

## VARIJABILNOST SASTAVA ETARSKOG ULJA VRSTE *COTINUS COGGYGRIA* SCOP. (ANACARDIACEAE) SA TERITORIJE SRBIJE

Milan Stanković<sup>1</sup>, Tatjana Marković<sup>2</sup>, Nenad Zlatić<sup>1</sup>,  
Gorica Đelić<sup>1</sup>, Biljana Bojović<sup>1</sup>

**Izvod:** Cilj prikazanog istraživanja je određivanje kvalitativne i kvantitativne varijabilnosti isparljivih jedinjenja u uzorcima vrste *Cotinus coggygria* Scop. prikupljenih na staništima sa različitim tipom geološke podloge. Tri uzorka etarskih ulja sa krečnjačkih, dva uzorka sa serpentinitskih i jedan sa peskovitog staništa dobijen je metodom hidrodestilacije korišćenjem listova kao biljnog materijala. Na osnovu rezultata, pokazano je da populacije sa krečnjačkih i serpentinitskih staništa sintetišu skoro 2 puta više oksidovanih monoterpena i ugljovodoničnih seskviterpena u odnosu na populacije sa peskovitih staništa. Edafske karakteristike staništa utiču na sastav i zastupljenost mono- i seskviterpena u etarskom ulju.

**Ključne reči:** *Cotinus coggygria*, krečnjak, serpentinit, pesak, eterična ulja

### Uvod

Etarska ulja su složene smeše različitih hemijskih jedinjenja koja nastaju kao produkti sekundarnog metabolizma biljaka. Dominantna grupa jedinjenja etarskog ulja su terpeni (monoterpeni, seskviterpeni i diterpeni). Sastav etarskog ulja biljnih vrsta je varijabilan, što u velikoj meri zavisi od ekoloških faktora i ontogenetskog stadijuma razvoja biljke. Eksperimentalno je dokazano da etarska ulja učestvuju u metabolizmu biljaka (fiziološka uloga) kao i da biljkama omogućavaju adaptaciju na ekološke uslove (ekološka uloga). Edafski faktori kod biljnih organizama utiču na ekofiziološka svojstva u funkciji prilagođavanja (Barra, 2009).

Zemljišta formirana na krečnjačkoj geološkoj podlozi sadrže kalcijum karbonat u slobodnoj formi. Prisustvo kalcijum karbonata određuje alkalnu reakciju krečnjačkih zemljišta i utiče na dostupnost određenih metala biljkama. Kalcijum karbonat utiče i na fizičke karakteristike zemljišta. Serpentinska zemljišta su skeletna, odlikuju se visokom poroznošću i imaju nepovoljan vodni režim. Serpentinska zemljišta karakteriše nedostatak Ca i visok sadržaj Fe, Mg, Ni, Co i Cr. Peskovitu podlogu karakteriše slaba plodnost i nepovoljan vodni režim. Specifična karakteristika staništa sa peskovitom podlogom jeste njihova nestabilnost (Simon et al., 2021).

Vrsta *Cotinus coggygria* (Anacardiaceae) listopadna drvenasta vrsta niskog rasta rasprostranjena u južnoj Evropi i centralnoj i zapadnoj Aziji. Na teritoriji Srbije naseljava termofilna staništa, najčešće kanjone i klisure. Osim što je poznata

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000, Kragujevac, Republika Srbija (mstankovic@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>Institut za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić" Solunska 10, 11000, Beograd, Republika Srbija

kao ukrasna biljka i izvor prirodnih boja, ima primenu u tradicionalnoj medicini i koristi se kao antiseptic i astrigent (Kültür, 2007).

Osnovni cilj istraživanja bio je utvrđivanje varijabilnosti u uzorcima etarskog ulja vrste *Cotinus coggygria* uzorkovane na staništima sa krečnjačkom, serpentinitnom i peskovitom podlogom. Navedeno istraživanje obuhvata uporednu analizu kvalitativnog i kvantitativnog sastava jedinjenja u uzorcima etarskog ulja vrste *Cotinus coggygria* sa šest različitih lokaliteta zastupljenih na tri različita tipa podloge. Istraživanje je sprovedeno radi određivanja uticaja podloge na sastav i zastupljenost isparljivih jedinjenja u etarskom ulju vrste *Cotinus coggygria* i primene u biotehnološkim procesima.

### Materijal i metode rada

#### Biljni material

Biljna vrsta *Cotinus coggygria* je prikupljena tokom perioda cvetanja sa šest lokaliteta na staništima sa krečnjačkom (Ovčarsko-kablarska klisura, Đerdapska klisura, klisura Grze), serpentinitnom (Ibarska klisura, Brđanska klisura) i peskovitom podlogom (Deliblatska peščara) tokom 2021. godine. U cilju analize varijabilnosti etarskog ulja prikupljeni su listovi. Identifikacija uzorkovanih primeraka je izvršena u Institutu za biologiju i ekologiju, Prirodno-matetičkog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu.

#### Izolovanje etarskog ulja i GC-MS hromatografija

Za izolovanje etarskog ulja korišćeni su sveži usitnjeni listovi vrste *Cotinus coggygria*. Biljni materijal (100 g) je stavljen u balon sa 1000 ml destilovane vode, a potom je rađena hidrodestilacija u aparaturi po Klevendžeru. Nakon 3 sata hidrodestilacije dobijeni uzorci etarskog ulja su najpre osušeni upotrebom anhidrovanog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , a potom pripremljeni za hromatografsku analizu.

Hemijski sastav etarskog ulja je analiziran GC/MS tehnikom. GC/MS analiza je rađena na Shimadzu GCMSKP2010 ultra masenom spektrometru opremljenom plameno-jonizujućim detektorom i spojenim sa gasnim hromatografom GC2010. Za separaciju je korišćena kapilarna kolona InertCap5 (60,0 m x 0,25 mm x 0,25 mm). Za noseći gas, korišćen je helijum (He), u split režimu 1:5, pri linearnoj brzini od 35,2 cm/s. Početna temperatura peći je bila 60 °C u trajanju od 4 min, a zatim se povećala na 280 °C brzinom od 4 °C/min u trajanju od 10 min. Temperature injektora je bila 250 °C a detektora 300 °C. Temperatura izvora jona bila je 200 °C. Identifikacija sastojaka uzoraka ulja vršena je upoređivanjem masenih spektara i retencionih indeksa (RIE) sa onima dobijenim iz autentičnih uzoraka i/ili navedenim u NIST/Wiley bibliotekama masenih spektra (RIL), koristeći različite tipove pretrage (PBM/NIST/AMDIS) i dostupnih literaturnih podataka (Adams, 2009).

### Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati analize uzoraka etarskog ulja dobijenog iz listova vrste *Cotinus coggygia* sa staništa na krečnjačkoj, serpentinitskoj i peskovitoj podlozi prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Hemijski sastav etarskog ulja lista vrste *Cotinus coggygia* poreklom sa različitih staništa (%)  
 Table 1. Chemical composition of *Cotinus coggygia* leaf essential oil originating from different substrates (%)

| Komponente etarskog ulja<br><i>Essential oil constituents</i> | KL   | KLE  | Contribution to ssential oil (% w/w)                |             |   |              |   |              |
|---|------|------|---|-------------|---|--------------|---|--------------|
|   |      |      | Serpentinska podloga<br><i>Serpentine substrate</i> |             | Krečnjačka podloga<br><i>Calcareous substrate</i> |              | Peskovita podloga<br><i>Sandy substrate</i> |              |
|   |      |      | S1  | S2          | K3  | K4           | K5  | P6           |
| (E)-2-heksanal  | 846  | 853  | 0,07  | <b>0,10</b> | 0,00  | 0,06         | 0,00  | 0,00         |
| (Z)-3-heksanal  | 850  | 857  | 0,15  | <b>0,17</b> | 0,00  | 0,03         | 0,00  | 0,07         |
| $\alpha$ -pinen   | 932  | 939  | 1,81  | 2,09        | 2,77  | <b>8,62</b>  | 3,93  | 6,33         |
| kamfen  | 946  | 954  | 0,10  | 0,00        | 0,00  | 0,14         | 0,14  | <b>0,20</b>  |
| $\beta$ -pinen  | 974  | 983  | 0,36  | 0,19        | 0,37  | <b>1,83</b>  | 0,65  | 0,89         |
| mircen  | 988  | 992  | 1,23  | 1,16        | 2,33  | <b>10,98</b> | 1,22  | 9,46         |
| (E)-3-heksenil acetat   | 1001 | 1006 | 0,50  | 0,37        | 0,30  | 0,35         | <b>1,64</b>                                 | 0,40         |
| $\alpha$ -felandren   | 1002 | 1009 | 0,07  | 0,00        | 0,07  | 0,07         | <b>0,08</b>                                 | 0,07         |
| $\delta$ -3-karen   | 1008 | 1015 | 0,20  | 0,18        | <b>0,30</b>                                       | 0,13         | 0,26  | 0,11         |
| $\alpha$ -terpinen  | 1014 | 1021 | 0,07  | 0,00        | 0,09  | <b>0,31</b>  | 0,08  | 0,00         |
| limonen   | 1024 | 1037 | 59,17   | 61,86       | <b>68,73</b>                                      | 31,74        | 56,01                                       | 37,15        |
| <i>cis</i> - $\beta$ -ocimen                                  | 1032 | 1040 | 22,30   | 20,28       | 10,16   | 27,98        | 19,41                                       | <b>31,85</b> |
| <i>trans</i> - $\beta$ -ocimen                                | 1044 | 1050 | 5,22  | 5,05        | 2,93  | 6,19         | 4,70  | <b>6,53</b>  |
| terpinolen  | 1086 | 1094 | 5,56  | 4,74        | <b>8,51</b>                                       | 3,86         | 6,54  | 2,43         |
| linalol   | 1095 | 1101 | 0,10  | 0,09        | 0,09  | 0,02         | <b>0,14</b>                                 | 0,12         |
| <i>n</i> -nonanal   | 1100 | 1104 | 0,10  | 0,09        | 0,14  | 0,08         | <b>0,16</b>                                 | 0,07         |
| <i>allo</i> -ocimene  | 1128 | 1131 | 0,32  | 0,31        | 0,16  | 0,45         | 0,27  | <b>0,46</b>  |
| (Z)-3-heksenil butanoat                                       | 1184 | 1185 | 0,08  | 0,00        | 0,00  | <b>0,09</b>  | 0,08  | 0,08         |
| <i>p</i> -cimen-8-ol  | 1179 | 1191 | 0,21  | 0,20        | <b>0,36</b>                                       | 0,13         | 0,18  | 0,07         |
| $\alpha$ -terpineol   | 1186 | 1198 | <b>0,15</b>   | 0,14        | 0,14  | 0,14         | 0,13  | <b>0,15</b>  |
| (Z)-3-heksenil 2-metil butanoat                               | 1229 | 1232 | 0,00  | 0,00        | 0,00  | 0,05         | <b>0,07</b>                                 | 0,00         |
| isobornil acetate   | 1283 | 1293 | 0,10  | 0,12        | <b>0,21</b>                                       | 0,10         | 0,11  | 0,00         |
| $\alpha$ -terpinil acetate                                    | 1346 | 1356 | 0,24  | 0,26        | <b>0,47</b>                                       | 0,15         | 0,36  | 0,15         |
| $\alpha$ -kopaen  | 1374 | 1390 | 0,00  | 0,00        | 0,00  | <b>0,17</b>  | 0,07  | 0,07         |
| <i>trans</i> - $\beta$ -kariofilen                            | 1417 | 1440 | 0,67  | 1,74        | 0,77  | 1,96         | <b>2,73</b>                                 | 0,92         |
| <i>allo</i> -Aaromadendren                                    | 1458 | 1459 | 0,10  | 0,10        | <b>0,12</b>                                       | 0,08         | 0,00  | 0,07         |
| $\alpha$ -humulen   | 1452 | 1474 | 0,08  | 0,12        | 0,08  | <b>0,25</b>  | 0,19  | 0,15         |
| <i>trans</i> -9-epi-kariofilen                                | 1464 | 1482 | 0,00  | 0,00        | 0,00  | <b>0,10</b>  | 0,00  | 0,08         |
| $\gamma$ -murolen   | 1478 | 1492 | 0,13  | 0,07        | 0,08  | <b>0,21</b>  | 0,08  | 0,17         |

|   |      |      |              |              |              |              |              |              |
|---|------|------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| germakren-D   | 1484 | 1500 | 0,09         | 0,09         | 0,09         | <b>2,25</b>  | 0,23         | 1,01         |
| $\gamma$ -amorfen   | 1483 | 1496 | 0,00         | 0,00         | 0,00         | <b>0,06</b>  | 0,00         | 0,00         |
| $\alpha$ -murolen   | 1500 | 1515 | 0,17         | 0,12         | 0,14         | <b>0,30</b>  | 0,00         | 0,23         |
| $\gamma$ -kadinen   | 1513 | 1532 | 0,09         | 0,00         | 0,00         | 0,10         | 0,00         | <b>0,11</b>  |
| $\delta$ -kadinen   | 1522 | 1538 | 0,23         | 0,10         | 0,14         | <b>0,39</b>  | 0,16         | 0,36         |
| spatulenol  | 1577 | 1601 | 0,00         | 0,00         | 0,00         | <b>0,15</b>  | 0,00         | 0,07         |
| kariofilen oksid  | 1582 | 1609 | 0,07         | 0,15         | 0,07         | <b>0,17</b>  | 0,10         | 0,09         |
| Ugljovodonični monoterpeni<br><i>Monoterpene hydrocarbons</i>     |      |      | <b>96,9</b>  | 96,2         | 96,7         | 92,6         | 94,9         | 95,9         |
| Oksigenovani monoterpeni<br><i>Oxygenated monoterpenes</i>        |      |      | 1,2          | 1,2          | <b>1,4</b>   | 0,9          | 1,2          | 0,7          |
| Ugljovodonični seskviterpeni<br><i>Sesquiterpene hydrocarbons</i> |      |      | 1,6          | 2,3          | 1,4          | <b>5,9</b>   | 3,5          | 3,2          |
| Oksigenovani seskviterpeni<br><i>Oxygenated sesquiterpenes</i>    |      |      | 0,1          | 0,2          | 0,1          | <b>0,3</b>   | 0,1          | 0,2          |
| <b>Ukupno identifikovano</b><br><b>Total identified</b>           |      |      | <b>99,75</b> | <b>99,88</b> | <b>99,63</b> | <b>99,69</b> | <b>99,73</b> | <b>99,90</b> |

$RI_L$  – Kovačev indeks;  $RI_E$  – Retenciono vreme relativno na  $C_8$ - $C_{40}$  n-alkane, na kolini InertCap5; Serpentinitska podloga (S1, S2); krečnjačka podloga (K3, K4, K5); peskovita podloga (P6);

$RI_L$  – Kovats index;  $RI_E$  – Retention index relative to  $C_8$ - $C_{40}$  n-alkanes on InertCap5 column; Serpentine substrate (S1, S2); calcareous substrate (K3, K4, K5), sandy substrate (P6)

Analiza dobijenih rezultata ukazuje da su u uzorcima etarskog ulja vrste *Cotinus coggygria* monoterpenodi dominantniji od seskviterpenoida. U okviru monoterpenoida, zastupljeniji su ugljovodonični monoterpeni i njihove vrednosti variraju u opsegu od 92,6% do 96,9%, dok vrednosti oksigenovanih monoterpena variraju u opsegu od 0,7% do 1,4%. Od seskviterpenoida, zastupljeniji su seskviterpenski ugljovodonični čiji ukupni sadržaj varira u opsegu od 1,4% do 5,9% dok je sadržaj oksigenovanih seskviterpena niži i varira u opsegu od 0,1% do 0,3% (Tabela 1).

Posmatrano po grupama uzoraka etarskih ulja populacija vrste *C. coggygria* sa različitim podloga, u klasi **monoterpenoida**, prosečan sadržaj monoterpenskih ugljovodoničnih je najviši na serpentinjskoj podlozi 96,55% nešto je niži na peskovitoj 95,90% a najniži je na krečnjačkoj podlozi 94,73%, dok je prosečan sadržaj oksigenovanih monoterpena bio najviši u uzorcima sa serpentinjskih podloga 1,20%, nešto niži u uzorcima sa krečnjakih podloga 1,17 % i dosta niži u onima sa peskovite podloge 0,7%.

Uticao podloge učen je i na sadržaj **seskviterpenoida**; kod seskviterpenskih ugljovodoničnih najviši prosečan sadržaj je u uljima populacija sa krečnjaka 3,6% > sa peskovite podloge 3,2% > sa serpentinjske podloge 1,95%, dok je kod oksigenovanih seskviterpena najviši sadržaj učen kod populacija sa peskovite podloge 0,20% > sa krečnjačke podloge 0,17% > sa serpentinjske podloge 0,15%.

Prethodno objavljeni rezultati o sastavu etarskog ulja vrste *Cotinus coggygria* sa teritorije Srbije ukazuju da su glavne komponente bile monoterpenski ugljovodonični (Novaković i sar., 2007), što je u saglasnosti sa rezultatima iz naših

istraživanja (Tabela 1). Poredeći populacije *C. coggygria* uzorkovane sa različitih staništa, u našim istraživanjima je još utvrđeno da uzorci ulja populacija sa krečnjačkih i serpentinskih staništa sadrže skoro dvostruko više oksigenovanih monoterpena (1,20% i 1,17%, respektivno) u odnosu na uzorak sa peskovitog staništa (0,70%), dok je u slučaju seskviterpenskih ugljovodonika dvostruko veći sadržaj uočen na krečnjačkim i peskovitim staištima (3,60% i 3,20%, respektivno) u odnosu na serpentinska staništa (1,95%).

Ispitivanjem kvalitativnog sastava uzoraka etarskog ulja *C. coggygria* iz listova jedinki sa različitih staništa, ukupno je identifikovano 36 jedinjenja. Prikazano u opadajućem nizu, u svim uzorcima ulja lista *C. coggygria*, nevezano za tip podloge na kojoj su biljke rasle, sledeće komponente su se izdvojile kao najdominantnije: limonen > *cis*- $\beta$ -ocimen > terpinolen >  $\alpha$ -pinen > mircen. Njihovi prosečni sadržaji prema tipu podloge, takođe su prikazani u opadajućem nizu, kao što sledi: **limonen**: sa serpentinita 60,52% > sa krečnjaka 52,16% > sa peskovitog staništa 37,15%; ***cis*- $\beta$ -ocimen**: sa peskovitog staništa 31,85% > sa serpentinita 21,29% > sa krečnjaka 19,17%; **terpinolen**: sa krečnjaka 6,30% > sa serpentinita 5,15% > sa peskovitog staništa 2,43%,  **$\alpha$ -pinen**: sa peskovitog staništa 6,33% > sa krečnjaka 5,11% > sa serpentinita 1,95%; **mircen**: sa peskovitog staništa 9,46% > sa krečnjaka 4,84% > sa serpentinita 1,20%.

Prikazani rezultati uporedne analize sastava etarskih ulja vrste *Cotinus coggygria* ukazuju da zastupljenost glavnih grupa jedinjenja varira u zavisnosti od tipa podloge, odnosno da je pod uticajem edafskih osobina staništa.

### Zaključak

Na osnovu rezultata prikazanih u ovom istraživanju utvrđeno je da populacije vrste *Cotinus coggygria* uzorkovane sa zemljišta formiranih na krečnjačkoj, serpentinskoj odnosno peskovitoj podlozi, ispoljavaju izvesne razlike u sastavu etarskog ulja lista, ne gubeći pritom svoje osnovne karakteristike, kao što su: izrazita dominacija monoterpenskih ugljovodonika (u proseku 95,7%), kao i raspored glavnih komponenti ulja (limonen > *cis*- $\beta$ -ocimen > terpinolen >  $\alpha$ -pinen > mircen). Populacije sa krečnjačkih i serpentinskih staništa sintetišu gotovo dvostruko više oksigenovanih monoterpena u odnosu na populacije sa peskovitih staništa, dok populacije sa u pogledu seskviterpenskih ugljovodonika skoro dvostruko veći sadržaj u ulju populacija sa krečnjačkim i peskovitim staištima od onih sa serpentinskih. Rezultati predstavljeni u ovom istraživanju dokaz su uticaja supstrata na kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja lista vrste *Cotinus coggygria* iz Srbije. Osim naučnog značaja sa aspekta uticaja edafskih uslova na ekofiziološke osobine ispitivane vrste, rezultati ovih istraživanja mogu imati praktičnu primenu prilikom korišćenja lista vrste *C. coggygria* kao izvora etarskog ulja.

### Napomena

Ovo istraživanje finansiralo je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Broj ugovora: 451-03-68/2022-14/ 200122).

### Literatura

- Adams RP. (2009) Identification of Essential Oil Compounds by Gas Chromatography and Mass Spectrometry (fourth ed.) Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA.
- Barra A. (2009). Factors affecting chemical variability of essential oils: a review of recent developments. *Natural Product Communications*. 4(8):1147-1154.
- Kültür Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*. 111(2): 341-364.
- Novaković M., Vučković I., Janačković P., Soković M., Filipović A., Tešević V., Milosavljević S. (2007). Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Cotinus coggygria* from Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 72(11): 1045-1051.
- Simon A., Wilhelmy M., Klosterhuber R., Cocuzza E., Geitner C., Katzensteiner K. (2021). A system for classifying subsolum geological substrates as a basis for describing soil formation. *Catena*, 198, 105026.

## VARIABILITY OF *COTINUS COGGYGRIA* SCOP. (ANACARDIACEAE) ESSENTIAL OIL FROM THE TERRITORY OF SERBIA

Milan Stanković<sup>1\*</sup>, Tatjana Marković<sup>2</sup>, Nenad Zlatić<sup>1</sup>  
Gorica Đelić<sup>1</sup>, Biljana Bojović<sup>1</sup>

### Abstract

The aim of this study is to determine the qualitative and quantitative variability of volatile constituents of leaf essential oils of *Cotinus coggygria* Scop., wild-growing at three different types of the substrate; calcareous (3), serpentinite (2) and sandy (1). The essential oil samples were hydrodistilled from fresh leaves of *C. coggygria*. The obtained results showed that the leaf essential oils from all populations (i.e. regardless of the substrate on which they spontaneously grew) are abundant in monoterpene hydrocarbons (95.7%). Populations from calcareous and serpentinite habitats synthesize almost twice more oxygenated monoterpenes in their oils compared to that from the sandy substrate, while populations from serpentine and sandy substrates produce almost twice more sesquiterpene hydrocarbons than those from calcareous substrates. Therefore, it can be concluded that edaphic characteristics of natural stands of *C. coggygria* affect the composition of their leaf oils, which may have significant applications in biotechnology.

**Key words:** Smoketree, calcareous, serpentinite, sand, leaf essential oil.

---

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Institute of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000, Kragujevac, Republic of Serbia (mstankovic@kg.ac.rs)

<sup>2</sup>Institute of Medicinal Plants Research "Dr Josif Pancic" Solunska 10, 11000, Belgrade, Republic of Serbia