



Uparedna analiza hemijskog sastava etarskih ulja anisa (*Pimpinella anisum* L.) i zvezdastog anisa (*Illicium verum* Hook.)

Milica Aćimović^{a*}, Jovana Stanković^b, Mirjana Cvetković^b, Biljana Kiprovska^a, Aleksandra Popović^c

^aInstitut za ratarstvo i povrtarstvo, Odeljenje za alternativne culture i organsku proizvodnju, Novi Sad, Srbija

^bUniverzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Beograd, Srbija

^cUniverzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Srbija

*Autor za kontakt: acimovicbabilmilica@gmail.com

SAŽETAK

Anis (*Pimpinella anisum* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice Apiaceae poreklom iz Mediteranske regije sa širokim arealom rasprostranjenja, dok je zvezdasti anis (*Illicium verum* Hook.) višegodišnja drvenasta biljka iz porodice Illiciaceae sa veoma uskim arealom gajenja koji obuhvata južni deo Kine i Vijetnam. Kod anisa se koristi plod sa semenom a kod zvezdastog anisa se koristi plod bez semena, koji je karakterističnog zvezdastog oblika, ali je i seme takođe bogato etarskim uljem. Obe ove vrste sadrže etarsko ulje, i to anis oko 1,7%, a zvezdasti anis od 4,3 do 6,7% u semenu, odnosno u plodu. U etarskom ulju obe biljne vrste dominantna komponenta je *trans*-anetol sa 93,2-96,4%.

KLJUČNE REČI

anis, zvezdasti anis, etarsko ulje, GC/MS analiza, *trans*-anetol.

Uvod

Anis (*Pimpinella anisum* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice Apiaceae. Stablo je uspravno, visine 30-70 cm, valjkastog oblika, šuplje, u gornjem delu razgranato, obraslo mekim kratkim dlačicama. Kod listova je zastupljena heterofilija, u zavisnosti od položaja na stablu. Cvast je složen štit, koji se sastoji od više od 100 petočlanih simetričnih cvetova prečnika do 3mm. Plod je šizokarpium, sivozelene boje, kruškastog oblika, sastavljen od dva plodića koji se spontano ne razdvajaju. Ova biljka je poreklom iz Mediteranske regije, ali ima širok areal rasprostranjenosti, sa uspehom se može gajiti u Srbiji (Aćimović, 2015).

Plod anisa, koji sadrži seme (*Anisi fructus*), najčešće je u upotrebi i koristi se usitnjen (kao puder) ili etarsko ulje (*Anise aethroleum*). Anis se upotrebljava u narodnoj medicini mnogih zemalja zbog svog blagotvornog efekta na sistem organa za varenje i disanje (Aćimović and Dojčinović, 2014). Takođe, često se koristi i za aromatizaciju alkoholnih pića, ali i kao dodatak slatkišima. Ima i veliki potencijal primene u organskoj poljoprivredi (Aćimović and Oljača, 2013). Novijim istraživanjima je potvrđeno da je dobar antioksidans i antimikrobni agens (Gülçin et al., 2003, Akhtar et al., 2008, Albulushi et al., 2014).

Zvezdasti anis (*Illicium verum* Hook.) pripada porodici Illiciaceae. Drvenasta je biljka, visine 8-15 m. Listovi su lancetasti do eliptični, dimenzija 5-15 cm x 2-5 cm. Cvetovi su žućkasto-zeleni, ponekad roze-crvenkasti, aksilarni ili subterminalni, prečnika 1,5-4 cm. Plod je sastavljen od nekoliko meškova (6-8) povezenih u zvezdastu formu, crvenkasto braon boje, koji se po sazrevanju otvaraju u krakove u kojima se nalazi seme jajastog oblika, sjajno braon (Wang 2011). Ova biljka ima veoma uzak areal gajenja koji obuhvata južni deo Kine i Vijetnam (George, 2000).

Zvezdasti anis se u istočnim zemljama koristi u gotovo iste svrhe kao anis na zapadu (Wang, 2011). Obično se koristi plod (*Anisi stellati fructus*) kao puder ili se iz njega ekstrahuje etarsko ulje (*Anisi stellati aethroleum*). U tradicionalnoj kineskoj medicini, puder se dodaje tradicionalnim čajevima za smirivanje nervoze i kod nesаницe, a etarsko ulje se koristi za lečenje bolova u stomaku. Takođe, može da se primenjuje i lokalno, za lečenje reumatskih tegoba (Wang, 2011). Široku upotrebu ima i u parfimeriji, aromaterapiji i prehrambenoj industriji (Chempakam and Balaji, 2008). Istraživanjima je potvrđeno da zvezdasti anis deluje antimikrobno (Singh et al. 2006; Ariamuthu et al., 2013) i antioksidativno (Padmashree et al., 2007; Yang et al., 2012), što ukazuje na mogućnost njegove upotrebe kao prirodnog konzervansa. Pored toga, utvrđeno je da poseduje i antifungalne osobine na biljne patogene što se može koristiti za njihovu kontrolu i sintezu biofungicida (Huang et al., 2010). Istraživanja ukazuju, da ova biljka može biti i potencijalni bioinsekticid, jer je ustanovljeno da metanolni

ekstrakt ploda zvezdastog anisa deluje repelentno i toksično na kukuruzni žižak (*Sitophilus zeamais*) (Wei et al., 2014).

Materijal i metod rada

U istraživanju je korišćen anis (*Pimpinella anisum*) gajen na eksperimentalnom polju u Mošorinu (45°18' N, 20°09' E, nadmorska visina 111 m) na zemljištu tipa karbonatni čerozem, tokom 2014. godine. Zvezdasti anis (*Ilicium verum*) (zemlja porekla Kina, distributer Lay Gewürze, Nemačka) kupljen je u lokalnom marketu. Neposredno pre analize, izvršeno odvajanje semena iz meškova zvezdastog anisa, i dobijeni materijal (seme i plodov omotač) je samleven, kao i seme anisa, i ekstrahovano je etarsko ulje postupkom hidrodestilacije na aparaturi po Clevenger-u (Eur. Ph., 2004).

Određivanje komponenata etarskog ulja vršeno je putem GC/MS. Gasni hromatograf Agilent 6890 je povezan sa selektivnim masenim detektorom Agilent 5973MSD, u pozitivnom režimu EI. Razdvajanje je vršeno na kapilarnoj koloni Agilent 19091 S-433 HP-5MS, dužine 30 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm i debljine filma 0,25 μm. Kao noseći gas korišćen je helijum sa protokom od 0,1 ml/min mereno na 210°C. Temperatura kolone je bila linearno programirana od 60°C do 285°C, a brzina podizanja temperature od 4,3°C/min. Injekciona temperatura je bila 250°C, temperatura izvora 200°C; temperatura interfejsa 250°C; energija jonskog izvora, 70 eV. Merenje masa vršeno je u opsegu 40-350 Daltona sa 11,47 skanova u minutu. Identifikacija komponenti je izvođena na osnovu retencionih indeksa i poređenjem masenih spektara sa spektrima biblioteka Wiley i NIST.

Rezultati i diskusija

Plod anisa (*Anisi fructus*) sadrži 1,7% etarskog ulja, a seme zvezdastog anisa (*Anisi stellati semen*) 4,3%, dok sam plodov omotač (*Anisi stellati fructus*) sadrži 6,7% etarskog ulja. Dominantna komponenta u sva tri etarska ulja je *trans*-anetol. Njegov udeo u etarskom ulju ploda anisa je bio najveći (96,4%), potom u semenu zvezdastog anisa (94,9%), dok je u plodu zvezdastog anisa bio najmanji (93,2%). U plodu anisa, druga komponenta po zastupljenosti je bila γ -himahalen sa 1,9%, a u etarskim uljima zvezdastog anisa to je limonene sa 2,7% u semenu, odnosno 2,9% u kapsuli, a potom metil kavikol sa 1,3%, odnosno 1,6%. Sve ostale komponente su bile prisutne sa manje od 1% (tabela 1). Tipični hromatogrami tri ispitivana etarska ulja prikazani su na grafikonu 1.

Tabela 1

Hemijski sastav etarskog ulja ploda anisa, semena i ploda zvezdastog anisa

Table 1

Chemical compounds from essential oils of anise fruit, star anise seed and fruit

Komponenta	R.T.	RI	Anisi fructus	Anisi semen	stellati fructus	Anisi fructus	stellati fructus
α -pinen	5.834	935	tr	0,2		0,2	
β -pinen	7.050	975	nd	tr		Tr	
α -felandren	7.910	1008	nd	tr		Tr	
δ -3-karen	8.094	1013	nd	0,2		0,2	
<i>p</i> -cimen	8.582	1027	nd	0,1		0,1	
Limonene	8.719	1031	nd	2,7		2,9	
Linalool	11.404	1103	nd	0,1		0,2	
NI	14.486	1174	nd	nd		0,1	
α -terpineol	15.315	1192	nd	tr		0,1	
metil kavikol	15.616	1200	nd	1,3		1,6	
<i>cis</i> -anetol	18.067	1255	0,9	0,2		0,1	
<i>p</i> -anis aldehyd	18.288	1258	0,1	tr		0,2	

<i>trans</i> -anetol	19.591	1291	96,4	94,9	93,2
δ -elemen	21.590	1342	0,1	nd	nd
α -kopaen	23.523	1380	nd	tr	0,1
<i>cis</i> - α -bergamoten	24.975	1417	nd	nd	0,1
<i>trans</i> -kariofilen	25.413	1424	nd	0,1	0,1
<i>trans</i> - α -bergamoten	26.119	1440	nd	0,1	0,3
α -himahalen	26.416	1454	0,2	nd	nd
<i>trans</i> - β -farnezen	27.078	1448	nd	tr	0,1
γ -himahalen	27.660	1483	1,9	nd	nd
d -germakren	27.795	1487	0,1	nd	nd
α -zingiberen	28.426	1500	0,2	nd	nd
β -himahalen	28.626	1506	0,1	nd	nd
<i>trans</i> -metil izoeugenol	28.742	1503	nd	tr	nd
foenikulin	35.959	1683	nd	0,1	0,4
Sadržaj etarskog ulja			1,7	4,3	6,7

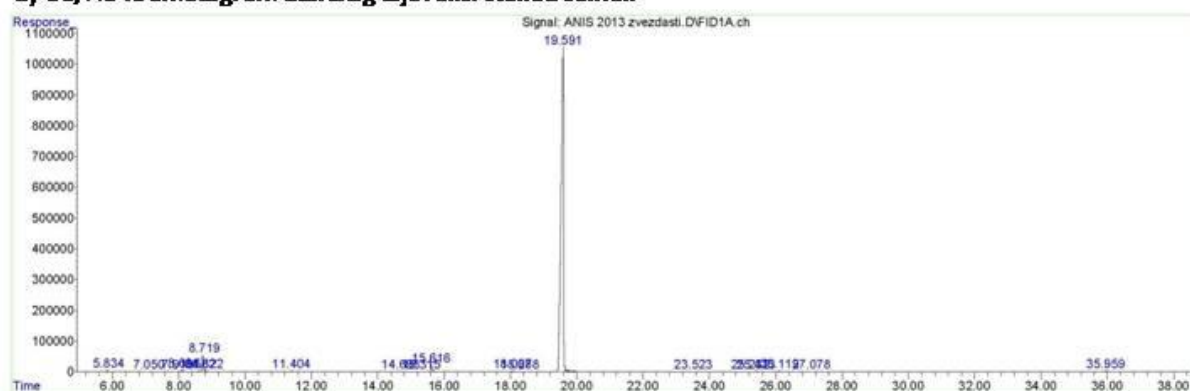
R.T. – retenciono vreme, RI – retencioni indeks, nd – nije detektovano, tr – detektovano u tragovima (manje od 0,1%)

R.T. – Retention time, RI – Retention index, nd – not detected, tr – detected in traces (less than 0.1%)

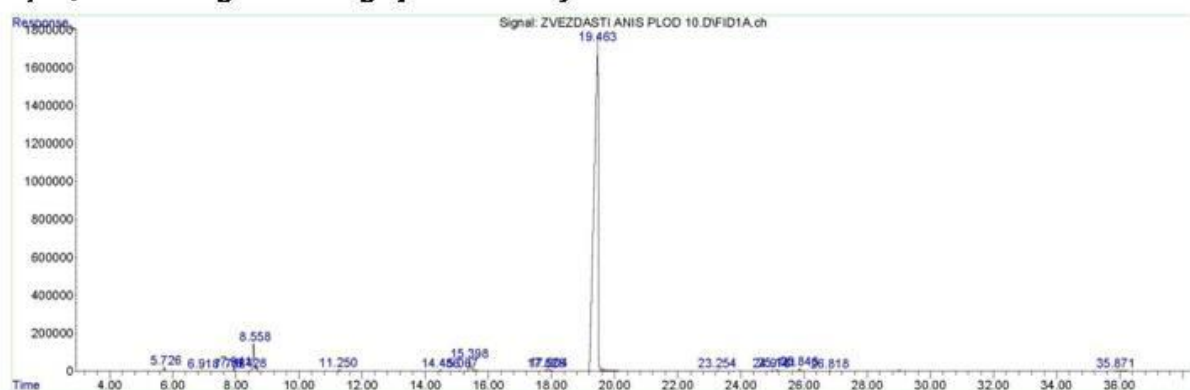
a) GC/FID hromatogram etarskog ulja *Anisi fructus*



b) GC/FID hromatogram etarskog ulja *Anisi stellati semen*



c) GC/FID hromatogram etarskog ulja *Anisi stellati fructus*



Grafikon 1. Tipični hromatogrami etarskog ulja ploda anisa, semena i ploda zvezdastog anisa.
Figure 1. A typical chromatogram of essential oil from aniseed, star anise seed and fruit.

Na osnovu istraživanja drugih autora ustanovljeno je da seme anisa sadrži 1,0-4,0% etarskog ulja (Faravani et al., 2013). Njegov sadržaj zavisi od mnogobrojnih faktora kao što su: ekološki uslovi, primenjena agrotehnika i stadijum zrelosti u kojem se izvodi žetva (Özel, 2009), ali i od genetskog potencijala (Orav et al., 2008), kao i od uslova skladištenja i dužine čuvanja (Siribel et al., 2009).

Sa druge strane, seme zvezdastog anisa sadrži 2,5-5,0% etarskog ulja dok sam plodov omotač sadrži 8,0-10,0% etarskog ulja (Hui et al., 2001; Panda, 2010). Međutim, iako i plod i plodov omotač imaju gotovo identičan hemijski sastav, za dobijanje etarskog ulja koristi se isključivo čaura. Plod je sa druge strane bogat masnim uljem, sadrži od 26.65% do 34.30% sa palmitinskom, margarinskom, stearinskom, linolnom i oleinskom masnom kiselinom (Zhao 2012).

Vrste *Pimpinella anisum* i *Illicium verum* su značajni izvori *trans*-anetola (Rodrigues et al. 2003). Udeo *trans*-anetola u etarskim uljima ovih vrsta je preko 90% (Rodrigues et al. 2003, Al-Masri et al. 2007). Ostale komponente kod anisa su: γ -himahalen, *trans*-pseudoizoeugenil 2-metilbutirat, *cis*-dihidrokarvon, metil kavikol, α -himahalen i β -himahalen (Aćimović et al., 2015), a kod zvezdastog anisa: α -pinen, limonen, β -felandren, α -terpineol, farnazol i safrol (Chouksey et al., 2010).

Trans-anetol je fenilpropen, slatkog aromatičnog mirisa i ukusa. Pored ove dve biljke dominira i u etarskom ulju komorača (Aćimović et al., 2013a). Naša ispitivanja su potvrdila da etarska ulja bogata ovom komponentom imaju značajan antioksidativni potencijal (Aćimović et al., 2016), antimikrobna (Grahovac et al. 2015) kao i insekticidna svojstva (Popović et al., 2016). Imajući u vidu široku upotrebu anisa, mogućnost gajenja na našem području, kao i male troškove proizvodnje (Aćimović et al., 2013b), ova biljka može biti jedna od značajnih lekovitih i aromatičnih biljaka za čije gajenje i primenu je potrebno zainteresovati potencijalne proizvođače i korisnike.

Zaključci

Plod anisa, kao i plod i seme zvezdastog anisa su značajni izvori *trans*-anetola. Ove dve vrste imaju identičnu primenu što je posledica gotovo istog hemijskog sastava. Za naše podneblje mnogo veći značaj ima anis (*Pimpinella anisum* L.), koji ima optimalne agroekološke uslove za rast u našoj zemlji, dok je zvezdasti anis (*Illicium verum* Hook.) biljna vrsta sa veoma uskim arealom rasprostranjenja. U plodu zvezdastog anisa ima više etarskog ulja u poređenju sa semenom.

Literatura

- Aćimović, M. (2015): Anis (*Pimpinella anisum* L.). Zadužbina Andrejević, Beograd, 99 str.
- Aćimović M., Jaćimović G., Đisalov J. (2013a): Preliminarni rezultati kvaliteta etarskog ulja komorača iz Srbije. Letopis naučnih radova, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, 37(1):157-165.
- Aćimović M., Mandić A., Stanković J., Cvetković M., Dojčinović N. (2016): The effect of caraway, anise and coriander fruit essential oils on oxidative stability of pumpkin seed oil. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (CMAPEEC 2016), Plovdiv, Bulgaria, 26-29 May 2016, Book of Abstracts, pp 166.
- Aćimović M., Oljača S., Kovačević D., Filipović V., Tasić S., Tešević V. (2013b): Kalkulacija proizvodnje ploda i etarskog ulja anisa u sistemu organske i konvencionalne poljoprivrede. Lekovite sirovine, Beograd, 33:73-81.
- Aćimović, M., Dojčinović, N. (2014): Pregled farmakoloških osobina ploda anisa (*Pimpinella anisum* L.). Lekovite sirovine, 34:3-17.
- Aćimović, M., Oljača, S. (2013): Mogućnosti primene kima, anisa i korijandra u organskoj proizvodnji. Biljni lekar, 41(4):460-466.
- Aćimović, M., Tešević, V., Todosijević, M., Djisalov, J., Oljača, S. (2015): Compositional characteristics of the essential oil of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* grown in Serbia. Botanica Serbica, 39(1):9-14.
- Akhtar, A., Deshmukh, A.A., Bhonsle, A.V., Kshirsagar, P.M., Kolekar, M.A. (2008): *In vitro* antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic bacteria. Veterinary World, 1(9): 272-274.
- Albulushi, S.M.A., Al Saidi, H., Amaresh, N., Mullaicharam, A.R. (2014): Study of physicochemical properties, antibacterial and GC-MS analysis of essential oil of the aniseed (*Pimpinella anisum* Linn.) in Oman. Research and Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2(4):24-33.
- Al-Masri, H., Iaine, D., Al-Jourani, M., Abu-Taha, M., Salem, K. (2007): Detection of vapour emissions from star anise seeds and mint leaves using the CO₂ laser photoacoustic technique. International Journal of Natural and Engineering Sciences, 1(3):105-113.
- Ariamuthu, S., Balakrishnan, V., Srinivasan, M.L. (2013): Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from fruits *Illicium verum* Hook. f. International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology, 3(2):85-89.
- Chempakam, B., Balaji, S. (2008): Star anise. In: Chemistry of spices (ed: Parthasarathy V.A., Chempakam B., Zachariah T.J.). CABI, pp:319-330.
- Chouksey, D., Sharma, P., Pawar, R.S. (2010): Biological activities and chemical constituents of *Illicium verum* Hook fruits (Chinese star anise). Der Pharmacia Sinica, 1(3):1-10.
- Faravani, M., Salari, B., Heidari, M., Kashki, M.T., Gholami, B.A. (2013): Effects of fertilizer and plant density on yield and quality of anise (*Pimpinella anisum* L.). Journal of Agricultural Sciences, 58(3):209-215.
- George, C.K. (2000): Star anise. In Handbook of Herbs and Spices, Volume 2, Edited by Peter K.V. CRC Press.
- Grahovac M., Aćimović M., Budakov D., Stojšin V., Maširević S., Stanković J., Cvetković M. (2015): Antifungal activity of *trans*-anethole rich essential oils against causal agents of apple bitter rot. Sixth International Scientific Symposium "Agrosym 2015", October 15-18, 2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, Book of Abstracts, pg. 455.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003): Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry, 83(3):371-382.

- Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q., Jiang, W. (2010): Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component *trans*-anethole. *Molecules*, 15:7558–7569.
- Hui, Y. H., Ghazala, S., Graham, D.M., Murrell, K.D., Nip, W.K. (2001): Handbook of Vegetable Preservation and Processing. Blackwell Publishing Ltd.
- Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2008): Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Natural Product Research*, 22:227-232.
- Özel, A. (2009): Changes on essential oil composition of aniseed (*Pimpinella anisum* L.) during ten maturity stages. *Asian Journal of Chemistry*, 21(2):1289-1294.
- Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A.D., Sharma, G.K., Agathian, G., Bawa, A.S. (2007): Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants. *Food Chemistry*, 104:59-66.
- Panda, H. (2010): Handbook on Spices and Condiments (Cultivation, Processing and Extraction). Asia Pacific Business Press Inc.
- Popović A., Petrović M., Šučur J., Aćimović M., Stanković J., Bursić V., Malenčić Đ. (2016): Effects of essential oil *Illicium verum* Hook. on the *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) adults. FA COST Action FA1405: Use three-way interactions between plants, microbes and arthropods crop protection and production. February 10-12, 2016, Malaga, Spain, Book of Abstracts, P1-3.
- Rodrigues, V.M., Rosa, P.T.V., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M. A.A. (2003): Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:1518-1523.
- Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M.P., Catalan, C. (2006): Chemical constituents, antimicrobial investigations and antioxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86:111-121.
- Siribel, A.A.M., Ibrahim, I.I., Adam, E.I. (2009): Effect of packaging materials and storage temperature on oil content of seeds (fruits) of two strains of anise (*Pimpinella anisum* L.) grown in Sudan. *Journal of Science and Technology*, 10 (3):102-108.
- Wang, G.W., Hu, W.T., Huang, B.K., Qin, L.P. (2011): *Illicium verum*: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 136:10-20.
- Wei, L.L., Hua, R.M., Li, M.Y., Huang, Y.Z., Li, S.G., He, Y.J., Shen, Z.H. (2014): Chemical composition and biological activity of star anise *Illicium verum* extracts against maize weevil, *Sitophilus zeamais* adults. *Journal of Insect Science* 14(80). Available online: <http://www.insectscience.org/14.80>
- Yang, C.H., Chang, F.R., Chang, H.W., Wang, S.M., Hsieh, M.C., Chuang, L.Y. (2012): Investigation of the antioxidant activity of *Illicium verum* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2):314–324.
- Zhao L.J. (2012) Analysis of Fatty Acids in Chinese Star Anise (*Illicium verum* Hook.f.) by GC-MS. *Food Science*, 33(12):250-253.

Comparative analysis of chemical composition of essential oils from aniseed (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium verum* Hook.)

Milica Aćimović^{a*}, Jovana Stanković^b, Mirjana Cvetković^b, Biljana Kiprovska^a, Aleksandra Popović^c

^aInstitute of Field and Vegetable Crops, Alternative Crops Department and Organic Agriculture, Novi Sad, Serbia

^bUniversity of Belgrade, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia

^cUniversity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia

*Corresponding author: acimovicbabicmilica@gmail.com

ABSTRACT

Anise (*Pimpinella anisum* L.) is a herbaceous annual plant from Apiaceae family. It originates from the Mediterranean region where it is quite widespread. On the other hand, star anise (*Illicium verum* Hook.) is an evergreen perennial plant from Illiciaceae family. The cultivation of the plant is restricted to south China and Vietnam. Fruit with seed is used from anise, while fruit without seed is used from star anise. The fruit of star anise derives its name from the characteristic star shape. The seed of this plant is rich in essential oil. Both species contain essential oil both in the seed as well as in the fruit, anise approximately 1.7%, star anise from 4.3 to 6.7%. The dominant component in essential oils of both species is *trans*-anethole (93.2-96.4%).

KEY WORDS

aniseed, star anise, essential oil, GC/MS analysis, *trans*-anethole

Primljen: 23.02.2017.

Prihvaćen: 12.04.2017.