

9

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Katja Kramberger

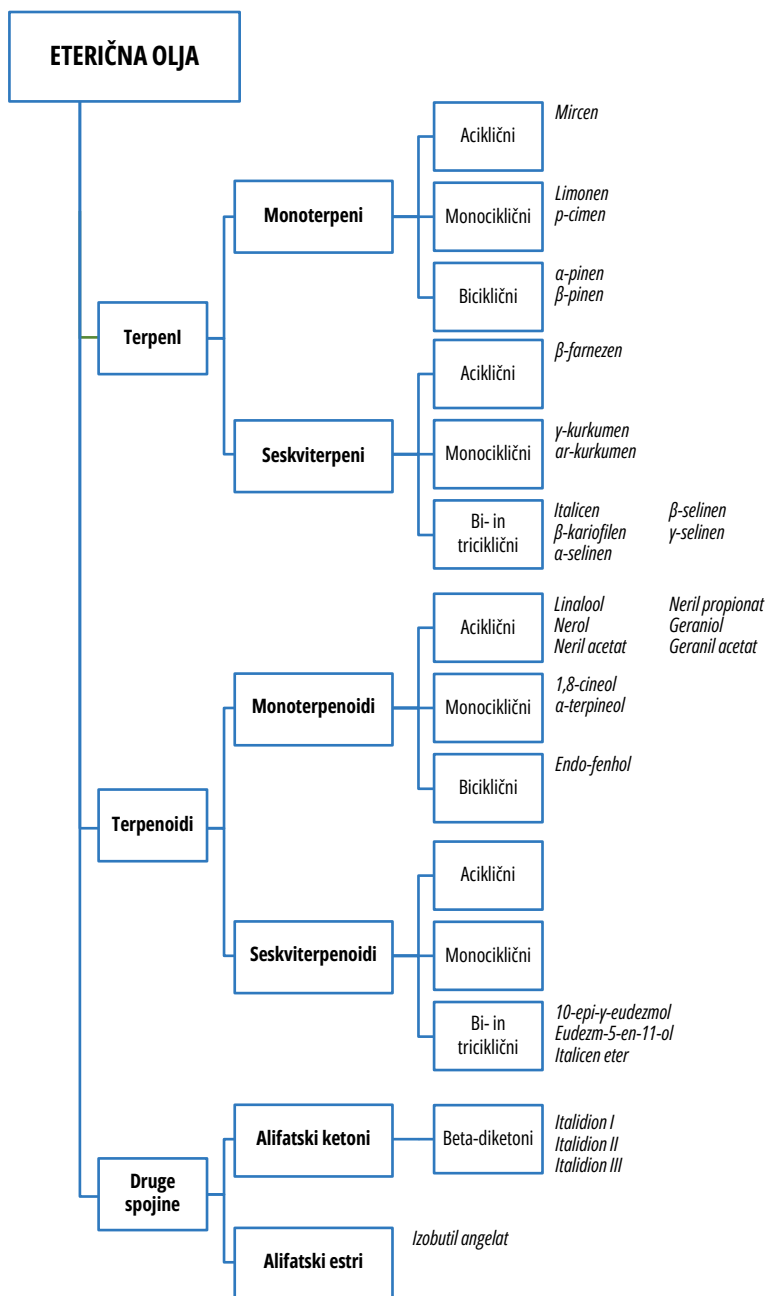
Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem



© 2025 Dunja Bandelj, Katja Kramberger in Matjaž Hladnik
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.9>

Bioaktivne spojine v eteričnem olju laškega smilja

Eterična olja so visoko koncentrirane tekočine oljnega videza, ki imajo kompleksno kemijsko sestavo. Gre za zmesi hlapnih, močno dišečih lipofilnih spojin, ki imajo nizko vrelišče, so pri sobnih pogojih v tekočem agregatnem stanju in imajo nižjo gostoto od vode. Topijo se v etanolu in lipofilnih topilih, v vodi so slabo topna, pa vendar dovolj, da dajejo blago aromo aromatičnim vodam (Dhifi idr. 2016). Glavna sestavina eteričnih olj so organske spojine iz razreda terpenov oz. terpenoidov. Gre za spojine, ki imajo v svoji kemijski strukturi eno ali več enot izoprena, 2-metil-1,3-butadiena (C_5H_8). Enote izoprena so navadno oksidirane do alkoholov, aldehydov, kislin, etrov, estrov in ketonov – v tem primeru jih imenujemo terpenoidi, če so v strukturi prisotni samo ogljikovodiki, pa jih imenujemo terpeni. Spojine so lahko ciklične ali aciklične. Najpogostejši terpeni v eteričnih oljih so mono- in seskviterpenoidi – spojine z dvema oz. s tremi enotami izoprena. Te spojine se v rastlini sintetizirajo po različnih biokemijskih poteh, se vključujejo v procese komunikacije



Slika 1 Shematska delitev kemijskih spojin, prisotnih v eteričnem olju laškega smilja

in obrambe v rastlinskih celicah ter tkivih in prispevajo k značilni aromi ter biološkemu učinku eteričnih olj. Novejše raziskave razkrivajo vlogo terpenov pri nastanku celičnih membran in njihovi stabilizaciji pri visokih temperaturah, kontroli celičnega cikla, regulaciji izražanja genov, regulaciji signalne transdukcije, sodelujejo pri transportu elektronov in fotosintezi, modifikaciji proteinov ter ščitijo pred infekcijami (Holstein in Hohl 2004; Jeong idr. 2018). Nekatere monoterpeneske in seskviterpeneske spojine delujejo insekticidno, zato so uporabne pri varstvu pred rastlinojedi in patogeni, vendar so raziskave na tem področju omejene (Cheng idr. 2007). Zaradi lipofilnosti in majhne velikosti molekul spojine zlahka prehajajo v biološke membrane in izkazujejo terapevtske učinke, zato se številne raziskave usmerjajo v raziskovanje njihovega delovanja proti okužbam, raku in vnetnim procesom (Durczyńska in Żukowska 2024; Siddiqui idr. 2024).

Glavna skupina kemijskih spojin v eteričnem olju laškega smilja so terpeni in terpenoidi – predvsem mono- in seskviterpeni oz. mono- in seskviterpenoidi, druga skupina pa so spojine iz razreda β -diketonov, imenovane tudi italidioni, saj se pojavljajo samo v vrsti *H. italicum* (Maksimovic idr. 2017; Morone-Fortunato idr. 2010). Izmed monoterpenov sta v eteričnem olju najbolj zastopana α -pinen in limonen ter od monoterpenoidov nerol, neril acetat in neril propanoat. Med seskviterpeni prevladujejo α -in β -selinen, γ -kurkumen in trans- β -kariofilen, med seskviterpenoidi pa stereoisomer rosifoliola – eudezm-5-en-11-ol (slika 1). Hlapne spojine, prisotne v rastlini oz. eteričnem olju, so odgovorne tudi za rastlinin značilen vonj. V nasprotju z značilnim vonjem sveže rastline, ki spominja na kari, eterično olje laškega smilja navadno nima takšnega vonja (Appendino idr. 2015; Charles in Simon 1991). Povezava med posameznimi spojinami in vonjem je slabo raziskana, najverjetneje pa so za grenko, lesnato noto eteričnega olja odgovorne nehlapne spojine, ki se med destilacijo razgradijo (Charles in Simon 1991). Aromo karija pripisujejo kurkumenu (Tzanova idr. 2018) in diketonu 4,6-dimetiloktan-3,5-dionu (Andreani idr. 2019), ki pa so v eteričnem olju različno zastopani.

Največ raziskav laškega smilja je opravljenih prav v zvezi s kemijsko sestavo eteričnega olja. V preglednici 1 so predstavljene sestava eteričnega olja različnih podvrst laškega smilja in raziskave, ki so jih raziskovalci izvajali v različnih državah.

Čeprav ISO-standard, ki bi reguliral kakovost eteričnega olja laškega smilja, uradno ne obstaja (Aćimović idr. 2024), se kot kriterij pogosto

Preglednica 1 Predstavitev poglavitnih biokemijskih spojin eteričnega olja po raziskavah

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Črna gora	neril acetat (28,2 %) γ-kurkumen (18,8 %) neril propionat (9,1 %) ar-kurkumen (8,3 %)	subsp. <i>italicum</i> /Črna gora	Kladar idr. (2015)
Črna gora	β-eudezmen (21,65 %) β-bisabolen (19,90 %) α-pinen (16,9 %) neril acetat (10,66 %) kopaen (4,45 %) limonen (3,24 %) β-kariofilen (11,5 %)	subsp. <i>italicum</i> /Črna gora	Oliva idr. (2020)
Hrvaška	1. Parna destilacija: α-pinen (0,09–6,6 %) limonen (0,08–2,53 %) neril acetat (6,38–12,26 %) β-selinen (1,85–4,46 %) ar-kurkumen (0–6,92 %) γ-kurkumen (0–9,66 %) α-selinen (3,45–11,23 %) italidion I (5,73–13,30 %) italidion II (3,17–12,07 %) italidion III (2,14–7,21 %) 2. Vodna destilacija: α-pinen (1,75–5,06 %) limonen (0,82–3,31 %) neril acetat (5,45–10,84 %) β-selinen (0,26–3,09 %) ar-kurkumen (0–6,92 %) γ-kurkumen/ α-selinen (0–3,58 %) italidion I (2,03–5,67 %) italidion II (3,16–5,55 %) italidion III (4,48–5,60 %)	subsp. <i>italicum</i> /Hrvaška	Jažo idr. (2022)
Francija (Korzika)	1. Genotip 1 (Bonifaccio): neril acetat (55,7 %) neril propanoat (12,7 %) nerol (4,4 %) ar-kurkumen (3,9 %) γ-kurkumen (2,5 %) 2. Genotip 2 (Porto Vecchio): neril acetat (41,5 %) nerol (13,1 %) γ-kurkumen (8,2 %) neril propanoat (5,6 %) rosifoliol (3,8 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */Korzika	Perrini idr. (2009)

Nadaljevanje na naslednji strani

Opomba *Po novejši klasifikaciji podvrsta subsp. *tyrrhenicum*.

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Srbija	neril acetat (5,5 %) α-pinen (11,8 %) italicen (4,2 %) β-kariofilen (6,7 %) γ-kurkumen (13,6 %) ar-kurkumen (5 %) β-selenin (12,2 %) α-selenin (4,3 %) limonen (2,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Aćimović idr. (2021)
Srbija	α-pinen (29,77 %) limonen (2,77 %) α-kubeben (2,76 %) himahelen (5,40 %) trans-kariofilen (7,43 %) β-pačulen (3,14 %) α-murolen (21,50 %) neril acetat (3,3 %) α-kurkumen (4 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Nebriđić idr. (2023)
Srbija	γ-kurkumen (16,3–20,5 %) β-selenin (6,8–9,1 %) trans-kariofilen (6,5–7,1 %) neril acetat (5,9–8,1 %) ar-kurkumen (5,6–8,4 %) α-pinene (4,6–6,8 %) italicen (4,6–5,1 %) limonen (1,4–2,2 %)	subsp. <i>italicum</i> /ni določen	Aćimović idr. (2024)
Bosna in Hercegovina	α-pinen (15,96–17,98 %) limonen (2,23–3,26 %) neril acetat (7,55–10,68 %) italicen (2,71–3,62 %) β-kariofilen (4,96–5,44 %) β-kurkumen (14,39–20,62 %) β-selenin (8,51–10,24 %) α-selenin (4,10–5,73 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Džananović Jaganjac idr. (2021)
Bosna in Hercegovina	α-pinen (15,7 %) γ-kurkumen (12,8 %) 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-dion (8,7 %) neril acetat (6,9 %) limonen (6,4 %) β-selenin (5,3 %) trans-kariofilen (3,9 %) α-selenin (3,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Talić idr. (2019)

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Bolgarija	1. Francoski genotip: neril acetat (33,8 %) γ-kurkumen (8,8 %) rosifoliol (5,46 %) geranil propionat (4,98 %) ar-kurkumen (4,31 %) italidion I (3,56 %) α-eudezmol (3,19 %) limonen (3,02 %) α-pinen (1,98 %) 2. Bosanski genotip: α-pinen (20,84 %) γ-kurkumen (16,53 %) β-selinen (5,59 %) ar-kurkumen (4,39 %) trans-kariofilen (4,35 %) β-diketon italidion I (4,32 %) α-selinen (4,28 %) neril acetat (3,81 %) limonen (2,02 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */ Francija	Mollova idr. (2020)
Bolgarija	α-pinen (5,59–19,52 %) limonen (1,72–4,45 %) neril acetat (12,01–20,60 %) α-kopaen (5,42–12,83 %) citronelol izobutanoat (12,99–25,76 %) eudezm-5-en-11-ol (1,92– 8,14 %)	subsp. <i>italicum</i> / Korzika	Tzanova idr. (2018)
Italija (Sardinija)	1. Obalni genotipi: neril acetat (33,1– 83,4 %) limonen (0–15,7 %) eudezm-7-(11)-en-4-ol (0–32,1 %) γ-kurkumen (0–4,4 %) neril propionate (0–14,1 %) 2. Gorski genotipi: neril acetat (1,1–56,9 %) limonen (0–8,6 %) eudezm-7-(11)-en-4-ol 0–(46,1 %) γ-kurkumen (1,4–10,6 %) neril propionat (0–12,5 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */ Sardinija	Melito idr. (2016)

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Italija (Sardinija)	γ -kurkumen (11,08–28,94 %) linalol (11–14 %) eudezm-5-en-11-ol (7–9,8 %) limonen (1,1–7,3 %) 4,6-dimetiloktan-3,5-dion (0,9–1,6 %) neril-acetat (0–33,6 %) α -pinen (0,25–0,42 %) α -cedren (0,14–4,17 %)	subsp. <i>tyrrhenicum</i> / Sardinija	Juliano idr. (2019)
Italija (Elba)	limonen (1,2–7,7 %) nerol (3–12,8 %) neril acetat (6,7–45,9 %) neril propanoat (2,7–7,7 %) γ -kurkumen (1,7–5,9 %) eudezm-5-en-11-ol (1,8–17,2 %) α -pinen (1–32,9 %)	subsp. <i>italicum</i> /Elba	Leonardi idr. (2013)
Italija (Toskana) Francija (Korzika)	1. Toskanski vzorci: α -pinen (4,1–53,5 %) limonen (2,0–10,7 %) neril acetat (0,3–22 %) neril propionat (0,3–5,8 %) β -kariofilen (5,7–11 %) γ -kurkumen (1,4–4,9 %) β -selinen (7,2–12,5 %) eudezm-5-en-11-ol (0–6,6 %) 2. Korziški vzorci: α -pinen (0,8–1,4 %) limonen (2,6–4,7 %) neril acetat (33,7–38,9 %) neril propionat (3,4–5,9 %) γ -kurkumen (3,9–13,6 %) eudezm-5-en-11-ol (2,8–6,1 %)	subsp. <i>italicum</i> / Toskana, Korzika	Bianchini idr. (2003)
Francija (Korzika)	limonen (5,1–7,3 %), neril acetat (34,5–42,5 %) neril propionat (4,8–6,7 %) eudezm-5-en-11-ol (0,8–5,1 %) ar-kurkumen (2,3–4,6 %) γ -kurkumen (5,1–12,9 %) 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5 dion (3,7–4,5 %) nerol (2,6–3,4 %) italicen (2,4–3,4 %) α -pinen (0,7–2,9 %)	subsp. <i>italicum</i> / Korzika	Bianchini idr. (2001)

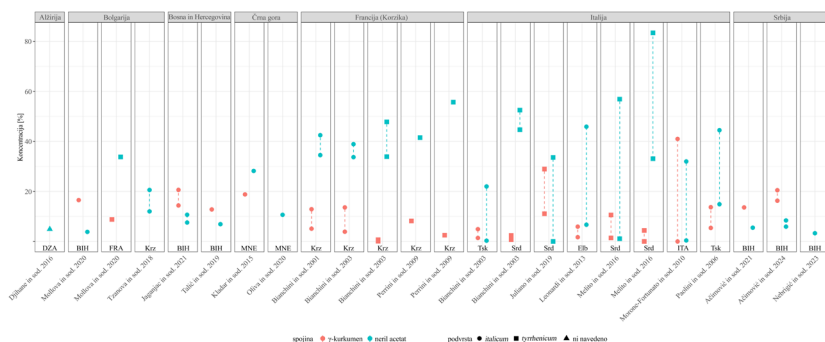
Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Italija (Toskana, arhipelag)	nerol (1,4–7,6 %), neril acetat (14,9–44,5 %), neril propionat (3–16,4 %), 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-dion (0,3–19,8 %), 2,4,6,9-tetrametildec-8-en-3,5- dion (0,6–6,2 %), 2,4,6,9-tetrametildec-8-en-3,5- dion (0,4–8 %), eudezm-5-en-11-ol (1,1– 7,6 %), γ -kurkumen (5,4–13,7 %), α -pinen (0,1–8,6 %), limonen (0,2–10,4 %),	subsp. <i>italicum</i> / Toskana, arhipelag	Paolini idr. (2006)
Italija	Različni genotipi: neril acetat (0,4–32 %), β -kariofilen (0–18,6 %), γ -kurkumen (0–41 %), β -selinen (2,3–28 %), 4, 6, 9-trimetildec-8-en-3,5- dion (5,5–11,0 %), 5, 7, 10-trimetilundec-9-en-4, 6-dion (2,6–6,9 %), 4, 6-dimetiloktan-3, 5-dion (0,2–2,4 %) α -pinen (0–3,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Italija	Morone-Fortunato idr. (2010)
Alžirija	α -cedren (13,61 %) α -kurkumen (11,41 %) geranil acetat (10,05 %) limonen (6,07 %) nerol (5,04 %) neril acetat (4,91 %) α -pinen (3,78 %)	ni določena/Alžirija	Djihane idr. (2017)

omenja vsebnost monoterpena neril acetata, ki je pomembna sestavina kozmetičnih produktov. Zaželeno je, da je le-ta zastopan z več kot 30 % (Tzanova idr. 2018). Nerol in njegovi estri so značilni za genotipe laškega smilja podvrste *microphyllum* (kasneje klasificirana kot podvrsta *tyrrhenicum*), kjer dosežejo 40–50 % vseh komponent v eteričnem olju (Morone-Fortunato idr. 2010). Visoka vsebnost neril acetata je značilna za eterična olja s Korzike in Sardinije. V Bolgariji, kjer ravno tako gojijo korziški smilj, so detektirali med 12,02 do 20,60 % neril aceteta, zato Milena Tzanova idr. (2018) menijo, da je vsebnost te spojine povezana s talnimi in podnebnimi dejavniki ter fenološko fazo. V Sloveniji je korziški smilj

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja



Slika 2 Vsebnost (%) spojin neril acetata in γ -kurkumena glede na geografsko območje in podvrsto laškega smilja po posameznih raziskavah. Oznake območij vzorčenja laškega smilja: DZA (Alžirija), BIH (Bosna in Hercegovina), FRA (Francija), Krz (Korzika), MNE (Črna gora), Tsk (Toskana), Elb (Elba), Srd (Sardinija), ITA (Italija)

v kolekcijskem nasadu UP FAMNIT dosegel zavidljivo visoko vsebnost nerila acetata (40–70 %), kar nakazuje vpliv genotipa na sintezo te spojine. Pregled vsebnosti neril acetata v eteričnem olju glede na geografsko lokacijo in podvrsto laškega smilja je predstavljen na sliki 2.

Zelo zaželeni spojin so tudi β -diketon, ker imajo pomembno antioksidativno sposobnost in so odgovorni za protivnetno delovanje. Višjo vsebnost β -diketonov (italidionov) so Irene Morone-Fortunato idr. (2010) odkrili pri podvrsti *italicum* in menijo, da imajo genotipi z višjo koncentracijo seskviterpenov običajno nižjo vsebnost β -diketonov.

Irene Morone-Fortunato idr. (2010) poudarjajo, da raznolikost kemijskih profilov eteričnega olja usmerja nadaljno uporabo. Nerol in njegovi derivati se, denimo, uporabljajo v kozmetiki zaradi sladkega, rožnatega vonja. Med njimi je pomemben neril acetat, ki ga zaznamuje značilen vonj, ki spominja na pomarančo in vrtnico. Pinen ima svež vonj iglavcev, limonen diši po limoni. Kurkumen se zaradi značilnega zeliščnega vonja, ki spominja na kari, uporablja v živilski industriji (Tzanova idr. 2018). Alfa in β -selinen, prav tako seskviterpena, sta uporabna kot feromona zaradi sladko-lesnega in zeliščnega vonja.

Kemijska sestava eteričnih olj se lahko zelo spreminja glede na vrsto rastline, rastlinski organ, geografsko lego, podnebje, čas nabiranja. Ti dejavniki vplivajo na sestavo eteričnega olja, njegovo aromo in druge lastnosti (Siddiqui idr. 2024). V nadaljevanju bomo podrobneje opisali vpliv

omenjenih dejavnikov na biokemijsko sestavo in kakovost eteričnega olja laškega smilja.

Dejavniki, ki vplivajo na biokemijsko sestavo in kakovost eteričnega olja

Na kemijsko sestavo ali kemotip in na vsebnost posameznih biološko aktivnih spojin eteričnega olja vplivajo genetska osnova rastlin, različni okoljski dejavniki (tla, nadmorska višina, podnebne razmere, padavine) ter načini pridelave in predelave rastlinskega materiala (Maksimovic idr. 2017). Na sestavo eteričnega olja laškega smilja pa poleg genetske osnove ter okoljskih dejavnikov vplivajo tudi termin in način žetve, priprava rastlinskega materiala na destilacijo, način destilacije in pogoji med njo. Ti dejavniki vplivajo tudi na aromo in biološke učinke eteričnega olja (Siddiqui idr. 2024).

Genetika

Sara Melito idr. (2013) poročajo o vplivu genetike na raznolikost kemotipov, ki so jo odkrili pri preučevanju 50 populacij na Sardiniji s primerjavo presnovkov v eteričnem olju in z analizo označevalcev AFLP. Pri devetih spojinah (kariofilen, eudezm-5-en-11-ol, neril propionat, nerolidol, neril acetat, cis- β -gvajen, trans- β -gvajen, α -kadinen, γ -terpinen) so odkrili korelacijo z genetsko skupino. Povezavo med genetsko različnimi rastlinami (analiza z označevalci AFLP) ter kemotipom so raziskovali tudi Irene Morone-Fortunato idr. (2010) v Italiji in zaključili, da obstajajo najmanj tri različne skupine:

1. genotipi, bogati z neroli in njihovimi estri,
2. genotipi, kjer prevladujeta β - in α -selinen,
3. genotipi s prevlado γ -kurkumena.

Poudarjajo tudi, da ločevanje in razmejitev podvrst laškega smilja zgolj na osnovi kemijske sestave eteričnega olja ni primerna, saj se določene kemijske spojine pojavljajo v višjih koncentracijah v različnih podvrstah. Npr., nerol in neril acetat se pojavljata v subsp. *italicum* in subsp. *tyrrhenicum*.

Nadmorska višina, podnebne razmere in tla

Raziskava laškega smilja podvrste *microphyllum* (po novejši klasifikaciji *thyrrenicum*) na Sardiniji (Melito idr., 2016) je pokazala statistično značilno razliko v sestavi hlapnih spojin eteričnega olja glede na gorski ali obalni habitat, vendar avtorji poudarjajo, da za kemijsko sestavo

eteričnega olja ni odgovorno zgolj rastišče. Ugotovili so tudi, da je nerolidol pozitivno povezan s povprečno zimsko temperaturo, medtem ko na vsebnost italicena, bergamotena, nerola in kurkumena pozitivno vplivajo spomladanske in poletne padavine. Primerjava biokemijske sestave eteričnega olja glede na nadmorsko višino je pokazala, da gre v primeru italicena, γ -kurkumena, ar-kurkumena, nerola in geraniola za pozitivno korelacijo, medtem ko je bila pri limonenu, kariofilenu, nerolidolu in cis- β -gvajenu opažena negativna korelacija z nadmorsko višino. Sara Melito idr. (2016) menijo, da podnebje vpliva predvsem na seskviterpene in da je njihova koncentracija manj odvisna od temperature. Sanja Čavar Željko idr. (2015) pa so pri preučevanju hrvaškega laškega smilja ugotovile, da imajo več oksigeniranih spojin rastline višjih nadmorskih višin z močnejšim sončnim sevanjem, medtem ko je skupina monoterpenov pokazala ravno obraten trend.

Vpliv podnebja so potrdili tudi Milica Aćimović idr. (2024) v Srbiji. Ugotovili so, da so v eteričnem olju α -pinen, neril acetat in italicen pozitivno povezani s temperaturo ter negativno s padavinami, enako tudi β -diketoni in skupni italidioni. Trans-kariofilen, γ -kurkumen in ar-kurkumen so bili negativno povezani s temperaturo, rahlo pozitivno korelacijo pa so zaznali s padavinami. Po njihovem mnenju korziški tip eteričnega olja, bogat z neril acetatom, prevladuje v območjih s toplimi in deževnimi zimami ter z vročimi in sušnimi poletji (sredozemsko podnebje), medtem ko se balkanski tip, bogat z γ - in ar-kurkumenom, pojavlja v območjih z vročimi poletji, manj deževnimi jesenmi ter mrzlimi zimami (celinsko podnebje). Ange Bianchini idr. (2009) so preučevali povezave med biokemijsko sestavo eteričnega olja in karakteristikami tal (anorganska sestava, tekstura, kislost) ter ugotovili korelacijo s teksturo in kislostjo tal.

Geografski izvor

Povzetek razlikovanja eteričnih olj laškega smilja glede na geografski izvor so nazorno povzeli Tonka Ninčević idr. (2019). V korziškem eteričnem olju prevladujejo oksigenirane spojine (neril acetat, neril propanoat, alifatski ketoni in β -diketoni) in nizke vsebnosti ogljikovodikov (limonen, γ -kurkumen, α -kurkumen). V eteričnih oljih iz držav bivše Jugoslavije prevladujejo α -pinen (22 %), γ -kurkumen (10 %), β -selinen (6 %), neril acetat (6 %), β -kariofilen (5 %), na obali Jadranskega morja pa sta najpogostejši komponenti α -pinen (25-30%) in neril acetat (4-14 %). V grških eteričnih oljih je najpogostejša spojina geraniol (36 %), sledita geranil acetat (15 %) in nerolidol (12 %), toskanska eterična olja pa so

bogata z α -pinenom (33-39 %), neril acetatom (10-22 %), seskviterpenski ogljikovodiki (23-39 %) ter z β -selinenom, α -selinenom in β -kariofilenom. Milica Aćimović idr. (2024) poročajo še o γ -kurkumen kemotipu, v katerem je ta spojina zastopana v več kot 15 % in se kot dominantna pojavlja v eteričnih oljih Hrvaške, Srbije, Bosne in Hercegovine, Črne gore, Bolgarije ter tudi Italije, Francije, Portugalske, ZDA. Pregled vsebnosti γ -kurkumena v eteričnem olju glede na geografsko lokacijo in podvrsto laškega smilja je predstavljen na sliki 2.

Čas in način žetve

Ange Bianchini idr. (2001) so ugotovili, da eterično olje, pridobljeno iz prvih vegetativnih poganjkov v začetku vegetacije, vsebuje višje koncentracije treh neterpenskih ketonov (pentan-3-on, 2-metilpentan-3-on, 4-metilheksan-3-on) in dveh β -diketonov (3,5-dimetilheptan-2,4-dion, 4,6-dimetiloktan-3,5-dion) ter nižje koncentracije neril acetata, neril propanoata, γ -kurkumena, 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-diona. Sestavo eteričnega olja v odvisnosti od časa žetve so raziskovali tudi v Bosni in Hercegovini, kjer so prvo žetev opravili v februarju, nato v maju, juniju, avgustu in oktobru. Stanislava Talić idr. (2019) so ugotovili, da se po cvetenju značilno zniža koncentracija limonena, α -, β -, in γ -selinena, γ -kurkumena in neril acetata, poveča pa se vsebnost estrov. Vsebnost β -diketonov je bila najvišja februarja, ko je dosegala celo 31,9 %, nato pa se je zniževala do 11 % v mesecu oktobru. Ana Matin idr. (2021) so na Hrvaškem preučevali pridelke in kemijsko sestavo eteričnega olja julijske ter oktobrske žetve. Ugotovili so večji izplen eteričnega olja v poletni žetvi, in sicer $0,19 \% \pm 0,01$, v jesenski pa $0,16 \% \pm 0,04$. Pri primerjavi obdobja žetve so v jeseni pridobljenem eteričnem olju odkrili višjo koncentracijo α -pinena, linalola in nerola ter italidionov, večjo vsebnost neril acetata in γ -kurkumena pa so detektirali pri poletni žetvi. Večina raziskav kaže, da v zgodnjih stadijih razvoja rastline prevladujejo monoterpeni, medtem ko so seskviterpeni prisotni med in po cvetenju. Slednji so tudi manj občutljivi na temperaturne spremembe, zato so v poletnih mesecih prisotni v višjih koncentracijah (Jažo idr. 2022).

Na kemijsko sestavo eteričnega olja vpliva tudi način žetve (ročno ali strojno) (Giannakoula idr. 2024). V eteričnem olju strojno obranega laškega smilja so ugotovili višjo vsebnost γ -kurkumena, pri ročno obranem pa višjo vsebnost α -pinena in neril acetata. Pri strojnem obiranju se najverjetneje zaradi večjih poškodb rastlinskih tkiv tvorijo škodljive reaktivne kisikove spojine, ki povzročajo peroksidacijo lipidnih membran v

rastlinskih celicah. Na splošno imajo boljše kakovostne lastnosti eterična olja laškega smilja, pridobljena z ročnim nabiranjem.

Sušenje

Tudi proces sušenja požetega laškega smilja lahko vpliva na sestavo eteričnega olja ter posledično na antioksidativno in encimsko delovanje. Vladislava Nebrigić idr. (2023) so preučevali sestavine v eteričnem olju, pridobljenem iz sveže rastlinske mase, iz naravno sušenega in liofiliziranega laškega smilja. Raziskava je pokazala, da sušenje zniža koncentracije monoterpenov (npr. α -pinen: 29,77 % svež/2,43 % sušen/10,46 % liofiliziran) in poviša vsebnost seskviterpenov v eteričnem olju, hkrati se s sušenjem zniža tudi antioksidativna aktivnost.

Način in trajanje destilacije

Sestava eteričnega olja je odvisna tudi od trajanja in pogojev destilacije rastlinskega materiala. Petrović idr. (2024) so raziskovali kemijsko sestavo eteričnega olja v odvisnosti od dolžine industrijske parne destilacije hrvaškega laškega smilja v 15-minutnih intervalih. Kemijska analiza je bila osredotočena na določene hlapne spojine – monoterpeni in seskviterpeni. Ugotovili so, da se vsebnost bolj hlapnih, monoterpenov in seskviterpenov. Pri α -pinenu se je vsebnost v intervalu 30 minut od začetne destilacije do 120 minut znižala s 25,90 na 6,61 %, limonena pa s prvotnih 4,55 na 1,52 %. Tudi vsebnost neril acetata se je z dolžino destilacije zniževala, s prvotnih 7,33 na 5,69 %. Obraten trend je bil opažen pri seskviterpenih in seskviterpenskih oksidih, ki veljajo za manj hlapne spojine; vsebnost γ -kurkumena se je, denimo, s prvotnih 14,55 zvišala na 18,81 %. Rezultati raziskave kažejo na pomembnost dolžine destilacije. Pričakovati je, da se bo vsebnost monoterpenov in angelata med destilacijo zniževala, vsebnost seskviterpenov in seskviterpenskih oksidov pa proti koncu destilacije zviševala. Raziskovalci menijo, da je s krajšim časom destilacije možno pridobiti eterično olje, ki je bogatejše z monoterpeni in zato primernejše za parfumsko ter kozmetično industrijo.

Jažo idr. (2022) so primerjali tri metode destilacije: vodno, parno in destilacijo, podprto z mikrovalovi. Za slednjo je značilno, da mikrovalovna energija med hidrodestilacijo znatno skrajša čas ekstrakcije in zniža stroške energije. Optimiziranje moči in trajanja izpostavljenosti mikrovalovom naj bi izboljšalo kakovost eteričnega olja ter izkoristek. Raziskovalci poročajo, da je s parno destilacijo moč pridobiti eterična olja,

bogata z necikličnimi spojinami z najvišjimi koncentracijami ketonov. Z destilacijo, podprto z mikrovalovi, pa se pridobi eterična olja s spojinami s kompleksno strukturo. Vodna destilacija daje vmesne rezultate glede funkcionalnih skupin in strukturne kompleksnosti izoliranih spojin, kar je najverjetneje posledica transformiranja spojin. Razlike so bile tudi v izkoristku; z vodno paro je bil izplen najvišji (0,31 %), sledila je destilacija, podprta z mikrovalovi (0,15 %), in nazadnje parna destilacija (0,12 %). Te raziskave dokazujejo, kako pomembno vlogo ima izbira metode ekstrakcije v praksi.

Bioaktivne spojine v hidrolatu laškega smilja

Hidrolati so stranski produkti destilacije in so posledično sestavljeni pretežno iz vode, ki je kondenzirala med procesom destilacije, v kateri pa so tudi raztopljene majhne količine eteričnega olja (navadno manj kot 1 g/L), odtod tudi ime aromatična voda. V nasprotju z eteričnimi olji gre za manj koncentrirane izvlečke z blago aromo, ki ob stiku s kožo ne povzročajo kontaktnega dermatitisa ali glavobola ob vdihovanju, zato se jih kot take lahko uporablja neposredno na koži ali tudi zaužije. Kljub široki uporabi pa njihova kemijska sestava in lastnosti niso dobro raziskane (Jakubczyk idr. 2021). V splošnem je v hidrolatih pričakovati polarne, oksigenirane, hidrofilne, aromatične sestavine eteričnega olja, ki z vodo tvorijo vodikove vezi. Hidrolati, pridobljeni na začetku in v zadnjem delu destilacije, se razlikujejo po vonju in kemični sestavi. To je posledica vsebnosti različnih terpenoidov z nizkim in visokim vreliščem. Aromatski profil hidrolatov se lahko bistveno razlikuje od profila eteričnega olja, ker v njih ni prisotnih veliko hidrofobnih, v vodi netopnih izoprenoidnih spojin (Rao 2013). V znanstveni skupnosti so hidrolati opredeljeni kot odpadni produkti parne destilacije. V zadnjem času so jih številni raziskovalci ponovno preučili in analizirali njihovo biološko delovanje, predvsem protimikrobno in protiglivično sposobnost (D'Amato idr. 2018).

V primerjavi z eteričnim oljem so objavljene kemijske karakterizacije in raziskave hidrolatov laškega smilja izjemno redke. Ferraz idr. (2022) so v hidrolatu laškega smilja s Portugalske identificirali sedem bioaktivnih spojin iz razreda monoterpenov, in sicer: α -terpineol, 1,8-cineol, endo-borneol, terpinen-4-ol, δ -terpineol, α -terpineol in karvakrol. V Sloveniji so bili analizirani vzorci hidrolata eno- in dvoletnih rastlin laškega smilja, ki jih združujejo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, ter treh hrvaških populacij (Kunc idr. 2022). Prevladujoče kemijske spojine v slovenskih vzorcih so bile pentan-3-on, 3-oktanon,

2,2-dimetilnon-5-en-3-on ter α -terpineol, v hrvaških pa 2,6-oktadien-1-ol, 2,2-dimetilnon-5-en-3-on in α -terpineol. Zastopanost posameznih spojin se je prav tako nekoliko razlikovala med vzorci eno- in dvoletnih rastlin. Pri enoletnih rastlinah so bile najbolj zastopane spojine: 2,2-dimetilnon-5-en-3-on (13,1 %), 3-oktanon (12,3 %), pentan-3-on (10,1 %), α -terpineol (9,1 %) in 3-ciklopenten-1-etanol (8,6 %). V obeh analiziranih vzorcih so se pojavljale štiri prevladujoče bioaktivne spojine, ki so bile pri enoletnih rastlinah v višjih koncentracijah. Najbolj zastopane spojine v dvoletnih rastlinah so bile 2,2-dimetilnon-5-en-3-on (8,9 %), 3-oktanon (8,0 %), α -terpineol (7,7 %), 2,6-oktadien-1-ol (7,4 %) in pentan-3-on (7,43 %). Vseh identificiranih spojin je bilo skupno 19 pri enoletnih in 21 pri dvoletnih rastlinah. V Turčiji so Erbaş idr. (2023) primerjali hidrolate ekotipov laškega smilja iz Bosne in Hercegovine ter s Korzike. V bosanskem hidrolatu je bila najbolj zastopana spojina β -himahalen (20,9 %), sledila sta ji ar-kurkumen (13,6 %) in neril acetat (13,0 %). V korziškem hidrolatu pa prevladuje nerol (23,7 %), sledita mu β -fenhil alkohol (18,4 %) in neril acetat (10,8 %). Milica Aćimović idr. (2024) pa v hidrolatih laškega smilja, pridelanega v Srbiji, poročajo o višji vsebnosti skupnih β -diketonov – italidiona I (vsota vseh izomer od 18,7 do 27,8 %) in 4,6-dimetiloktan-3,5-diona (vsota vseh izomer med 8,6 in 13,9 %). Skupno so v hidrolatu potrdili 20 β -diketonov in njihovih izomerov (med 29,7 in 46,4 %). Med njimi je bilo 15 italidionov (med 19,2 % in 29,1 %). Ugotovili so tudi, da so tako skupni β -diketoni kot tudi skupni italidioni močno negativno povezani s temperaturami ter pozitivno povezani s padavinami, kar je ravno nasprotno ugotovitvam pri eteričnem olju. β -diketoni so dragocene spojine z dobrim antioksidativnim potencialom, delujejo proti raku in mikroorganizmom, zato je njihova uporaba pri zdravljenju precej razširjena. Te spojine so prisotne v številnih rastlinah, npr. v ingverju, kurkumi, šentjanževki. Italidioni, skupina izomerov β -diketonov, pa so bili odkriti samo pri laškemu smilju. Te spojine so dobro topne v vodi, zato je pričakovati njihove višje koncentracije v hidrolatu (Aćimović idr. 2024). Avtorji poudarjajo, da raznolikost v vsebnosti biološko aktivnih molekul italidionov omogoča široko in različno uporabo hidrolatov v kozmetičnih formulacijah ter pri zdravljenju vnetij. Milica Aćimović idr. (2024) so mnenja, da na kemijsko sestavo hidrolata močno vpliva sestava eteričnega olja. Na sestavo hidrolata med drugim vpliva tudi način priprave vzorca za analizo (npr. neposredna analiza ali predhodna ekstrakcija z organskimi topili). Nina Kunc idr. (2022) so na tak način v vzorcih hidrolata slovenskega laškega smilja določili

še prisotnost 1,8-cineola (31,5–55,5 %), α -terpineola (12,9–16,6 %), terpinen-4-ol (13,6–15,1 %), linalool (8,4–11,2 %), eugenol (2,6–4,7 %) in 4,6,9-trimetil-8-decen-3,5-dion (2,7–4,4 %).

Viri

- Ćimović, M., J. Ljujić, J. Vulić idr. 2021. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil from Serbia: Chemical Composition, Classification and Biological Activity-May It Be a Suitable New Crop for Serbia?« *Agronomy* 11 (7): 1282.
- Ćimović, M., J. Stanković Jeremić, M. Todosijević idr. 2024 »The Influence of Weather Conditions on the Immortelle Volatile Constituents from Essential Oil and Hydrosol with a Focus on Italicones and Its Molecular Docking Anti-Inflammatory Potential.« *Natural Product Communications* 19 (9). <https://doi.org/10.1177/1934578X24128473>.
- Andreani, S., A. Uehara, P. Blagojević, N. Radulović, A. Muselli in N. Baldovini. 2019. »Key Odorants of Industrially-Produced *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* Essential Oil.« *Industrial Crops and Products* 132: 275–282.
- Appendino, G., O. Tagliatella-Scafati, A. Minassi, F. Pollastro, M. Ballero in A. Maxia. 2015. »*Helichrysum italicum*: The Sleeping Giant of Mediterranean Herbal Medicine.« *HerbalGram* 105:36–47.
- Bianchini, A., P. Tomi, J. Costa in A.-F. Bernardini. 2001. »Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. subsp. *italicum* Essential Oils from Corsica (France).« *Flavour and Fragrance Journal* 16 (1): 30–34.
- Bianchini, A., F. Santoni, J. Paolini, A.-F. Bernardini, D. Mouillot in J. Costa. 2009. »Partitioning the Relative Contributions of Inorganic Plant Composition and Soil Characteristics to the Quality of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don fil. Essential Oil. « *Chemistry and Biodiversity* 6 (7): 1014–1033.
- Bianchini, A., P. Tomi, A.-F. Bernardini idr. 2003. »A Comparative Study of Volatile Constituents of Two *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. Don Fil Subspecies Growing in Corsica (France), Tuscany and Sardinia (Italy).« *Flavour and Fragrance Journal* 18 (6): 487–491.
- Charles, D. J., in J. E. Simon. 1991. »Volatile Compounds of the Curry Plant.« *HortScience* 26 (1): 69–70.
- Cheng, A.-X., Y.-G. Lou, Y.-B. Mao, S. Lu, L.-J. Wang in X.-Y. Chen. 2007. »Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions.« *Journal of Integrative Plant Biology* 49 (2): 179–186.
- Čavar Željko, S., Šolić M. E. in M. Maksimović. 2015 »Volatiles of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from Croatia.« *Natural Product Research* 29 (19): 1874–1877.

- D'Amato, S., A. Serio, C. Chaves López in A Paparella. 2018. »Hydrosols: Biological Activity and Potential as Antimicrobials for Food Applications.« *Food Control* 86:126–137.
- Dhifi, W., S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul in W. Mnif. 2016. »Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review.« *Medicines* 3 (4): 25.
- Djihane, B., N. Wafa, S. Elkhamsa, H. J. Pedro, A. E. Maria in Z. Mohamed Mihoub. 2017. »Chemical Constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil and Their Antimicrobial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Filamentous Fungi and *Candida albicans*.« *Saudi Pharmaceutical Journal* 25 (5): 780–787.
- Durczyńska, Z., in G. Żukowska. 2024. »Properties and Applications of Essential Oils: A Review.« *Journal of Ecological Engineering* 25 (2): 333–340.
- Džananović Jaganjac, J., Z. Ademović, B. Šarić Kundalić in E. Horozić. 2021. »Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Essential Oil from Bosnia and Herzegovina.« *Technologica Acta* 14 (1): 21–26.
- Erbaş, S., M. Mutlucan in Ü. Erdoğan. 2023. »The Scent Compounds of Immortelle Ecotypes (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.) Grown in Türkiye and Its New Products (Absolute and Concrete).« *South African Journal of Botany* 158:301–311.
- Ferraz, C. A., A. C. A. Sousa, D. Caramelo, F. Delgado, A. P de Oliveira in M. Ramiro Pastorinho. 2022. »Chemical Profile and Eco-Safety Evaluation of Essential Oils and Hydrolates from *Cistus ladanifer*, *Helichrysum italicum*, *Ocimum basilicum* and *Thymbra capitata*.« *Industrial Crops and Products* 175:114232.
- Giannakoula, A. E., C. Dimitriadis in V. Garitsis. 2024. »The Impact of Harvesting Method and Harvesting Month on the Quality of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Essential Oils and Oxidative Stress.« *International Journal of Environmental Studies* 81 (5): 2107–2116.
- Holstein, S. A., in R. J. Hohl. 2004. »Isoprenoids: Remarkable Diversity of Form and Function.« *Lipids* 39 (4): 293–309.
- Jakubczyk, K., A. Tuchowska in K. Janda-Milczarek. 2021. »Plant hydrolates –Antioxidant Properties, Chemical Composition and Potential Applications.« *Biomedicine and Pharmacotherapy* 142:112033.
- Jažo, Z., M. Glumac, I. Drventić idr. 2022. »The Essential Oil Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Influence of Steam, Hydro and Microwave-Assisted Distillation.« *Separations* 9 (10): 280.
- Jeong, A., K. F. Suazo, W. G. Wood, M. D. Distefano in L. Li. 2018. »Isoprenoids and Protein Prenylation: Implications in the Pathogenesis and

- Therapeutic Intervention of Alzheimer's disease.« *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 53 (3): 279–310.
- Juliano, C., M. Marchetti, P. Campagna in M. Usai. 2019. »Antimicrobial Activity and Chemical Composition of from *Helichrysum microphyllum* Cambess. subsp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo & Giusso collected in South-West Sardinia.« *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 (5): 897–905.
- Kladar, N. V., G. T. Anačkov, M. M. Rat idr. 2015. »Biochemical Characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: Phytochemical Screening, Chemotaxonomy, and Antioxidant Properties.« *Chemistry and Biodiversity* 12 (3): 419–431.
- Kunc, N., A. Frlan, D. Baričević, N. Kočevar Glavač in M. Kokalj Ladan. 2022. »Essential Oil and Hydrosol Composition of Immortelle (*Helichrysum italicum*).« *Plants* 11 (19): 2573.
- Leonardi, M., K. E. Ambryszewska, B. Melai idr. 2013. »Essential-oil Composition of *Helichrysum italicum* (ROTH) G. Don ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy).« *Chemistry and Biodiversity* 10 (3): 343–355.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of Prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138:9–38.
- Matin, A., I. Pavkov, M. Grubor idr. 2021. »Influence of Harvest Time, Method of Preparation and Method of Distillation on the Qualitative Properties of Organically Grown and Wild *Helichrysum italicum* Immortelle Essential Oil.« *Separations* 8 (10): 167.
- Melito, S., A. Sias, G. L. Petretto, M. Chessa, G. Pintore in A. Porceddu. 2013. »Genetic and Metabolite Diversity of Sardinian Populations of *Helichrysum italicum*.« *PLoS One* 8 (11): e79043.
- Melito, S., G. L. Petretto, J. Podani idr. 2016. »Altitude and Climate Influence *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* Essential Oils Composition.« *Industrial Crops and Products* 80:242–250.
- Mollova, S., H. Fidan, D. Antonova idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Subspecies Essential Oils. « *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 44 (4): 371–378.
- Morone-Fortunato, I., C. Montemurro, C. Ruta idr. 2010. »Essential Oils, Genetic Relationships and in vitro Establishment of *Helichrysum Italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from Wild Mediterranean Germplasm.« *Industrial Crops and Products* 32 (3): 639–649.
- Nebrigić, V., M. Terzić, S. Đurović idr. 2023. »Influence of Drying Process on Chemical Composition, Antioxidant and Enzyme-Inhibitory Activity of

- Helichrysum italicum* Essential Oils.« *Journal of Herbal Medicine* 40 (1): 100680.
- Ninčević, T., M. Grdiša, Z. Šatović in M. Jug-Dujaković. 2019. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, Biological Activity, Biochemical and Genetic Diversity.« *Industrial Crops and Products* 138:111487.
- Oliva, A., S. Garzoli, M. Sabatino idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. (Asteraceae) from Montenegro.« *Natural Product Research* 34 (3): 445–448.
- Paolini, J., J.-M. Desjobert, J. Costa idr. 2006. »Composition of Essential Oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil subsp. *italicum* from Tuscan Archipelago Islands.« *Flavour and Fragrance Journal* 21 (5): 805–808.
- Perrini, R., I. Morone-Fortunato, E. Lorusso in P. Avato. 2009. »Glands, Essential Oils and *in vitro* Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman.« *Industrial Crops and Products* 29 (2–3): 395–403.
- Petrović, M., V. Petrović, Z. Mlinar idr. 2024. »Duration of Steam Distillation Affects Essential Oil Fractions in Immortelle (*Helichrysum italicum*).« *Horticulturae* 10 (2): 183.
- Rao, B. R. R. 2013. »Hydrosols and Water-Soluble Essential Oils: Medicinal and Biological Properties.« *V Recent Progress in Medicinal Plants Essential Oils*, uredila J. N. Govil in S. Bhattacharya, zv. 36, *Essential Oils I*. Studium Press.
- Siddiqui, T., M. Umar Khan, V. Sharma in K. Gupta. 2024. »Terpenoids in Essential Oils: Chemistry, Classification, and Potential Impact on Human Health and Industry.« *Phytomedicine Plus* 4 (2): 100549.
- Talić, S., L. Odak, A. Martinović Bevanda, N. Crnjac in M. Paštar. 2019. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* from Herzegovina: Volatile Composition, Variations During Seasons, Total Polyphenols, Acetylcho-Linesterase Inhibition and Antioxidant Activity.« *Croatica Chemica Acta* 92 (1): 69–77.
- Tzanova, M., N. Grozeva, M. Gerdzhikova, V. Atanasov, S. Terzieva in R. Prodanova. 2018. »Biochemical Composition of Essential Oil of Corsican *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, Introduced and Cultivated in South Bulgaria.« *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 24 (6): 1071–1077.