



Viti i VI<sup>-të</sup> i Botimit, Nr.2,  
Dhjetor 2014

# STUDIMI ME TEKNIKËN E KROMATOGRAFISË TË GAZTË I VAJIT ESENCIAL PËR POPULLATËN E PINUS NIGRA, SHQIPËRI

Aurel Nuro\*, Jonida Salihila\*, Elda Marku\*, Dorina Shëngjergji\*\*, Aurora Napuce\*\*,  
Aida Dama\*\*

\* Departamenti i Kimisë, Fakulteti i Shkencave Natyrore, Universiteti i Tiranës

\*\*Departamenti i Farmacisë, Fakulteti i Shkencave Mjekësore, Albanian University

Adresë kontakti: nuroaurel@yahoo.co.uk

## Përmbledhje

**Objektivat:** *Pinus nigra* nga zona të ndryshme të Shqipërisë ishte objekt i këtij studimi. *Pinus nigra* është një pemë e zakonshme e pyjeve të Mesdheut, gjendet në zonat pyjore dhe në zonat e shkurreve. Gjendet duke filluar nga niveli i detit deri 2000 m lartësi. *Pinus nigra* është një pemë e madhe halore me gjelbërim të përhershëm, me gjatësi 20-55 m. Lëvorja është gri në të verdhë-kafe, dhe është e ndarë gjerësisht në pllaka me luspa të cilat bëhen më të theksuara, si çarje, me kalimin e moshës (1). Gjethet (“halat”) janë të holla dhe elastike. *P. nigra* ka një rritje të shpejtë, me rreth 30-70 cm në vit. Ajo zakonisht ka një formë të rrumbullakët konike që bëhet e parregullt me moshën. Pemët kanë jetëgjatësi, disa pemë arrijnë mbi 500 vjet. Ato kanë nevojë për diell të plotë që të rriten mirë, janë intolerante ndaj hijes, janë rezistente ndaj borës, por dëmtohen nga akulli.

**Metodat:** Mostrat janë marrë në Nëntor 2014. Distilimi me avuj uji për 6 orë i gjetheve të *Pinus nigra* u përdorën për të marrë vajin esencial. Përbërja kimike e vajrave esenciale u analizua duke përdorur teknikën GC/FID (2). Vaji esencial i mostrave të *Pinus Nigra* u injektua në aparatën Varian 450 GC. Kollona kapilare VF-1ms (30 mx 0,33 mm x 0,25 um) u përdor për ndarjen e komponimeve.

**Konkluzionet:** Alfa-Pineni u identifikua si përbërësi kryesor në të gjitha vajrat esenciale të mostrave të analizuar *Pinus nigra* (3; 4; 5).

**Fjalë çelës:** *Pinus nigra*, vaj esencial, alfa-Pinene, GC/FID.

## STUDY BY CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES OF ESSENTIAL OIL FOR PINUS NIGRA POPULATIONS, ALBANIA

### Abstract

**Objective:** Essential oils of *Pinus nigra* from different areas of Albania were subject of this study. *Pinus nigra* is a tree of the Mediterranean forests, woodlands, and scrub biome. It is found at elevations ranging from sea level to 2,000 m. *Pinus nigra* is a large coniferous evergreen tree, growing to 20–55 m. The bark is grey to yellow-brown, and is widely split by flaking fissures into

scaly plates, becoming increasingly fissured with age (1). The leaves (“needles”) are thinner and more flexible. *P. nigra* is moderately fast growing, at about 30–70 cm per year. It usually has a rounded conic form that becomes irregular with age. The tree can be long-lived, with some trees over 500 years old. It needs full sun to grow well, is intolerant of shade, and is resistant to snow and ice damage.

**Methods:** The samples were taken in November 2014. Stream distillation of *Pinus nigra* leaves were used for 6 hours to obtain essential oil. The chemical composition of the essential oils was analyzed using GC/FID technique (2). The oil of *Pinus Nigra* sample was injected in a Varian 450 GC. VF-1ms capillary column (30 m x 0.33 mm x 0.25  $\mu$ m) were used for separation of compounds.

**Results:** Alfa-pinene was identified as main constituents and all analyzed essential oils of *Pinus nigra* samples (3; 4; 5).

**Key words:** *Pinus nigra*, Essential oils,  $\alpha$ -Pinene, GC/FID.

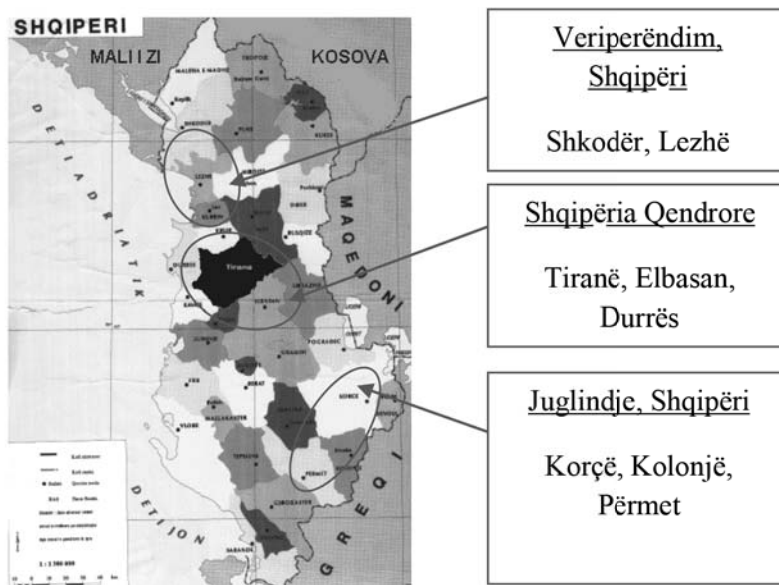
## Hyrje

*Pinus nigra* gjendet në lartësi duke filluar nga niveli i detit deri 2000 metra, më zakonisht nga 250-1,600 m. *Pinus nigra* është një pemë e madhe halore me gjelbërim të përhershëm, që rritet nga 20 në 55 metra e lartë. Trungu është me ngjyrë gri-e verdhë në kafe, dhe është e ndarë tërësisht në pllaka me luspa, duke u bërë gjithnjë më e çarë me moshën. Gjethet (“halat”) janë të holla dhe fleksible. Boçet femër dhe mashkull çelin nga maji deri në qershor. Konet e farave të pjekura janë 5-10 cm të gjata, të rrumbullakosura; ato bëhen nga e gjelbër e lehtë në gri apo të verdhë nga shtatori deri në nëntor, rreth 18 muaj pas pllenimit. Farat janë gri të errëta, 6-8 mm të gjata, me ngjyrë në të verdhë; ato shpërndahen nga era kur konet hapen nga dhjetori në prill. Pjekuria seksuale arrihen në 15-40 vjet; farat prodhohen në intervale 2-5 vjeçare. *P. nigra* ka një rritje mesatare të shpejtë, me rreth 30-70 centimetra në vit. Ajo zakonisht ka një formë të konike të rrumbullakuar që bëhet e parregullt me moshën. Pemët kanë jetëgjatësi të madhe, disa pemë arrijnë mbi 500 vjet të vjetra. Ato kanë nevojë për diell që të rriten mirë, dhe janë intolerante nga hijet, janë rezistente ndaj dëborës dhe dëmtohen nga akulli (3; 4; 5).

## Metodologjia

### Marrja e mostrave të *Pinus nigra*

Mostrat e *Pinus Nigra* janë marrë nga popullsitë e Veriperëndimit, Juglindjes dhe Shqipëria Qendrore. Halat e mostrave të *Pinus nigra* u morën në Nëntor, 2014. Stacionet e Veriperëndimit të Shqipërisë ishin: Shkodër dhe Lezhë; Stacionet Juglindore ishin Korçë, Kolonjë dhe Përmet dhe stacionet e Shqipërisë Qendrore ishin: Tirana, Elbasani dhe Durrësi. Stacionet e marrjes të mostrave të *Pinus nigra* janë paraqitur në Figurën 1.



**Figura 1.** Harta e marrjes të mostrave të *Pinus nigra*, Nëntor 2014

## Mjete dhe Reaktivë

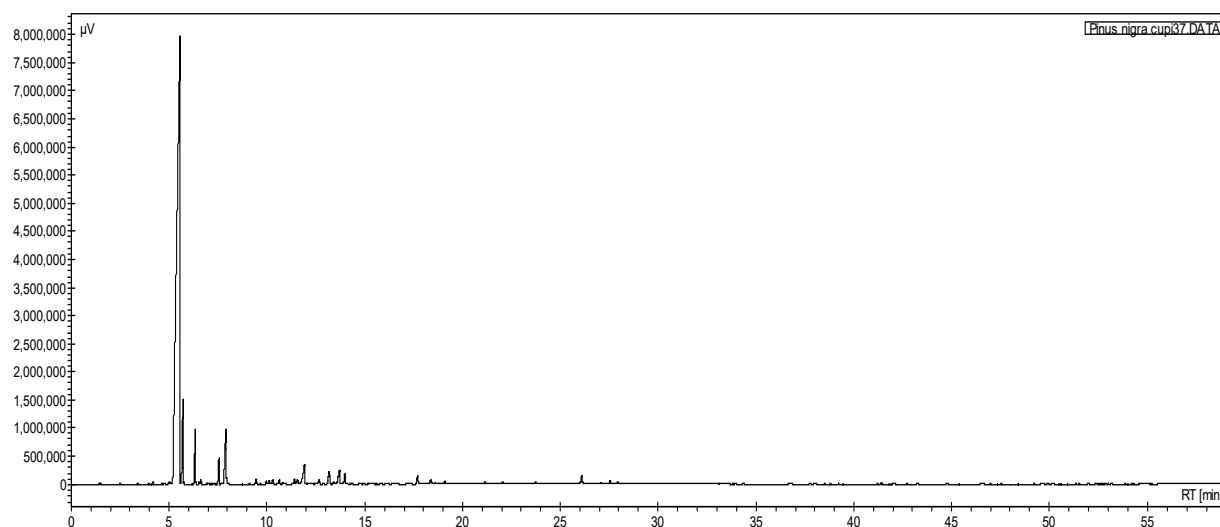
n-Hekzani dhe Tolueni të pastërtisë të lartë për përdorime gazkromatografike u sigurua nga Merck (Darmstadt, Germany). Përzjerja e n-alkaneve nga n-oktani (C8) deri në eikosanet (C20) u përdorën për llogaritjen e indekseve të Kovats (KI).

## Izolimi i vajrave esenciale për *Pinus nigra*

Materiali bimor i *Pinus nigra*, *hala pishe* (100 g hala pishe të thara në hije) ishin subjekt i hidro-distilimit për 6 orë pa ndërprerje me aparaturën e llojit Clevenger (rekomanduar nga Pharmacopoea Europea, 2014) për izolimin e vajit esenciale. Vaji esenciale u grumbullua në 2 ml Toluen si solvent ekstraktimi. Ekstraktit ju largua uji duke shtuar 1 gr sulfat natriumi anhidër. Ai u ruajt në viale të errët në +4°C. Vaji esenciale i *Pinus nigra* u hollua (1/50) në Toluen (v/v) që ishte dhe subjekt i analizës GC/FID.

## Aparatura dhe analiza gazkromatografike

Analiza gaz kromatografike e vajit esenciale të *Pinus nigra* u realizua në aparatën Varian 450 GC, të pajisur me injektor PTV dhe dedektor me jonizim në flakë (FID). Temperatura e injektorit dhe e dedektorit u vendosën respektivisht në 280°C dhe 300°C. 1 ul e vaj esenciale të *Pinus nigra* i holluar në toluen u injektuar në mënyrë splitless. Azoti u përdorur si gaz mbartës (1 ml/min) dhe si 'make-up gas' (25 ml/min). Hidrogjeni dhe ajri ishin gazet e flakës në detektor respektivisht me 30 ml/min dhe 300 ml/min. Kollona kapilare VF-1ms (30 mx 0,33 mm x 0,25 mu) u përdor për të izoluar komponimet vajit esenciale. Temperatura e furrës ishte programuar si vijon: nga 40°C (mbajtur për 2 minuta) në 150°C me 4°C/min, më tej në 280°C me 10°C/min, në 280°C u mbajt për 2 minuta. Identifikimi i komponimeve është bazuar në krahasimin e kohëve të daljes (RT) me indekset e Kovats-it të cilat së bashku me të dhënat e literaturës u përdorën për identifikimin e komponimeve kryesore. Të dhënat sasiore të komponimeve të analizuar janë dhënë në % kundrejt totalit (6; 7). Kromatograma e vajit esenciale të *Pinus nigra* për mostrën e marrë në Durrës është paraqitur në Figurën 2.



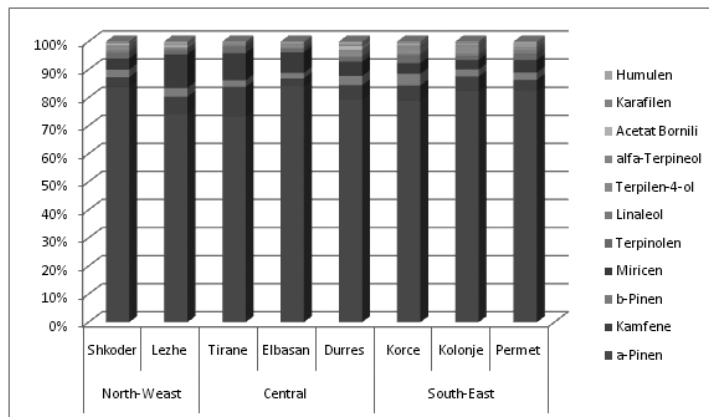
**Figura 2.** Kromatogramë e marrë me GC/FID për mostrën e *Pinus nigra* e marrë në Durrës

## Rezultatet

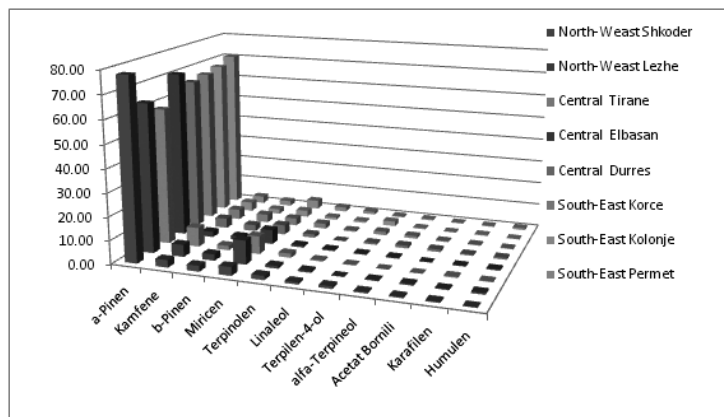
Vajrat esenciale të mostrave të *Pinus nigra* nga Veriperëndimi, Juglindja dhe Shqipëria Qendrore u analizuan duke përdorur teknikën GC/FID. Në këtë studim u prezantuan mesataret e rezultateve për mostrat e marra nga zona të njëjta. Të dhënat e mëposhtme bazohen në komponimet kryesore që u gjetën në të gjithë esencat e *Pinus nigra* me metodën kromatografike të përdorur. Të dhënat janë dhënë në përqindje për totalin e të gjithë pikeve të dedektuar përveç atij të Toluenit që u përdor si tretës për hollim. Piket me përqindje më të ulët se 0,01% nuk u morën në konsideratë në këtë studim. Tabela 1 dhe Figura 3 tregojnë përqindjen e komponimeve të dedektuar në mostrat e analizuar të *Pinus nigra* nga Veriperëndimi, Juglindja dhe Shqipëria Qendrore, 2014. Vaji esencial i *Pinus nigra* ka përqendrimet të larta të alfa-Pinenit, i dedektuar në të gjitha mostrat si komponenti kryesor. Përqindja e alfa-Pinenit u gjet nga 58,7% (Tiranë) deri në 77,9% (Shkodër). Kamfeni, beta-Pineni, Miriceni dhe Terpinoleni u gjetën për të gjitha mostrat në nivele 1-8%. Komponimet e tjera prezente u gjetën të kenë mesatare më të ulët se 1%. Shpërndarja e komponentëve të analizuar për mostrat *Pinus nigra* nga Veriperëndimi, Juglindja dhe Shqipëria Qendrore janë paraqitur në Figurën 4.

**Tabela 1.** Përqindjet e komponimeve të dedektuar për mostrat e *Pinus Nigra*, 2014

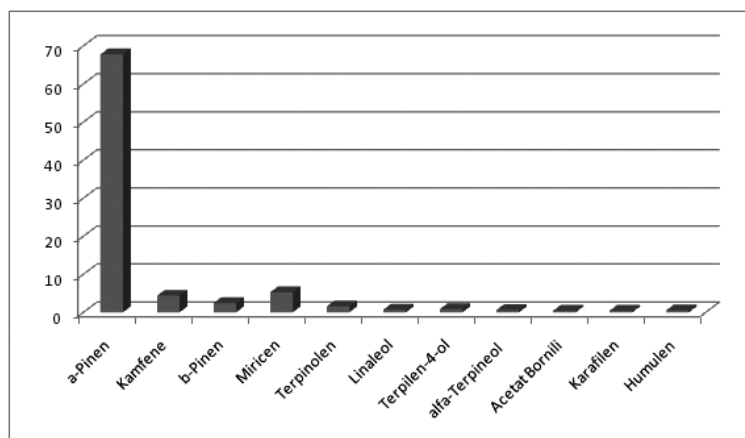
Komponimi	Veriperëndim		Qendrore			Juglindje			Përmet
	Shkodër	Lezhë	Tiranë	Elbasan	Durrës	Korçë	Kolonjë		
a-Pinen	77.90	63.90	58.60	71.20	65.3.9	66.50	67.90	70.50	
Kamphen	3.20	5.20	8.30	2.30	4.20	4.40	4.01	3.10	
b-Pinen	2.50	2.70	1.90	1.70	2.70	3.50	2.10	2.20	
Miricen	3.70	10.30	7.70	6.20	4.20	3.20	2.80	3.80	
Terpinolen	1.80	1.10	1.80	0.90	1.50	2.20	1.10	1.90	
Linaleol	0.90	0.70	0.50	0.60	0.00	0.60	0.80	1.20	
Terpilen-4-ol	1.10	0.00	0.20	0.40	0.80	1.50	2.10	0.50	
alfa-Terpineol	0.60	0.40	0.00	0.50	1.20	1.10	0.50	0.54	
Acetat Bornili	0.50	0.60	0.00	0.00	1.10	0.40	0.20	0.30	
Karafilin	0.50	0.40	0.50	0.30	0.54	0.35	0.45	0.36	
Humulen	0.20	0.70	0.30	0.50	0.77	0.32	0.22	0.82	



**Figura 3.** Përqindjet e komponimeve të dedektuar për mostrat e *Pinus Nigra*, Veriperëndim, Juglindje dhe Shqipëria Qendrore, 2014



**Figura 4.** Shpërndarja e komponimeve të dedektuar për mostrat e *Pinus Nigra*



**Figura 5.** Profili i komponimeve të dedektuar për mostrat e *Pinus Nigra*, 2014

### Diskutime

U vu re të ishte shpërndarje e njëjtë për të gjitha mostrat. Kjo është për shkak të së njëjtës specie *Pinus nigra* analizuar në zona të njëjta, për shkak të njëjtës kohë të marrjes së mostrave dhe gjithashtu për të

njëjtën moshë të pemëve të pishave. Pozicioni gjeografik (veçanërisht lartësia) është faktor i rëndësishëm për dallimet që gjenden midis mostrave të analizuar të *Pinus nigra*. Profili i komponimeve të analizuar për mostrat e *Pinus nigra* nga Shqipëria është paraqitur në Figurën 5. Për të gjitha mostrat u gjet alfa-Pineni > Miriceni > Kamfeni > beta-Pineni. Profili dhe nivelet e mostrave të *Pinus nigra* ishin të njëjta me studime të tjera të raportuara nga zona e Mesdheut dhe Ballkanit (3; 4; 5).

## Përfundime

Vajrat esenciale të mostrave të *Pinus nigra* nga Veriperëndimi, Juglindja dhe Shqipëria Qendrore u analizuan duke përdorur teknikën GC/FID. Kjo teknikë është e rekomanduar dhe nga literatura. Në këtë studim u prezantuan mesataret e rezultateve për mostrat e marra nga zona të njëjta. Të dhënat e mëposhtme bazohen në komponimet kryesore që u gjetën në të gjithë esencat e *Pinus nigra*. Piket me përqindje më të ulët se 0,01% nuk u morën në konsideratë në këtë studim. Vaji esencial i *Pinus nigra* ka përqendrimet të larta të alfa-Pinenit, i dedektuar në të gjitha mostrat si komponenti kryesor. Përqindja e alfa-Pinenit u gjet nga 58,7% deri në 77,9%. Kamfeni, beta-Pineni, Miriceni dhe Terpinoleni u gjetën për të gjitha mostrat në nivele 1-8%. Komponimet e tjera prezente u gjetën të kenë mesatare më të ulët se 1%. Shpërndarja e komponentëve të analizuar tek *Pinus nigra* u vu re të ishte e njëjtë për të gjitha mostrat. Kjo është për shkak të së njëjtës specie *Pinus nigra* të analizuar në zona të njëjta, për shkak të njëjtës kohë të marrjes së mostrave dhe gjithashtu për të njëjtën moshë të pemëve të pishave. Pozicioni gjeografik (veçanërisht lartësia) është faktor i rëndësishëm për dallimet që gjenden midis mostrave të analizuar të *Pinus nigra*. Profili i komponimeve të analizuar ishte: alfa-Pineni > Miriceni > Kamfeni > beta-Pineni. Profili dhe nivelet e mostrave të *Pinus nigra* ishin të njëjta me studime të tjera të raportuara nga zona e Mesdheut dhe Ballkanit (3; 4; 5). Analiza e vajrave esenciale të *Pinus nigra* të marra në stacione të ndryshme të Shqipërisë për të njëjtën periudhë, e bën këtë studim të plotë dhe me vlera të krahasuese midis këtyre stacioneve. Punimi do të ishte më i plotë nëse do të ishte disa vjeçar.

## Referenca

1. Wolfgang Kathe, Susanne Honnef & Andreas Heym. Medicinal and Aromatic Plants in Albania, Bosnia-Herzegovina, Bulgaria, Croatia and Romania. A study of the collection of and trade in medicinal and aromatic plants (MAPs), relevant legislation and the potential of MAP use for financing nature conservation and protected areas” WWF Deutschland / TRAFFIC Europe-Germany. 2003.
2. Arjon, A. Pines Drawings and Descriptions of the Genus Pinus 2nd ed. 2008: Brill ISBN 90-04-13916-8.
3. Serge Rezzi, Ange Bighelli, David Mouillot Joseph Casanova. Composition and chemical variability of the needle essential oil of *Pinus nigra* subsp. *laricio* from Corsica. Volume 16, Issue 5, pages 379–383, 2001.
4. Konig, W.A., Bulow, N., Saritas, Y. Identification of sesquiterpene hydrocarbons by gas phase analytical methods, Flavour Fragr. J., 1999; 14, 367-378.
5. Sezik, E., Ustun, O., Demirci, B., etj. Composition of the essential oils of *Pinus nigra* Arnold from Turkey, Turk J Chem, 2010; 34 313 – 325.
6. Adams, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Carol Stream: Illinois, USA 1995.
7. David, F., Scanlan, F., Sandra, P., Szelewski, M. Analysis of essential oil compounds using retention time locked methods and retention time databases, Application, Agilent Technologies, 5988-6530EN. 2010.