
LEK. SIROV.	God. XXXI	Broj 31	Str. 55 – 65	Beograd 2011.
LEK. SIROV.	Vol. XXXI	No. 31	PP. 55 – 65	Belgrade 2011.

Stručni rad – Professional paper

UDC: 665.528.292.94

**ISPITIVANJE KVALITETA ETARSKOG ULJA KAMILICE
Chamomilla recutita (L.) Rausch., SORTA BANATSKA, I POREĐENJE SA
ZAHTEVIMA EVROPSKE FARMAKOPEJE i ISO STANDARDA**

**Katarina Šavikin¹, Nebojša Menković¹, Mihailo Ristić¹, Ivana Arsić²,
Gordana Zdunić¹, Sofija Đorđević¹, Nada Čujić¹, Dejan Pljevljakušić¹**

¹Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Tadeuša Koćuška 1, 11000
Beograd, Srbija

²Medicinski fakultet, Katedra za farmaciju, Univerzitet u Nišu, Bulevar Dr Zorana Đinđića
81, 18000 Niš, Srbija

IZVOD

Etarsko ulje kamilice [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch., sin. *Matricaria chamomilla* L., Asteraceae], poznato i kao ulje nemačke ili mađarske kamilice, dobija se destilacijom vodenom parom svežih ili delimično prosušenih glavičastih cvasti i stabljika. U zavisnosti od različitih faktora, prinos etarskog ulja varira od 0.3 do 1.0%. Ulje je bistra, plava, viskozna tečnost, intenzivnog, herbalnog mirisa kamilice i gorko-aromatičnog ukusa. Sadrži različite farmakološki aktivne supstance, gde su α -bisabolol, njegovi oksidi, hamazulen i spiroetri svakako najznačajniji. Koristi se u proizvodnji i standardizaciji određenih farmaceutskih i kozmetičkih preparata. U radu su prikazani rezultati hemijske analize etarskog ulja kamilice, sorta Banatska, dobijenog u pogonu za ekstrakciju i destilaciju Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“. Analiza ulja je sprovedena korišćenjem gasne hromatografije (GC/FID) i gasne hromatografije/masene spektrometrije (GC/MS). Etarsko ulje je imalo najveći sadržaj trans- β -farnezena (46.69%), dok su α -bisabolol i njegovi oksidi, azulen i hamazulen nađen preko 1%. Utrvđeno je da hemijski profil ulja ne odgovarani propisu Ph Eur 6.0. ni ISO 19332 standardu.

Ključne reči: etarsko ulje, kamilica, Ph Eur 6.0, ISO 19332, trans- β -farnezen

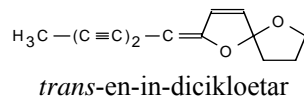
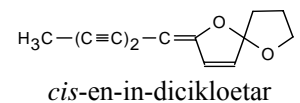
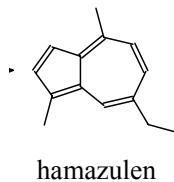
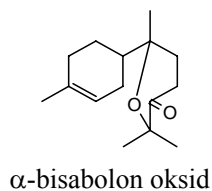
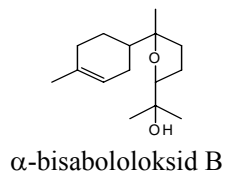
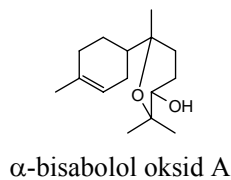
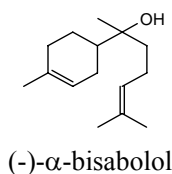
UVOD

Etarsko ulje kamilice [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch., sin. *Matricaria chamomilla* L., Asteraceae], poznato i kao ulje nemačke kamilice ili ulje mađarske kamilice, dobija se destilacijom vodenom parom svežih (ili delimično prosušenih) glavičastih cvasti i stabljika. Kamilica je niska jednogodišnja aromatična biljka sa razgranatom stabljikom, fino dvojno perasto deljenim lišćem i sitnim mekim šupljim glavičastim cvastima. Za destilaciju koristi se gajena, a izuzetno retko samonikla kamilica [1].

U zavisnosti od različitih faktora prinos etarskog ulja varira od 0.3 do 1.0% [1,2]. Etarsko ulje kamilice je oficinalno Ph Eur 6 i sledećim nacionalnim farmakopejama: Hung.VII, ÖAB 90, Helv VI i Mar 29 [3, 4, 5, 6, 7].

Ulje je najčešće bistra, plava, viskozna tečnost, intenzivnog, teškog herbalnog mirisa kamilice i gorko-aromatičnog ukusa, mada neke od ovih karakteristika mogu da variraju u relativno širokim granicama u zavisnosti od sorte iz koje je ulje izolovano. Stajanjem na vazduhu boja ulja se menja preko zelene do mrke. Hladenjem postaje viskozno. Ulje je dobro rastvorno u masnim uljima i propilenglikolu, dok se slabije rastvara u mineralnim uljima i glicerinu.

Etarsko ulje sadrži različite farmakološki aktivne supstance, gde su α -bisabolol, njegovi oksidi, hamazulen i spiroetri svakako najznačajniji [2, 8, 9].



Jedna od najkompletnijih monografija sa uravnoteženim pristupom ulju kamilice sa stanovišta nekih važnijih aspekata i preko stotinu referenci može se naći u jednom od novijih izdanja Hagera [10].

Etarsko ulje kamilice ima primenu u proizvodnji i standardizaciji određenih farmaceutskih preparata i u kozmetičkim preparatima, posebno parfemima. Lokalno, preparati sa uljem kamilice (do 1%), koriste se u tretmanu površinskih rana i kod akutnih hroničnih upala kože (dermatitisi različite etiologije, ekcemi). Primenjeno u vidu kupke (0,02 g na 10 litara tople vode), etarsko ulje kamilice deluje opuštajuće na mišiće i ublažava psihičku napetost [9, 11, 12].

Cilj rada je bio analiza etarskog ulja kamilice, *Chamomilla recutita* (L.) Rausch (sorta Banatska), dobijenog u pogonu za ekstrakciju i destilaciju Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, kako bi se rezultati uporedili sa zahtevima o kvalitetu, koje propisuje Evropska farmakopeja i ISO standard 19332.

MATERIJAL I METODE

Biljna sirovina koja je korišćena za destilaciju etarskog ulja, cvasti kamilice [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.], sorta Banatska, potiče iz magacina Sektora proizvodnje Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“.

Zahtev Ph Eur 6.0

Identifikacija etarskog ulja, prema Ph Eur 6 [3], može se uraditi tankoslojnom (TLC) ili gasnom (GLC) hromatografijom, upoređivanjem hromatografskog profila ispitivanog uzorka sa odabranim referentnim supstancama. Uz to se određuje gasnohromatografski profil, u okviru čega se kvantifikuju α -bisabolol (levomenol), bisabolol oksid A, bisabolol oksid B i hamazulen. U zavisnosti od GC-profila, Ph Eur 6 razlikuje dva tipa ulja kamilice, ulje bogato oksidima bisabolola i ulje α -bisabololom. Prvo od navedenih treba da sadrži 29-81% sume oksida bisabolola i ne manje od 1% hamazulena, a drugo 10-65% α -bisabolola, ne manje od 1% hamazulena i ne manje od 20% sume α -bisabolola i ukupnih oksida bisabolola. Evropska farmakopeja ne propisuje zahteve u pogledu relativne gustine, indeksa prelamanja niti optičke rotacije ulja.

Zahtev ISO standarda 19332

ISO standard [13] po kvalitetu etarskog ulja razlikuje dva tipa kamilice: egipatski tip i mađarski tip, čiji su homatografski profili predstavljeni u Tabeli 1.

Tabela 1. Hromatografski profili po ISO standardu 19332**Table 1.** Chromatographic profiles according to ISO 19332

Jedinjenje	Egipatski tip		Mađarski tip	
	Min.	Maks.	Min.	Maks.
	%	%	%	%
trans- β -farnezen	15	35	20	51
α -bisabolol oksid B	2	8	2	21
bisabolon oksid A	2	6,5	1	4
α -bisabolol	1	10	15	40
hamazulene	2	5	5	22
α -bisabolol oksid A	35	50	2	27

Analitička gasna hromatografija (GC/FID) je rađena na HP5890 series II hromatografu, opremljenom split-splitles injektorom i autosamplerom (ALS), HP-5 kolonom (25 m · 0.32 mm, debljine filma 0.52 μ m) povezanom sa plamenonjonizujućim detektorom (FID). Protok nosećeg gasa (H_2) iznosio je 1 ml/min (split režim, 1:30), temperatura injektora bila je 250°C, detektora 300°C, dok je temperatura kolone linearno menjana od 40-260°C (4°/min). Rastvor etarskog ulja u etanolu (~1%) je injektiran u split režimu (1 μ l, ALS). Za potrebe kvantifikacije izveštaji dobijeni kao rezultat standardne obrade hromatograma metodom normalizacije, uzeti su kao osnova.

Gasna hromatografija/masena spektrometrija (GC/MS). Analitički uslovi identični onima za GC/FID primenjeni su i u slučaju GC/MS analize, uz HP-5MS kolonu (30 m · 0.25 mm, debljine filma 0.25 μ m), na HP G 1800C Series II GCD analitičkom sistemu. Umesto vodonika, noseći gas je bio helijum. Transfer linija je grejana na 260°C. Maseni spektri su snimani u EI režimu (70 eV), u m/z opsegu od 40-450.

Identifikacija je rađena u skladu sa bazama podataka i literaturom [13, 14].

REZULTATI I DISKUSIJA

Organoleptičke osobine i osnovne fizičko-hemijske konstante analiziranog etarskog ulja:

- izgled: bistra, tamno plava tečnost
- relativna gustina (d_{20}^{20}): 0.9049 (piknometar)
- indeks prelamanja (n_D^{20}): 1.5032 (Atago RX-1000 digitalni refraktometar),
- optička rotacija (α_D^{20}): n/a

Rezultati elementarne mikroanalize (Elementar VarioL3 analizator) su:
 %C=82.01; %H=12.56; %O=5.43; C/H=6.53.

UV/VIS spektar u heksanu (Hewlett-Packard HP-8453 spektrofotometar)
 pokazuje λ_{\max} (nm): 204, 225, 266, 290, 366, 433, 488, 606, 660, 731.

Tabela 2. GC analiza etarskog ulja kamilice
Table 2. GC analysis of the essential oil of chamomile

Pk #	Jedinjenje	KIE	%m/m	RRT	CI
1	sabinen	968	0.10	0.440	2
2	jomogi alkohol	999	0.13	0.467	3
3	p-cimen	1020	0.09	0.504	2
4	1,8-cineol	1026	0.10	0.517	2
5	trans- β -ocimen	1044	0.49	0.530	11
6	artemisia keton	1058	0.80	0.547	17
7	bicikloelemen	1332	0.09	0.881	2
8	α -izokomene	1380	0.14	0.935	3
9	β -elemen	1387	0.39	0.942	8
10	β -kariofilen	1413	0.36	0.976	8
11	trans- β -farnezen	1455	46.69	1.000	1000
12	dehidroeskvicineol	1465	0.70	1.018	15
13	γ -murolen	1475	0.33	1.031	7
14	germakren D	1476	4.60	1.039	99
15	β -selinen	1481	0.77	1.046	17
16	γ -amorfen	1488	4.31	1.052	92
17	biciklogermakren	1491	1.28	1.055	27
18	δ -kadinen	1520	0.31	1.077	7
19	trans-nerolidol	1559	0.60	1.108	13
20	trans-dendrolasin	1568	0.33	1.119	7
21	spatulenol	1572	1.03	1.136	22
22	kariofilen-oksid	1577	0.24	1.143	5
23	salvial-4(14)-en-1-on	1587	0.16	1.152	4
24	guaia-6,10(14)-dien-4 β -ol	1606	0.26	1.167	6
25	helifolen-12-al	1611	0.29	1.171	6
26	nerolidol-oksid	1627	0.47	1.182	10
27	izospatulenol	1633	0.27	1.192	6

Nastavak tabele 2.

28	bisabolol-oksid B	1656	8.11	1.205	174
29	izoaromadendren-epoksid	1659	0.33	1.213	7
30	bisabolon-oksid	1680	7.35	1.227	157
31	α -bisabolol	1684	2.41	1.233	52
32	hamazulen	1727	6.15	1.280	132
33	bisabolol oksid A	1749	5.87	1.291	126
34	cis-en-in-dicikloetar	1879	3.86	1.402	83
35	trans-en-in-dicikloetar	1890	0.34	1.410	7
36	1,4-dimetil-7-(1-metiletil)- -azulen-2-ol*	1945	0.16	1.462	4
37	n-trikozan	2292	0.07	1.698	2

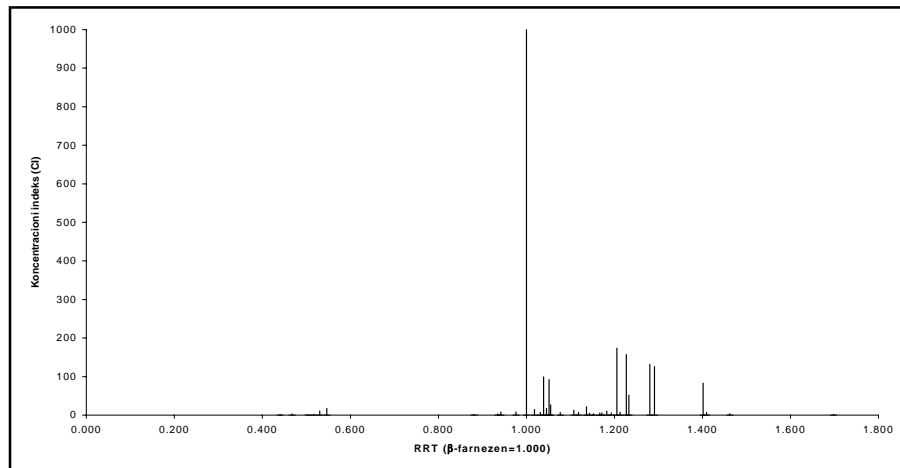
KIE=Kovačev indeks (eksperimentalno određen)

RRT=relativno retenciono vreme (β -farnezen=1.000)

CI=konc. indeks.

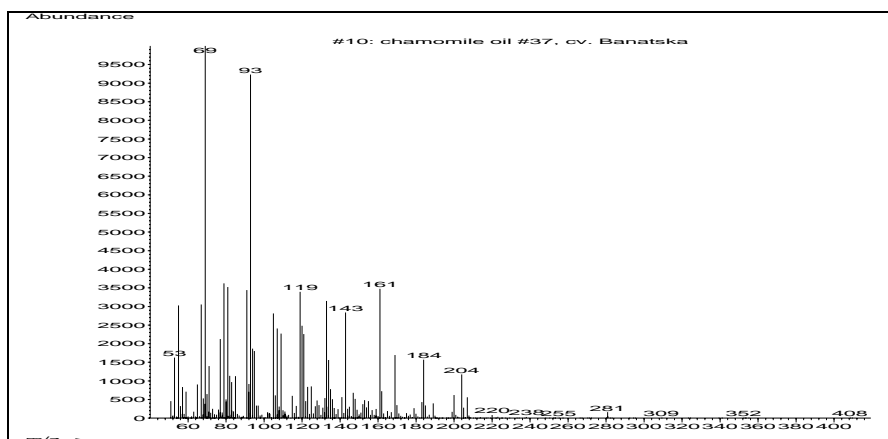
*=Tentativna identifikacija;

Slika 1. Normalizovani GC etarskog ulja kamilice
Picture 1. Normalized GC chamomile essential oil



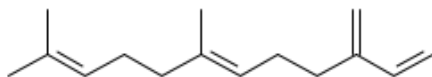
Slika 2. Maseni spektar etarskog ulja kamilice

Picture 2. Mass spectrum of the essential oil of chamomile



Hemijski profil etarskog ulja kamilice, sorta 'Banatska', dobijenog u pogonu za ekstrakciju i destilaciju Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“ predstavljen je na Tabeli 2, a normalizovani hromatogram, odnosno maseni spektar, na Slici 1, odnosno na Slici 2. Analizirano etarsko ulje imalo je najveći sadržaj trans- β -farnezena (46.69%) (Slika 3), dok su α -bisabolol i njegovi oksidi i hamazulen nađeni u koncentraciji preko 1%. Po sadržaju dominantnih jedinjenja u hemijskom profilu analizirano ulje ne odgovara ni propisu Ph Eur 6.0. ni ISO 19332 standardu [3, 13]. Razlozi za ovakvo odstupanje mogu biti genetske ili tehnološke prirode. Budući da je 'Banatska' autohtona sorta kamilice za očekivati je da se po hemijskom profilu etarskog ulja razlikuje od ostalih sorti na tržištu, ali odudaranje sadržaja dominantnih komponenti od farmakopejskog i ISO standarda, povlači sa sobom problem plasmana takvog ulja na tržištu. Ristić i sar. [15] predložili su uvođenje drugačijih kriterijuma u zvanične standarde kvaliteta etarskog ulja kamilice koje bi obuhvatilo ulja sa niskim sadržajem α -bisabolola (<5%) i visokim sadržajem hamazulena (ne manje od 5%). Druge mogućnosti uzroka nestandardnog kvantiteta etarskog ulja treba tražiti u tehnologiji destilacije. Zavisno od faze cvetanja cvetne glavice kamilice sadrže različite komponente u etarskom ulju. Arak i sar. [16] su prijavili postepeno opadanje trans- β -farnezena u toku razvoja i razviće biljke, dok Benedict i sar. [17] navode da bisabololi i trans- β -farnezen imaju istog prekursora. Kritična tačka ulazne sirovine za destilaciju je i pitanje da li se sirovina destiliše u svežem ili suvom stanju, obzirom da se pojedine komponente ulja sintetišu iz svojih prekursora u toku destilacije. Tako Mishra i sar.

[18] navode da je sadržaj farnezena bio viši u cvetnim glavicama kamilice sušenim u hladu, dok je sadržaj bisabololai azulena bio viši u cvetnim glavicma sušenim na direktno suncu. Sledeći problematični tehnološki korak je odnos cveta i stabljike u sirovini za destilaciju, budući da etarska ulja različitih organa iste biljke mogu imati potpuno drugačije hemijske profile [19].



Slika 3. Strukturna formula trans- β -farnezena
Picture 2. Structural formula of trans- β -farnesene

Trans izomer β -farnezena je česta komponenta etarskih ulja velikog broja biljaka. Takođe se javlja u hemijskoj komunikaciji biljnih vaši, gde se emituje u slučaju napada predatora [20]. Pretpostavlja se da biljke sintetišu ovaj feromon kao prirodni repelent [21].

ZAKLJUČAK

Analizirano etarsko ulje ne odgovara zahtevima o kvalitetu koje propisuju Evropska farmakopeja i ISO standard. Predložena rešenja za prevazilaženje ovog problema obuhvataju ispitivanja genetske predispozicije sorte „Banatska“ u stabilnosti hemijskog profila etarskog ulja i izmenu dosadašnje tehnologije destilacije kamilice. Posebnu pažnju prilikom postavke destilacije treba posvetiti odabiru trenutka žetve sirovine i odnosu stabljike i cvetnih glavica u sirovini. Ukoliko se od testirane sorte ne može izdestilisati etarsko ulje bogatije u bisabololskim oksidima treba izvršiti zamenu sorte komercijalnim priznatim sortama čije ulje odgovara propisanim standardima ili sačekati usvajanje predloženih izmena standarda.

ZAHVALNICA

Ispitivanja su urađena u okviru inovacionog projekta IP 8134B.

LITERATURA

1. M. Ristić, D. Đokić (1996): Hemijski sastav i druga svojstva kamilice, Kamilica (*Chamomillae recutita* L. Rauch), Monografska studija, Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Vol 197, 137
2. A. Orav, A. Raal, E. Arak (2010): Content and composition of the essentials oil of *Chamomilla recucita* (L.) Rauschert, Natural Product Research, Vol 24(1), 48-55
3. European Pharmacopeia 6th Volume 2, 2240
4. Pharmacopoea Hungarica VI, Hung. VI
5. Pharmacopoea Austriaca (Arzeibuch), ÖAB 90
6. Pharmacopoea Helvatica (1972) Helv. VI
7. Martindale (1989): The extra Pharamcopeia 29th
8. D. L. McKay, J. B. Blumberg, (2006): A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.), Phytotherapy Research, Vol. 20(7), 519-530
9. V. Gupta, P. Mittal, P. Bansal, S. L. Khokra, D. Kaushic (2010):Pharamcological potential of *Matricaria recutita*, International Journal of Pharmaceuical Sciences and Drug Research, 2(1), 12-16
10. HagerROM (2001)
11. S. Tasić, K. Šavikin, N. Menković (2009): Vodič kroz svet lekovitog bilja, Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Beograd Vol.202, 98
12. PDR for herbal medicines (2004): Third edition, Thomson PDR at Montvale, Vol.988, 354
13. ISO standard 19332 (2007): Oil of blue chamomile (*Chamomillae recutita* L. Rauch syn. *Matricaria chamomilla* auct.)
14. R. P. Adams, (2001): Identification of Essential Oils components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corporation Card Stream
15. M.S. Ristić, S.M. Đorđević, D.D. Đoković, S.R. Tasić (2007) Setting a Standard for the essential oil of chamomile originating from Banat, *Acta Horticulturae* 749: I International Symposium on Chamomile Research, Development and Production,127-140
16. E. Arak,I. Tammeorg, U. Myaeorg (1980)Dynamics of some components of chamomile essential oil, Tartu Ulikooli Toimetised, No. 523,19-32
17. CR. Benedict, JL Lu, DW Pettigrew, J Liu, RD Stipanović, HJ Williams (2001) The cyclization of farnesyl diphosphate and nerolidyl diphosphate by a purified recombinant delta-cadinene synthase. Plant Physiol. Vol.125(4), 1754-65

18. D. R. Mishra, S.N. Naik, V.K. Srivastava, R. Prasad (1999) Effect of drying *Matricaria chamomilla* flowers on chemical composition of essential oil, Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences (India), 1020-1025
19. C.R. Metcalfe, L.Chalk (1950) Compositae, Anatomy of the Dicotyledons Leaves, Stem and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses. Clarendon Press, Oxford, 782–804
20. R.W. Gibson, J.A.Pickett (1983), Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone, Nature 302, Vol.5909, 608–609
21. D.A. Avé, P.Gregory, W.M. Tingey (1987) Aphid repellent sesquiterpenes in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*, Entomologia Experimentalis et Applicata 44,131–138

QUALITY TESTING OF CHAMOMILE ESSENTIAL OIL
Chamomilla recutita (L.) Rausch., VARIETY BANATSKA,
IN COMPARISON TO REQUIREMENTS OF THE EUROPEAN
PHARMACOPOEIA AND ISO STANDARD

**Katarina Šavikin¹, Nebojša Menković¹, Mihailo Ristić¹, Ivana Arsić²,
Gordana Zdunić¹, Sofija Đorđević¹, Nada Ćujić¹, Dejan Pljevljakušić¹**

¹Institute for Medicinal Plant Research „Dr Josif Pančić“, Tadeuša Koćuška 1, 11000
Belgrade, Republic of Serbia

²Department of Pharmacy, University of Niš, Faculty of Medicine, Dr Zoran Đinđić
Boulevard 81, Niš, Republic of Serbia

SUMMARY

Essential oil of chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch., syn. *Matricaria chamomilla* L., Asteraceae], also known as oil of German or Hungarian chamomile, is obtained by steam distillation of fresh (or partially dried) flowers and stems. Depending on various factors, essential oil yield ranges from 0.3 to 1.0%. The oil is usually clear, blue, viscous liquid, with intense, heavy scent of chamomile herbal and bitter-aromatic flavor. The essential oil contains a variety of pharmacologically active substances, where α -bisabolol, its oxides, chamazulene spiroethers and certainly the most important. It is used in the production and standardization of certain pharmaceutical and cosmetic products. This paper presents the results of the chemical analysis of essential oils of chamomile, variety Banatska, received at the facility for the extraction and distillation of the Institute for Medicinal Plant Research "Dr Josif Pančić". The oil analysis is carried out using gas chromatography (GC/ FID) and gas chromatography / mass spectrometry (GC/ MS). The essential oil had the highest content of trans- β -farnesene (46.69%), while the α -bisabolol and its oxides, azulene and chamazulene were found to be more than 1%. It was fortified that the chemical profile of the oil is not liable to Ph Eur 6.0. nor ISO 19332 standard.

Keywords: essential oil, chamomile, Ph Eur 6.0, ISO 19332, trans- β -farnesene.