

Kemijska zgradba terpentina iglic *Picea abies* Karst iz različnih območij v Sloveniji

Vesna Tišler*, Peter Kvas**

Izvleček

Tišler, V., Kvas, P.: Kemijska zgradba terpentina iglic *Picea abies* Karst, iz različnih območij v Sloveniji. *Gozdarski vestnik*, št. 2/1988. V slovenščini s povzetkom v angleščini, cit. lit. 19.

Avtorja članka sta ugotavljala kakovostno in količinsko sestavo terpentina smrekovih iglic s treh različnih področij v Sloveniji: Črne na Koroškem, Ljubljana-Rožnika in Pokljuka. S plinskim kromatografom sta določila 17 sestavin, predvsem monoterpene in terpenoide. Količinsko sliko sta podala v ng snovi na 1 mg svežih smrekovih iglic in ugotovila različno sestavo terpentina glede na lokacijo drevesa.

1. UVOD

Terpentin je hladno eterično olje, sestavljeno predvsem iz terpenov in njihovih derivatov terpenoidov. Je prijetnega vonja, zato ga uporabljamo za izdelavo kozmetičnih in farmacevtskih preparatov. Terpentin delimo na monoterpene ($C_{10}H_{16}$), seskviterpene ($C_{15}H_{24}$), diterpene ($C_{20}H_{32}$), triterpene ($C_{30}H_{48}$), tetraterpene ($C_{40}H_{64}$) in politerpene (1, 3, 15). Igljice ponavadi vsebujejo monoterpene in seskviterpene.

V preteklosti eteričnega olja smrekovih iglic niso obsežno raziskovali (12, 14), danes se zaradi ugotavljanja vzrokov za propadanje gozdov to področje intenzivno razvija (5, 6, 10, 16).

Ker so tudi nas zanimale možne spremembe v kemijski zgradbi terpentina iglic, smo po izsledkih o umiranju gozdov pri nas (17) izbrali tri lokacije v SR Sloveniji, opravili ekstrakcijo iglic in s plinskim kromatografom določili sestavo eteričnega olja.

2. MATERIAL IN METODE DELA

2.1. Vzorčenje

Ker smo iz podatkov v literaturi (11, 13) razbrali, da prihaja spomladi do velikih

* doc. dr. V. T., Biotehniška fakulteta, VTOZD za lesarstvo, 61000 Ljubljana, YU

** P. K., dipl. inž. les., Lesnina, Parmova 53, 61000 Ljubljana, YU

Synopsis

Tišler, V., Kvas, P.: Chemical structure of *Picea abies* Karst needle turpentine from different regions in Slovenia. *Gozdarski vestnik*, No. 2/1988. In Slovene with a summary in English, lit. quot. 19.

The quality and quantity structure of spruce tree needle turpentine from three different regions in Slovenia - Črna na Koroškem, Ljubljana-Rožnik and the Pokljuka - were established. 17 compounds, with the emphasis on monoterpenes and terpenoids, were identified by means of a gas chromatogram. The quantity picture was presented in ng of substance per 1 mg of fresh spruce tree needles and a different turpentine structure was established as regards the tree location.

sprememb v količinski sestavi terpenov iglic, smo se odločili za odvzem vzorcev decembra, januarja in februarja. Zimsko nabiranje iglic zmanjša nevarnost spreminjanja vzorca; metabolični procesi so šibki, primerjava kemijskih sestavin različnih dreves ima lahko večjo fitokemično vrednost; pričakovali smo boljše ponovljivost izsledkov v iglicah enega drevesa.

Izbrane smreke so bile po socialnem položaju sorastle. Pri izbiri vej drevesa smo se po mednarodnem dogovoru odločili za sedemletno vreteno. Na vsaki veji je bilo jasno vidnih sedem prirastnih con oziroma poganjkov. Veje smo razrezali in za analizo uporabili enoletne, dvoletne in triletnje iglice. Vzorce za analizo smo shranjevali v hladilni skrinji.

Da bi ugotovili možne spremembe v sestavi terpentina iglic iz ekološko različno obremenjenih okolij, smo se odločili za bližino treh popisnih točk slovenske bioindikacijske mreže (4x2 km). Predpostavljali smo, da je emisijsko najbolj obremenjeno področje Črne na Koroškem, srednje obremenjeno emisijsko področje Ljubljana-Rožnik, manj obremenjeno emisijsko področje pa Pokljuka.

Črna na Koroškem - Jasa

Lokacija: Po cesti Črna-Javorje do križišča Jasa-Stane, od tu še 350 m proti Sta-

nam. Vzorec vzet s smreke, ki leži 15 m nižje od ceste.

Sestoj: Degradiran smrekov mlajši debe-ljak v plinskem-imisijskem območju, znotraj inverzijskega pasu.

Sestava tal: Silikatna geološka podlaga, dobro rodovitna, srednje globoka do globo-ka, rjava tla.

Nadmorska višina: 600 m, severna lega, nagib 20°

Ljubljana-Rožnik

Lokacija: Po cesti (gostilna pri Čadu) v smeri na Rožnik, 500 m do platoja na Rožni-ku.

Sestoj: Prebiralni sestoj bukve, kostanja, smreke in rdečega bora.

Sestava tal: Silikatna geološka podlaga, distrična rjava tla, globoka, na permokar-bonskih skrilavcih.

Nadmorska višina: 420 m.

Pokljuka - Črni potok

Lokacija: Po cesti iz Mrzlega studenca v smeri Gorjuš mimo barja Švica (800 m), od tam 200 m vzhodno od ceste.

Sestoj: Osemnajst do dvajsetletni smrekov sestoj (naravno pomlajen).

Sestava tal: Globoka, distrična rjava tla, preperina apnenca z roženci (kremenčevi vložki v apnencu).

Nadmorska višina: 1100 m, jugozahodna le-ga, nagib 20°.

2.2. Ekstrakcija

Kljub nekaterim poskusom ekstrakcije iglic z organskimi topili (4) je še vedno najbolj uveljavljena ekstrakcija z vodo ozi-roma vodno paro (2, 4, 7, 8, 12, 18).

Posamezne materiale smo zmleli in z napravo za pridobivanje eteričnih olj zahte-vano količino ekstrahirali z destilirano vodo. Ekstrakcija je potekala 45 minut, 0,1 ml lah-kohlapne frakcije smo prelili v penicilinke in jim dodali 5 ml etanola. Nato smo vzorec shranili v dušikovi atmosferi pri nizki tempe-raturi.

2.3. Analiza

Ekstrakte smo analizirali s plinskim kro-matografom Hewlett Packard 5840 A. V in-jektor, segret na predvideno temperaturo, smo injicirali 0,1 µl vzorca pri 50 °C v je-kleno kolono I.D. 1/8" H.P. (OV 210, 10%), dolgo 2 m. Temperaturni program, ki smo ga zabeležili na magnetni kartici, je obsegal

več stopenj:
temperatura

	čas
50°	2 min
zvišanje temperature po 2°C/min do 170°	60 min
170°C	3 min
	65 min

Nosilni plin je bil dušik, za dolčitev snovi smo uporabili plamensko ionizacijski detek-tor FID.

Spojine smo določali z interno kalibracijo s čistimi terpeni, s katerimi smo ugotavljali tudi ločljivost posamezne kolone. Za kvanti-fikacijo substanc smo v vzorec pred analizo dodali interni standard. Na razpolago smo imeli pet referenčnih substanc: α-pinen, β-pinen, kafa, p-cimen, limonen. Pri identi-fikaciji terpenov smo si pomagali tudi z dostopno literaturo (11, 14, 19). Vgrajen računalnik nam je določal površino posame-znega odklona in izračunal odstotno sestavo snovi v vzorcu.

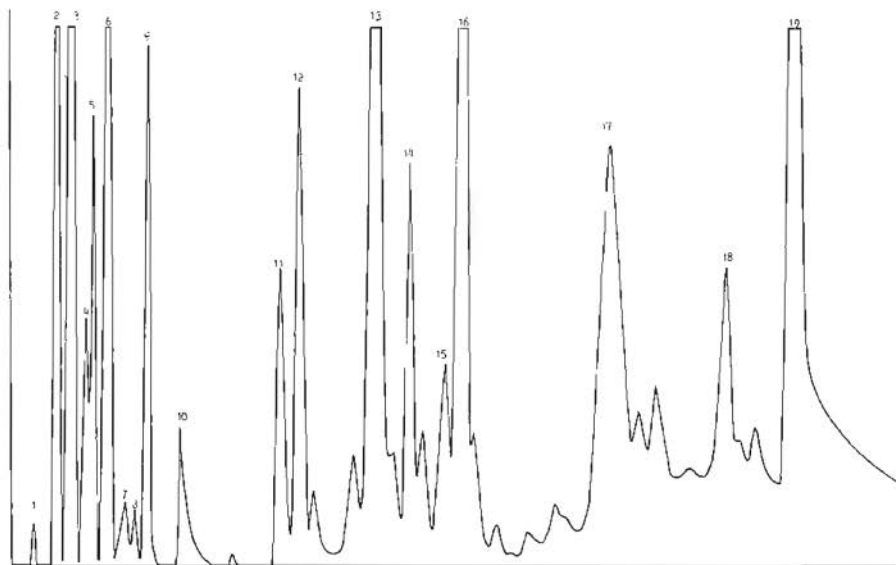
3. REZULTATI ANALIZ IN NJIHOVA INTERPRETACIJA

Na sliki 1 prikazujemo primer kromato-grama z navedbo določenih terpenov in terpenoidov. Pri tem smo vključili substan-ce, ki jih zaradi pomanjkanja referenčnih snovi sicer nismo mogli dokazati, vendar smo v objavljenih kromogramih ugotovili odklone s sorodnimi retencijskimi časi.

Kromatogram prikazuje zelo raznoliko se-stavo terpenina smrekovih iglic, ki bi bila morda še izrazitejša, če bi uporabili selek-tivnejšo, najmanj 25 m dolgo stekleno kolo-no. Pri našem delu smo uporabljali le dvo-metrsko kolono, zato se je osnovna linija kromatograma pri 12. substanci spremenila in se je natančnost kolikostne določitve snovi ustrezno zmanjšala. Kljub temu smo določili 17. substanc.

Količine nekaterih hlapnih terpenov in terpenoidov, izražene v ng/mg svežih smre-kovih iglic, prikazujemo v preglednici št. 1. Podajamo vrednosti za enoletne dvoletne in triletno iglice, ki smo jih dobili z različnih področij v Sloveniji.

Iz preglednice lahko razberemo, da imamo opravka s tremi vzorci terpenina iglic, ki se med seboj zelo razlikujejo. Naj-večja razlika v sestavi je opazna med igli-cami s Pokljuke in Ljubljane, terpenin iglic s Črne na Koroškem v grobem predstavlja



Slika 1: Plinska kromatografska analiza terpentina smrekovih iglic

1 - heksanal, 2 - triciklen, 3 - α -pinen, 4 - sabinen, 5 - kafra, 6 - β -pinen, 7 - mircen, 8 - felandren in limonen, 9 - p-cimol, 10 - γ -terpinen, 11 - terpinolen (?), 12 - linalool, 13 - ?, 14 - kamfer, 15 - ?, 16 - borneol, 17 - terpineol, 18 - piperiton (?), 19 - bornilacetat

srednji vzorec. Do tega sklepa pridemo, če opazujemo vrednosti lahkih terpenov. Tako bi, kljub zapletenosti fiziologije dreves, morda le lahko rekli, da najbolj emisijsko obremenjeno področje ni Črna na Koroškem, ampak Ljubljana-Rožnik.

Pri pregledu rezultatov je zanimivo tudi dejstvo, da se sestava terpentina glede na starost iglic vsaj v prvih letih njenega življenja bistveno ne spreminja. V nekaterih primerih pri triletnih iglicah sicer prihaja do povečanja količine monoterpenov, vendar razlike niso zelo očitne.

4. SKLEP

S kakovostno kemijsko analizo terpentina smrekovih iglic nismo ugotovili tvorbe spojin terpenov in terpenoidov, ki na; bi nastali zaradi nezdravega okolja. Tudi starost iglic ni bistveno prispevala k različni sestavi terpentina, pomembno je le področje, na katerem drevo raste. Predvsem količine lahkih terpenov so zelo različne; to bi morda lahko pripisali onesnaženju okolja.

Tabela 1: Količine nekaterih hlapnih terpenov in terpenoidov, izražene v ng/mg svežih iglic, v terpentinu smrekovih iglic

področje	Črna na Koroškem			Ljubljana-Rožnik			Pckljuka		
	1986	1985	1984	1986	1985	1984	1986	1985	1984
triciklen	8	20	24	191	198	155	8	sled	48
α -pinen	15	33	33	202	199	149	16	sled	81
sabinen	3	14	18	30	36	31	3	sled	sled
kafra	6	14	16	29	30	24	7	sled	18
β -pinen	10	33	28	123	130	91	22	4	55
p-cimol	8	22	14	2	sled	sled	10	3	24
γ -terpinen	/	42	/	/	/	91	/	/	/
neidentificiran	42	10	23	82	82	74	27	66	59
borneol	110	77	77	387	436	381	157	108	195
neidentificiran	38	13	16	42	47	53	41	98	84
piperiton (?)	32	16	/	22	22	56	62	75	22
bornilacetat	126	72	/	/	/	/	199	/	/

ZAHVALA

Zahvaljujemo se sodelavcem Inštituta za gozdno in lesno gospodarstvo SR Slovenije iz Ljubljane za pomoč pri nabiranju vzorcev, dr. Güntherju Weissmannu z Inštituta za kemijo lesa v Hamburgu pa za nasvete pri identifikaciji substanc.

CHEMICAL STRUCTURE OF PICEA ABIES KARST NEEDLE TURPENTINE FROM DIFFERENT REGIONS IN SLOVENIA

Summary

The authors established the qualitative and quantitative structure of spruce tree needle turpentine from three different regions in Slovenia: Črna na Koroškem, Ljubljana-Rožnik and the Pokljuka. The social position of the sample spruce trees was that of equal-height type. One-year-, two-year- and three year old needles were analysed on a seven-year old whorl. 17 compounds of needle turpentine with the emphasis on monoterpenes and terpenoids were analysed by means of a gas chromatogram. The table shows the quantities of some volatile terpenes and terpenoids, expressed in ng/mg of fresh needles in spruce tree needle turpentine. The chemical structure of spruce tree needle turpentine from different parts of Slovenia differs greatly, whereas the age of needles did not prove to have any influence on the turpentine chemical structure. No terpenes or terpenoids which would have developed due to air pollution were established in the analysed spruce tree needles, yet the established different chemical structure of turpentine might be attributed to a different degree of environmental pollution of sample spruce trees.

LITERATURA

1. Blažej, A.: Chemie des Holzes, VEB Fachbuchverlag, Leipzig, 1979, 189-196.
2. Browning, B. L.: Methods of Wood Chemistry, Interscience Publishers, A Division of John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, 1967, 92.
3. Fengel, D., Wegner, G.: Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1984, 184-192.
4. Hrivnak, J., Mahdalik, M., Varadiova, E., Sojak, L.: Analysis of Monoterpenes from the Needles of *Pinus sylvestris* and *Picea excelsa* Using Capillary Gas Chromatography, *Holzforschung und Holzverwertung*, 25 (1973), 1, 24-26.
5. Jüttner, F.: Analyse stofflicher Veränderungen in Laub- und Nadelblättern immissionsgeschädigter Waldbäume. Quantitative Analyse von Terpenen und Voc in Nadeln von *Picea abies* und Waidluft, Projekt Europäisches Forschungszentrum für Massnahmen zur Luftreinhaltung, Karlsruhe, 1. Statuskolloquium des PEF, 1986, 129-148.
6. Jüttner, F.: Analyse stofflicher Veränderungen in Laub- und Nadelblättern immissionsgeschädigter Waldbäume, Projekt Europäisches

Forschungszentrum für Massnahmen zur Luftreinhaltung, Karlsruhe, 2. Statuskolloquium des PEF, 1986, 117-131.

7. Lorber, E., Mayr, M., Hausmann, B., Kratzl, K.: Zur Identifizierung flüchtiger Substanzen aus biologischen Material mit Hilfe der CLSA, *Monatshefte für Chemie*, 116 (1984), 1107-1112.

8. Osswald, W. F., Heinisch, H., Elstner, E. F.: Einfluss von Mineralstoffernährung, Ozon und saurem Nebel auf den Gehalt der für giftigen Substanz p-Hydroxy-acetophenon in Fichtennadeln (*Picea abies* L./ Karst), Beitrag Nr. 11 zum Pilotexperiment der Münchner Arbeitsgemeinschaft Luftschadstoffe (MAGL), *Forstw. Cbl.* 105 (1986), 261-264.

9. Payer, H. D., Bosch, S., Blank, L. W., Eisenmann, T., Runkel, K. H.: Beschreibung der Expositionskammern und der Versuchsbedingungen bei der Belastung von Pflanzen mit Luftschadstoffen und Klimastress, Beitrag Nr. 2 zum Pilotexperiment der Münchner Arbeitsgemeinschaft Luftschadstoffe, *Forstw. Cbl.* 105 (1986), 207-218.

10. Rehfuess, K., Bosch, C.: Experimentelle Untersuchungen zur Erkrankung der Fichte (*Picea abies* L./ Karst) auf sauren Böden der Hochlagen: Arbeitshypothese und Versuchsplan, Beitrag Nr. 1 zum Pilotexperiment der Münchner Arbeitsgemeinschaft Luftschadstoffe (MAGL), *Forstw. Cbl.* 105 (1986), 201-206.

11. Rudloff, E.: Gas-liquid chromatography of terpenes - XIV. The chemical composition of the volatile oil of the leaves of *Picea rubens* sarg. and chemotaxonomic correlations with other north american spruce species, *Phytochemistry*, 5 (1966), 331-341.

12. Rudloff, E.: Chemosystematic studies in the genus *Picea* (Pinaceae) II. The leaf oil of *Picea glauca* and *P. mariana*, *Canadian Journal of Botany* (1967), 1703-1714.

13. Rudloff, E.: Seasonal Variation in the composition of the volatile oil of the leaves, buds, and twigs of white spruce (*Picea glauca*), *Canadian Journal of Botany*, 50 (1972), 1595-1603.

14. Schönwitz, R., Merk, L., Ziegeler, H.: Naturally occurring monoterpenoids in needles of *Picea abies* (L.) Karst, *Trees* 1 (1987), 88-93.

15. Sjöström, E.: Wood chemistry. Fundamentals and Applications, Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco, 1981, 91, 191.

16. Squillace, A. E.: Analyses of Monoterpenes of Conifers by Gas-Liquid Chromatography, Chapter 6, Miksche, J. P.: Modern Methods in Forest Genetics, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976, 121-155.

17. Šolar, M.: Umriranje gozdov - Slovenija ni nobena izjema, 3. zvezno posvetovanje: Možnosti razvoja ivernih in vlaknenth plošč v Jugoslaviji, Nova Gorica, 1987, 93-99.

18. Weissmann, G.: Die Zusammensetzung der Nadelöle einiger Tannenarten. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles*, XIV (1967), 4, 337-344.

19. Weissmann, G., Reck, S.: Identifizierung von Hybridlarchen mit Hilfe chemischer Merkmale, *Silvae Genetica* 36 (1987), 60-64.