7% u uzorku PH1 do 1,6% u uzorcima H1 i B1, dekanska kiselina od 0,6% u uzorku H2 do 1,5% u uzorku H1.

Singh i sur., (2011) ustanovili su da su farnezen i bisabolol ponajviše zastupljeni u cvjetnim populjcima, a njihova koncentracija opada s vremenom dok se sadržaj kamazulena i bisabolola oksida povećava se od faze pupanja do faze potpuno razvijenih cvjetova. Takav trend za bisabolol i bisabolon oskide vidljiv je i u tablici 3. gdje su rane sorte imale niži sadržaj navedenih spojeva.

I druga istraživanja bavila su se kemijskim sastavom eteričnog ulja kamilice. U Albaniji u eteričnom ulju dobivenom hidrodestilacijom metodom po Clevenger-u (Salomon i sur., 2023) identificirana su 43 spoja od kojih su najzastupljeniji bili: α -bisabololoksid B u udjelu od 45,47%, α -bisabolol s 39,69% te α -bisabololoksid A s 34,95%. U sličnom istraživanju provedenom u Ukrajini (Salamon i sur. 2022) identificirana su 72 različita spoja, gdje su α -bisabolol oksidi B i A bili glavni sastojci u 16 uzoraka dok su kod 4 uzorka utvrđili da je α -bisabolol dominantan (55,17%). U većini dostupnih istraživanja bisabolol i bisabolon oksidi bili su dominantni spojevi. Mavandi i sur. (2021) identificirali su četiri glavne komponente u eteričnom ulju uzorka kamilice i to: α -bisabolol oksid-A (40,70%), α -bisabolol oksid-B (23,90%), α -bisabolon oksid A (63,50%) i kamazulen (14,30%). Mavandi i sur., (2021) dokazali su u svom istraživanju da genetski čimbenici značajno utječu na sadržaj ovih spojeva dok okolišni čimbenici nisu imali previše utjecaja na sadržaj ovih spojeva.

Tablica 3. Kemijski sastav eteričnog ulja kamilice

Table 3. Chemical composition of chamomile essential oil

Broj / Number	Spoj / Compound	Postotak / Percentage (%)				
		H1*1	H2*1	B1*2	PH1*1	PH2*1
1.	heksan-1-ol	-	-	-	-	0,1
2.	1,3-dimethylbenzen	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
3.	1-methoksicikloheksa-1,3-dien	0,1	0,3	0,1	0,3	0,2
4.	Artemesia trien	0,2	0,4	0,1	0,5	0,2
5.	5-metil-2-furfural	0,2	-	0,3	-	0,2
6.	heksanska kiselina	0,1	0,1	-	0,1	-
7.	okt-1-en-3-ol	-	0,1	-	0,1	-
9.	2-pentilfuran	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1
10.	oktanal	0,1	0,1	0,1	0,2	-

Broj / Number	Spoj / Compound	Postotak / Percentage (%)				
		H1 ^{*1}	H2 ^{*1}	B1 ^{*2}	PH1 ^{*1}	PH2 ^{*1}
12.	p-cimen	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5
13.	1,8-cineol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
14.	(Z)-β-ocimen	-	-	-	-	-
15.	(E)-β-ocimen	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3
16.	Artemisia keton	0,9	1,3	0,7	1,1	1,1
17.	oktan-1-ol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
18.	α-terpinolen	0,1	0,1	-	-	-
19.	nonanal	0,1	0,1	0,1	0,1	-
20.	2-furanakrolein	-	-	-	-	-
21.	benzil-alkohol	-	-	-	-	-
22.	(Z)-non-3-en-1-ol	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
23.	(E)-non-2-enal	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3
24.	borneol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
25.	oktanska kiselina	-	-	-	-	-
26.	metil-fenilacetat	-	-	-	-	-
27.	1-(4-metilfenil)-etanone	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3
28.	metil-salicilat	0,2	-	-	0,7	-
29.	safranal	-	-	-	0,1	0,1
30.	metil-dekanoat	0,1	-	-	-	-
31.	1,2-dihydro-1,1,6-trimetilnaftalen	0,6	0,5	0,6	0,7	0,7
32.	eugenol	0,7	0,5	0,6	0,6	0,6
33.	dekanska kiselina	1,5	0,6	1	1,4	1,3
34.	α-gurjunen	-	-	-	-	-
35.	isokomen	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4
36.	longifolen	0,8	0,3	0,4	0,3	0,4
37.	trans-kariofilen	-	-	-	0,1	0,2
38.	(E)-β-farnezen	12,5	12,7	10,9	14,4	10,2
40.	γ-muurolen	-	-	-	-	-
41.	γ-kurkumen	1	0,8	0,9	0,6	0,8
42.	ar-kurkumen	1,5	0,9	1,4	-	1
43.	germakren D	-	-	-	-	-
44.	β-selinan	-	0,4	-	0,5	-
45.	δ-selinan	1,6	1,1	1,6	0,7	1,1
46.	Leden	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2

Broj / Number	Spoj / Compound	Postotak / Percentage (%)				
		H1 ^{*1}	H2 ^{*1}	B1 ^{*2}	PH1 ^{*1}	PH2 ^{*1}
48.	α-muurolen	2,8	2,1	2,6	1,1	2,7
49.	(E,E)-α-farnezen	28,4	21,5	28,6	10,8	28,4
50.	δ-kadinen	6,1	2,9	6,2	1,6	4,9
51.	Epizonaren	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4
52.	(E)-α-bisabolen	1,5	1	1,7	0,7	1,6
53.	(E)-nerolidol	-	-	-	-	-
54.	Spatulenol	-	-	-	-	-
55.	karioflen oksid	-	-	-	-	-
56.	Fonenol	0,2	0,3	-	0,3	-
57.	γ-eudezmol	-	0,6	-	0,4	0,5
58.	bisabolol oksid B	11,7	19	11,7	28,1	12,4
59.	bisabolol oksid A	4,6	6,5	5	8,8	4,5
60.	bisabolon oksid A	2,3	3	2,7	3,9	2,8
61.	bisabolon oksid B	1,7	2,2	1,9	2,6	2
62.	Kamazulen	-	0,3	-	0,6	-
63.	benzil-benzoat	0,2	0,2	0,3	0,3	-
64.	tetradekanska kiselina	-	-	-	-	0,5
65.	heksahidrofarnezil-aceton	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2
66.	benzil-salicilat	0,1	0,1	0,2	0,1	-
67.	Neoftadien	0,1	-	0,1	-	0,6
68.	Izofitol	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3
69.	heksadekanska kiselina	0,1	0,1	0,2	0,2	1
70.	linoleinska kiselina	0,2	0,2	0,2	0,4	0,1
71.	Trikosan	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2
ukupno identificirano / total identified		86,2	84,3	84,6	86,8	74,7

*¹ uzorci kamilice iz konvencionalnog uzgoja / chamomile samples of conventional cultivation

*² uzorak kamilice iz ekološkog uzgoja / chamomile sample of organic cultivation

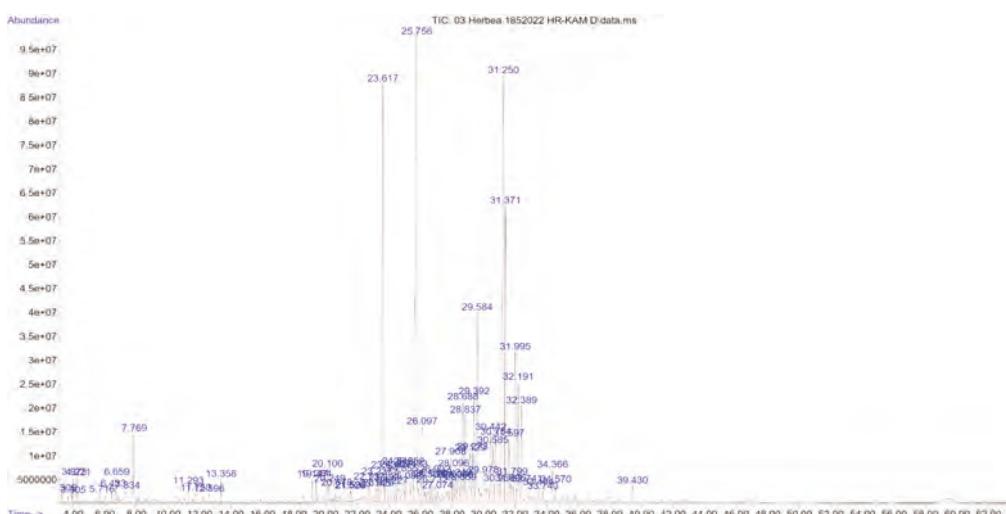
Szőke i Lemberkovics (2021) ispitivali su u svom istraživanju bioaktivne komponente eteričnog ulja u cvijetu, stabljici i korijenu 7 različitih sorti divlje i kultivirane kamilice u Mađarskoj. U cvijetu kamilice izolirali su kamazulen koji se kretao u rasponu od 5,23% do 24,50% dok je udio (-)-a-bisabolola bio između 1,59% i 41,45%.

U istraživanju Abbas i sur. (2021) dominantni spoj u eteričnom ulju kamilice je bio α-bisabolol oksid A (47%), a slijedio ga je, α-bisabolol oksid B (8,23%) dok α-bisabolol nije identificiran. Slični rezultati dobiveni su u istraživanju Gladikostića i sur., (2023) gdje je dominantna komponenta eteričnog ulja kamilice opet bio bio α-bisabolol oksid A (30,64%), a potom su

ga slijedili α -bisabolol oksid B (19,93%), α -bisabolol (6,17%) te α -bisabolon oksid A (4,57%). Rezultati dobiveni u ovom istraživanju, najsličniji su onima koje su dobili Aćimović i sur. (2021). Oni su proučavali kamilicu s tri različite lokacije s područja Vojvodine u Republici Srbiji u mjesecu svibnju. U uzorcima kamilice detektirali su 145 spojeva od kojih je 58 spojeva neidentificirano, glavna klasa spojeva u svim uzorcima bili su sekviterpenski ugljikovodici i oksigenirani seskviterpeni. Usapoređujući rezultate pojedinačnih spojeva, Aćimović i sur. (2021) identificirali su α -bisabolol oksid-A u rasponu 4,2-10,2% (ovo istraživanje 4,5-8,8%), α -bisabolol oksid-B od 3,9-10,9% (ovo istraživanje 12,4-28,0%). Za razliku od ovog istraživanja gdje je najzastupljeniji spoj (E,E)- α -farnezen u rasponu od 10,8-28,6%, u istraživanju kod Aćimović i sur. (2021) najdominantniji spoj je E- β -farnezen u rasponu od 12,2-36,0%.

Kamazulen je u uzorcima u ovom istraživanju bio prisutan u niskim koncentracijama od 0,3% u uzorku H2 do 0,6% u uzorku PH1, dok u uzorcima H1, B1 i PH2 nije identificiran. U drugi istraživanjima, poput onog Aćimović i sur. (2021) na području Vojvodine sadržaj kamazulena bio viši 1,4-21,1%. U istraživanju provedenom od Abbas i sur. (2021) sadržaj kamazulena je bio 2,25%, sa u Gladikostić i sur., (2023) 5,54%, a u Salamon i sur., (2023) u rasponu od 0,63-6,16%.

S obzirom da je uzorak B1 uzgojen na ekološki način, nisu primijećene značajne razlike u aromatskom profilu u odnosu na komercijalne uzorke s iznimkom spoja Artemisia ketona, koji je bio prisutan u nešto nižim koncentracijama. Najveće razlike uočene su kod uzorka PH1, koji je uzgajan na lako pjeskovitom tlu i imao najraniji datum žetve. U tom uzorku zamijećene su značajno veće koncentracije oksidiranih seskviterpenskih spojeva (bisabolol oksid B, bisabolol oksid A bisabolon oksid B i bisabolon oksid A), dok su koncentracije sekviterpenoida poput (γ -selinena, δ -selinena, α -muurolena, (E,E)- α -farnezena i δ -kadinena) bile značajno niže. Prema Ghasemi i sur., (2016) veći udio oksidiranih spojeva nastaje zbog visokih temperatura, ili nešto kasnijem vremenu berbe. Takvi spojevi smatraju se i vrjednjim jer značajno doprinose karakterističnoj aromi i terapeutskim svojstvima eteričnog ulja kamilice (Zengin i sur., 2023).



Slika 1. Kromatogram uzorka H2

Picture 1. Chromatogram of sample H2

Zaključak

U ovom istraživanju ispitana je kvaliteta eteričnih ulja kamilice uzgojene na području Virovitičko-podravske županije s pet različitih lokacija i vremena žetve te je analiziran sastav eteričnog ulja kamilice korištenjem plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS). Rezultati analize su pokazali prisutnost različitih aromatskih spojeva, među kojima su dominirali seskifterpeni kao što je (E,E)- α -farnezen (10,8- 28,6%). Osim toga, detektirani su i brojni drugi spojevi koji doprinose bogatom kemijskom profilu ovog eteričnog ulja poput bisabolol i bisabolon oksida koji su važan pokazatelj kvalitete i vrijednosti same sirovine. Uzorci su karakterizirani s niskim sadržajem E- α -bisabolena (0,7- 1,7%) te visokim sadržajem bisabolol oksida B (11,7- 28,1%). Eterično ulje ekološki uzgojene kamilice, razlikovalo se od ostalih uzoraka po udjelu vlage (najveći udio vlage od svih uzoraka) i višoj koncentraciji nekoliko spojeva poput γ -selinena, δ -kadinena, (E,E)- α -farnezena, δ -kadinena i (E)- α -bisabolena te nižoj koncentraciji artemisia ketona. Vrsta tla nije imala utjecaj na udio apigenin-7-glukozida.

Varijacije u samom sadržaju eteričnog ulja mogu se pripisati agroekološkim uvjetima i agrotehničkim mjerama između samih lokacija, a iz dobivenih rezultata može se zaključiti da su agroekološki i zemljopisni uvjeti za proizvodnju kamilice na području Virovitičko-podravske županije zadovoljavajući.

Osim pogodnosti samog položaja za uzgoj ove kulture, identifikacija i kvantifikacija komponenata pruža detaljan uvid u udjale pojedinih spojeva, što je važno za razumijevanje njihovih potencijalnih terapeutskih svojstava. Ovi rezultati potvrđuju kompleksnost kemijskog sastava kamilice i ističu njezin potencijal za različite primjene u aromaterapiji, tradicionalnoj medicini i kozmetičkoj industriji.

Literatura

- Abbas, A.M., Seddik, M.A., Gahory, A-A., Salaheldin, S., Soliman, W.S. (2021) Differences in the aroma profile of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) after different drying conditions, *Sustainability*, 13(9), 5083. <https://doi.org/10.3390/su13095083>;**
- Aćimović, M., Stanković Jeremić, J., Simić, K., Ivanović, S., Ljujić, J., Čabarkapa, I., Radojčin, M., Todosijević, M., Cveković, M. (2021) Essential oil quality of chamomile grown in Province of Vojvodina. *Annals of Agronomy*, 45(1), 1-8.**
- APPRRR-ISAP (2022) Zahtjevi za poticaj po proizvodnoj površini. <https://www.vpz.hr/wp-content/uploads/2022/12/11-Izvjesce-o-stanju-u-gospodarstvu-VPZ-2022.pdf> (17.08.2023.)**
- Avonto, C., Wang, M., Chittiboyina, A.G., Avula, B., Zhao, J., Khan, I.A. (2013) Hydroxylated bisabolol oxides: evidence for secondary oxidative metabolism in *Matricaria chamomilla*. *Journal of Natural Products*, 76(10), 1848-1853. <https://doi:10.1021/np4003349>**
- Bączek, K. B., Wiśniewska, M., Przybył, J. L., Kosakowska, O., Węglarz, Z. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi in chamomile (*Matricaria recutita L.*) organic cultivation. *Industrial Crops and Products*, 140, 111562.**
- Bączek, K.B., Wiśniewska, M., Przybył, J.L., Kosakowska, O., Węglarz, Z. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi in chamomile (*Matricaria recutita L.*) organic cultivation. *Industrial Crop and Products*, 140, 111562. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111562>**
- Bruteton J. (1999) *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. 2nd Ed. Lavoisier Publishing, Paris, 520-523.**

Ciko, L., Andoni, A., Ylli, F., Plaku, E., Taraj, K. (2016) *A study of oil extraction from albanian chamomile and characterization by IR Spectroscopy*. *Journal of International Environmental Application and Science*, 11(2), 154-158.

Clevenger, J.F. (1928). *American Pharmaceutical Association*, 17, 45-349.

European Pharmacopeia: Matricaria Flower (2017).

European Pharmacopeia 8.7 (2016), 5693-5695.

Franke, R., Schilcher, H., (2005) *Chamomile: Industrial Profile*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton.

Ghasemi, N.D., Asghari, G., Mostajeran, A., Najafabadi, A.M. (2013) *Evaluating the composition of Matricaria recutita L. flowers essential oil in hydrophilic culture*. *Journal of Current Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 3, 54-59.

Gladikostić, N., Ikonić, B., Teslić, N., Zeković, Z., Božović, D., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Pavlić, B. (2023) *Essential Oils from Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae and Lamiaceae Families Grown in Serbia: Comparative Chemical Profiling with In Vitro Antioxidant Activity*. *Plants*, 12, 745. <https://doi.org/10.3390/plants12040745>

Gosztola, B., Sárosi, S., Németh, E. (2010) *Variability of the essential oil content and composition of chamomile (Matricaria recutita L.) affected by weather conditions*. *Natural Product Communications*, 5, 465-470.

Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S.L., Kaushik, D. (2010) *Pharmacological Potential of Matricaria recutita-A Review*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2, 12-16.

Haghi, G., Hatami, A., Safaei, A., Mehran, M. (2014) *Analysis of phenolic compounds in Matricaria chamomilla and its extracts by UPLC-UV*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 31-37.

Hassanpour, H., Niknam, V. (2020) *Establishment and assessment of cell suspension cultures of Matricaria chamomilla as a possible source of apigenin under static magnetic field*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 142(28), 583–593. <https://doi:10.1007/s11240-020-01885-4>

Heuskin, S., Godin, B., Leroy, P., Capella, Q., Wathélet, J.P., Verheggen, F., Haubrûge, E., Lognay, G. (2009) *Fast gas chromatography characterisation of purified semiochemicals from essential oils of Matricaria chamomilla L. (Asteraceae) and Nepeta cataria L. (Lamiaceae)*. *Journal of Chromatography A*, 1216, 2768-2775.

ISO, International Standard Organisation: Maize – Determination of moisture content (on milled grains and on whole grains). ISO 6540:1980.

Mavandi, P., Assareh, M.H., Dehshiri, A., Rezadoost, H., Abdossi, V. (2021) *Evaluation of morphophysiological traits and essential oil production in Iranian genotypes and foreign varieties of Chamomile (Matricaria chamomilla L.) through multivariate analyses*. *Scientia Horticulturae*, 282, 110017. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110017>

McKay, D.L., Blumberg, J.B. (2006) *A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (Matricaria recutita L.)*. *Physiotherapy research international*, 20(7), 519–530.

Miguel, F.G., Cavalheiro, A.H., Spinola, N.F., Ribeiro, D.L., Barcelos, G.R.M., Antunes, L.M.G., Hori, J.I., Marquele-Oliveira, F., Rocha, B., Berretta, A.A. (2015) *Validation of a RP-HPLC-DAD Method for Chamomile (Matricaria recutita) Preparations and Assessment of the Marker, Apigenin-7-glucoside, Safety and Anti-Inflammatory Effect*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 828437, 1-9. doi: 10.1155/2015/828437

Morales-Bozo, I., Ortega-Pinto, A., Rojas Alcayaga, G., Aitken Saavedra, J.P., Salinas Flores, O., Lefimil Puente, C., Lozano Moraga, C., Manriquez Urbina, J.M., Urzua Orellana, B. (2016). *Evaluation of the effectiveness of a chamomile (Matricaria chamomilla) and linseed (Linum usitatissimum) saliva substitute in the relief of xerostomia in elders*, *Gerodontology* 34(1), 42-48. <https://doi:10.1111/ger.12220>

- Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2010)** Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. *Natural Product Research*, 24, 48–55. <https://dx.doi.org/10.1080/14786410802560690>
- Ortiz, M.I., Fernández-Martínez E., Soria-Jasso, L.E., Lucas-Gómez, I., Villagómez-Ibarra, R., González-García, M.P., Castaneda-Hernandez, G., Salinas-Caballero, M. (2016)** Isolation, identification and molecular docking as cyclooxygenase (COX) inhibitors of the main constituents of *Matricaria chamomilla* L. extract and its synergistic interaction with diclofenac on nociception and gastric damage in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 78, 248–56. <https://doi:10.1016/j.biopha.2016.01.029>
- Owlia, P., Rasooli, I., Saderi, H. (2007)** Antistreptococcal and antioxidant activity of essential oil from *Matricaria chamomilla* L. *Research Journal of Biological Sciences*, 2, 155–160.
- Pekic, B., Zekovic, Z., Petrovic, L., Adamovic, D. (1999)** Essential oil of chamomile ligulate and tubular flowers. *Journal of Essential Oil Research*, 11(1), 16–18. doi:10.1080/10412905.1999.970105
- Raal, A., Orav, A., Pussa, T., Valner, C., Malmiste, B., Arak, E. (2012)** Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. *Food Chemistry*, 131, 632–638. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.042>
- Rathore, S., Kumar, R. (2021)** Agronomic interventions affect the growth, yield, and essential oil composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in the western Himalaya. *Industrial Crops and Products*, 171, 113873. doi:10.1016/j.indcrop.2021.113873
- Reverchon, E., Senatore, F. (1994)** Supercritical carbon dioxide extraction of chamomile essential oil and its analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 154–158.
- Sah, A., Naseef, P.P., Kuruniyan, M.S., Jain, G.J., Takir, F., Aggarwal, G. (2022)** A comprehensive study of therapeutic applications of chamomile. *Pharmaceuticals*, 15(10), 1284. <https://doi.org/10.3390/ph15101284>
- Salamon, I. (2009)** Chamomile biodiversity of the essential oil qualitative-quantitative characteristics. U Sender, B. (ed.). *Innovations in Chemical Biology*. Springer Science and Business Media B.V. <http://dx.doi.org/10.1007/978-14020-69550>
- Salamon, I., Ghanavati, M., Khazaei, H. (2010)** Chamomile biodiversity and essential oil qualitative-quantitative characteristics in Egyptian production and Iranian landraces. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22, 59–64.
- Salamon, I., Ibraliu, A., Kryvtsova, M. (2023)** Essential oil content and composition of the chamomile inflorescences (*Matricaria recutita* L.) belonging to central Albania. *Horticulturae*, 9(1), 47. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010047>
- Salamon, I., Kryvtsova, M., Hrytsyna, M. (2022)** Chemotype determination of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.) in Ukraine. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 68, 35 – 36. DOI: 10.33320/maced.pharm.bull.2022.68.04.012
- Satyal, P., Shrestha, S., Setzer, W.N. (2015)** Composition and Bioactivities of an (E)- β Farnesene Chemotype of Chamomile (*Matricaria chamomilla*) Essential Oil from Nepal. *Natural Product Communications*, 10(8), 1453–1457.
- Shabir, A., Hafiz, S., Ali, Z. (2016)** Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. In *Chamomile: Medicinal, Biochemical, and Agricultural Aspects*. Springer, 19–38.
- Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., Srivastava, M.K. (2011)** Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy Review*, 5(9), 82–95.
- Smith, J. A. (2019)** Chamomile: A global perspective on the production and use of the essential oil and other products. In *Medicinal and aromatic plants of the world*, Springer, 25–44.

Sotiropoulou, N.S., Megremi, S.F., Tarantilis, P. (2020) Evaluation of antioxidant activity, toxicity, and phenolic profile of aqueous extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) and Sage (*Salvia officinalis L.*) prepared at different temperatures. *Applied Science*, 10(7), 2270. <https://doi.org/10.3390/app10072270>

Szóke, É., Lemberkovics, É. (2021): Comparative investigation of sesquiterpene components of essential oils originating from intact plants and hairy root chamomile cultures. *GSC Advanced Research and Reviews*, 06, 028-049. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2021.6.2. 0016>

Taviani, P., Rosellini, D., Veronesi, F. (2002) Variation for agronomic and essential oil traits among wild populations of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from central Italy. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9(4), 353-358.

Wichtl, M., (2004) *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A Handbook of Practice on a Scientific Basis*, third ed. CRC Press, Stuttgart.

Zengin, G., Mollica, A., Arsenijević, J., Pavlić, B., Zeković, Z., Sinan, K.I., Yan, L., Cvetanović Kljakić, A., Ražić, S. (2023) A comparative study of chamomile essential oils and lipophilic extracts obtained by conventional and greener extraction techniques: chemometric approach to chemical composition and biological activity. *Separations*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.3390/separations10010018>

Prispjelo/Received: 15.11.2023.

Prihvaćeno/Accepted: 20.12.2023.

Original scientific paper

Chemical composition of chamomile essential oil from Virovitica-Podravina County

Abstract

The aim of this research was to determine the essential oil composition and quality of five chamomile samples, one of which was an organic cultivation sample, while the other samples were from conventional cultivation from Virovitica-Podravina County. Dried chamomile flower heads were used for physico-chemical analyses. Chamomile samples were taken from early and late harvest during the month of May 2022. Dried chamomile flower heads were used for physico-chemical analyses. Apigenin-7-glucoside was determined by HPLC and essential oil composition using GC-MS. The content of apigenin-7-glucoside ranged from 0.49% to 0.85%. A total of 71 compounds were identified in chamomile essential oil. The main compounds of the essential oil were (E,E)- α -farnesene ranging from 28.6% to 10.8%, followed by bisabolol oxide B ranging from 28.1% to 11.7%, and then (E)- β -farnesene ranging from 14.4% to 10.9%. In addition, numerous other compounds were detected that contribute to the rich chemical profile of this essential oil and are an important indicator of the quality and value of the raw material itself.

Keywords: chamomile, apigenin-7-glucoside, essential oil, organic cultivation, conventional cultivation, bioactive components