Fototransformacije spojeva prisutnih u eteričnim uljima

Škunca, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:038947

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-16**

FKITMCMXIX

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Škunca

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, 2018

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Škunca

FOTOTRANSFORMACIJE SPOJEVA PRISUTNIH U ETERIČNIM ULJIMA

ZAVRŠNI RAD

Mentor rada: prof. dr. sc. Irena Škorić
Neposredni voditelj: Ana Ratković, mag. appl. chem.
Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Irena Škorić
doc. dr. sc. Dragana Vuk
prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Zagreb, 2018

SADRŽAJ

SADRŽAJ III
SAŽETAK RADA V
1. UVOD 1
2. OPĆI DIO 2
2.1. Eterična ulja 2
2.1.1. Načini proizvodnje eteričnih ulja 3
Destilacija 3
Tiještenje 4
Ekstrakcija 4
2.1.2. Pohrana i uloga eteričnih ulja u biljci 5
2.1.3. Uzgoj i čuvanje eteričnog ulja 5
2.1.4. Eterična ulja na tržištu 6
2.1.5. Sastav eteričnih ulja 7
3. RASPRAVA 11
3.1. Uvod 11
3.2. Plinska kromatografija 11
3.2.1. Izvori plina nosioca 12
3.2.2. Injektor 13
3.2.3. Kromatografska kolona 13
3.2.4. Detektor 14
3.3. Spektrometar masa 15
3.4. Eterično ulje jela 18
3.5. Eterično ulje lovora 20
3.6. Eterično ulje bora 22
3.7. Eterično ulje kleke 24
3.8. Eterično ulje smilja 26
3.8.1. Eterično ulje smilja porijeklom iz okoline Mostara 26
3.8.2. Eterično ulje smilja s otoka Paga 28
3.9. Odrednice stabilnosti eteričnih ulja 31
3.9.1. γ-kurkumen 31
4. EKSPERIMENTALNI DIO 36

4.1. Opće napomene 36
4.2. Metode analize eteričnih ulja 37
4.2.1. Metoda 1 37
4.2.2. Metoda 2 37
4.2.3. Metoda 3 37
4.3. Osvjetljavanje eteričnog ulja 38
4.3.1. Osvjetljavanje na 420 nm 38
4.3.2. Osvjetljavanje na 366 nm 38
5. ZAKLJUČAK 39
6. LITERATURA 40
7. ŽIVOTOPIS 42

SAŽETAK RADA

Dobra topljivost eteričnih ulja u drugim biljnim uljima i laka apsorpcija kroz kožu omogućuje im primjenu u medicinskoj masaži i aromaterapiji. Komponente eteričnih ulja male su molekulske mase s 10-15 ugljikovih atoma u molekuli. Najvećim dijelom se sastoje od terpena (monoterpeni i seskviterpeni) i fenilpropanskih derivata. Glavnu grupu terpena u eteričnom ulju jele, bora i kleke čine monoterpeni, kod eteričnog ulja lovora to su oksigenirani monoterpeni, dok se eterično ulje smilja najvećim dijelom sastoji od monoterpenskih i seskviterpenskih ugljikovodika.

Eterična ulja bora, jele, kleke, lovora i smilja osvjetljavana su na 420 nm i 366 nm 48 sati u fotokemijskom reaktoru. Osvjetljavanjem se ispitala fotostabilnost komponenata eteričnih ulja uz prisutnost zraka, a sve se pratilo i analiziralo vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS). Analiza je pokazala da se nakon osvjetljavanja događaju promjene u sastavu eteričnih ulja, degradacija komponenata i nastajanje novih. Osvjetljavana ulja su se usporedila sa standardom, odnosno uzorkom ulja koji nije osvjetljavan kako bi se mogle uočiti razlike u sastavu. Najveće promjene u sastavu uočene su kod eteričnog ulja smilja iz čega proizlazi da je u usporedbi s ostalim uljima, smilje najmanje fotostabilno. To znači da se na eterično ulje smilja najviše treba paziti prilikom upotrebe i skladištenja, odnosno treba ga se čuvati u tamnim bocama s prikladnim čepom, te u tamnim i hladnijim prostorijama kao što su podrumi.

Od komponenata koje se mijenjaju u sastavu, najzanimljiviji je γ-kurkumen koji je uz neril-acetat jedan od najdragocjenijih komponenata eteričnog ulja smilja. Iz kromatograma frakcije obogaćene γ-kurkumenom nakon osvjetljavanja u trajanju od 48 sati vidi se smanjenje γ-kurkumena, odnosno povećanje drugih komponenata koje su njegovi mogući fotoprodukti. Do sada je jako malo provedenih istraživanja na ovu temu opisanih u literaturi i općenito ima malo informacija o fotostabilnosti eteričnih ulja i sličnih spojeva.

Ključne riječi: aromaterapija, eterično ulje, fenilpropanski derivati, fotostabilnost, γ-kurkumen, monoterpeni, plinska kromatografija-masena spektrometrija, seskviterpeni, terpeni.

SUMMARY

Phototransformations of compounds found in essential oils

Good solubility of essential oils in other vegetable oils and easy absorption through the skin allows them to be used in medical massage and aromatherapy. Essential oils are small molecular masses with 10-15 carbon atoms in the molecule. They mostly consist of terpenes (monoterpenes and sesquiterpenes) and phenylpropane derivatives. The main group of terpenes in essential oil of fir, pine and juniper are monoterpenes, while in the essential oil of laurel main group of terpens are oxygenated monoterpenes. Essential oil of immortelle is mostly composed of monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons.

Essential oil of pine, fir, juniper, laurel and immortelle were illuminated at 420 nm and 366 nm in chemical reactor. Photostability of essential oils was determined by 48 hour long illumination in the presence of air. Process was monitored and analyzed by the linked gas chromatographic-mass spectrometry (GC-MS) system. The analysis has shown that illumination affects on the changes in the composition of essential oils, component degradation and the formation of new ones. Illuminated oils were compared to the standard, which is an oil sample that is not illuminated, in order to notice the differences in the composition. The most significant changes in composition were seen in the essential oil of immortelle, which means that essential oil of immortelle compared to other oils is the least photostable. Poor photostability means that with the essential oil of immortelle should be carefully handeld. It should be kept in dark bottles with a suitable stopper and stored in dark and cold rooms such as basements.

Among the components that change, the most interesting is γ-curcumen which with neril acetate is one of the most valuable components of the essential oil of immortelle. From chromatogram of fraction which is enriched by γ-curcumene after 48 h long illumination, reduction of γ-curcumene can be spotted. Also, number of other components that are possible product of γ-curcumene decomposition increases. There is few researches on this subject in the literature and generally there is a small amount of information on the photostability of essential oils and similar compounds.

Key words: aromatherapy, γ-curcumen, essential oil, gas chromatographic-mass spectrometry, monoterpenes, phenylpropane derivatives, photostability, sesquiterpenes, terpenes.

1. UVOD

Eterična (esencijalna) ulja biljke sadrže u posebnim žlijezdama ili su dio stanice omeđen membranom. Smjese su lako hlapljivih, viskoznih spojeva koji su često biološki aktivni. Eterična ulja imaju poseban status među biljnim ekstraktima zbog cijene, mirisa te činjenice da se iz velike količine biljnog materijala dobije tek mala količina eteričnog ulja.

Također, većina eteričnih ulja manje je gustoće od vode, stoga plivaju na površini vode te se na taj način izdvajaju kod destilacije vodenom parom. Jedna od glavnih karakteristika eteričnih ulja je hlapljivost koja omogućuje jednostavnu medicinsku primjenu inhalacijom. Slabo su topljiva u vodi, ali se dobro otapaju u biljnim uljima, voskovima, koncentriranom etanolu, diklormetanu i sličnim otapalima. Dobra topljivost u biljnim uljima, a laka apsorpcija kroz kožu omogućuje im primjenu u medicinskoj masaži i aromaterapiji. Komponente eteričnih ulja male su molekulske mase s 10-15 ugljikovih atoma u molekuli. Najvećim dijelom se sastoje od terpena (monoterpeni i seskviterpeni) i fenilpropanskih derivata.

Najosjetljivija eterična ulja su ona bogata terpenima. Nepravilnim skladištenjem u prevelikim bocama, s lošim čepovima i na povišenoj temperaturi nastaju oksidi i peroksidi terpena koji smanjuju aktivnost eteričnih ulja i mogu im povećati toksičnost. Držanjem vani na svjetlu i u prozirnim bočicama, neki spojevi kao ftalidi mogu posve promijeniti strukturu i postati neaktivni.

Eterična ulja se najbolje kemijski analiziraju plinskom kromatografijom. Ako se žele otkriti promjene spojeva nastale u eteričnim uljima tijekom izlaganja dnevnom svjetlu i zraku, treba se uzorak koji je bio izložen usporediti sa standardom, odnosno eteričnim uljem koje nije bilo izloženo promjenama.

Motivacija za izradu završnog rada bila je zainteresiranost za eterična ulja, pogotovo ulje smilja i ispitivanje stabilnosti istog ako biva izlagano svjetlu te promjene koje nastanu kao posljedica. Isto tako, kao člana i budućeg radnika OPG-a koji posjeduje nasade smilja, smokava, maslina i badema, pojavilo se dodatno zanimanje za eterična ulja i njihovu upotrebu u kozmetici.

2. OPĆI DIO

2.1. Eterična ulja

Eterična ulja ili esencijalna ulja (lat. *aetheroleum*) su smjese lako hlapljivih, biološki aktivnih kemijskih spojeva koje se dobivaju iz različitih dijelova biljnog materijala, a ti dijelovi su:

- Korijen
- Stabljika
- List
- Cvijet
- Plod

Eterična ulja su najčešće žućkasta i bezbojna, premda znaju imati i izraženu boju ovisno o procesu dobivanja i biljnom materijalu iz kojeg su dobivena.[1] Većina eteričnih ulja slabo je viskozna, posebno slabije od biljnih ulja i vode. Također, većina eteričnih ulja manje je gustoće od vode, stoga plivaju na površini vode te se na taj način izdvajaju kod destilacije vodenom parom.[2] Sposobnost stvaranja eteričnog ulja pripada uglavnom porodici višeg bilja. Od 300 porodica biljnog carstva, eterična ulja prisutna su u preko 120 porodica.[3] Dobivaju se procesom destilacije (vodenom, vodeno-parnom, parnom) iz biljnog materijala, a može i tiještenjem ili ekstrakcijom. Sadrže od nekoliko pa do više stotina različitih spojeva. Glavni sastojci uglavnom čine oko 85 % eteričnog ulja, dok se ostale nalaze u tragovima.

Iako neke biljke sadrže eterična ulja u svim organima, njihova količina i sastav se međusobno razlikuju. Postoje razlike u kemijskom sastavu i prinosu ulja iste biljke s različitih klimatsko-pedoloških područja, kao i njihove sezonske kvalitativne i kvantitativne varijacije. Kemijski sastav eteričnih ulja ovisi o nekoliko faktora: starosti biljke, korištenom dijelu biljke, razvojnoj fazi, mjestu na kojem raste te vremenu sakupljanja.[3]

Danas je oko 300 eteričnih ulja komercijalno zanimljivo. Koriste se kao zdrava alternativa u nutricionizmu, farmaciji i agrikulturi, zbog njihovih antioksidacijskih, antimikrobnih, antifungalnih, insekticidnih i drugih svojstava. Nalaze se u mnogim granama industrije kao što su: prehrambena, farmaceutska, kozmetička, kemijsko-prerađivačka i druge.

2.1.1. Načini proizvodnje eteričnih ulja

Na kvalitetu eteričnog ulja, koje se može dobiti iz neke sirovine, utječu mnogi faktori, primjerice karakteristike tla, vremenski uvjeti u kojima je biljka rasla, nadmorska visina, način uzgoja, vrijeme i način berbe sirovine, tehnike proizvodnje. Velike su razlike u dostupnosti sirovina i količini rada potrebnoj da se iz njih proizvedu eterična ulja. Osim toga neke biljke sadrže više eteričnog ulja od drugih, pa je tako, primjerice, za 1kg eteričnog ulja ruže potrebno oko 4-5 tona ružinih latica, a za 1 kg eteričnog ulja od smilja potrebno je oko 1000 kg biljke.[4] Mala izdašnost sirovine i potreba da se uloži mnogo rada u procesu dobivanja ulja upravo je proporcionalna njihovim cijenama.

Postoji više načina na koje se eterična ulja dobivaju iz biljnog materijala. Izbor načina ovisi o vrsti sirovine, o količini eteričnog ulja sadržanog u njoj, svojstvima ulja koja se želi dobiti i namjeravanoj primjeni. Najčešći načini dobivanja eteričnih ulja su:

- destilacija,
- tiještenje i
- ekstrakcija otapalima.

Destilacija

Destilacija je metoda koja se najčešće koristi za izolaciju eteričnih ulja iz biljnog materijala. Od nekoliko načina destilacije, destilacija vodenom parom je postupak kojim se najčešće koristi za obradu biljnog materijala.

Postupak teče tako da vodena para prolazi kroz biljni materijal stavljen na šupljikavu pregradu kotla za destilaciju. Kad para zagrijava biljni materijal, stjenke stanica, kojima je u biljci pohranjeno eterično ulje, pucaju, eterično ulje se oslobađa i isparava tvoreći mješavinu s vodenom parom. Ta mješavina zatim prolazi kroz cijev izvana hlađenu vodom, pa se mješavina vodene pare i eteričnog ulja kondenzira i kapa u posebnu posudu u kojoj se, zbog razlika u relativnoj gustoći, eterično ulje prirodno razdvaja od vode. Eterično ulje najčešće pliva na površini vode, ali se katkad skuplja i na dnu. Rezultat takve destilacije su čisto, prirodno i izvorno eterično ulje i hidrolat.

Na kvalitetu proizvedenog eteričnog ulja utječu varijacije u trajanju procesa destilacije, u primijenjenoj temperaturi i tlaku, a potrebno je detaljno poznavanje specifičnih karakteristika svakoga pojedinog biljnog materijala koji se destilira. Za proizvodnju eteričnih ulja aromaterapijske kvalitete treba mnogo znanja, preciznosti, umijeća, strpljenja, iskustva i istinske posvećenosti (Slika 1.).

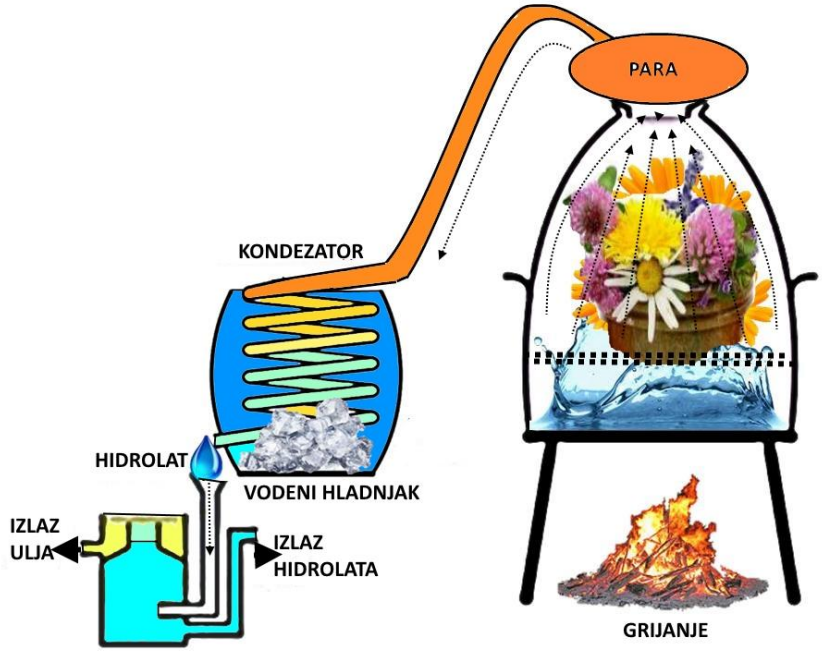
Tiještenje

Osim metodom destilacije vodenom parom eterična ulja za aromaterapijske potrebe mogu se dobivati i mehaničkim postupkom. Tako se proizvode eterična ulja citrusa – tiještenjem kore plodova. Postoje mnoge mehanizirane metode proizvodnje takvih ulja, ali se najkvalitetnija ulja citrusa i danas dobivaju ručnim tiještenjem.

Destilirana eterična ulja citrusa kemijskim se sastavom razlikuju od onih dobivenih tiještenjem. U aromaterapiji se preferiraju tiještena ulja.

Ekstrakcija

Eterična se ulja iz biljnog materijala dobivaju i ekstrakcijom različitim otapalima, ali se kod većine tih metoda, zbog neophodnosti naknadnog uklanjanja otapala i nemogućnosti da se ono izvede u potpunosti, dobivaju se ulja koja se ne smatraju prikladnima za upotrebu u aromaterapiji. Eterična ulja dobivena tom metodom su cijenjena sirovima u industriji parfema. Najpoznatiji primjer tako dobivenog ulja je ulje jasmina.[4]



Slika 1. Destilacija vodenom parom biljnog materijala

2.1.2. Pohrana i uloga eteričnih ulja u biljci

Eterična ulja nastaju kao proizvodi biljnog metabolizma i mogu biti pohranjena u raznim dijelovima biljke: u pupoljcima, cvjetovima, lišću, stabljikama, grančicama, sjemenju, stablu, kori drveta i kori plodova, smolama, korijenju, podancima.

Znanost još nema potpun odgovor čemu ona sve služe u životnom ciklusu biljke. Jasno je da eterična ulja igraju važnu ulogu u prilagođavanju biljke okolini i komuniciranju s njom. Zna se, primjerice, da mirisom eteričnog ulja biljke privlače kukce radi oprašivanja, da ona mogu štititi biljku od infekcija, stvarati oko nje parama zasićenu atmosferu koja sprječava prekomjerno gubljenje vlage, da mogu štititi biljku od biljojeda ili djelovati poput herbicida stvarajući oko biljke područje na kome stanovite biljke ne mogu uspijevati. Biljke, u pravilu, sadrže vrlo male količine eteričnog ulja.[4]

2.1.3. Uzgoj i čuvanje eteričnog ulja

Za kvalitetu i kemijski sastav eteričnih ulja vrlo je bitan način na koji se biljke uzgajaju i rastu. Na tržištu se mogu naći biljke s ovakvim oznakama uzgoja i rasta:

- Divlji (samonikli) rast. Biljka se potpuno prilagodi okolišu. Ovo je najbolji način rasta biljke, a eterična ulja koja su proizvedena iz ovakvih biljaka iznimno su visoke kvalitete. Biljka proizvede upravo one tvari koje su joj potrebne kako bi funkcionirala u ekosustavu[5].
- Certificirani biološki divlji rast. Iako je divlji rast, stanište ovakvih biljaka pregledavaju posebne komisije koje daju certifikat da je ono pogodno za branje i da se ne nalazi u blizini zagađenog okoliša.[2]
- Konvencionalni uzgoj. Biljke samo jedne vrste uzgajaju se na određenom zemljištu i rastu uz upotrebu umjetnih gnojiva, pesticida i herbicida. Zbog toga što neki uzgajivači ne poštuju doba između branja i zaprašivanja, ovaj uzgoj je najrizičniji, što pridonosi tome da biljke na sebi i u sebi sadrže opasne insekticide.[2]
- Biološki uzgoj. Poznat kao ekološki uzgoj; također, i kod ovog uzgoja postoje problemi zbog uzgajivača koji uzgajaju biljke na neprikladnoj zemlji. Kao i kod konvencionalnog uzgoja, ovdje se, također, uzgajaju biljke u monokulturama. Prednost je što se ne koriste insekticidi i umjetna gnojiva. Kvalitetu uzgoja ispituje posebna komisija, obraćajući pažnju da je zemljište udaljeno od zagađivača i proizvođača koji koriste umjetna gnojiva, herbicide i insekticide.[2]

- Biodinamički uzgoj. Jedan je od najtežih uzgoja. Biljke se uzgajaju u polikulturama te se oponaša divlji rast. Uzgojem se bave isključivo ljudi, ne koristeći mehanička sredstva. Kvaliteta biljaka je visoka jer nisu zagađene, ali su i pripravci takvih biljaka skupi.[2]

Eterično ulje se čuva na tamnom i hladnom mjestu, a eterična ulja od agruma i igličastog drveća držite u hladnjaku. Treba znati da kisik iz zraka može stupiti u kemijske reakcije s pojedinim komponentama eteričnih ulja. Zato je dobro eterična ulja što je moguće manje izlagati zraku. Potrebno je također napomenuti da temperatura i svjetlost ubrzavaju dekompoziciju ulja. Kao opće pravilo treba smatrati da će ulje ostati ispravno godinu dana od otvaranja bočice. Čuvanje u hladnom može produžiti taj rok do dvije godine.[4]

2.1.4. Eterična ulja na tržištu

Komercijalno dostupna destilirana eterična ulja su vrlo često bila podvrgnuta pročišćavanju naknadnom destilacijom ili nekim drugim postupcima kojima se ulja prilagođavaju potrebama raznih grana industrije. Procjenjuje se da se od ukupne količine u svijetu proizvedenih eteričnih ulja za aromaterapijske potrebe koristi svega 3-5%. Većina proizvedenih količina se koristi u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, te u proizvodnji parfema i kozmetike.[4] Eterična ulja su jako cijenjena na tržištu te sukladno s time mogu postići i poprilično visoku cijenu (Slika 2.).

Slika 2. Izgled pakovanja eteričnog ulja namijenjenog za prodaju i tržište.

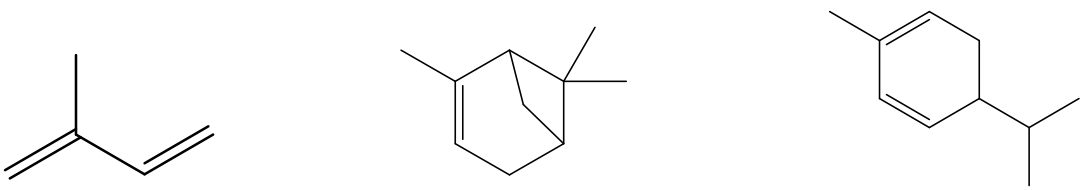
2.1.5. Sastav eteričnih ulja

Eterična ulja se sastoje od lipofilnih i visoko isparljivih sekundarnih biljnih metabolita s molekulskom masom do najviše 300 Da (Da = Ar(H) =1,008 g/mol) te se mogu fizički odijeliti od drugih dijelova biljke. Sastoje se od cijelog niza različitih klasa uglavnom lipofilnih i hlapljivih spojeva.[3] Najzastupljeniji spojevi u eteričnim uljima su:

- Terpeni (monoterpeni i seskviterpeni)
- Fenilpropanski derivati
- Ostali spojevi

Terpeni

Terpeni (engl. *terpenes*) su glavni sastojci tipičnih eteričnih ulja. Naziv potječe od terpentina koji se dobiva destilacijom smole bora (tzv. terpentinsko ulje). Wallach je 1881. godine utvrdio izopren (2-metilbuta-1,3-dien) kao strukturnu jedinicu zajedničku svim terpenima, a koji se kraće označava C5-jedinicom. Predložio je građu pravilnih terpena (izoprensko pravilo) od izoprenskih jedinica povezanih na način "glava na rep" (engl. "*head to tail*"), odnosno razgranati završetak jedne C5-jedinice (glava) povezan je na nerazgranati završetak druge C5-jedinice.[3] (Slika 3.).



izopren alpha-Pinene alpha-Phellandrene

Slika 3. Primjeri pravilnih terpena

Osim pravilnih terpena, postoje i nepravilni terpeni koji su građeni od izoprenskih jedinica povezanih na drugi način, npr. "glava na glavu" ili "rep na rep".[3] U Tablici 1. Prikazana je podjela terpena prema broju izoprenskih jedninica.

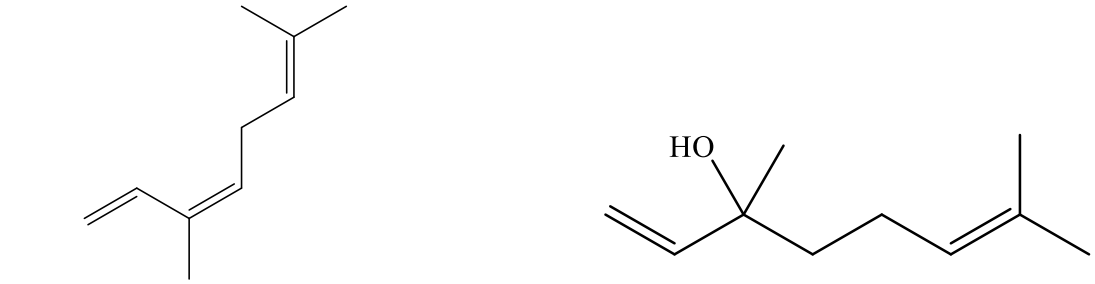
Semiterpeni, monoterpeni i seskviterpeni su isparljivi (t_v < 250°C) te ulaze u sastav eteričnih ulja. Terpeni se nadalje mogu dijeliti na cikličke i acikličke, a prema funkcijskim skupinama mogu biti terpenski ugljikovodici, alkoholi, fenoli, kiseline, esteri, aldehidi, ketoni i dr. Eterično ulje se može sastojati od velikog broja terpenskih spojeva (preko 100). Ipak, kod mnogih ulja jedan ili više terpena prevladava tako da su opći karakter ulja, mirisna svojstva i fizikalno-kemijske karakteristike uvjetovane glavnim sastojcima.[3]

Tablica 1. Podjela terpena prema broju izoprenskih jedinica[3]

Vrsta	Broj C atoma	Broj izoprenskih jedinica	Uloga u organizmu ili odabrani primjer
semiterpeni	**5**	**1**	**biljni hormoni, feromoni**
monoterpeni	**10**	**2**	**feromoni, obrambeni sekreti**
seskviterpeni	**15**	**3**	**metaboliti**
diterpeni	20	4	fitol
triterpeni	30	6	steroidi (hormoni), nesteroidi
tetraterpeni	40	8	karotenoidi
politerpeni	5*n*	*n*	Prirodne gume

- **Monoterpeni**

Monoterpeni se mogu podijeliti prema funkcijskim skupinama (= i ≡ veze, -OH, -CHO, -C=O, -COOH, -COOR, -O- i dr.). Također se mogu podijeliti na pravilne (aciklički, monociklički, biciklički i triciklički) i nepravilne monoterpene. Nepravilni monoterpeni sadrže izoprenske jedinice povezane "glava na glavu" ili "glava na sredinu".[3] Najpoznatiji spojevi koji spadaju u skupinu acikličkih monoterpena uključuju ocimen, mircen (kleka), linalol (lovor) i ostale (Slika 4.).



1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-
Ocimen

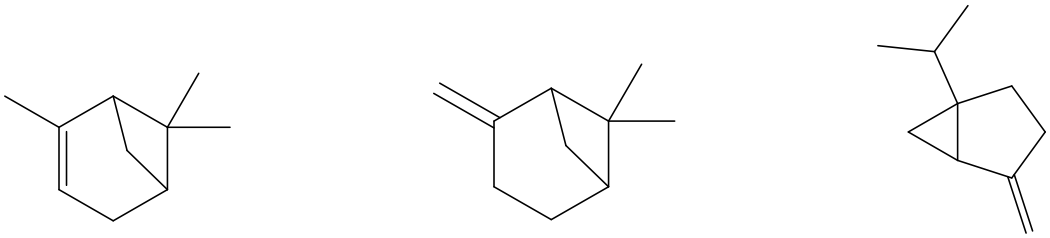
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
Linalol

Slika 4. Primjer acikličkih monoterpena

Najveću grupu monocikličkih monoterpena čine derivati 1-metil-4- izopropilcikloheksana, tj. *p*-mentana.[3] Najvažniji predstavnici ove grupe monoterpena su limonen (smilje, lovor, bor), *α*-, *δ*- i *γ*-terpinen (bor, jela), *p*-cimen (bor, kleka) (Slika 5.).

Slika 5. Struktura limonena i *p*-cimena.

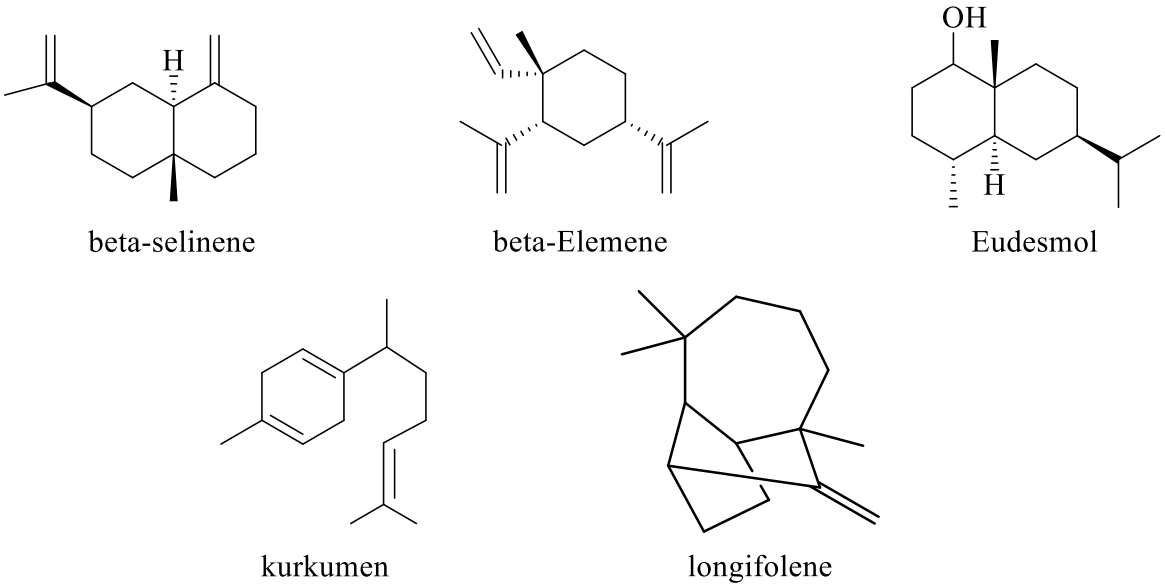
Najvažniji predstavnici bicikličkih monoterpena su borneol, *α*- i *β*-pinen (bor, lovor), izoborneol, tujoni (jela, bor) i sabinen (bor, kleka) (Slika 6.)



Slika 6. Struktura *α*-, *β*-pinena i sabinena.

- **<u>Seskviterpeni</u>**

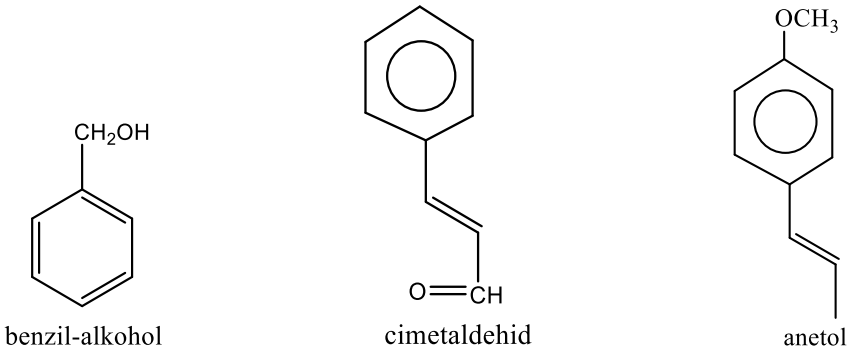
Seskviterpeni su klasa terpena koji se sastoje od tri izoprenske jedinice i imaju molekulsku formulu $C_{15}H_{24}$.[5] Kao i monoterpeni, seskviterpeni su značajni premda količinski manje zastupljeni sastojci eteričnih ulja. Slično kao i kod monoterpena, biokemijske modifikacije kao što su oksidacija ili premještanje rezultiraju postojanju vrlo velike strukturne raznolikosti seskviterpena. Seskviterpeni se prirodno javljaju u biljkama i insektima, kao semiokemikalije, obrambeni agensi ili feromoni.[5] Seskviterpeni se dijele na acikličke i cikličke (monocikličke, bicikličke, tricikličke).[3] Najpoznatiji monociklički seskviterpeni su *β*-elemen (kleka), bisabolen, kurkumen (smilje) i humulen. Iz skupine bicikličkih seskviterpena najzastupljeniji su *α*-kadinen, *α*- i *β*-selinen (smilje), eudesmol (smilje) i *β*-kariofilen. Od tricikličkih seskviterpena najpoznatiji su longifolen i kopaen (Slika 7.).



Slika 7. Struktura *β*-selinena, *β*-elemena, eudesmola, kurkumena i longifolena.

Fenilpropanski derivati

Fenilpropanski derivati (engl. *phenylpropane derivatives*) su prirodni organski spojevi koji sadrže fenilni prsten s jednim bočnim propanskim lancem. Mogu biti aldehidi, fenoli te fenileteri koji se izvode iz cimetne kiseline.[3] Posebnu grupu fenilpropanskih sastojaka čine spojevi sa skraćenim ili eliminiranim bočnim lancem. Tu spadaju fenilkarboksilne kiseline ili jednostavni fenoli, kao i kumarini (Slika 8.).



Slika 8. Struktura nekih fenilpropanskih derivata.

Ostali spojevi

Pod ostalim spojevima koji ulaze u sastav eteričnih ulja najčešće se podrazumijevaju lančasti ugljikovodici (*n*-heptan) i njihovi derivati s kisikom. Eterična ulja nekih biljaka sadrže stearoptene, parafinu slične ugljikovodike s 15-30 ugljikovih atoma, koji stajanjem spontano kristaliziraju.[3] Također treba spomenuti spojeve s dušikom i sumporom, koji se rjeđe pojavljuju u sastavu eteričnih ulja i uglavnom su karakteristični za pojedine biljne vrste.

3. RASPRAVA

3.1. Uvod

Analiza sastava šest različitih eteričnih ulja provedena je sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS). Terpeni su glavni sastojci eteričnih ulja i oni drže većinski udio u samom sastavu. Svako eterično ulje ima različitu zastupljenost terpena u svome sastavu ponajviše zbog različitosti u vrsti i rodu biljaka čije se ulje analizira.

3.2. Plinska kromatografija

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci razdjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna, stacionarna, dok se druga pokretna, odnosno mobilna, giba se u određenom smjeru.[6] Pokretna faza kod plinske kromatografije je inertni plin (npr. helij, dušik ili vodik), a kod tekućinske kromatografije i kromatografije na tankom sloju može biti bilo koje otapalo ili smjesa otapala, kao što su metanol ili voda. Analizirani uzorak se jače ili slabije veže za nepokretnu fazu. Ako se veže slabo, onda ga pokretna faza brzo odnosi. Ako se veže jako, onda ga odnosi polako ili ga uopće ne odnosi. Smisao kromatografije u analitici je dokazivanje čistoće neke tvari i utvrđivanje spojeva u smjesi kao što je eterično ulje.[6,7] Plinska kromatografija je kromatografska separacijska tehnika za kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata analiziranog uzorka. Nepokretna faza je selektivna tekućina velike viskoznosti ili selektivna krutina. Obzirom da je pokretna faza plin, pri analizi komponente smjese moraju se prevesti u plinsku fazu.[6]

Komponente plinskog kromatografa su:

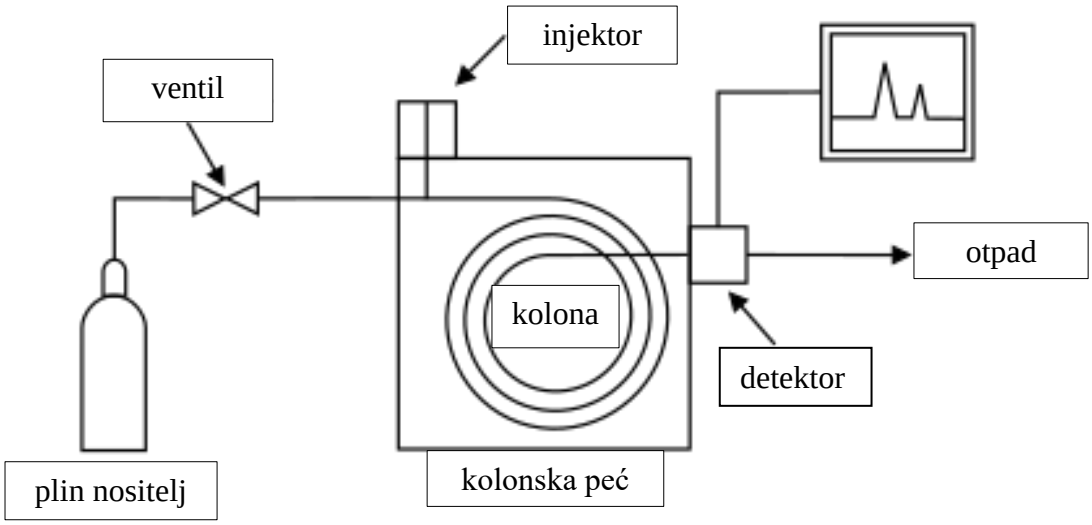
- rezervoar s plinom nosačem
- regulator tlaka i protoka
- injektor
- stupac
- detektor

Injektor, stupac i detektor moraju se nalaziti u termostatiranom odjelu. Plin nosač mora biti pročišćen i ne smije sadržavati ugljikovodike, kisik niti vodenu paru. Uzorak se unosi putem mikroinjektora ili pomoću automatskog uređaja (*autosampler*). Jedan od glavnih uvjeta da bi se plinskom kromatografijom uzorak mogao analizirati je njegova hlapljivost, tj. da ga na

određenoj temperaturi možemo prevesti u plinovito stanje. Injektor ima ulogu da pretvori uzorak u plinovito stanje i pomiješa ga s mobilnom fazom. Plin nositelj struji i odnosi uzorak na kolonu (stupac) gdje dolazi do adsorpcije na nepokretnu fazu i ponovnog isparavanja uzorka u pokretnu fazu. Zbog različite hlapljivosti i polarnosti tvari pojedine komponente smjese imaju različit koeficijent razdiobe pa različitim brzinama putuju kolonom i dolaze do detektora (Slika 9.). Kod plinske kromatografije kao detektor za pojedine sastojke služi svaki uređaj koji može na osnovu neke fizikalne ili kemijske promjene zabilježiti prisutnost eluirane komponente. Postoji više vrsta detektora za GC. Neki su univerzalni, a neki su osjetljivi samo na pojedine komponente.[7-9]

Tipovi detektora za GC su:

- TCD (Detektor termalne provodljivosti)
- FID (Plamen-ionizacijski detektor)
- ECD (Detektor zarobljavanja elektrona)
- NPD (Dušik-fosforni detektor)
- PID (Foto-ionizacijski detektor)



Slika 9. Shema plinskog kromatografa (GC)

3.2.1. Izvori plina nosioca

Najčešće se upotrebljavaju helij ili dušik, a može se koristiti i vodik uz nužne mjere opreza. Kao izvor plina nosioca koriste se boce s plinom odgovarajuće kvalitete. Kvaliteta odnosno čistoća plina nosioca može značajno utjecati na kvalitetu analize te je potrebno koristiti

plinove čistoće ≥99,999%. Regulator tlaka na boci s plinom nosiocem namjesti se tako da je ulazni tlak u instrument do 6 bara.[9]

3.2.2. Injektor

Injektor je dio plinskog kromatografa koji se nalazi na početku kromatografa, a služi za isparavanje analiziranog uzorka i njegovo miješanje s plinom nosiocem koji nosi komponente na kolonu. Termostatiran je na temperaturu određenu metodom analize, koja je najmanje 20 °C viša od temperature vrelišta najmanje hlapljive komponente smjese. Nakon što se uzorak unese kromatografskom iglom u injektor, dolazi do isparavanja te miješanja s plinom nosiocem koji nosi molekule uzorka duž kolone. Što se komponenta slabije veže za stacionarnu fazu, to je plin brže iznese s kolone. Ukoliko uzorak sadrži nehlapljive komponente, one zaostaju u cjevčici injektora. Injektori za rad s kapilarnim kolonama opremljeni su uređajem za djelomično unošenje uzorka pri čemu se samo dio uzorka nanese na kromatografsku kolonu. Injektor može biti opremljen i uređajem za elektronsku kontrolu protoka plina nosioca što omogućava rad pri uvjetima konstantnog protoka.[9]

3.2.3. Kromatografska kolona

Kromatografska kolona je dugačka staklena ili metalna cijev različitih dimenzija kojoj je na stijenci ili na ispuni od krutog nosača nanesen sloj nepokretne faze. Postoje dvije vrste stupaca za GC: pakirani i kapilarni stupci. Pakirani stupci, koji se danas manje koriste, su duljine od 1 do 3 metra, a unutarnji promjer je 3 do 6 mm, a punjeni su silikatnim materijalom. Kapilarni stupci se izrađuju od rastaljenog silicijevog dioksida, dobivenog spaljivanjem silicijevog tetraklorida u prisutnosti kisika. Unutarnji promjer im je od 100 do 530 μm, a duljina od 12 do 100 metara. Kapilarni su stupci fleksibilni i proizvode se kao kružni namotaji.

Komponente smjese nošene plinom nosiocem razdvajaju se na osnovi njihove različite topljivosti u tekućoj nepokretnoj fazi, različitoj adsorpciji na krutoj nepokretnoj fazi ili razlici u veličini molekula. Kapilarne kolone imaju unutrašnji promjer od 0,10 mm do 0,53 mm, dužinu 5-60 m i više, te debljinu sloja nepokretne faze 0,1-5 μm. Punjene kolone imaju unutrašnji promjer 2-4 mm dužinu 1-3 m uz različit postotak nanesene nepokretne faze u odnosu na kruti nosač (1-15%). Optimalne brzine protoka helija kao plina nosioca za različite unutarnje promjere kolona dane su u Tablici 2.[9]

Tablica 2. Optimalne brzine protoka helija za različite unutarnje promjere kolona

Tip kolone	Unutrašnji promjer kolone (mm)	Optimalna brzina protoka (He) (mL/min)
Kapilarne	0,25	1
	0,32	2
	0,53	4
Punjene	2	15
	4	60

3.2.4. Detektor

Detektor je uređaj koji na temelju nekog fizikalnog ili kemijskog svojstva tvari bilježi njenu prisutnost u plinu nositelju. Komponente smjese, nakon odjeljivanja na koloni, plin nosilac nosi na detektor, koji daje signal za svaku komponentu ovisno o masi ili koncentraciji komponente. Komponente kemijski sličnih svojstava daju jednaku površinu pikova za istu masu ili koncentraciju, tj. jednak odgovor detektora. Vrijeme potrebno da komponenta prođe kroz kromatografski sustav do detektora zove se vrijeme zadržavanja ili retencijsko vrijeme. Svaka komponenta eteričnog ulja ima svoje vrijeme zadržavanja i u jednoj analizi moguće je vidjeti nekoliko desetaka sastojaka eteričnog ulja i odrediti njihov postotak. Vrijeme zadržavanja karakterističan je parametar za svaku komponentu, pod određenim kromatografskim uvjetima i osnovni je parametar za njegovu kvalitativnu i kvantitativnu analizu.[8,9]

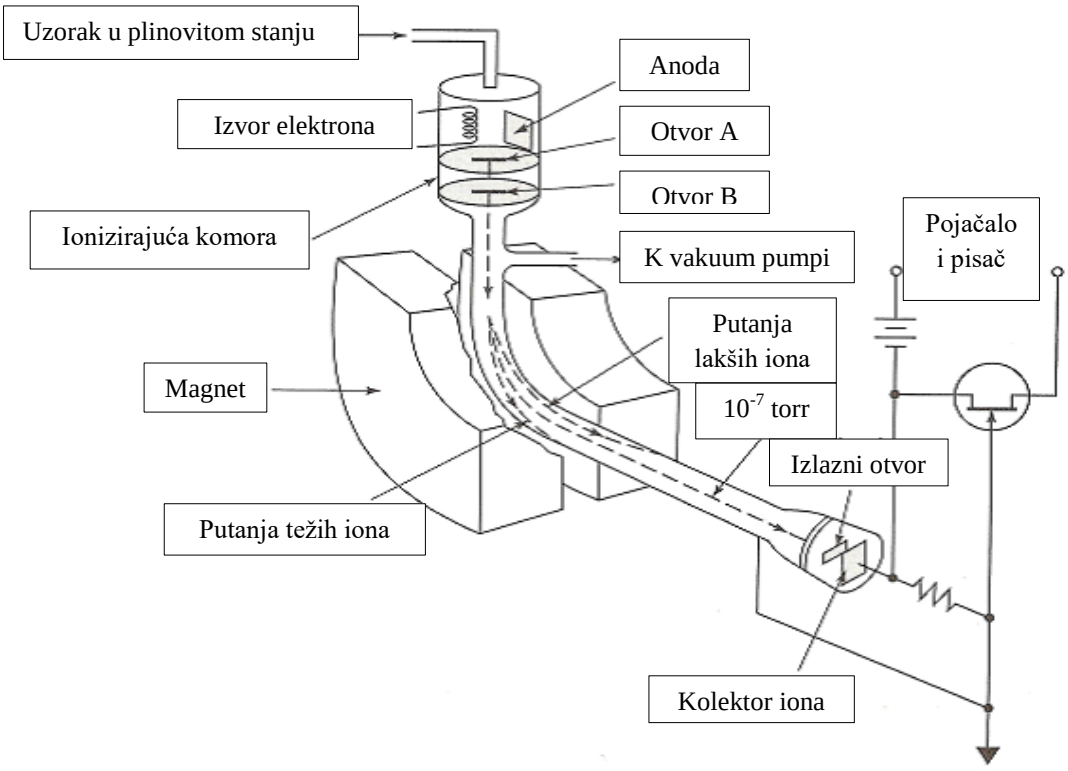
Impulsi detektora prenose se preko pojačala na računalo koji nam daje kromatogram. Površina pika određuje se integriranjem površine ispod pika pomoću računala i odgovarajućeg računalnog programa. Dobiveni podaci mogu služiti za kvalitativnu i kvantitativnu analizu sastava smjese.

Kvalitativna i kvantitativna analiza bilo kojom kromatografskom tehnikom osniva se na usporedbi uzorka sa standardnom smjesom. Ova metoda se najviše koristi za analizu eteričnih ulja jer nije jednostavno napraviti smjesu pojedinačnih komponenata za svako eterično ulje.

3.3. Spektrometar masa

Spektrometar masa koristi se kao detektor u plinskoj i tekućinskoj kromatografiji. Komponente nakon razdvajanja na koloni ulaze u ionizator koji je u visokom vakuumu. Molekule uzorka se bombardiraju elektronima pri čemu nastaju ioni koji se ubrzavaju u magnetskom dijelu instrumenta. Pri prolasku kroz magnetsko polje ioni dobivaju otklon razmjeran njihovoj brzini, masi i naboju. Veličina otklona obrnuto je proporcionalna masi fragmenta. Ioni zatim ulaze u detektor gdje dobivaju signal i potom se određuju putem spektrometra masa. On nam pokazuje omjer mase i naboja s obzirom na relativni intenzitet pojedinog fragmenta, odnosno udio iona. Prednost ovog detektora je u tome da osim površine pikova dobivamo i spektar masa u svakoj točki kromatograma koji nam može poslužiti za kvalitativnu analizu uzorka.

Spektrometrija masa je izrazito korisna kada u uzorku nađemo pojedine molekule za koje nemamo standarde, kada analiziramo nepoznati uzorak kojem ne znamo sastav (kvalitativna analiza). Korisna je kod određivanja strukture molekula promatrajući fragmentaciju molekula, određivanje molarne mase, te određivanje fizikalnih i kemijskih svojstava tvari.[8-11]



Slika 10. Shematski prikaz rada masenog spektrometra (MS)

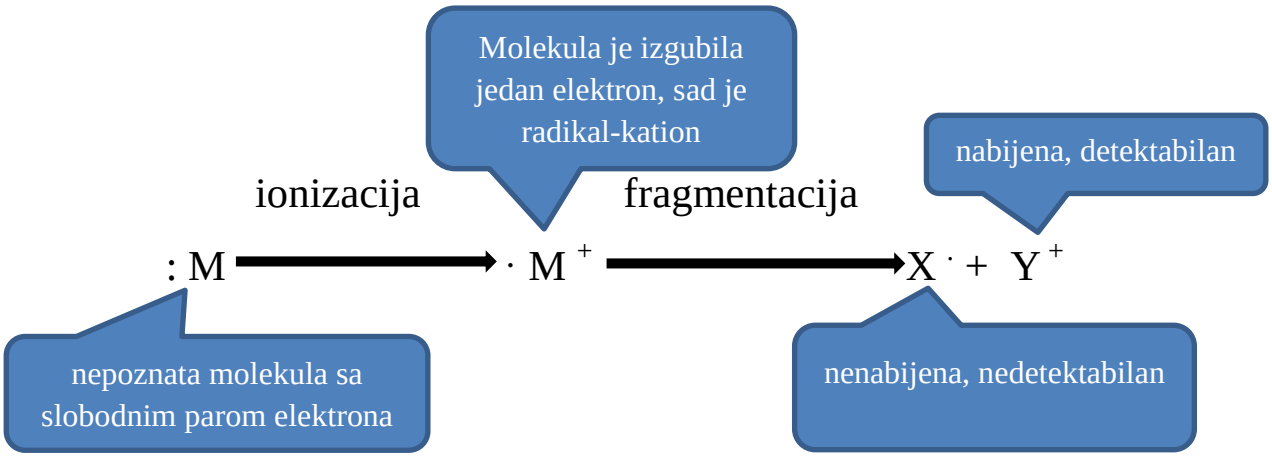
Visoki vakuum je prisutan u unutrašnjosti komore, koji osigurava da ioni stvoreni u ionskom izvoru prijeđu put od izvora do detektora bez sudara s drugim molekulama koje bi izazvale neutralizaciju.[10,11]

U komoru se unosi mala količina čistog spoja u plinovitom stanju. Uzorak se bombardira elektronima visoke energije pri čemu se molekule ioniziraju i nastaje pozitivan ion [M^+] (molekulski ion) koji se fragmentira. Molekulski ion je radikal-kation, a fragmentirani ioni mogu biti ili radikal-kationi ili karbokationi. Samo se kationi detektiraju, radikali su "nevidljivi" u MS-u.[3] Nastanak molekulskog iona ionizacijom vidi se na slici 11.

Način cijepanja molekulskog iona (fragmentiranje) može se predvidjeti i isto tako može poslužiti za određivanje strukture molekule. Vjerojatnost fragmentiranja je različita za različite skupine organskih spojeva.[8] Fragmentiranje u rastućem nizu:

AROMATSKI SPOJEVI < KONJUGIRANI ALKENI < ALICIKLIČKI SPOJEVI < SULFIDI < RAVNOLANČANI CH < TIOLI < KETONI < AMINI < ESTERI < ETERI < KARB. KIS. < RAZGRANATI CH < ALKOHOLI

Iz vjerojatnosti fragmentiranja vidi se da će se aromatski spojevi najslabije fragmentirati.

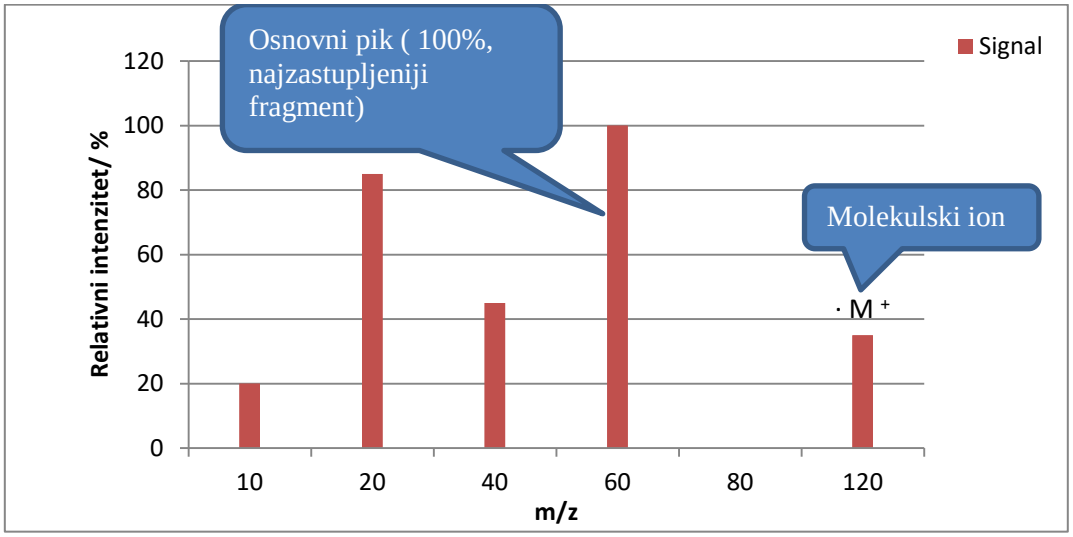


Slika 11. Nastanak molekulskog iona ionizacijom

U analizatoru se dobiveni ioni razvrstavaju prema intenzitetu i omjeru mase i naboja (*m/z*). Razvrstavanje se odvija propuštanjem kroz promjenjivo magnetsko ili električno polje, a prisutnost razvrstanih iona se bilježi na detektoru.[3] Signal se preko elektronskog sustava pojačala šalje do pisača čime se dobije *maseni spektar* koji se prikazuje grafički u obliku niza vertikalnih linija (Slika 12). Svaka linija predstavlja ion sa specifičnim omjerom *m/z*, a duljina linije označava relativni intenzitet (ili relativnu zastupljenost) iona.[3]

Najintenzivniji signal (najviša linija na grafu) naziva se osnovnim signalom (osnovnim pikom) te predstavlja standard prema kojem se mjere intenziteti ostalih signala. Dogovorom je

uzeto da je relativni intenzitet osnovnog signala 100. Svaka linija na masenom spektru nekog spoja predstavlja različiti fragment nastao cijepanjem molekulskog iona.



Slika 12. Prikaz primjera masenog spektra

Plinska kromatografija pogodna za odjeljivanje i kvantitativno određivanje, ali nije precizna za kvalitativnu analizu, a masena spektrometrija je pouzdana tehnika upravo za takvu analizu. Ono što je velika prednost u odnosu na ostale analitičke tehnike jest postizanje osjetljivosti instrumenta od 10^{-12} do 10^{-15} g uzorka.[3]

Određivanje relativne molekulske mase samo je jedna od primjena masene spektrometrije. Iz cijepanja (fragmentacije, fragmentacijskog uzorka) molekulskog iona moguće je dobiti mnoge podatke o molekulskoj strukturi. Međutim, ako molekulski ion ima vrijeme trajanja manje od nekoliko sekundi on neće preživjeti dovoljno dugo da bi bio detektiran (npr. alifatski alkoholi, aldehidi). Među jednostavnim organskim spojevima najstabilnije molekulske ione daju spojevi s aromatskim prstenom (benzenoidni), spojevi sa sustavom konjugiranih dvostrukih veza te cikloalkani.[3]

Usporedbom masenog spektra (Slika 12.) nepoznatog spoja s masenim spektrima pohranjenim u nekoj od računalnih baza podataka (Wiley, NIST, Adams i dr.) moguće je identificirati neki organski spoj u uzorku.[3]

U ovom radu analiziran je sastav šest različitih eteričnih ulja, a analize su provedene vezanim sustavima plinska kromatografija-masena spektrometrija na Zavodu za organsku kemiju matičnog Fakulteta te na Fakultetu prirodoslovno matematičkih i odgojnih znanosti Sveučilišta u Mostaru, Bosna i Hercegovina, u suradnji s izv. prof. sc. Ilijanom Odak. Analizirana su kupovna eterična ulja jele, klele, lovora i bora te smilje (porijeklom iz okoline Mostara), te smilje OPG-a s otoka Paga, kako bi se ustanovile razlike u sastavu karakterističnih skupina organskih spojeva. U nastavku su dati rezultati svih do sada napravljenih analiza uz korištenje dostupnih baza podataka i literature.[12-27] Također, u radu je ispitana fotostabilnost analiziranih ulja koja se provodi u fotokemijskom reaktoru na 420 nm i 366 nm u trajanju od 48 h.

3.4. Eterično ulje jela

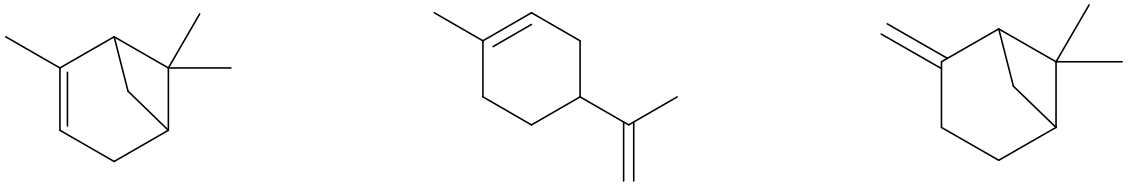
Eterično ulje jele proizvodi se destilacijom vodenom parom listova, odnosno iglica. Najpoznatija primjena ove esencije je inhalacija dišnih putova, no koristi se i u uljnim mješavinama za masažu, naročito sportsku.

Eterično ulje jele vrlo je primjenjivo i kod tretmana proširenih vena i problema s cirkulacijom. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju jele dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 6.

Tablica 6. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju jele

Trivijalno ime	IUPAC	%	RI
α-pinene	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	73,10	933
Limonene	1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene	6,10	1027
β-pinene	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-	2,40	974
Sabinene	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	2,20	970
p-cymene	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	2,00	1022
4-terpineol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1*S*)-	1,90	1178
Verbenone	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	1,30	1204
β-myrcene	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	1,20	987
trans-pinocarveol	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylidene	1,20	1137

Analizirano eteričnom ulje jele najvećim dijelom se sastoji od monoterpena. Monoterpeni se ubrajaju u tzv. Jednostavne lipide, a sastoje se od dvije izoprenske jedinice ($C_{10}H_{16}$). Biljci služe kao obrambeni mehanizam ili kao feromon. Na slici 13. Prikazana su tri najzastupljenija terpena u eteričnom ulju jele.



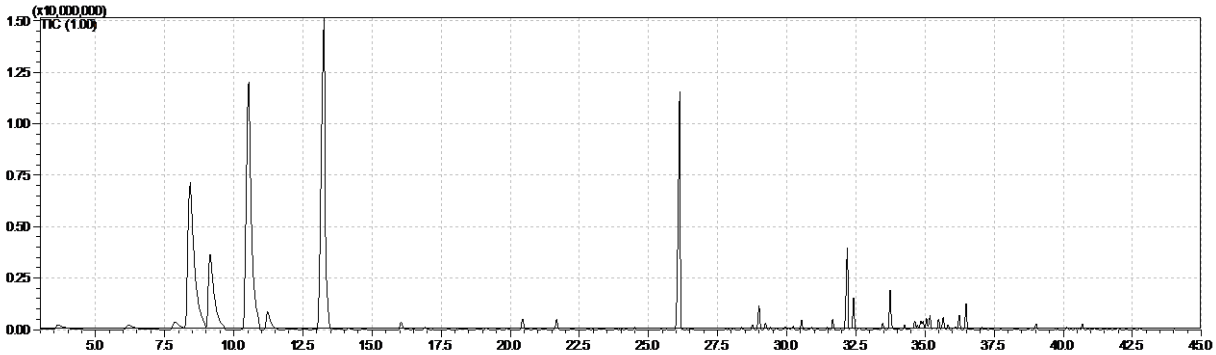
Slika 13. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju jele

U tablici 7. Prikazani su udjeli terpena u ulju jele.

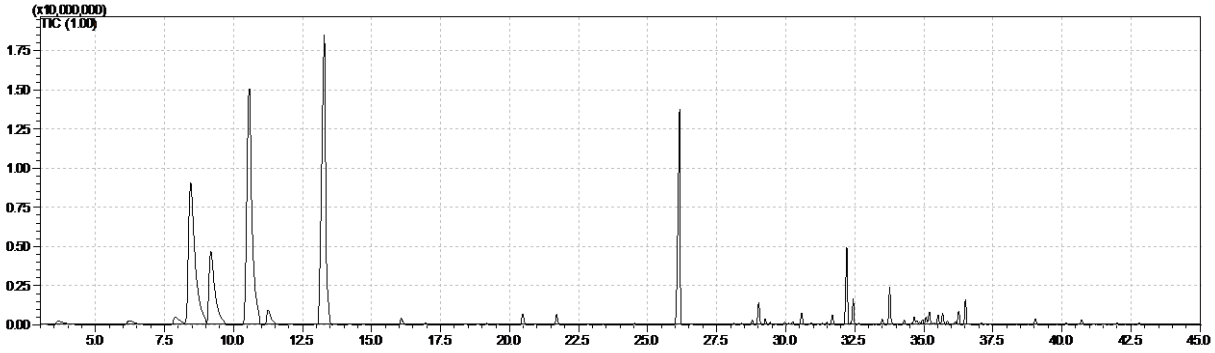
Tablica 7. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju jele

Total	**99,50**
Monoterpeni	87,8
Oksigenirani monoterpeni	9,5
Seskviterpeni	2
Oksigenirani seskviterpeni	0,1
Diterpeni	0,1

a)



b)



Slika 14. a) Prikaz kromatograma početnog ulja jele b) Prikaz kromatograma ulja jele nakon osvjetljavanja od 48 h na zraku

3.5. Eterično ulje lovora

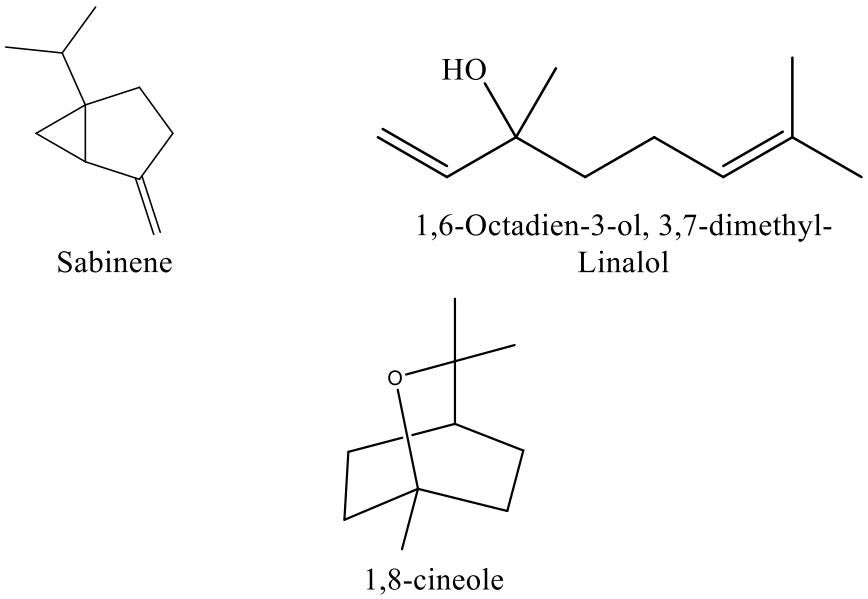
Eterično ulje lovora blago djeluje protiv bakterija, ali vrlo snažno protiv gljivica. Koristi se i u pripravcima za masnu kožu i akne, ali s oprezom, jer dugotrajno korištenje može izazvati alergijske reakcije.

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju lovora dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 8.

Tablica 8. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju lovora

Trivijalno ime	IUPAC	%	R*t*
1,8-cineole	Eucalyptol	53,7	9,058
Sabinene	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	7,5	6,948
Linalool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	7,5	11,799
***β*-phellandrene**	p-Mentha-1(7),2-diene	6,2	6,817
***α*-pinene**	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	5,3	5,607
***α*-terpineol acetate**	p-Menth-1-en-8-yl acetate	4,6	22,888
Methyl eugenol	1,2-Dimethoxy-4-(2-propenyl)benzene	2,4	25,273
***α*-terpineol**	p-menth-1-en-8-ol	2,0	15,959
Terpinene-4-ol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	1,9	15,278
***β*-mircen**	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	1,2	
Eugenol	2-Methoxy-4-prop-2-enylphenol	1,0	23,045

Eterično ulje lovora najvećim dijelom se sastoji od oksigeniranih monoterpena. Od spojeva iz te skupine monoterpena ističe se 1,8-cineol koji zauzima gotovo 50% sastava eteričnog ulja. Ostali spojevi koji je javljaju u relativno visokom postotku su linalol i sabinen. Na slici 15. prikazana su tri najzastupljenija terpena u eteričnom ulju lovora.



Sabinene

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
Linalol

1,8-cineole

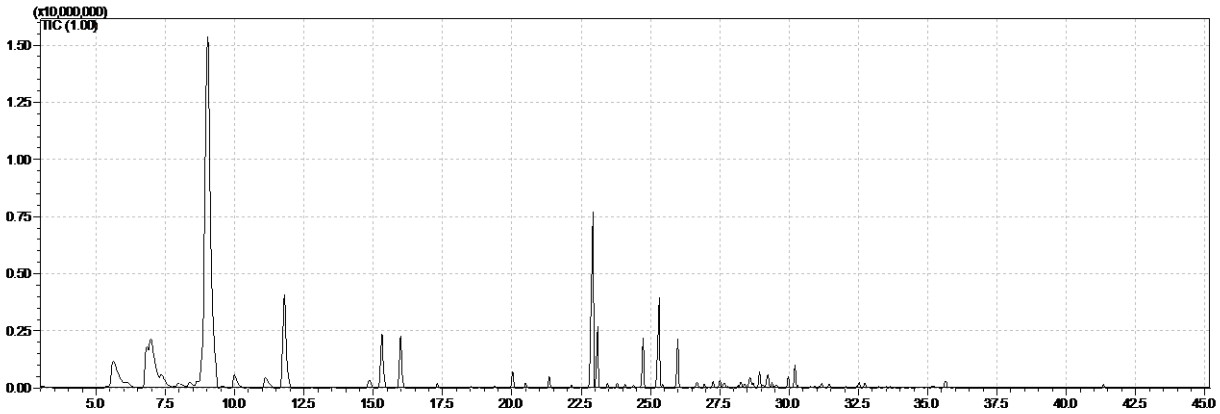
Slika 15. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju lovora

U tablici 9. prikazani su udjeli terpena u lovoru.

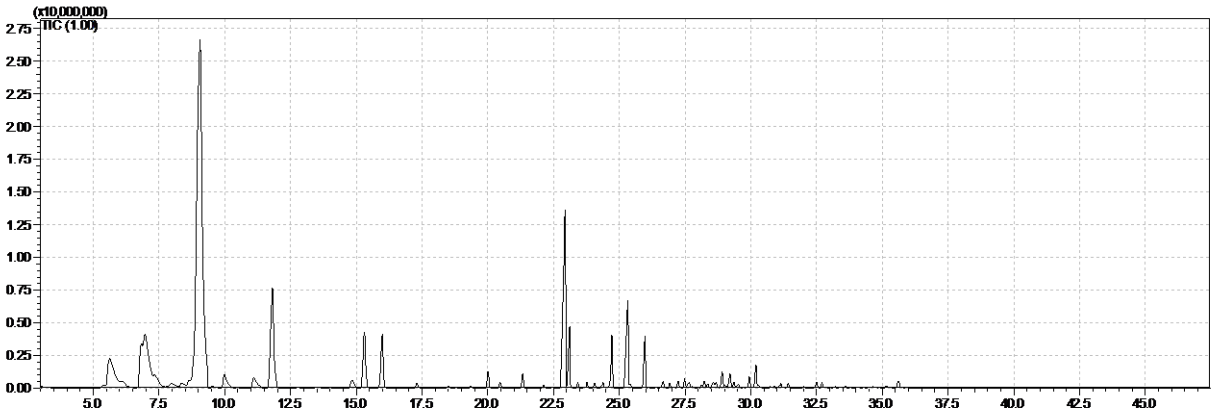
Tablica 9. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju lovora

Total	**98,9**
Monoterpenski hidrougljikovodici	22,8
Oksigenirani monoterpeni	72,9
Seskviterpenski hidrougljikovodici	0,6
Oksigenirani seskviterpeni	tragovi
Aromatski spojevi	2,4

a)



b)



Slika 16. a) Prikaz kromatograma početnog ulja lovora b) Prikaz kromatograma ulja lovora nakon osvjetljavanja od 48 h na zraku

3.6. Eterično ulje bora

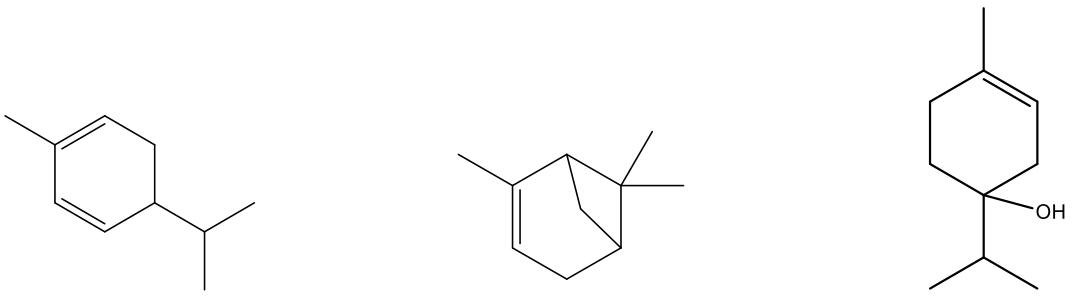
Eterično ulje bora dobiva se vodenom destilacijom grančica i iglica. U narodnoj medicini bor se upotrebljavao kod prehlada budući da je snažan mukolitik. Tradicionalno se koristilo kod autoimunih bolesti, hipotenzije, astme, alergija i reumatoidnog artritisa. Također, bor ima izuzetna pročišćavajuća i osvježavajuća svojstva za prostor u kojem se živi, pa je odlično ulje za aromatizaciju prostora.

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju bora dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 10.

Tablica 10. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju bora

Trivijalno ime	IUPAC	%	RI
Sabinene / phellandrene	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-; 5-Isopropyl-2-methyl-1,3-cyclohexadiene	29,00	971
α-pinene	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	24,25	932
1-Terpinen-4-ol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	8,05	1179
Limonene	1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene	5,40	1027
γ-terpinene	*p*-Mentha-1,4-diene	5,01	1055
p-cymene	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	3,10	1022
Terpinolene	*p*-Menth-1,4(8)-diene, Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	2,61	1083
β-myrcene	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	2,50	989
α-thujene	Bicyclo(3.1.0)hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1*R*)-	2,23	926
α-terpinene	*p*-Mentha-1,3-diene	1,70	1015
β-pinene	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-	1,10	987

Analizirano eterično ulje bora najvećim dijelom se sastoji od monoterpena. Monoterpeni se mogu podijeliti na pravilne (aciklički, monociklički, biciklički i triciklički) i nepravilne monoterpene. Najveću grupu monocikličkih monoterpena čine derivati 1-metil-4-izopropilcikloheksana. Najvažniji predstavnici ove grupe monoterpena su limonen, *α*-, *δ*- i *γ*-terpinen i *p*-cimen. Na slici 17. prikazani su najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju bora.



alpha-Phellandrene alpha-Pinene 1-Terpinen-4-ol

Slika 17. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju bora

U tablici 11. prikazani su udjeli terpena u boru.

Tablica 11. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju bora

Total	**94,26**
Monoterpeni	78,17
Oksigenirani monoterpeni	9,18
Seskviterpeni	6,33
Oksigenirani seskviterpeni	0,19

Analizom kromatograma eteričnog ulja bora prije i nakon osvjetljavanja vidljivo je da nema nikakve promjene u sastavu ulja, što nije slučaj kod ostalih ulja kod kojih je ta promjena vidljiva.

3.7. Eterično ulje kleke

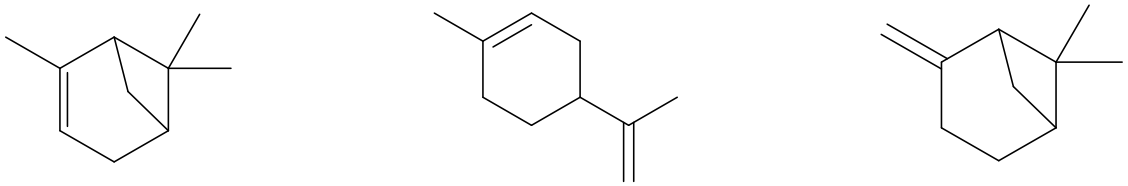
Eterično ulje kleke ima karakterističan jak miris dima. U kozmetologiji se koristi za uklanjanje upala i akni, sprečava ožiljke i osvježava kožu.

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju kleke dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 12.

Tablica 12. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju kleke

Trivijalno ime	IUPAC	%	RI
α-pinene	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	73,10	933
Limonene	1-methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene	6,10	1027
β-pinene	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-	2,40	974
Sabinene	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	2,20	970
p-cymene	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	2,00	1022
4-terpineol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1*S*)-	1,90	1178
Verbenone	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	1,30	1204
β-myrcene	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	1,20	987
trans-pinocarveol	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylidene	1,20	1137

Eterično ulje kleke najvećim dijelom se sastoji od monoterpena. Nepravilni monoterpeni sadrže izoprenske jedinice povezane "glava na glavu" ili "glava na sredinu". Najpoznatiji spojevi koji spadaju u skupinu acikličkih monoterpena uključuju ocimen, mircen i linalol. Na slici 18. prikazani su najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju kleke.



alpha-Pinene Limonene beta-Pinene

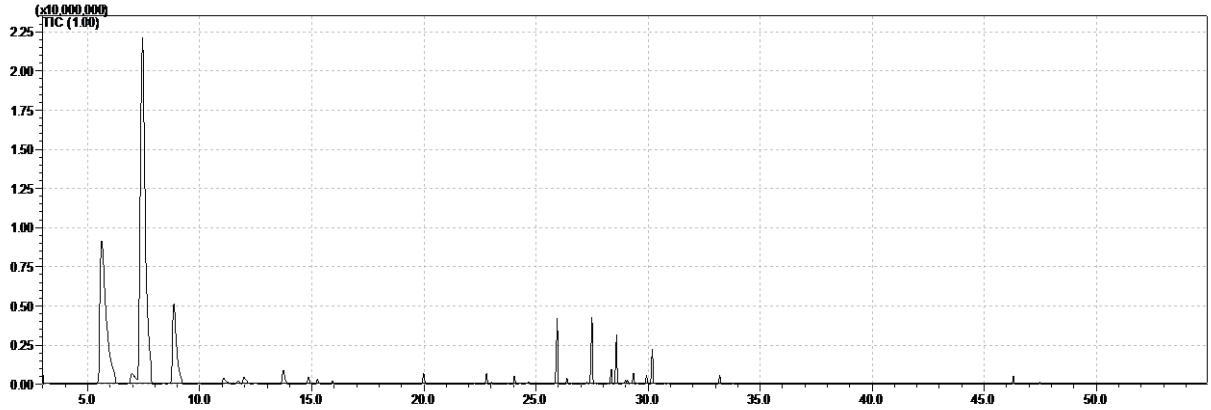
Slika 18. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju kleke

U tablici 13. prikazani su udjeli terpena u ulju kleke.

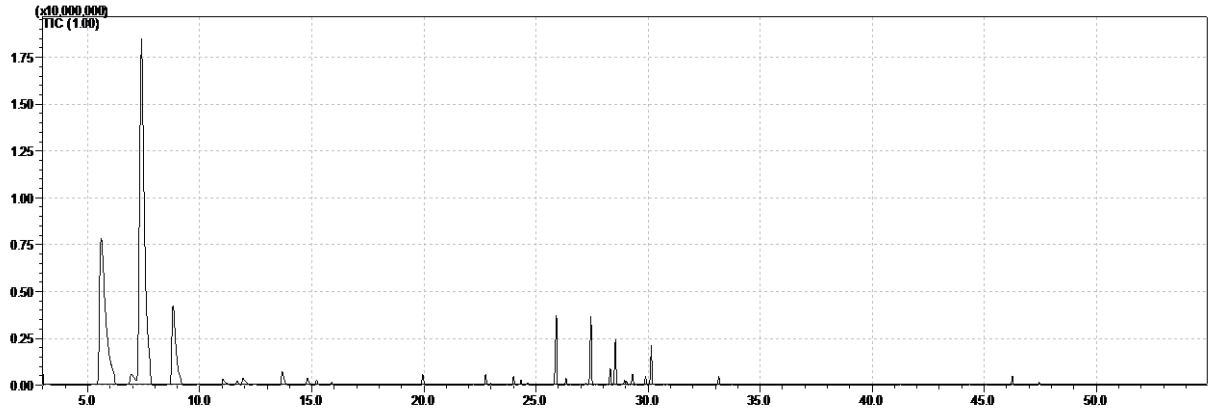
Tablica 13. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju kleke

Total	**99,50**
Monoterpeni	87,8
Oksigenirani monoterpeni	9,5
Seskviterpeni	2
Oksigenirani seskviterpeni	0,1
Diterpeni	0,1

a)



b)



Slika 19. a) Prikaz kromatograma početnog ulja kleke b) Prikaz kromatograma ulja kleke nakon osvjetljavanja od 48 h na zraku

3.8. Eterično ulje smilja

Eterično ulje smilja djeluje antihematomatično i regenerativno, a također je mukolitik, djeluje snažno protuupalno i antioksidativno, smanjuje razinu kolesterola, pokazuje analgetičko djelovanje. Koristi se za zacjeljivanje ožiljaka i strija.

3.8.1. Eterično ulje smilja porijeklom iz okoline Mostara

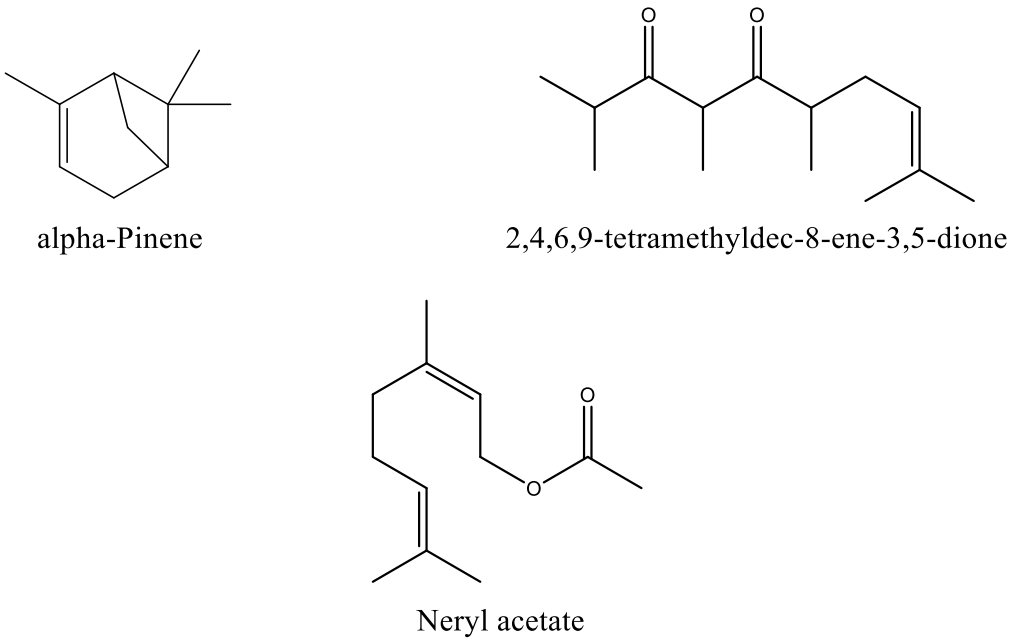
Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju smilja iz okoline Mostara dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 14.

Tablica 14. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju smilja

Trivijalno ime	IUPAC	%	RI
α-Pinene	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	29,4	935
2,4,6,9-Tetramethyldec-8-ene-3,5-dione		7,1	1480
Neryl acetate	*cis*-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl acetate	6,7	1357
Limonene	cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (4*R*)-	5,2	1028
Italicene		4,9	1406
γ-Curcumene		4,7	1477
β-Selinene	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4a*R*-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	4,7	1491
trans-Caryophyllene		3,8	1420
α-Copaene	(1*S*,6*S*,7*S*,8*S*)-8-isopropyl-1,3-dimethyltricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene	3,6	1376
α-Curcumene	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	2,9	1482
α-Selinene	Eudesma-3,11-diene	2,8	1497
4,6,9-Trimethyldec-8-en-3,5-dione		2,7	1432
Pentyl 3-methyl 2-butenoate		2,1	1149
γ-Selinene	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-, (4a*R*,8a*S*)-	2	1473
4,6-Dimethyl-3,5-octandione		1,6	1180
Linalool	3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	1	1100

Eterično ulje smilja najvećim dijelom se sastoji od monoterpenskih i seskviterpenskih hidrougljikovodika. Seskviterpeni su klasa terpena koji se sastoje od tri izoprenske jedinice i imaju molekulsku formulu $C_{15}H_{24}$. Slično kao i kod monoterpena, biokemijske modifikacije

kao što su oksidacija ili premještanje rezultiraju postojanju vrlo velike strukturne raznolikosti seskviterpena. Seskviterpeni se prirodno javljaju u biljkama i insektima, kao semiokemikalije, obrambeni agensi ili feromoni. Seskviterpeni se dijele na acikličke i cikličke (monocikličke, bicikličke, tricikličke). Najpoznatiji monociklički seskviterpeni su *β*-elemen, kurkumen i humulen. Iz skupine bicikličkih seskviterpena najzastupljeniji su *α*-kadinen, *α*- i *β*-selinen i eudesmol. Od tricikličkih seskviterpena najpoznatiji su longifolen,i kopaen. Na slici 20. prikazani najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju smilja iz okoline Mostara.



Slika 20. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju smilja iz okoline Mostara

U tablici 15. prikazani su udjeli terpena u ulju smilja iz okoline Mostara.

Tablica 15. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju smilja iz okoline Mostara

Total	**99,4**
Monoterpenski hidrougljikovodici	35,3
Oksigenirani monoterpeni	9,8
Ne-terpenski ketoni	0,3
β-diketoni	13,3
Seskviterpenski hidrougljikovodici	34,6
Oksigenirani seskviterpeni	1,9
Ne-terpenski esteri	4,2

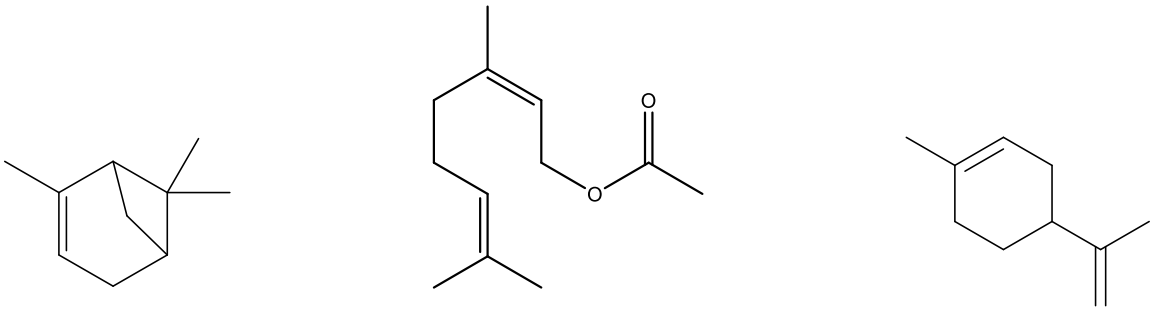
3.8.2. Eterično ulje smilja s otoka Paga

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju smilja s otoka Paga dobiveni GC-MS sustavom prikazani su u tablici 16.

Tablica 16. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju smilja s otoka Paga

Trivijalno ime	IUPAC	%	Rt
α-pinene	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-	23,29	4,917
Neryl acetate	*cis*-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl acetate ;	13,79	16,79
Limonene	cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (4*R*)-	7,67	7,265
Italicene		7,36	18,19
β-selinene	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4a*R*-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	4,81	20,68
4,6,9-trimethyldec-8-en-3,5-dione		3,26	18,94
α-selinene	Eudesma-3,11-diene	3,04	20,88
Neryl propionate	*cis*-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, propionate	2,65	19,39
γ-curcumene		2,46	20,32
***trans*-caryophyllene**		2,4	18,57
Nerol	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-	1,98	12,78
Linalool	3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	1,87	9,182
α-copaene	(1*S*,6*S*,7*S*,8*S*)-8-isopropyl-1,3-dimethyltricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene	1,86	17,29
4,6-dimethyl-3,5-octadione		1,83	11,52
Isoitalicene		1,66	
Pentyl 3-methyl-2-butenoate		1,34	10,64
α-curcumene	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	1,34	20,43
γ-selinene	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-, (4a*R*,8a*S*)-	1,3	20,16
α-terpineol	*p*-Menth-1-en-8-ol	1,06	11,95

Eterično ulje smilja najvećim dijelom se sastoji od monoterpena α-pinena i estera neril acetata. Od terpena najvećim dijelom se sastoje od monoterpenskih i seskviterpenskih hidrougljikovodika. Od seskviterpena najzanimljiviji je **γ-kurkumen**. Na slici 21. prikazani su najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju smilja s otoka Paga.



alpha-Pinene Neryl acetate Limonene

Slika 21. Najzastupljeniji terpeni u eteričnom ulju smilja s Paga

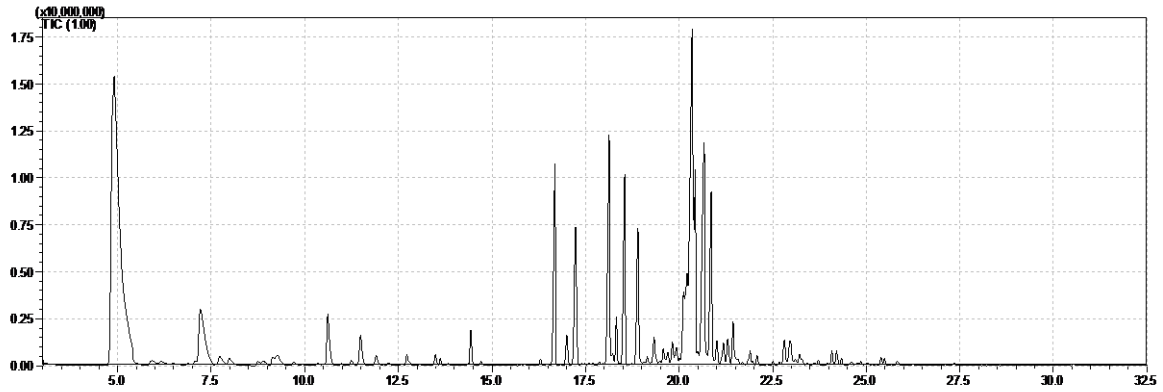
U tablici 17. prikazani su udjeli terpena u smilju s otoka Paga.

Tablica 17. Udjeli (%) terpena u eteričnom ulju smilja s Paga

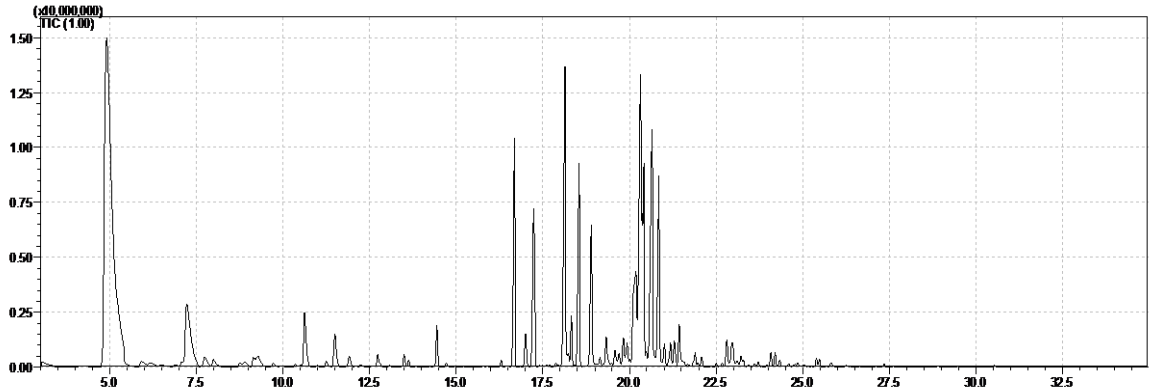
Total	**99,2**
Monoterpenski hidrougljikovodici	32,9
Oksigenirani monoterpeni	21,8
Ne-terpenski ketoni	0,09
β-diketoni	8,88
Seskviterpenski ugljikovodici	30,86
Oksigenirani seskviterpeni	2,03
Ne-terpenski esteri	2,09

Poznato je da komponente eteričnih ulja lako prelaze jedna u drugu zbog oksidacije, izomerizacije, dehidratacijskih reakcija. Eterično ulje smilja ima rijedak kemijski profil koji uključuje snažne protuupalne spojeve kao što su α, β i γ- kurkumen.

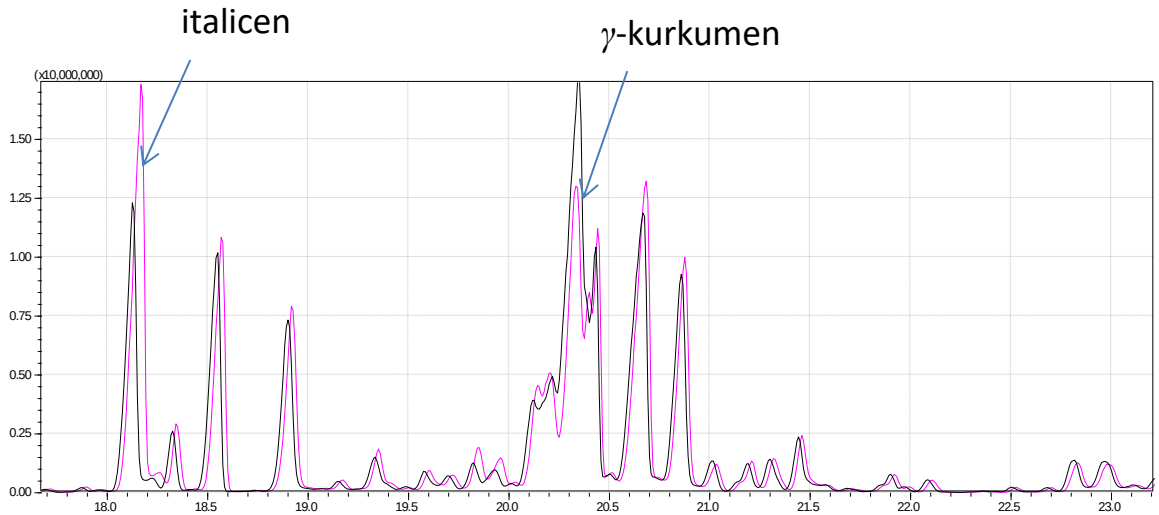
a)



b)



Slika 22. a) Prikaz kromatograma početnog ulja smilja b) Prikaz kromatograma ulja smilja nakon osvjetljavanja od 48 h na zraku



Slika 23. Usporedba kromatograma početnog ulja smilja (crna boja) i nakon osvjetljavanja od 48 h na zraku (roza boja)

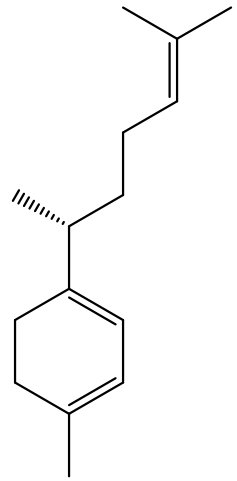
3.9. Odrednice stabilnosti eteričnih ulja

Degradacija komponenata u eteričnim uljima ovisi o nekoliko kemijskih faktora koji utječu i na mogućnost oksidacije eteričnog ulja kao i na smjer kojim će reakcija ići. Stoga vanjski faktori kao što su temperatura, svjetlost i izloženost atmosferskom kisiku moraju se uzeti u obzir prilikom analize eteričnih ulja.

3.9.1. *γ*-kurkumen

Seskviterpen *γ*-kurkumen od velikog je interesa i osim neril-acetata najzanimljiviji spoj koji se nalazi u eteričnom ulju smilja, a zajedno u kombinaciji djeluju na opuštanje mišića i smanjenje grčeva.

Na slici 24. prikazana je struktura *γ*-kurkumena.



Slika 24. Struktura *γ*-kurkumena

3.9.1.1. Moguće promjene u strukturi *γ*-kurkumena nastale zbog utjecaja:

- Svjetlosti

Ultraljubičasta (UV) i vidljiva (Vis) svjetlost smatraju se onima koji ubrzavaju procese autoksidacije koje su pokrenute apstrakcijom vodika, što rezultira stvaranjem alkilnih radikala. Osim toga pod utjecajem svjetlosti dolazi do fotokemijske katalize kao i cikloadicije ili trans-cis izomerizacije u strukturama komponenata kao što je *γ*-kurkumen.

- Temperature

Generalno, kemijske reakcije se ubrzavaju prilikom povišenja temperature kao što je opisano Arrhenius-ovom jednadžbom:

$$Ar = k * e^{\frac{-Ea}{R*T}}$$

Nasuprot tome, niže temperature povećavaju topivost kisika u tekućinama, što zauzvrat može negativno utjecati na stabilnost eteričnih ulja, a time i na *γ*-kurkumen.

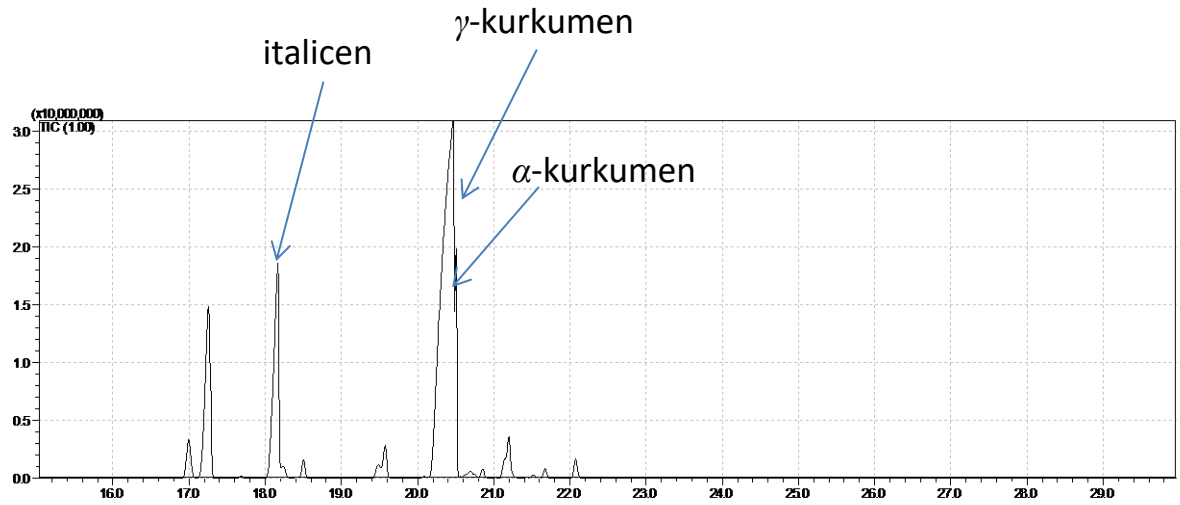
4 moguće vrste degradacije *γ*-kurkumena koje nastaju zbog povišenja temperature su cijepanje dvostrukih veza, epoksidacija, dehidriranje u aromatski sustav i alilna oksidacija u alkohol, keton ili aldehid.[16]

- Izloženosti kisiku

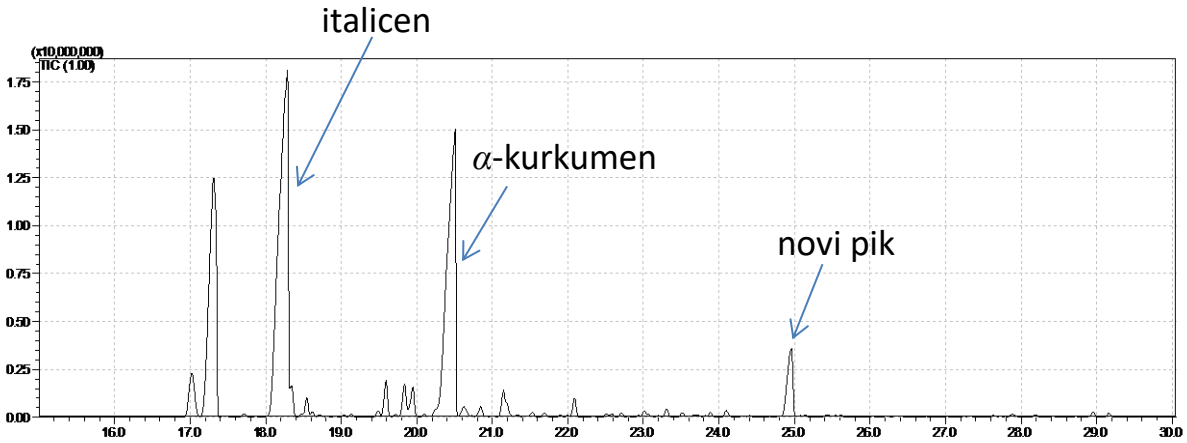
Oksidacijske reakcije su među glavnim uzrocima kvarenja eteričnih ulja i uvelike utječu na stabilnost eteričnih ulja, a time i na komponente eteričnih ulja kao što je *γ*-kurkumen. Oksidacija ulja raste porastom koncentracije otopljenog kisika, koji uvelike ovisi o vanjskoj temperaturi. Peroksilni radikali kao i hidroperoksidi detektirani su u velikom broju prilikom oksidacije, te oni negativno utječu na samu stabilnost eteričnog ulja.

Preparativnom kolonskom kromatografijom iz ulja smilja iz Mostara, izolirana je frakcija obogaćena *γ*–kurkumenom, kako bi se nakon analize čitavog ulja (Slika 25.) dobio detaljniji uvid u promjenu njegovog udjela. Nakon osvjetljavanja od 48 h s plinom argonom vidi se smanjenje udjela *γ*-kurkumena to jest njegov nestanak iz frakcije što znači da nije fotostabilan, odnosno da se pod utjecajem svjetla mijenja njegov sastav.

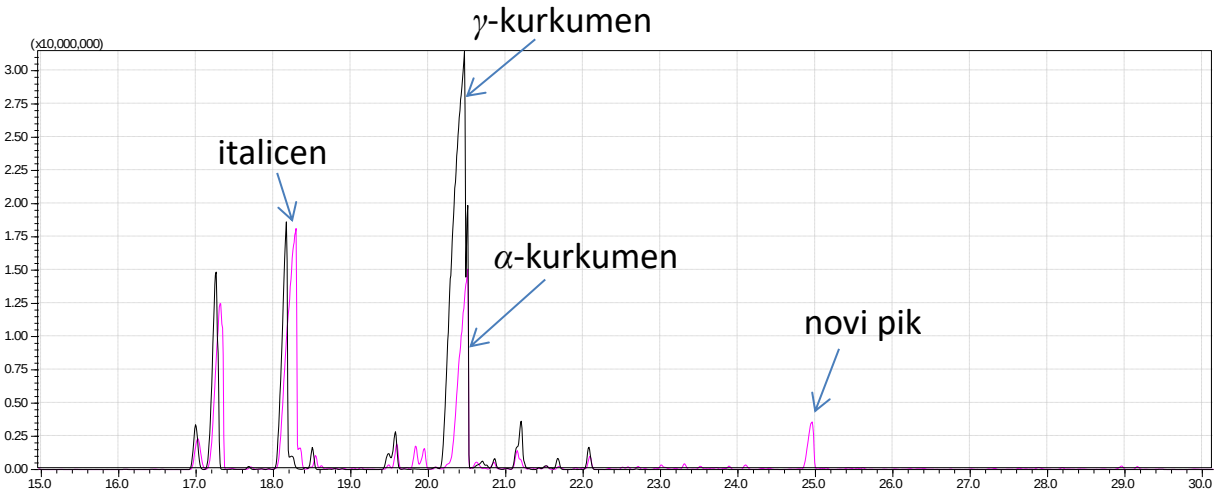
a)



b)

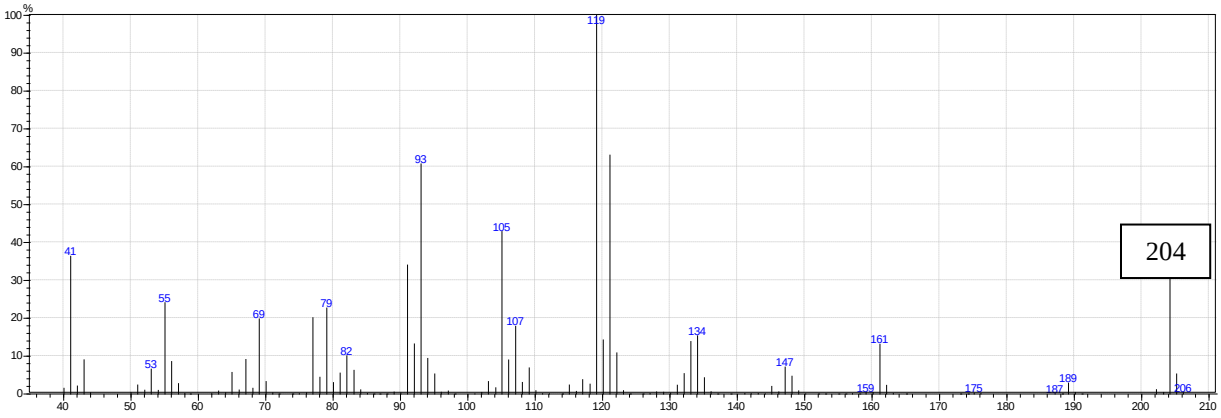


Slika 25. a) Prikaz kromatograma početne frakcije *γ*-kurukemna b) Prikaz kromatograma frakcije *γ*-kurkumena nakon osvjetljavanja od 48 h sa plinom argonom

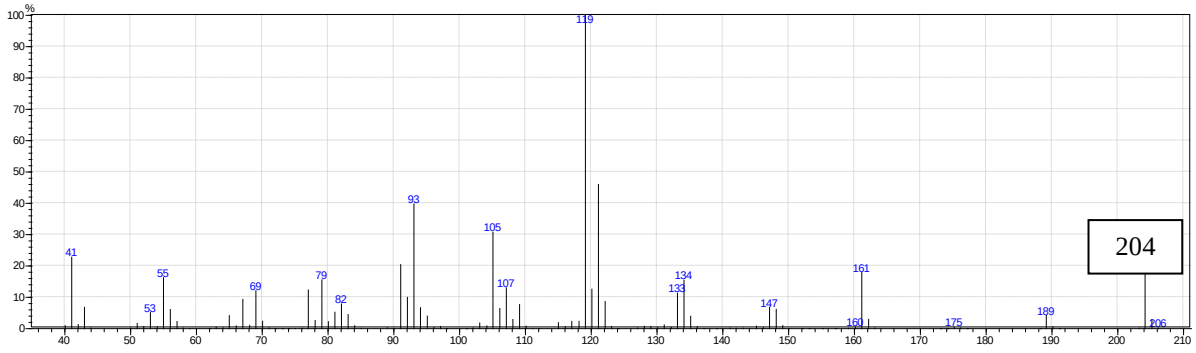


Slika 26. Usporedba početne frakcije *γ*-kurkumena (crna boja) i frakcije *γ*-kurkumena nakon osvjetljavanja od 48 h s plinom argonom (roza boja)

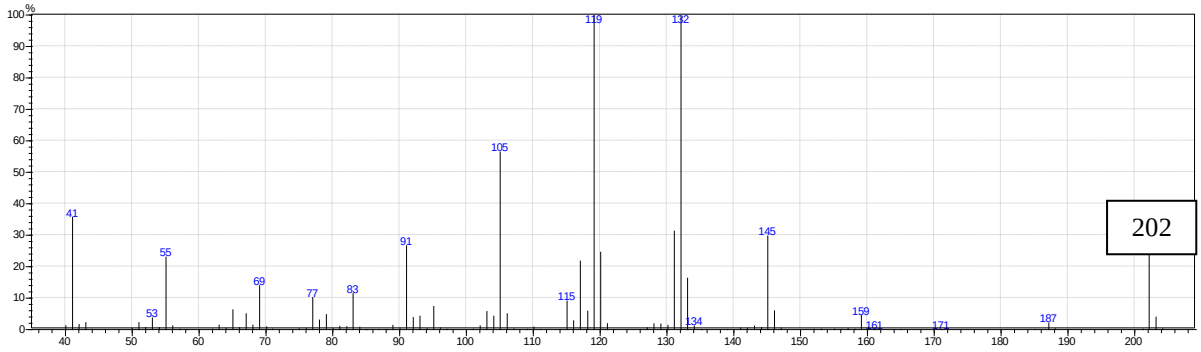
Frakcija osim što je obogaćena *γ*-kurkumenom velikim dijelom se sastoji i od italicena i *α*-kurkumena koji su prikazani na slikama 25. i 26. U nastavku su prikazani maseni spektri *γ*-kurkumena, italicena i novog pika odnosno aromatskog kurkumena koji nastaje kao produkt nakon osvjetljavanja uzorka.



Slika 27. Prikaz masenog spektra *γ*-kurkumena

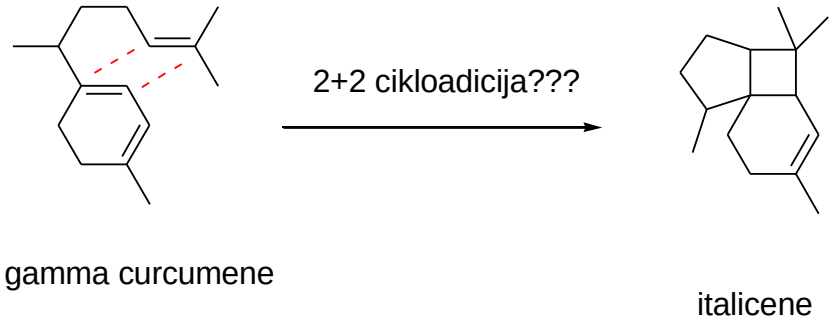


Slika 28. Prikaz masenog spektra italicena



Slika 29. Prikaz masenog spektra aromatskog kurkumena

Obzirom da su mase *γ*-kurkumena i italicena iste, pretpostavljeno je da je italicen fototransformacijski produkt *γ*-kurkumena, a predloženi mehanizam transformacije ([2+2]-fotocikloadicije) dat je na shemi 1.



Shema 1. Prikaz 2+2 adicije

Obzirom na promjene primijećene prilikom osvjetljavanja frakcije može se zaključiti da *γ*-kurkumen nije fotostabilan. Zbog toga se ulje smilja treba posebno čuvati od utjecaja svjetlosti jer se promjenama transformira glavna komponenta, odnosno γ-kurkumen koji je u kombinaciji s neril-acetatom odgovoran za opuštanje mišića i smanjenje grčeva.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Za identifikaciju spojeva prisutnih u eteričnim uljima i određivanje njihove čistoće korištena su dva vezana sustava plinska kromatografija/spektrometrija masa (GC/MS), instrument Varian Saturn 2200 i Shimadzu GC/MS QP2010. Instrument Varian Saturn 2200 opremljen je kapilarnom kolonom koja je ispunjena silika-gelom FactorFour VF-5 ms (duljina kolone 50 m·0,2 mm u.d.), a plin nositelj je helij čiji je protok 1 mL min^{-1}. Shimadzu GC/MS QP2010 sustav opremljen je AOC-20i autouzorkovačem, a koristeštena je nepolarna kapilarna kolona Inert Cap (5% difenil – 95% dimetilpolisiloksan, 30 m × 0.25 mm i.d., debljina filma 0.25 μm.

Primijenjeni uvjeti rada plinskog kromatografa sustava Shimadzu GC/MS QP2010 su: injektirani volumen 1,0 μL otopine ulja razrijeđene na 1:500 *v/v* u pentanu; način injektiranja: splitless; temperatura injektora: 250 °C; plin nosilac: helij, 1,15 mL/min; temperaturni program kolone: 60 °C (1.5 min), 60 – 120 °C (5 °C/min), 120 – 240 °C (4 °C min), 240 °C (2 min). Primijenjeni uvjeti rada masenog spektrometra: temperatura ionskog izvora: 250 °C, ionizacijski napon: 70 eV, područje masa: m/z 40 – 400 u. GCMSolution 2.5 (Shimadzu) i NIST (Varian) korišteni su za obradu podataka. Temperaturni režim sustava Varian Saturn 2200 bio je isti kao i prethodnog, osim što se injektirao volumen uzoraka od 8 μL, a kao otapalo tijekom analize se koristio diklormetan. Na početku svake metode snima se standardna smjesa *n*-alkana (C_7-C_{40}). 2 μL *n*-alkana se topi u otapali, te se zatim injektira u injektor plinskog kromatografa.

Identifikacija komponenti ulja provedena je na temelju (a) usporedbom vremena zadržavanja sa vremenom zadržavanja homolognog niza *n*-alkana (C_8-C_{22}) te se računa retencijski indeks odnosno Kovac-ev indeks:

$$RI_{(X)} = \frac{log\, t_{R(X)} - log t_{R(N)}}{\log t_{R(N+1)} - log t_{R(N)}} + 100 \times N$$

Gdje RI označava Kovac-ev indeks, (x) nepoznati sastojak, a N i (N+1) *n*-alkane s N odnosno (N+1) atoma ugljika. (b) usporedbe njihovih masenih spektara s NIST i Wiley bibiliotekom spektara.

Prilikom osvjetljavanja eteričnih ulja korišten je fotokemijski reaktor Luzchem CCP-ICH2, koji je opremljen s 16 žarulja uskog spektra (RPR 366 nm i RPR 420 nm).

4.2. Metode analize eteričnih ulja

Uzorci eteričnih ulja lovora, kleke, bora, jele, smilja iz Mostara i smilja sa otoka Paga se prije osvjetljavanja analiziraju kao početna ulja koja kasnije služe za usporedbu sa uljima koja su osvjetljavana u fotokemijskom reaktoru na 366 nm i 420 nm. Usporedbom se dokazuje promjena u strukturi spojeva nastala prilikom osvjetljavanja eteričnih ulja.

4.2.1. Metoda 1

Metoda 1 se primjenjuje za eterično ulje jele. Na ovoj metodi se snimi ulje prije osvjetljivanja i nakon osvjetljavanja, također snime se i *n*-alkani. Uvjeti metode prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Uvjeti rada metode 1

Vrijeme metode/min	Maksimalna temperatura/ºC	Početna temperatura ºC /promjena ºC po min	Maksimalna temperatura ºC/promjena ºC po min	Zadržavanje na maksimalnoj temperaturi/min
85	260	65/5	260/3	15

4.2.2. Metoda 2

Metoda 2 se primjenjuje za eterična ulja bora, lovora i kleke. Sva ulja snime se prije osvjetljavanja i nakon osvjetljavanja, te se snime i *n*-alkani. Uvjeti metode prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Uvjeti rada metode 2

Vrijeme metode/min	Maksimalna temperatura/ºC	Početna temperatura ºC /promjena ºC po min	Maksimalna temperatura ºC/promjena ºC po min	Zadržavanje na maksimalnoj temperaturi/min
58,67	200	60/2	200/3	10

4.2.3. Metoda 3

Metoda 3 se primjenjuje za eterično ulje smilja. Na ovoj metodi se snimi ulje prije osvjetljivanja i nakon osvjetljavanja, također snime se i *n*-alkani. Uvjeti metode prikazani su u tablici 5.

Tablica 5. Uvjeti rada metode 3

Vrijeme metode/min	Maksimalna temperatura/ºC	Početna temperatura ºC /promjena ºC po min	Srednja temperatura ºC /promjena ºC po min	Zadržavanje na srednjoj temperaturi/ min	Maksimalna temperatura ºC/promjena ºC po min	Zadržavanje na maksimalnoj temperaturi/min
46,50	240	60/1,5	120/5	1	240/4	2

4.3. Osvjetljavanje eteričnog ulja

4.3.1. Osvjetljavanje na 420 nm

500 μL svakog eteričnog ulja prebaci se u vijale od 1 mL za HPLC i osvjetljava se u fotokemijski reaktor na 420 nm i osvjetljava 48 h. 2 μL osvjetljavanog eteričnog ulja otapa se u 1 mL diklormetana i uzima se 8μL otopine koja se injektira u kromatograf. Svi uzorci se analiziraju GC-MS sustavom. Ovisno o metodi analize kromatograf radi različiti vremenski period.

4.3.2. Osvjetljavanje na 366 nm

500 μL svakog eteričnog ulja prebaci se u vijale od 1 mL za HPLC i osvjetljava u fotokemijskom reaktoru na 366 nm i 48 h. 2 μL osvjetljavanog eteričnog ulja otapa u 1 mL otapala diklormetana i uzima se 8μL otopine koja se injektira u kromatograf. Svi uzorci se analiziraju GC-MS. Ovisno o metodi analize kromatograf radi različiti vremenski period. Zbog neznatnih promjena na strukturi eteričnih ulja lovora i jele, novi uzorci se osvjetljavaju 96 h. Prije osvjetljavanja se eterično ulje propuše dušikom (2 mjehurića unutar ulja i 2 minute iznad ulja). Nakon osvjetljavanja slijedi analiza eteričnih ulja u plinskom kromatografu.

5. ZAKLJUČAK

Analizom vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS) dokazano je da je eterično ulje smilja za razliku od ostalih analiziranih ulja najmanje fotostabilno. Preparativnom kolonskom kromatografijom iz ulja smilja porijeklom iz Mostara, izolirana je frakcija obogaćena *γ*–kurkumenom, kako bi se dobio detaljniji uvid u promjenu njegovog udjela. Nakon osvjetljavanja od 48 sati u atmosferi argona vidi se smanjenje udjela *γ*-kurkumena to jest njegov nestanak iz frakcije.

Može se zaključiti da *γ*-kurkumen nije fotostabilan, te da se pod utjecajem svjetla mijenja njegov sastav, odnosno nastaje neka nova komponenta. Pošto su *γ*-kurkumen i italicen iste mase (*m/z* 204), pretpostavlja se je italicen fototransformacijski produkt *γ*-kurkumena koji je nastao mehanizmom [2+2]-fotocikloadicije. Novi pik koji je nastao nakon osvjetljavanja mogao bi se pripisati aromatiziranom kurkumenu, čija je masa za dvije masene jedinice manja (*m/z* 202). Zbog promjena u sastavu koje nastaju osvjetljavanjem, eterično ulje smilja treba se čuvati u tamnim bocama s prikladnim čepovima, te u tamnim i hladnijim prostorijama kao što su podrumi.

6. LITERATURA

[1] https://hr.wikipedia.org/wiki/Eteri%C4%8Dna_ulja (svibanj 2018.).

[2] Petrović,V., *Određivanje sastava eteričnog ulja nekih vrsta roda Artemisia L. plinskom kromatografijom,* Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, *Završni rad*, 2015.

[3] Burčul, F., *Inhibicija acetilkolinesteraze i antioksidacijska aktivnost eteričnih ulja odabranih biljaka porodice Ranunculaceae,* Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Disertacija, 2014.

[4] http://www.lavanda-vukovic.com/o-etericnim-uljima/ (svibanj 2018.).

[5] https://sh.wikipedia.org/wiki/Seskviterpen (svibanj 2018.).

[6] Cerjan-Stefanović Š., Drevenkar V., Jurišić B., Medić-Šarić M., Petrović M., Šegudović N., Švob V., Turina S., Kromatografsko nazivlje: IUPAC preporuke 1993. i 1998., HINUS i Selekcija za kromatografiju HDKI, Zagreb, 1999., str. 23, 30, 25, 63, 47-51.

[7] Rood D., A Practical Guide to the Care, Maintenance, and Troubleshooting of Capillary Gas Chromatographic Systems, Wiley-VCH, Weinheim, 1999., str. 3-7, 102-103, 37-39, 156, 19, 198- 199.

[8] Škorić I., Nastavni tekst kolegija Molekulska spektroskopija Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu. (https://www.fkit.unizg.hr/predmet/molspe_a/predavanja_i_seminar_skoric)

[9] https://hr.wikipedia.org/wiki/Plinska_kromatografija (lipanj 2018.).

[10] https://hr.wikipedia.org/wiki/Masena_spektrometrija (lipanj 2018.).

[11] http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=15149 (srpanj 2018.)

[12] http://www.biocoshop.eu/cista-etericna-ulja/318-etericno-ulje-jela-abies-sibirica.html (srpanj 2018.)

[13] https://www.terra-organica.hr/lovor-laurus-nobilis-etericno-ulje-lovora.html (srpanj 2018.)

[14] Pavia D. L., Lampman G. M., Kriz G. S., *Introduction to Spectroscopy*, 3rd edition, 2001.

[15] http://deaflores.com/etericno-ulje-bor (srpanj 2018.)

[16] Turek C., Stintzing F.C., Stability of Essential Oils: A Review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2013**, *12*, 40-53.

[17] Buchbauer A. B, Biological properties of essential oils: an updated review, *Flavour Fragr. J.*, **2010**, *25*, 407–426.

[18] http://www.spivak.rs/product/etericno-ulje-kleke-10ml/ (srpanj 2018.)

[19] https://www.aromara.hr/shop/product/smilje-hrvatsko-etericno-ulje-5-ml-1444 (srpanj 2018.)

[20] https://edgeoftheforest.weebly.com/blog/-smilje-helichrysum-italicum-roth-gdon-fil-asteraceae (srpanj 2018.)

[21] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol*, **2008**, *46*,446–475.

[22] Misharina T.A., Polshkov A.N., Ruchkina E.L., Medvedeva I.B., Changes in the composition of the essential oil of marjoram during storage, *Appl Biochem Microbiol*, **2003**, *39*, 311–316.

[23] Misharina T.A., Polshkov A.N., Antioxidant properties of essential oils: autoxidation of essential oils from laurel and fennel and of their mixtures with essential oil from coriander, *Appl Biochem Microbio*, **2005**, *41*, 610–618.

[24] Sell C., Chemistry of essential oils. In: Bas¸er KH, Buchbauer G., editors. Handbook of essential oils, Science, technology, and applications. Boca Raton, Fla.: *CRC Press. P*, **2010**, 121–150.

[25] Rastogi S.C., Analysis of fragrances in cosmetics by gas chromatography-mass spectrometry, *J High Resol Chromatogr* **1995,** *18*, 653–658.

[26] Kaczora A.,Revab I., Warszyckia D., Fausto R., *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 222*, **2011**, 1–9.

[27] Kejlova K., Jirova D., Bendova H., Gajdor P., Kolara H., *Toxicology in Vitro*, **2010**, *24*, 2084-2089.

7. ŽIVOTOPIS

[redacted] Školovanje sam započela 2002. godine u OŠ Kantrida, gdje sam i završila osnovnoškolsko obrazovanje s odličnim uspjehom.

2010. godine upisujem 1. razred Prve sušačke hrvatske gimnazije, opći smjer u Rijeci. Nakon završenoga srednjoškolskog obrazovanja, 2014. godine upisujem se na Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, studij Ekoinženjerstvo.

Uz studiranje treniram karate. Uspjesi koje sam ostvarila tijekom studiranja:

- 2015. godina: Sudjelovala sam na Sveučilišnom Prvenstvu Hrvatske u Zagrebu gdje sam predstavljala fakultet i osvojila zlatnu medalju. Iste godine osvojila sam zlatnu medalju na Prvenstvu Hrvatske i dobila priliku otići na Europsko prvenstvo na Cipar koje se održalo u veljači 2016.
- 2016. godine: Sudjelovala sam na Sveučilišnom Prvenstvu Hrvatske u Zgrebu gdje sam predstavljala fakultet i osvojila zlatnu medalju. Ta medalja mi je otvorila put prema Europskim sveučilišnim igrama mladih koje su se održavale u Zagrebu, gdje sam osvojila srebrnu medalju. U prosincu 2016. godine dobila sam posebno Rektorovo priznaje za iznimna sportska postignuća na Europskim sveučilišnim igrama.

Također bavim se uzgojem smilja, smokava, badema i maslina na obiteljskom OPG-u koji se nalazi u Novalji. Osim uzgoja bavim se parnom destilacijom smilja od čijih produkata (eterično ulje smilja i hidrolat) izrađujem razne kozmetičke proizvode kao što su kreme i melemi za njegu usana.