

CHEMOTYPY DIVORASTÚCEHO A PESTOVANÉHO RUMANČEKA KAMILKOVÉHO (*MATRICARIA RECUTITA* L.)

CHEMOTYPES OF WILD-GROWTH AND CULTIVATED GERMAN CHAMOMILE (*MATRICARIA RECUTITA* L.)

Anton BUBNOV, Ivan ŠALAMON

Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita
v Prešove, 17. novembra 01, 081 16 Prešov

e-mail: antonbubnov001@gmail.com, ivan.salamon@unipo.sk

Abstract: *Plant habitus and the creation of secondary metabolites in the chamomile plants are depended on the endogenous and exogenous factors, which can be divided in two groups): a) morph – ontogenetic variability, b) genetic variability resp. genetic determination. The activity of these factors is reflected in the biomass production, flower drug production, content and composition of essential oil and some other characteristics of chamomile populations. This study presents the genetic and environmental variation of essential oil and its sesquiterpene composition (/-/- α -Bisabololoxide A, /-/- α -Bisabololoxide B, /-/- α -Bisabolol and Chamazulene) of autochthonous growing chamomile population in comparison with the variety 'LIANKA', which is cultivated in the Eastern Slovakia. Based on the study of pharmacodynamics properties, the chamomile variety LIANKA' was bred at the University of Presov, Slovakia, between the years 2008 – 2013. Currently, this variety obtains the Certificate by the Community Plant Variety Office (CPVO) in Angers, France (in 2018). The GC/MS characteristics of the wild grow chamomile population on the Eastern Slovakian Lowland confirm the bisabololoxide chemotype with high content of /-/- α -bisabololoxides A and B (49.20 ± 0.80 %). The selected variety, environmental conditions, agronomic management practice and effective distillation were obtained of substantial contents of /-/- α -bisabolol (68.00 ± 2.82 %) and chamazulene (10.50 ± 1.04 %) and the low contents of /-/- α bisabololoxides A and B (2.75 ± 0.32 %). The blue essential oil content was ranged from 0.60 to 0.64 % in order to time of single flower harvests. The chamomile variety 'LIANKA' and its large-scale cultivation, extraction and distillation is very forward as raw-material to the pharmaceutical industry in the world.*

Key words: *composition, essential oil, grow conditions, chamomile, quality, sesquiterpenes*

Úvod

Rumanček kamilkový, *Matricaria recutita* L., patrí k jednej z najobľúbenejších a najžiadanejších liečivých rastlín. Populácie rumančekových rastlín nachádzame na voľných priestranstvách, prícestiach, rumoviskách i obilných poliach. Darí sa mu

v nevápenných pôdach bohatých na živiny a dusík. Ľahko sa prispôsobuje rôznym klimatickým podmienkam. Geograficky rastie až po oblasť 60 rovnobežky, ale viac v južných oblastiach. Vo svetovom obchode patrí suchá droga tejto rastliny k najdôležitejším. Ročná svetová spotreba predstavuje množstvo niekoľkých tisíc ton (Salamon et al., 2018).

Najpodstatnejšiu časť liečebného účinku tejto liečivej rastliny podmieňuje zloženie silice, ktorej množstvo v suchej kvetnej droge je od 0,2 do 1,0 %, pričom osobitne pestované polyploidné majú až 1,5 %. V éterickom oleji bolo identifikovaných niekoľko desiatok komponentov – hlavne seskviterpénov (*l*-*l*- α -bisabolol, *l*-*l*- α -bisabololoxid A, *l*-*l*- α -bisabololoxid B, *l*-*l*- α -bisabolonoxid A, farnezen, chamazulén,...) a ďalších látok iného organického pôvodu (en-in-dicykloétery,...) (Mann – Staba, 1986).

Vo farmaceutickom a kozmetickom priemysle sa však spracováva kvetná droga rumančeka najrôznejšieho pôvodu a veľmi rozdielnej terapeutickkej kvality (Franz, 1982). Do 70-tych rokov pri hodnotení produkcie drogy sa brali do úvahy množstvá éterického oleja a jeho percentuálny obsah chamazulénu. Postupným zdokonaľovaním analytických metód stanovenia a izolácie komponentov, súčasne s novými metódami farmakologického testovania ich účinku, sa začali zdôrazňovať funkcie aj iných zložiek (Mann – Staba, 1986).

Cieľom príspevku je štúdium kvalitatívno-quantitatívneho zloženia silice tejto významnej liečivej rastliny certifikovanej odrody 'LIANKA' pestovanej na východnom Slovensku. Pre porovnanie kvality rumančekovej drogy – suchých kvetných úborov (*Flos chamomillae*) sa urobili ich zbery z autochtónnych populácií zo stanovišť ich výskytu lokalít v okolí mesta Michalovce.

Materiál a metódy

Rumančeková silica sa izolovala hydrodestiláciou z navážky 10 g rozomletých vysušených úborov počas dvoch hodín. Rastlinný materiál bol získaný z dvoch lokalít na Východoslovenskej nížine – z Trebišova, kde sa nachádza pestovateľská oblasť odrody rumančeka kamilkového „LIANKA“. Druhá oblasť zberu úborov rumančeka z divo rastúcich (autochtónnych) populácií predmetného rastlinného druhu bola v okolí mesta Michalovce.

Zložky silíc rumančeka kamilkového sa stanovili pomocou GC-MSD systému na prístroji Varian 450-GC spolu s Varian 220-MS s injekčným vstupom Split-Splitless, detektorom MSD. Boli použité 2 kolóny: RX-5MS (nepolárna), 30 m \times 0,25 mm i. d., s vnútorným priemerom: 0,25 μ m, nosný plyn: hélium (21 p.s.i.) s prietokom 1,50 ml.min⁻¹ a kolóna BPX-5MS (polárna), dlhá 50 m s vnútorným priemerom 0,25 mm a s hrúbkou stacionárnej fázy 0,25 μ l. Teplotný program: 50°C - 0 min.; 3 °C.min⁻¹ do 250 °C; 250 °C – 15 min⁻¹. Identifikácia jednotlivých zložiek éterického oleja sa urobila využitím retenčných časov 40 autentických štandardov komponentov dodaných firmami: Extrasynthese, Merck, Fulka a Sigma-Aldrich, Kovatsových indexov (použité C₅ - C₂₂

alkány) a integrovanej knižnice NIST 14 (verzia 2014). Spektrá jednotlivých zložiek silice, boli porovnávané s hmotnostnými spektrami použitím literatúry (Adams, 2007).

Na hodnotenie biologického materiálu ($n = 6$) a výsledkov z chemických identifikácií sa použili viaceré štatistické metódy a biometrické parametre : aritmetický priemer, zväžený aritmetický priemer, štandardná odchýlka, stredná chyba a interval spoľahlivosti. V našom prípade sa pre zjednodušenie použilo vyjadrenie častí jednotlivých súborov pomocou percent.

Výsledky a diskusia

Pestovateľská lokalita odrody rumančeka kamilkového 'LIANKA' sa nachádza na súkromných parcelách v meste Trebišov (GPS súradnice: 48° 36' 41.5072698' N; 21° 43' 12.0297146' E), pričom nadmorská výška terénu dosahuje približne 107 m. n. m. Agrochemické ukazovatele pôdneho stanovišťa podľa výsledkov realizovaných Ústredným kontrolným a skúšobným ústavom pôdohospodárskym v Košiciach potvrdili, že pôdna reakcia v pôdnom profile je neutrálna až slabo alkalická. Táto skutočnosť je podmienená nasýtenými bázami zvlášť Ca^{2+} z pôdotvorného substrátu, ktorým sú v prevažnej miere vápnité spraše a sprašové hliny. Obsah uhlíka bol v priemere 1,80 % a humusu 3,12 %. Stanovište Trebišov má v priemere veľmi vysokú zásobu prístupného fosforu (296 mg.kg⁻¹) a taktiež veľmi vysokú zásobu draslíka. Obsah horčika v priemere 308 mg.kg⁻¹ je vysoký. Uvedená lokalita je situovaná v teplej a suchej klimatickej oblasti, s chladnou zimou. Priemerná ročná teplota sa pohybuje v rozpätí 9 až 10 °C. Priemerné teploty v katastrálnom území Trebišov sú v januári -1 až -4 °C na nížine a -5 až -7 °C na najvyšších vrcholoch. Priemerná teplota v júli sa pohybuje v rozmedzí 18,8 až 20,5 °C. Podľa údajov stanice Milhostov priemerný ročný úhrn zrážok za obdobie posledných 10 rokov predstavuje 570 mm.

Kvetné úbory autochtónnych populácií rumančeka kamilkového sa zbierali v okolí mesta Michalovce (GPS súradnice: 48° 44' 32.1608079' N; 21° 54' 46.8141174' E), kde nadmorská výška predmetného územia sa pohybuje okolo 115 m n. m. Z hľadiska pôdnej reakcie možno pôdy považovať za neutrálné. Obsah humusu v humusovom horizonte je vysoký a pohybuje sa v medziach 3,06 – 3,77. Zásoba fosforu je v priemere 139 mg.kg⁻¹, čo hodnotíme ako dobrú zásobu. U draslíka je to obdobné. Obsah horčika v priemere 302 mg.kg⁻¹ je v tejto lokalite vysoký. Podľa klimatických podmienok a ich členenia patrí lokalita Michalovce do teplej klimatickej oblasti podoblasti mierne vlhkej, okrsku mierne teplého, mierne vlhkého s chladnou zimou. Priemerná ročná teplota sa pohybuje okolo 10 °C. Najchladnejším mesiacom je január -3,6 °C a najteplejším mesiac júl 20,4 °C. Rozdiel maximálnej a minimálnej ročnej teploty je 24 °C. Najchladnejším mesiacom v posledných piatich rokoch v priemere je január s priemernou mesačnou teplotou -2,5 °C. Ročný úhrn zrážok je 593 až 672 mm.

Obsahy rumančekovej silice izolovanej zo vzoriek suchých úborov pestovaných v Trebišove (odroda „LIANKA“) a zbieraných z divorastúcich populácií potvrdili intervaly množstiev od $0,60 \pm 0,20$ % do $0,64 \pm 0,25$ % (tab. 1). Rozsah intervalu spoľahlivosti obsahu silice ukazuje, že nie je významný rozdiel medzi šľachteným a divorastúcim rumančekom kamilkovým.

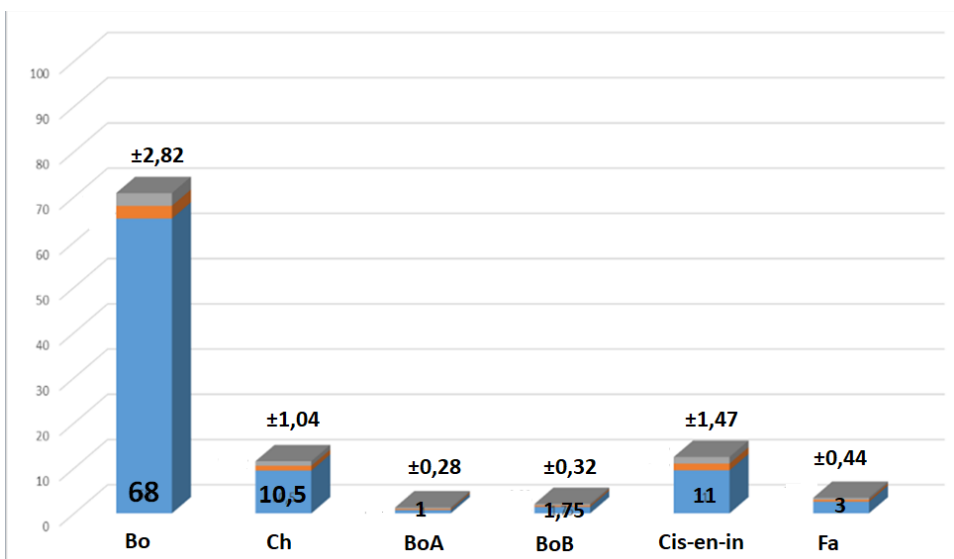
Tab.1: Izolované množstvo silice rumančeka kamilkového v % z pestovania a zberu na Východoslovenskej nížine v roku 2018

Lokalita	Zemepisná šírka / dĺžka	Výnos silice [%]
Trebišov odroda „LIANKA“	N 48° 36" 41.5072698'	0,64 ± 0,20
	E 21° 43" 12.0297146'	
Michalovce divorastúce populácie	N 48° 44" 32.1608079'	0,60 ± 0,25
	E 21° 54" 46.8141174'	

Úplná GC/MS analýza ukázala identifikovaných 75 chemických látok v éterickom oleji izolovanom zo suchých kvetných úborov odrody „LIANKA“. Pre určenie jednotlivých chemických typov môžeme vybrať len hlavné siličnaté komponenty, ktoré majú význam nielen pre liečebné vlastnosti, ale aj pre priemyselné spracovanie vo farmaceutickom a kozmetickom priemysle (Salamon, 2014).

Vo svete sa pozornosť sústreďuje na obsahovo hlavné komponenty rumančekovej silice, ktoré sú v poradí: *l-l*- α -bisabolol (69,73 %), chamazulén (10,05 %), *l-l*- α -bisabololoxidy B (1,84 %) a A (1,11 %), α - a β -farnezén (2,13 a 0,10 %) a *cis*- a *trans*-*en-in*-dicykloéter (8,88 % a 0,14 %) (obr. 1 a tab. 2).

Obr. 1 a Tab. 2: Kvalitatívne vyjadrenie hlavných obsahových látok rumančeka kamilkového, odrody „LIANKA“

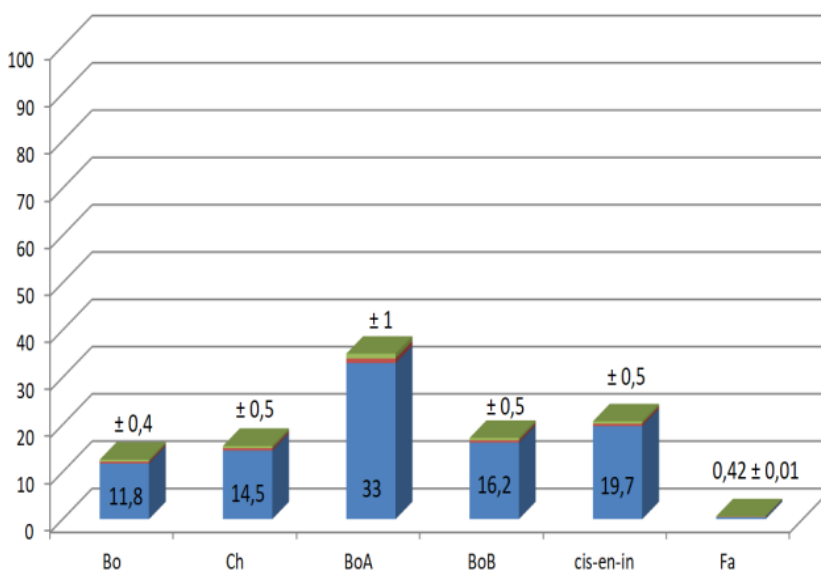


komponent silice	%
<i>l-l</i> - α -bisabolol	68,00 \pm 2,82
chamazulén	10,50 \pm 1,04
<i>l-l</i> - α -bisabololoxid A	1,00 \pm 0,28
<i>l-l</i> - α -bisabololoxid B	1,75 \pm 0,32
cis-en-in-dicykloéter	11,00 \pm 1,47
α -farnézén	3,00 \pm 0,44

Druhým objektom nášho štúdia boli kvetné úbory z voľne rastúcich rastlín rumančeka kamilkového na Východoslovenskej nížine – lokalita Michalovce. V súvislosti s uvedeným (autochtónne populácie rastlín, iná vnútro druhová variabilita a odlišný biotop stanovišť) možno predpokladať iné zloženie silice a hlavne odlišné kvalitatívno-kvantitatívne charakteristiky, samozrejme tým fytotherapeutické vlastnosti (Salamon, 2007).

V celkovom chemickom profile testovaného éterického oleja sa identifikovalo 58 chemických látok. Opätovne sú tu hlavné komponenty rumančekovej silice, ktorých množstvá v silici sú v inom poradí, ako pri pestovanej rumančekovej odrode „LIANKA“: prevládajú *l-l*- α -bisabololoxidy A (33,09 %) a B (16,25 %), chamazulén (14,58 %), cis- a trans-en-in-dicykloéter (19,73 % a 1,07 %), až teraz nasleduje *l-l*- α -bisabolol (11,83 %), α - a β -farnézén (2,56 a 0,41 %) (obr. 2 a tab. 3).

Obr. 2 a tab. 3: Kvalitatívne vyjadrenie hlavných obsahových látok rumančeka kamilkového zo zberov v okolí Michaloviec



komponent silice	%
<i>l</i> - <i>l</i> - α -bisabolol	11,8 \pm 0,4
chamazulén	14,5 \pm 0,5
<i>l</i> - <i>l</i> - α -bisabololoxid A	33,0 \pm 1,0
<i>l</i> - <i>l</i> - α -bisabololoxid B	16,2 \pm 0,5
cis-en-in-dicykloéter	19,7 \pm 0,5
α -farnezen	0,42 \pm 0,01

Získané chromatografické výsledky obsahov hlavných komponentov v rumančekovej silici pestovanej odrody „LIANKA“ v roku 2018 potvrdili najvyšší obsah liečebne účinných prírodných látok: *l*-*l*- α -bisabololu (68,00 \pm 2,82 %) a chamazulénu (10,50 \pm 1,04 %) v izolovanej silici.

Záver

Štatistické spracovanie výsledkov kvalitatívno-kvantitatívnych charakteristík silice odrody 'LIANKA' a divorastúcej potvrdilo, že rôzne pôdno-klimatické podmienky rastu a ontogenézy rastlín nemajú vplyv na množstvo silice, čo pripisujeme polyploidii rastlín v populácií. Na druhej strane chemotyp populácií rastlín má výrazný vplyv na vysoko preukaznú rozdielnosť obsahov jednotlivých komponentov silice. Pestovaný rumanček kamilkový odrody 'LIANKA' patrí k bisabololovému chemotypu (obsah *l*-*l*- α -bisabololu až 69,73 % v silici) a autochtónna rumančeková populácia z Východoslovenskej nížiny je bisabololoxidového chemotypu (obsahy *l*-*l*- α -bisabololoxidov A a B až 49,36 %).

V súvislosti s liečebne aktívnymi prírodnými látkami sa dokázalo, aký význam má rumančeková odroda „LIANKA“ s osvedčením udeleným EÚ na obdobie do roku 2043 (Osvedčenie úradu ES, 2018). Potvrdil sa najvyšší obsahom *l*-*l*- α -bisabololu v silici, ktorý má výraznú liečebnú kvalitu produktov, liečiv, pomocných látok a liekov s výnimočnými organoleptickými, fyzikálnymi, chemickými, fyzikálno-chemickými, mikrobiologickými a biologickými vlastnosťami.

PodĎakovanie

Rád by som poďakoval svojmu školiteľovi, doc. RNDr. Ivanovi Šalamonovi CSc., za trpezlivosť, pomoc, podporu a konštruktívne rady a pripomienky, ktoré mi veľmi pomohli pri zostavovaní osnovy práce. Experiment s izoláciou silice rumančeka kamilkového (Matricaria recutita L.) a determinácia jej kvalitatívno-kvantitatívnych charakteristík sa realizovali v laboratóriách farmaceutickej firmy Calendula, a.s. v Novej Ľubovni.

Literatúra

ADAMS, R. P., 2007: Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. 4th Eds., Carol Stream, IL, USA: Allured Publishing Corporation, 804 p. ISBN: 1932633219.

FRANZ, CH., 1982: Genetische, ontogenetische und umweltbedingte Variabilität der Bestandteile des ätherischen Öls von Kamille, *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert In: Ätherische Öle-Analytic. Physiologie und Zusammensetzung. Georg Thieme Verlag. Stuttgart-New York: 214 – 224.

MANN, C., STABA, E. J., 1986: The Chemistry, Pharmacology and Commercial Formulation of Chamomile. In: CRAKER, L. E. – SIMON, J. E. (eds.): Herbs, Spices, and Medicinal Plants: Recent Advances in Botany, Horticulture, and Pharmacology. Vol. 1, Phoenix, AZ: Oryx Press., p. 235 – 280. ISBN 1-56022-043-0.

OSVEDČENIE ÚRADU SPOLOČENSTVA PRE ODRODY RASTLÍN. 2018: číslo 49433 odroda rumančeka kamilkového (*Matricaria recutita* L.) LIANKA, Pôvodcovia: ŠALAMON, I., FEJÉR, J., Úradný vestník Úradu Spoločenstva pre odrody rastlín, Angers, Francúzsko, č. 4, s. 76.

ŠALAMON, I., 2014: Medicinal Plants of High Significance in Slovakia. In: Medicinal Plants – International Journal of Phytomedicines and Related Industries. Vol. 6, Iss. 2, p. 75 – 80. ISSN 0975-4261.

ŠALAMON, I., 2007: Effect of the Internal and External Factors on Yield and Qualitative-quantitative Characteristics of Chamomile Essential Oil. In: Acta Horticulturae, No. 749, p. 45 – 64.

ŠALAMON, I., HABAN, M., OTEPKA, P., HABANOVÁ, M., 2018: Perspectives of Small- and Large- Cultivation of Medicinal, Aromatic and Spice Plants in Slovakia. In: Medicinal Plants – International Journal of Phytomedicines and Related Industries, Vol. 9, Iss. 4, p. 261 – 267.