

Kemijski sastav eteričnih ulja izoliranih iz različitih dijelova *Crithmum maritimum* L.

Kovačević, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:256557>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**KEMIJSKI SASTAV ETERIČNIH ULJA IZOLIRANIH IZ
RAZLIČITIH DIJELOVA *Crithmum maritimum* L.**

DIPLOMSKI RAD

KRISTINA KOVAČEVIĆ

Matični broj: 57

Split, srpanj 2023.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ
PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**KEMIJSKI SASTAV ETERIČNIH ULJA IZOLIRANIH IZ
RAZLIČITIH DIJELOVA *Crithmum maritimum* L.**

DIPLOMSKI RAD

KRISTINA KOVAČEVIĆ

Matični broj: 57

Split, srpanj 2023.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY
FOOD TECHNOLOGY**

**CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS ISOLATED
FROM DIFFERENT PARTS OF THE *Crithmum maritimum* L.**

DIPLOMA THESIS

KRISTINA KOVAČEVIĆ

Parent number: 57

Split, July 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet
Diplomski studij Prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija
Mentor: prof. dr. sc. Olivera Politeo

KEMIJSKI SASTAV ETERIČNIH ULJA IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH DIJELOVA BILJKE PETROVAC

Kristina Kovačević, 57

Sažetak:

Petrovac (*Crithmum maritimum* L.) je halofitna, samonikla biljka, rasprostranjena duž mediteranske i atlantske obale. Kroz povijest je bila poznata po svojoj kulinarskoj i medicinskoj upotrebi s obzirom na bogat sadržaj bioaktivnih spojeva i ljekovitih svojstava. Cilj ovog rada bio je izolirati eterično ulje iz različitih dijelova biljke petrovac (cvijet, list i stabljika) sakupljenih na različitim lokacijama duž Hrvatske te ispitati kemijski profil eteričnih ulja. Izolacija eteričnih ulja provedena je metodom hidrodestilacije u aparaturi po Clevengeru. Kemijski sastav ulja je potom analiziran vezanim sustavom plinska kromatografija – spektrometrija masa (GC-MS). Kao glavni sastojci eteričnog ulja, bez obzira na lokaciju i dijelove sakupljenog biljnog materijala, identificirani su monoterpeni limonen i sabinen. Ulje iz cvjetova uz glavne sastojke sadrži i α -pinen. Ulje iz listova petrovca uz dominantne spojeve sadrži i γ -terpinen te terpinen-4-ol. Eterično ulje petrovca sakupljenog duž jadranske obale pripada kemotipu I ili monoterpenskom kemotipu.

Ključne riječi: petrovac, eterično ulje, hidrodestilacija po Clevengeru, GC-MS

Rad sadrži: 48 stranica, 16 slika, 8 tablica, 68 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić - predsjednik
2. dr.sc. Sanja Radman - član
3. Prof. dr. sc. Olivera Politeo - mentor

Datum obrane: 21. srpnja 2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate Study of Food Technology

Scientific area: Natural sciences
Scientific field: Chemistry
Mentor: Ph. D. Olivera Politeo, Full Professor

CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS ISOLATED FROM DIFFERENT PARTS OF THE *CRITHMUM MARITIMUM* L.

Kristina Kovačević, 57

Abstract:

Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) is a halophytic, wild plant, distributed along the Mediterranean and Atlantic coasts. Throughout history, it has been known for its culinary and medicinal use due to its rich content of bioactive compounds and health-beneficial properties. The aim of this work was to isolate the essential oil from different parts of the sea fennel plant (flower, leaf and stem) collected at different locations along Adriatic coast and to examine its chemical profile. Isolation of essential oils was carried out by the method of hydrodistillation in the Clevenger apparatus. The chemical composition of the oil was then analyzed by a coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The monoterpenes limonene and sabinene were identified as the main constituents of the essential oils, regardless of the location and parts of the collected plant material. The oil from the flowers contains also α -pinene as a main ingredient. In addition to the dominant compounds, the oil from the sea fennel leaves also contains γ -terpinene and terpinen-4-ol, respectively. The essential oil of sea fennel collected along the Adriatic coast belongs to chemotype I or monoterpene chemotype.

Keywords: sea fennel, essential oil, Clevenger hydrodistillation, GC-MS,

Thesis contains: 48 pages, 16 pictures, 8 tables, 68 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Ivana Generalić Mekinić, Ph. D., Associate Prof.
2. Sanja Radman, Ph, D.
3. Olivera Politeo, Ph. D., Full Professor

Defence date: July 21 2023.

Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Olivere Politeo u razdoblju od listopada 2022. do srpnja 2023. godine.

Ovaj rad je u potpunosti financiran sredstvima projekta SEAFENNEL4MED (PRIMA 2021, Section 2) (<https://seafennel4med.com/>).

Dio opreme korištene u ovom radu financiran je iz projekta EU „Funkcionalna integracija Sveučilišta u Splitu, PMF-ST, PFST te KTF-ST kroz razvoj znanstveno-istraživačke infrastrukture u Zgradi tri fakulteta“, KK. 01.1.1.02.0018.

ZAHVALA

Velika hvala mojim roditeljima i braći koji su uvijek vjerovali u mene i moj uspjeh kad ni sama nisam. Hvala vam na bezgraničnoj ljubavi, strpljenju, žrtvi i brojnim satima čuvanja djeteta.

Hvala mom suprugu, bez čije podrške i ljubavi nijedan moj uspjeh, pa tako ni ovaj, ne bi bio potpun. Hvala ti na strpljivosti, odricanju i upornosti tijekom čitavog mog školovanja.

Iskreno se zahvaljujem mojoj mentorici prof. dr. sc. Oliveri Politeo na ukazanom povjerenju, savjetima i pomoći prilikom izrade diplomskog rada. Također, zahvaljujem se i izv.prof.dr.sc. Ivani Generalić Mekinić i Vladimiru Jelask Relji na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela rada.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

Zadatak ovog diplomskog rada je bio izolirati eterično ulje iz različitih dijelova biljke petrovac (cvijet, list i stabljika) sakupljenih na jedanaest različitih lokacija duž jadranske obale.

SAŽETAK

Petrovac (*Crithmum maritimum* L.) je halofitna, samonikla biljka, rasprostranjena duž mediteranske i atlantske obale. Kroz povijest je bila poznata po svojoj kulinarskoj i medicinskoj upotrebi s obzirom na bogat sadržaj bioaktivnih spojeva i ljekovitih svojstava. Cilj ovog rada bio je izolirati eterično ulje iz različitih dijelova biljke petrovac (cvijet, list i stabljika) sakupljenih na različitim lokacijama duž obale Jadrana te ispitati kemijski profil eteričnih ulja. Izolacija eteričnih ulja provedena je metodom hidrodestilacije u aparaturi po Clevengeru. Kemijski sastav ulja je potom analiziran vezanim sustavom plinska kromatografija – spektrometrija masa (GC-MS). Kao glavni sastojci eteričnog ulja, bez obzira na lokaciju i dijelove sakupljenog biljnog materijala, identificirani su su monoterpeni limonen i sabinen. Ulje iz cvjetova uz glavne sastojke sadrži i α -pinen. Ulje iz listova petrovca uz dominante spojeve sadrži i γ -terpinen te terpinen-4-ol. Eterično ulje petrovca sakupljenog duž jadranske obale pripada kemotipu II ili monoterpenskom kemotipu.

Ključne riječi: petrovac, eterično ulje, hidrodestilacija po Clevengeru, GC-MS,

SUMMARY

Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) is a halophytic, wild plant, distributed along the Mediterranean and Atlantic coasts. Throughout history, it has been known for its culinary and medicinal use due to its rich content of bioactive compounds and health-beneficial properties. The aim of this work was to isolate the essential oil from different parts of the sea fennel plant (flower, leaf and stem) collected at different locations along Adriatic coast and to examine its chemical profile. Isolation of essential oils was carried out by the method of hydrodistillation in the Clevenger apparatus. The chemical composition of the oil was then analyzed by a coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The monoterpenes limonene and sabinene were identified as the main constituents of the essential oils, regardless of the location and parts of the collected plant material. The oil from the flowers contains also α -pinene as a main ingredient. In addition to the dominant compounds, the oil from the sea fennel leaves also contains γ -terpinene and terpinen-4-ol, respectively. The essential oil of sea fennel collected along the Adriatic coast belongs to chemotype I or monoterpene chemotype.

Keywords: sea fennel, essential oil, Clevenger hydrodistillation, GC-MS

Sadržaj

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. HALOFITI	2
1.1.1. Prilagodbe i mehanizmi prilagodbe	3
1.1.2. Potencijalna primjena halofita	3
1.2. PETROVAC (<i>Crithmum maritimum</i> L.)	4
1.2.1. Klasifikacija i morfologija	5
1.2.2. Nutritivna vrijednost i upotreba petrovca	6
1.2.1. Dosadašnja znanstvena istraživanja	8
1.3. ETERIČNA ULJA	12
1.3.1. Kemijski sastav eteričnih ulja	12
1.4. METODE IZOLACIJE ETERIČNIH ULJA IZ BILJAKA	16
1.4.1. Hidrodestilacija	16
1.4.2. Destilacija vodenom parom	17
1.4.3. Ekstrakcija otapalom	17
1.4.4. Hladno prešanje	18
1.5. METODE ANALIZE ETERIČNIH ULJA	19
1.5.1. Kromatografija na stupcu	19
1.5.2. Tankoslojna kromatografija (TLC)	19
1.5.3. Plinska kromatografija (GC)	20
1.5.4. Spektrometrija masa (MS)	21
1.5.5. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC-MS)	22
2. EKSPERIMENTALNI DIO	24
2.1. MATERIJALI	24
2.1.1. Biljni materijal	24
2.1.2. Kemikalije i aparatura	24
2.2. METODE RADA	25
2.2.1. Hidrodestilacija u aparaturi po Clevengeru	25
2.3.2. GC-MS analiza hlapljivih spojeva	27

3. REZULTATI.....	29
4. RASPRAVA.....	35
5. ZAKLJUČAK	41
LITERATURA	42

UVOD

Petrovac (*Crithmum maritimum* L.), obično poznat kao morski komorač ili motar, obalna je biljka koja je kroz povijest bila poznata po svojoj kulinarskoj i medicinskoj upotrebi. Jedna od značajnih komponenti ove biljke je njezino eterično ulje, koje se dobiva iz različitih dijelova kao što su listovi, stabljike i cvjetovi. U proteklih nekoliko godina sve se više pažnje posvećuje istraživanjima kemijskog sastava eteričnog ulja dobivenog iz različitih dijelova biljke.

Općenito, kemijski sastav eteričnih ulja može značajno varirati ovisno o čimbenicima kao što su biljne vrste, geografski položaj, klimatski uvjeti tijekom rasta i uzgoja, period branja biljke, dio biljke i metode ekstrakcije. Također, specifični sastav i koncentracije pojedinih spojeva eteričnog ulja mogu odrediti njegovu biološku aktivnost i učinkovitost.

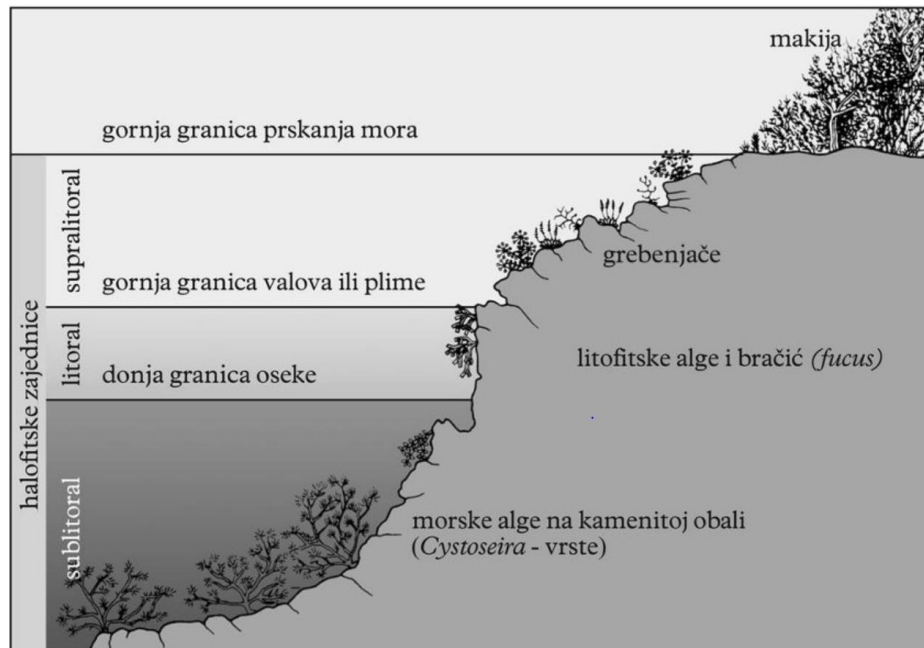
Kemijski sastav eteričnog ulja petrovca čini široki spektar hlapljivih spojeva, a isti ovisi o dijelu biljke iz kojeg se eterično ulje izolira. Razumijevanje kemijskog sastava eteričnog ulja petrovca ključno je za istraživanje njegove potencijalne primjene u raznim industrijama, uključujući farmaceutsku, kozmetičku i prehrambenu.

Ovaj rad ima za cilj pružiti uvid u kemijski sastav eteričnog ulja izoliranog iz različitih dijelova petrovca sakupljenog na više različitih lokacija duž jadranske obale. Eterična ulja su dobivena hidrodestilacijom u aparaturi po Clevengeru, a kemijski sastav ulja nakon izolacije je izravno analiziran vezanim sustavom plinske kromatografije i spektrometrije mase (GC-MS).

1. OPĆI DIO

1.1. HALOFITI

Halofiti ili slanjače su jedinstvena skupina biljaka koje su se prilagodile kako bi preživjele i napredovale u slanim ili visokoslanim sredinama. Ove specijalizirane biljke razvile su različite anatomske, fiziološke i biokemijske prilagodbe koje im omogućuju da podnose visoke koncentracije soli u svojoj okolini. Halofiti se mogu pronaći u različitim staništima kao što su slane močvare, estuariji, mangrove, obalna područja i slana tla.¹



Slika 1. Halofitske zajednice u obalnom području Jadranskog mora²

1.1.1. Prilagodbe i mehanizmi prilagodbe

Halofiti su razvili nekoliko ključnih prilagodbi kako bi se nosili s visokim salinitetom. Jedna od značajnijih prilagodbi je razvoj slanih žlijezda ili struktura za izlučivanje soli na njihovom lišću, stabljici ili korijenu. Ove žlijezde aktivno izlučuju višak soli, održavajući nisku koncentraciju soli u biljnim tkivima.³

Još jedna važna prilagodba je sposobnost selektivne apsorpcije i isključivanja iona kroz njihov korijenski sustav. Halofiti koriste ionske prijenosnike i kanale koji im omogućuju preuzimanje bitnih iona poput kalija (K^+) dok isključuju ili razdvajaju toksične ione poput natrija (Na^+) i klorida (Cl^-). Ovaj selektivni mehanizam preuzimanja i isključivanja iona pomaže u održavanju ravnoteže staničnih iona.¹

Osim toga, halofiti često posjeduju mehanizme za suočavanje s nedostatkom vode uzrokovan osmotskom neravnotežom na način da nakupljaju kompatibilne otopljene tvari kao što su glicin betain, prolin i šećeri, koji djeluju kao osmoprotektanti. Ove otopine pomažu u održavanju staničnog potencijala vode i sprječavaju dehidraciju pod utjecajem visokog saliniteta.⁴

1.1.2. Potencijalna primjena halofita

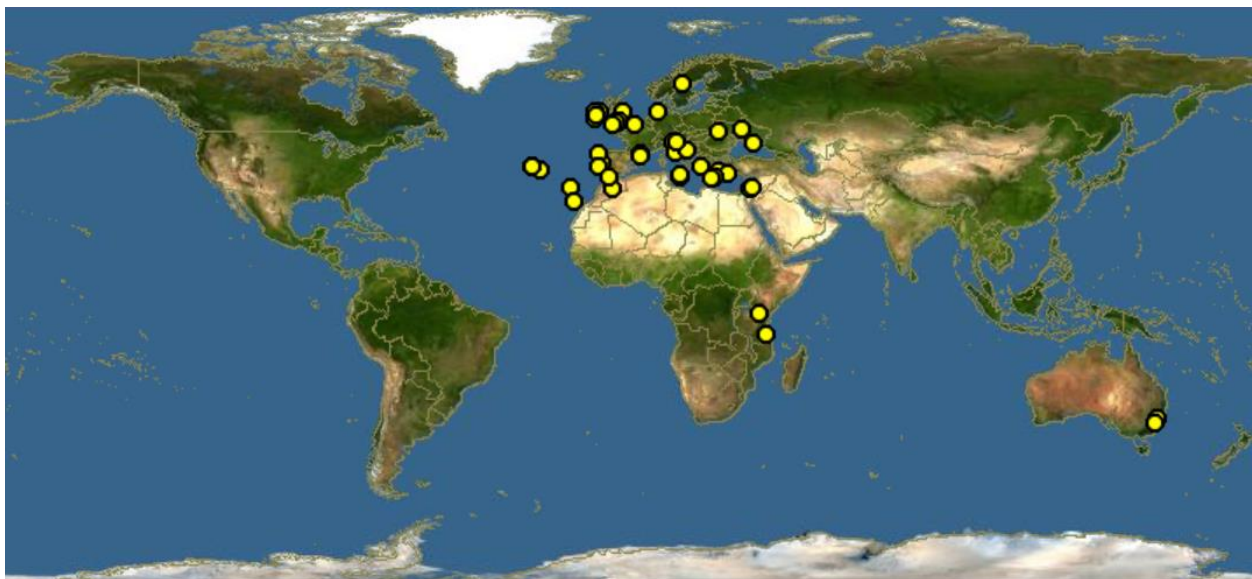
Halofiti su dragocjeni prirodni resursi i imaju potencijalnu ekonomsku vrijednost kao žitarice, povrće, voće, lijekovi, stočna hrana i sirovine za biogoriva, te u ozelenjavanju i zaštiti obale.⁵ Halofiti se obično koriste za proizvodnju hrane, gnojiva, fitogoriva, kao i za procese fitoremedijacije i desalinizacije. Također, lokalno stanovništvo ih stoljećima konzumira i koristi u tradicionalnoj medicini zbog njihovih nutritivnih i terapijskih svojstava.

Ove se biljke smatraju dobrim izvorom proteina, vlakana i masnih kiselina te vitamina A, C ili B6 i tokoferola koji osiguravaju antioksidativna svojstva. Osim toga, oni su dobar izvor minerala, poput kalcija, magnezija i kalija te sintetiziraju sekundarne metabolite kao što su fenolni spojevi kao odgovor na oksidativno oštećenje izazvano visokom koncentracijom soli. Ovaj nutritivni i antioksidativni profil čini halofite zanimljivim namirnicama s funkcionalnim

svojstvima.⁶ Mnogi halofiti također mogu rasti na toksičnim metalnim tlima gdje ih odlikuje bolja ekološka prilagodljivost nego li nehalofite, što upućuje na njihovu potencijalnu primjenu u tretiranju onečišćenja okoliša.⁵

1.2. PETROVAC (*Crithmum maritimum* L.)

Petrovac (*Crithmum maritimum* L.), poznat kao morski komorač ili motar, je samonikla, aromatična biljka koja raste u pukotinama stijena, stjenovitim obalama i šljunčanim plažama duž mediteranske i atlantske obale.⁷ Ime biljke dolazi od grčke riječi *krithe* što znači 'ječam' i odnosi se na oblik ploda koji nalikuje zrnu ječma, dok ime vrste *maritimum* u prijevodu znači 'morski' i odnosi se na stanište na kojem biljka pretežno obitava. U Hrvatskoj je petrovac rasprostranjen duž cijele obale te raste na kamenitom, pješčanom tlu uz more i po stijenama, pretežno u većim skupinama te na osunčanim i slanim područjima.⁸



Slika 2. Rasprostranjenost petrovca u svijetu⁹

1.2.1. Klasifikacija i morfologija

Tablica 1. Sistematska podjela petrovca⁷

Carstvo	Plantae
Koljeno	Magnoliophyta
Razred	Magnoliopsida
Red	Apiales
Porodica	Apiaceae
Rod	<i>Crithmum</i>
Vrsta	<i>Crithmum maritimum</i> L.

Petrovac je jedina vrsta roda *Crithmum* unutar porodice štitarki (*Apiaceae*). To je vrlo razgranata višegodišnja zeljasta biljka visine od 30 do 60 cm. Korijen biljke je snažan i gust. Listovi su mesnati i sočni, modro-zeleni, dugi 2 do 5 cm te se šire radijalno tvoreći rozetu. Od kraja srpnja do sredine kolovoza iz završnog pupa razvija se do 30 cm visoka stabljika. Biljka cvate između lipnja i rujna, a plodovi počinju sazrijevati u studenom i prosincu. Cvjetovi su skupljeni u štitcima, žućkaste ili zelenkasto-bijele boje latica i daju jajolike plodove. Plod je kalavac, dug 5 do 6 mm, maslinasto-zeleni do ljubičasti (slika 3).⁷



Slika 3. Morfološki izgled petrovca¹⁰

1.2.2. Nutritivna vrijednost i upotreba petrovca

Petrovac ima dugu povijest kao vrlo vrijedna biljka, ljekovitih svojstava. Od davnina se koristio u kuhinji i narodnoj medicini kao tonik, karminativ, sredstvo protiv glista, diuretik i lijek protiv skorbuta zbog visokih koncentracija vitamina C.^{11,12}

U većini mediteranskih zemalja, listovi i stabljike petrovca se tradicionalno konzumiraju u salatama, sirovi ili prethodno obrađeni u kipućoj vodi kako bi omekšali. U nekim krajevima Mediterana konzumiraju se i kao predjelo uz razna jela, kruh i maslinovo ulje, ili čak pripremljeni s kaparima.¹³ Osim svoje prehrambene vrijednosti, petrovac se koristi u tradicionalnoj medicini zbog potencijalnih zdravstvenih dobiti. Vjeruje se da ima diuretska svojstva, pomaže u probavi i promiče zdravu funkciju bubrega i jetre.¹⁴

Tablica 2. Nutritivna vrijednost petrovca na 100 g svježe biljke¹⁵

Energetska vrijednost (Kcal)	26
Voda (g)	88.87
Proteini (g)	0.31
Masti (g)	0.39
Ugljikohidrati (g)	2.48
Vlakna (g)	5.7
Pepeo (g)	2.25
Kalcija (mg)	225
Željezo (mg)	2.29
Magnezij (mg)	46
Fosfor (mg)	22
Kalij (mg)	313
Natrij (mg)	368
Cink (mg)	0.26
Vitamin A – RAE (µg)	74

β – karoten (μg)	883
Vitamin C (mg)	10

Listovi petrovca sadrže značajnu količinu spojeva poput vitamina C, karotenoida, tanina i flavonoida i ostalih bioaktivnih spojeva koji se mogu koristiti u aromatične, ljekovite, antimikrobne i insekticidne svrhe.¹⁶ Također, u eteričnom ulju lista petrovca pronađena je visoka koncentracija ω-3 i ω-6 masnih kiselina koje imaju vrlo važan utjecaj na zdravlje krvožilnog sustava i bolesti srca.¹⁷ U tablici 3 je prikazan sadržaj vitamina C, flavonoida, tanina, ukupnih polifenola i karotenoida u nadzemnim dijelovima biljke. Zanimljivo je da ovaj halofit pokazuje visok sadržaj fenola u usporedbi s drugim halofitnim vrstama, ali je važno naglasiti da ukupni sadržaj fenola u petrovcu može značajno varirati ovisno o vegetacijskom razdoblju biljke.¹⁸

Tablica 3. Sadržaj vitamina C, flavonoida, tanina, ukupnih fenola i karotenoida u nadzemnim dijelovima petrovca¹⁴

Spoj	Vrijednost
Vitamin C	76.6 g/ 100 g svježe biljke
Flavonoidi	2.3 mg/ 100 g suhe biljke
Tanini	6.8 mg/ 100 g suhe biljke
Ukupni fenoli	2.3 mg/ 100 g suhe biljke
Karotenoidi	33.8 mg/ 100 g suhe biljke

1.2.1. Dosadašnja znanstvena istraživanja

Petrovac je predmet brojnih znanstvenih istraživanja zbog svojih jedinstvenih karakteristika, ekološkog značaja i mogućnosti primjene u raznim područjima. Kao halofitna biljna vrsta pokazuje izvanredne prilagodbe za preživljavanje i razvoj u slanim sredinama. Znanstvena istraživanja obuhvaćaju širok raspon disciplina, uključujući botaniku, fitokemiju, farmakologiju i ekologiju. Drugo područje interesa je kemijski sastav petrovca, uključujući i njegovo eterično ulje. Studije su usmjerene na identifikaciju i kvantificiranje bioaktivnih spojeva prisutnih u petrovcu, kao što su fenolni spojevi i eterična ulja, kako bi se istražile njihove potencijalne zdravstvene koristi i primjena u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Tablica 4. Kratki pregled dosadašnjih znanstvenih istraživanja

NASLOV RADA	CILJ ISTRAŽIVANJA	REZULTATI
Comprehensive characterization of phytochemicals in edible sea fennel (<i>Crithmum maritimum</i> L., Apiaceae) grown in central Italy. ¹⁹	Ispitivanje kemijskog profila ekstrakata i eteričnog ulja iz nadzemnih dijelova petrovca uzgojenog u središnjoj Italiji te potencijalna primjena biljke kao nutraceutika.	U ekstraktima je kao najzastupljeniji spoj identificirana 5-O-kafeoilkininska kiselina (2,24 g/100 g). Eterično ulje je sastavljeno od monoterpenih ugljikovodika (npr. γ -terpinen 50,0 %) i oksigeniranih monoterpena, (pr. metil timil eter 18,2 %). Po prvi puta u ekstraktu je identificiran melatonin.
Chemical profiling of sea fennel (<i>Crithmum maritimum</i> L., Apiaceae) essential oils and their isolation residual waste-waters. ²⁰	Ispitavanje sastava eteričnih ulja petrovca iz različitih dijelova biljke (cvjetovi, listovi i stabljike) i odgovarajućih nusproizvoda hidroddestilacije (hidrolati)	Eterično ulje je većinom sastavljeno od neoksigeniranih monoterpeni spojeva (sabinen do 51,47%, limonen do 43,58% i γ -terpinena do 5,28%) te oksigeniranih monoterpena (npr. terpinen-4-ol). Zaostala otpadna voda je nakon izolacije

	kako bi se potvrdila njihova potencijalna upotreba i primjena u različitim industrijama.	eteričnih ulja i dalje sadržavala visoke koncentracije biološki važnih spojeva, posebice klorogenske kiseline i njezinih izomera te bi mogla biti prikladna sirovina za razvoj prehrambenih, farmakoloških ili kozmetičkih sastojaka i proizvoda.
Comparative analysis of the antimicrobial activity of essential oils and their formulated microemulsions against foodborne pathogens and spoilage bacteria. ²¹	Istraživanje i usporedba antimikrobnog djelovanja odabranih eteričnih ulja (uključujući i ulje petrovca) i njihovih mikroemulzijskih formulacija protiv reprezentativnih patogena koji se prenose hranom i mikroorganizama uzročnika kvarenja hrane.	U eteričnom ulju petrovca su identificirani monoterpenoidi - γ -terpinen (32,9%), karvakrol metil eter (21,9%) i fenilpropanoid apiol kopra (17,5%). Eterično ulje petrovca je imalo najviši promjer inhibicije rasta prema <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Candida albicans</i> te značajne vrijednosti potvrđene prema ostalim testiranim bakterijskim vrstama.
The effect of successive harvesting on the volatile constituents of two essential oils of cultivated populations of sea fennel (<i>Crithmum maritimum</i> L.) in Greece. ²²	Po prvi put provedeno istraživanje kemijskog sastava eteričnog ulja petrovca uzgojenog iz dvije uzastopne godine žetve (2016.; 2017.) na području središnje Grčke (Larissa).	Glavni spojevi eteričnog ulja dobivenog iz kultivara 2016. bili su sabinen (17,6%), γ -terpinen (17,5%), <i>p</i> -cimen (16,7%), β -felandren (15,5%), timol metil eter (9,3%) terpinen-4-ol (4,8%) i dilapiol (2,0%). Uzorak iz 2017. godine sadržio je β -felandren (30,9%), γ -terpinen (19,6%), sabinen (15,8%), timol metil eter (7,6%), terpinen-4-ol (4,8%) i dilapiol (0,1%).
The application of the essential oils of <i>Thymus vulgaris</i> L. and <i>Crithmum maritimum</i> L.	Cilj je bio procijeniti antimikrobnu učinkovitost eteričnih ulja timijana i petrovca u dezinfekciji	U eteričnom ulju petrovca dominiraju monoterpenski ugljikovodici (45,08%) s β -mircenom kao najzastupljenijim spojem (13,66%), a slijede ga <i>p</i> -cimen

<p>as biocidal on two tholu bommalu Indian leather puppets.²³</p>	<p>prirodne kože.</p>	<p>(11,67%) i β-felandren (6,57%). Također dominiraju oksigenirani monoterpeni (40,03%) uz timol acetat (14,38%), dok su oksigenirani seskviterpeni činili vrlo mali postotak.</p> <p>Biocidna svojstva eteričnog ulja nadzemnih dijelova sicilijanskog uzorka petrovca pokazali su slabo djelovanje protiv izoliranih mikroorganizama.</p>
<p>Chemical composition of essential oils of aromatic and medicinal herbs cultivated in Greece - benefits and drawbacks.²⁴</p>	<p>Ispitivan je sastav eteričnih ulja dobivenih iz različitih vrsta biljaka uzgajanih u Grčkoj (uključujući petrovac), te njihova primjena kao potencijalnih prehrambenih konzervansa.</p>	<p>U eteričnom ulju petrovca kao glavni spojevi detektirani su sabinen (49,45%) i γ-terpinen (31,37%) te α-pinen koji sprječavaju lipidnu oksidaciju i užeglost hrane. U manjim količinama, izolirani su β-mircen, <i>p</i>-cimen koje se koriste kao konzervansi te limonen koji djeluje protugljivično.</p>
<p>Chemical composition of <i>Crithmum maritimum</i> L. essential oil and hydrodistillation residual water by GC-MS and HPLC-DAD-MS/MS, and their biological activities.²⁵</p>	<p>Kemijska analiza i bioaktivni potencijal eteričnog ulja i rezidualne vode dobivene hidrodestilacijom petrovca.</p>	<p>Eterično ulje uglavnom karakteriziraju monoterpenski ugljikovodici (78%) nakon kojih slijede oksigenirani monoterpeni (20,1%). Glavni spojevi su γ-terpinen (33,6%), sabinen (32,0%) i timol metil oksid (15,7%). Dilapiol je bio jedini otkriveni fenilpropanoid i pronađen je u rezidualnim količinama.</p> <p>Nehlapljivi ekstrakt je bio bogat hidroksicimetnim kiselinama i flavonoidnim glikozidima koji imaju važne biološke aktivnosti, što podržava industrijsku eksploataciju ove biljke.</p>

<p>Sea fennel (<i>Crithmum maritimum</i> L.): phytochemical profile, antioxidative, cholinesterase inhibitory and vasodilatory activity.²⁶</p>	<p>Istraživanje fitokemijskog profila i biološki potencijal različitih dijelova petrovca te određivanje kemijskog profila eteričnog ulja i ukupnog sadržaja fenola u etanolnim ekstraktima.</p>	<p>Identificirano je 96 % eteričnog ulja, a u svim uzorcima glavni spojevi su limonen s najvećim postotkom pronađenim u stabljici (74,2%), dok je njegov sadržaj u cvjetovima bio 62,2%, a u lišću 57,5%, nakon čega slijedi γ-terpinen (13,8% u stabljici, 4,6% u cvjetovima i 12,0% u listovima) te sabinen (12,0% u stabljici, 8,1% u cvjetovima i 13,4% u listovima).</p>
<p>Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from <i>Crithmum maritimum</i> cultivated in Tunisia.²⁷</p>	<p>Analiza kemijskog sastav i biološka aktivnost eteričnih ulja iz različitih dijelova biljke petrovac sa područja Tunisa.</p>	<p>U eteričnim uljima stabljike, cvijeta i sjemenki, γ-terpinen je bio glavna komponenta u udjelu od 32,78%, 43,29% odnosno 39,74%. U eteričnom ulju lista glavna komponenta je bio dilapiol (41,35%). Za sve dijelove biljke četiri su glavna spoja: dilapiol (2,39 do 41,35%), timil metil eter (20,13 do 34,75%), <i>p</i>-cimen (4,83 do 22,08%) i γ-terpinen (22,54 do 43,29%). Procjena antioksidativnog djelovanja pokazala je da su ulja cvjetova pokazala najbolji antioksidativni potencijal.</p>

1.3. ETERIČNA ULJA

Eterična ulja su visoko koncentrirani biljni ekstrakti koji sadrže hlapljive spojeve koji se sintetiziraju u različitim dijelovima aromatičnih biljaka, uključujući listove, cvjetove, stabljiku, korijenje i plodove. Eterična ulja su u biljkama zastupljena u malom udjelu, ali posjeduju širok raspon kemijskih sastojaka koji doprinose njihovim biološkim svojstvima zbog kojih se aromatične biljke koriste u farmaceutskoj, prehrambenoj industriji te industriji parfema. Specifičnim mirisom privlače kukce radi oprašivanja, ali također odbijaju različite nametnike. Prema nekim izvorima, većina se biljaka koje imaju sposobnost stvaranja eteričnog ulja nalazi u području tropske klime pa se sukladno tome smatra da eterična ulja djeluju u smjeru smanjenja transpiracije.²⁸

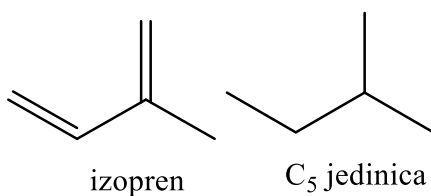
1.3.1. Kemijski sastav eteričnih ulja

Kemijski sastav eteričnih ulja može značajno varirati ovisno o čimbenicima kao što su vrsta biljke, uvjeti uzgoja, dio i starosti biljke, geografski položaj te korištenim metodama ekstrakcije. Oko 90% do 95% eteričnog ulja čine hlapljive komponente, u koje spadaju terpeni ugljikovodici, odnosno monoterpeni i seskviterpeni i njihove oksigenirane frakcije, uz alifatske aldehide, estere i alkohole. Nehlapljive komponente, čine oko 5% do 10% cjelokupnog ulja, a najvećim dijelom ih čine nezasićene masti, voskovi, steroli, kumarini, ugljikovodici, karotenoidi i flavonoidi.^{29,30}

1.3.1.1. Terpeni

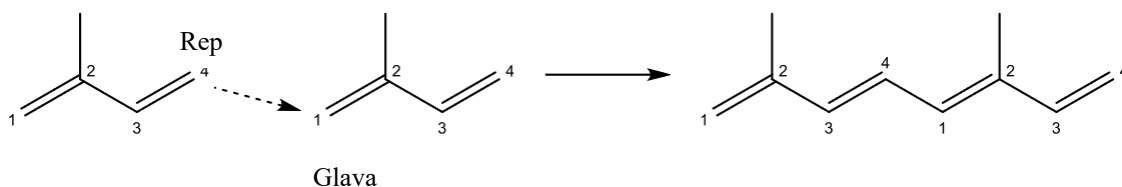
Terpeni su daleko najvažnija skupina prirodnih spojeva u eteričnim uljima, a njihov naziv potječe od terpentina, hlapljive tekućine iz borova drva. Definiraju se kao tvari koje se sastoje od jedinica izoprena (2-metil-1,3-butadien). Svaka izoprenska jedinica se sastoji od pet ugljikovih atoma s dvostrukim vezama (slika 4). Ovisno o broju izoprenskih jedinica koje sadrže, terpeni se mogu klasificirati kao monoterpeni (dvije izoprenske jedinice), seskviterpeni (tri izoprenske jedinice) te njihove oksigenirane frakcije koje čine najveći

postotak spojeva eteričnih ulja.



Slika 4. Strukturna formula izoprena i izoprenske jedinice

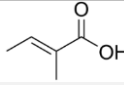
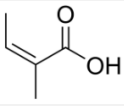
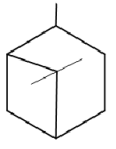
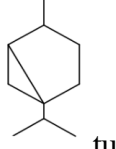
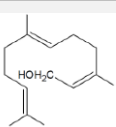
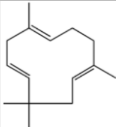
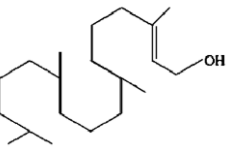
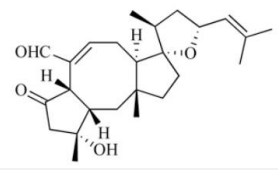
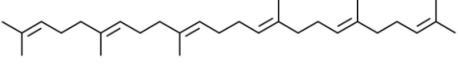
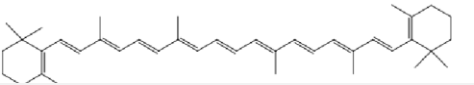
Otto Wallach, njemački kemičar i nobelovac je 1881. godine predložio *izoprensko pravilo*, prema kojem se dvije izoprenske jedinice mogu povezivati na nekoliko načina: glava-rep, glava-glava ili rep-rep. Izoprenske jedinice se najčešće povezuju po principu glava-rep odnosno razgranati završetak jedne C₅-jedinice (glava) je povezan s nerazgranatim završetkom druge C₅-jedinice (rep) (slika 5).³¹



Slika 5. Izoprensko pravilo

Terpeni se prema broju C₅-jedinica prisutnih u molekuli dijele na: hemiterpene, monoterpene, seskviterpene, diterpene, sesterpene, triterpene, tetraterpene i politerpene (tablica 5).

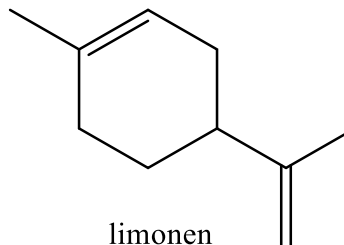
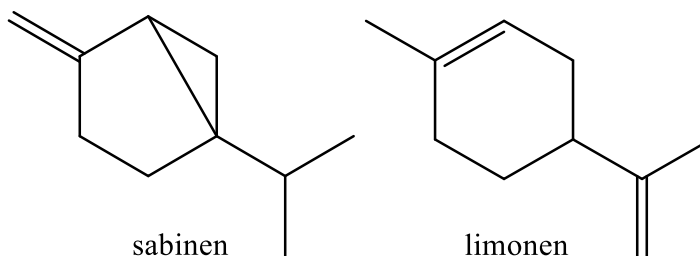
Tablica 5. Podjela terpena i glavni predstavnici skupina

Naziv podskupine	Broj C5 jedinica	Broj C atoma	Strukture predstavnika
Hemiterpeni	1	5	 tiglinska kiselina  angelinska kiselina
Monoterpeni	2	10	 pinan  tujan
Seskviterpeni	3	15	 farnezol  humulen
Diterpeni	4	20	 fitol
Sesterpeni	5	25	 ophiobolin A
Triterpeni	6	30	 skvalen
Tetraterpeni	8	40	 β-karoten
Politerpeni	n	5 _n	$\left[\text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\text{C}} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\text{C}} = \text{CH} - \text{CH}_2 \right]_n$ kaučuk

Također, terpeni se mogu podijeliti na acikličke (ne posjeduju prstenastu strukturu) i cikličke (mono-, bi-, tri- i tetra-) terpene, a ovisno o funkcijskoj skupini mogu biti ugljikovodici, alkoholi, fenoli, kiseline, esteri, aldehidi i ketoni.

Terpeni su odgovorni za jedinstvenu aromu i miris biljaka te imaju značajnu ulogu u terapijskim svojstvima eteričnih ulja. Vrlo su hlapljivi, pa lako isparavaju na sobnoj temperaturi, a njihova hlapljivost doprinosi jakim i jasnim mirisima.³²

Kao najznačajniji terpeni identificirani u eteričnom ulju petrovca, izdvajaju se sabinen - biciklički monoterpen, karakteristične "paprene" arome i limonen koji spada u skupinu monocikličkih monoterpena te je prepoznatljiv po intenzivnom citrusnom mirisu (slika 6).³³



Slika 6. Sabinen i limonen

1.3.1.2. Ostali spojevi koji se pojavljuju u eteričnim uljima

Među ostalim spojevima koji se nalaze u eteričnim uljima ubrajaju se alkoholi koji mogu pridonijeti njihovom mirisu i terapijskim svojstvima. Primjeri koji su prisutni u eteričnom ulju petrovca uključuju linalol i terpineol. Osim alkohola, prisutni su i aldehidi, organski spojevi koji doprinose aromi eteričnih ulja, ketoni te fenolni spojevi poput timola i karvakrola, poznati po svojim antimikrobnim i antioksidativnim svojstvima.³⁴

1.4. METODE ISOLACIJE ETERIČNIH ULJA IZ BILJAKA

Prije samog odabira metode izolacije hlapljivih spojeva potrebno je razmotriti ciljeve koji se žele postići izolacijom jer sastav ulja može u velikoj mjeri varirati ovisno o korištenoj metodi ekstrakcije. Vrlo je važno da se prirodni udio komponenti tijekom ekstrakcije eteričnih ulja iz biljaka održi. Konvencionalne metode ekstrakcije karakterizira nekoliko nedostataka, od kojih se posebno ističu jako dugo trajanje ekstrakcije i oštri uvjeti, te obično troše više energije. Povećanje cijene energije i emisija ugljikovog dioksida uzrokovalo je razvoj inovativnih metoda koje su isplative, održive i sposobne proizvesti izolate s istim ili poboljšanim karakteristikama.³⁵

Konvencionalne metode:

1. Hidrodestilacija
2. Destilacija vodenom parom
 - a. Parna destilacija
 - b. Parna hidrodestilacija
 - c. Hidrodifuzija
3. Ekstrakcija organskim otapalom
4. Hladno prešanje³⁶

1.4.1. Hidrodestilacija

Hidrodestilacija je najčešće korištena metoda ekstrakcije uz destilaciju vodenom parom. Ovaj proces ekstrakcije može trajati nekoliko sati, a količina izdvojenog ulja ovisi o duljini vremena destilacije, temperaturi, tlaku i vrsti biljnog materijala.³⁵ Tijekom destilacije biljni materijal se izlaže kipućoj vodi kako bi se isparavanjem oslobodilo eterično ulje.

Iako se ekstrakcija eteričnog ulja destilacijom čini jednostavnim procesom, ima mnogo nedostataka. Budući da su eterična ulja dugo vremena izložena kipućoj vodi, stvaranje artefakata zbog visoke temperature ili kiselosti vode je čest problem. To može dovesti do razlika u sastavu hlapljivih ulja koja se izoliraju. Tijekom destilacije zbog kontakta s kipućom

vodom može doći do kemijskih promjena molekula terpena ili pregrijavanja te gubitka pojedinih polarnih molekula u vodi. S druge strane, prednost ove metode je u njenoj jednostavnosti te u tome što se eterična ulja ne miješaju s vodom pa se jednostavnim dekantiranjem lako od nje odvoje.³⁶

1.4.2. Destilacija vodenom parom

Ova metoda se temelji na istom principu kao hidrodestilacija, a razlikuju se po tome što nema izravnog kontakta između biljke i vode te je trajanje ekstrakcije skraćeno čime se smanjuju kemijske promjene. Kod parne hidrodestilacije biljni materijal nije u direktnom kontaktu s vodom već se stavlja na rešetku iznad vode. Kako se voda zagrijava tako vodena para prolazi kroz biljni materijal i sa sobom nosi hlapljive spojeve eteričnog ulja. Kod parne destilacije imamo sličan princip, ali sama para se uvodi iz vanjskog izvora te se u koloni ne nalazi voda. Kod hidrodifuzije se protok para odvija prema dolje uslijed djelovanja gravitacije.³⁶

1.4.3. Ekstrakcija otapalom

Ekstrakcija otapalom može se koristiti za ekstrakciju eteričnih ulja koja su termički labilna (npr. iz cvjetova). Otapala koja se obično koriste za ekstrakciju su alkohol, heksan, etanol, petrolej, eter i metanol. Ova metoda rezultira ugodnijom aromu od bilo koje druge metode izolacije. Glavna prednost ekstrakcije u odnosu na destilaciju je što se tijekom procesa koristi niža temperatura, čime se smanjuje rizik od kemijskih promjena zbog visokih temperatura. Metoda se provodi maceriranjem biljnog materijala u organskom otapalu te uklanjanje otapala pod smanjenim tlakom u svrhu dobivanja koncentriranog ekstrakta.³⁶

Ekstrakcija otapalom je jeftina i relativno brza, a budući da su brzine difuzije pod utjecajem temperature, moguće je ubrzati proces upotrebom vrućih otapala. Izolirano eterično ulje sadržava malu količinu organskog otapala kao talog i stoga nije prikladno za upotrebu u hrani. Međutim, ako se kao otapalo koristi alkohol tada eterično ulje možemo smatrati "prehrambenim".³⁵

1.4.4. Hladno prešanje

Hladno prešanje je najstarija metoda ekstrakcije i koristi se gotovo isključivo za proizvodnju eteričnih ulja citrusa. Kod ove metode se uljne žlijezde unutar kore citrusnog voća mehanički drobe kako bi se oslobodio njihov sadržaj. Kao rezultat dobiva se emulzija, koja se zatim centrifugira kako bi se odvojilo eterično ulje od vode. Razlog ekstrakcije eteričnih ulja kore citrusa mehaničkim metodama je toplinska nestabilnost prisutnih aldehida.³⁵

1.5. METODE ANALIZE ETERIČNIH ULJA

Nakon izolacije eteričnog ulja slijedi analiza odnosno identifikacija izoliranih spojeva. Analitičke metode igraju ključnu ulogu u kontroli kvalitete i karakterizaciji eteričnih ulja. Metode koje se obično koriste za analizu kemijskog sastava, čistoću i kvalitetu eteričnih ulja su kromatografske metode. Kromatografija je tehnika razdvajanja smjese spojeva na čiste komponente. Različiti spojevi se adsorbiraju na stacionarnu potpornu fazu, a zatim ih mobilna faza nosi različitim brzinama.³⁷

1.5.1. Kromatografija na stupcu

Kromatografija na stupcu je metoda koja se temelji na razdvajanju smjese spojeva prolaskom mobilne faze kroz kolonu ispunjenu stacionarnom fazom pod utjecajem gravitacije. Stacionarna faza može biti kruti materijal kao što je aluminijev oksid te silikagel, ili čvrsti nosač obložen tekućinom. Mobilna faza, obično otapalo ili mješavina otapala, kreće se kroz kolonu, noseći smjesu i omogućujući odvajanje njezinih komponenti. Uzorak se otopi ili suspendira u prikladnom otapalu i pažljivo nanosi na vrh kolone te se eluira kontinuiranim propuštanjem mobilne faze kroz kolonu. Kako mobilna faza prolazi kroz kolonu, pojedinačne komponente u uzorku različito stupaju u interakciju sa stacionarnom fazom. Komponente koje imaju jači afinitet za stacionarnu fazu kretat će se sporije, a one sa slabijim afinitetom brže. Naposljetku, sakupljene frakcije koje sadrže željene spojeve dalje se analiziraju ili podvrgavaju dodatnim koracima pročišćavanja ako je potrebno.^{37,38}

1.5.2. Tankoslojna kromatografija (TLC)

Tankoslojna kromatografija je jedna od najjednostavnijih, najbržih, najlakših i najjeftinijih kromatografskih tehnika za kvalitativnu, kvantitativnu i preparativnu analizu organskih spojeva. Analiza se provodi na ravnoj površini adsorbensa pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku. Metoda se provodi na tankom sloju adsorbensa (stacionarna faza). Stacionarna faza je najčešće silikagel ili aluminijev oksid (aloks) na nosaču, najčešće staklena

ploča ili aluminijski lim koja se uroni u otapalo krajem na koji je nanesen uzorak (startna linija). Mobilna faza (eluens) se kapilarnim silama penje kroz adsorbens i nosi uzorak, koji se kao i u svim kromatografijama adsorbira i desorbira sa stacionarne faze u ovisnosti o njegovoj polarnosti. Kada se otapalo približi gornjem rubu pločice, pločica se izvadi iz posude te se zabilježi udaljenost do koje je došlo otapalo (fronta otapala).³⁹

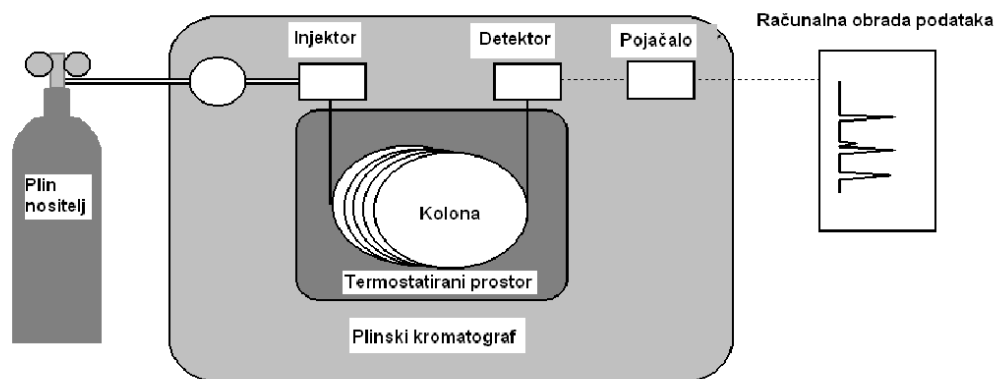
Zatim slijedi sušenje otapala te postupak vizualizacije komponenti uzorka. Ako su komponente uzorka obojene, mogu se izravno promatrati. Ako nisu, mogu se vizualizirati obasjavanjem ploče ultraljubičastim svjetlom, ostavljanjem ploče da stoji nekoliko minuta u zatvorenoj posudi u kojoj je atmosfera zasićena jodnim parama ili pak prskanjem ploče reagensom koji će reagirati s jednom ili više komponenti uzorka.⁴⁰



Slika 7. Tankoslojna kromatografija³⁹

1.5.3. Plinska kromatografija (GC)

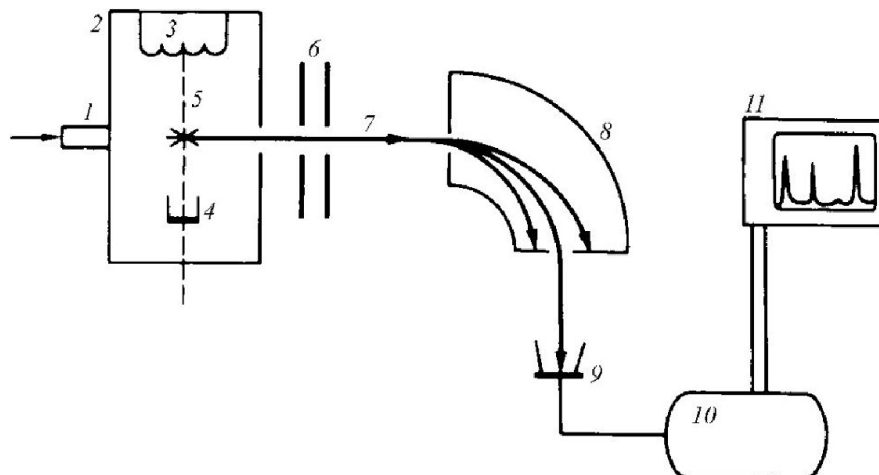
Plinska kromatografija je tehnika koja se koristi za razdvajanje plinova, hlapljivih spojeva i spojeva koji se pri povišenoj temperaturi mogu prevesti bez razgradnje u plinovito stanje. Komponente uzorka se otapaju u otapalu i isparavaju te se uzorak ubrizgava u plinski kromatograf, gdje ga inertni plin (helij, argon, dušik) provodi kroz stacionarnu fazu (obično kapilarnu kolonu). Različiti spojevi u uzorku stupaju u interakciju s kolonom u različitim stupnjevima, što rezultira njihovim odvajanjem. Detekcija se može postići korištenjem različitih detektora kao što je plamenoionizacijski detektor (FID) ili spektrometrija masa (MS).⁴¹



Slika 8. Shematski prikaz plinskog kromatografa⁴²

1.5.4. Spektrometrija masa (MS)

Spektrometrija masa je analitička metoda koja se koristi za identifikaciju i karakterizaciju kemijskih spojeva na temelju njihovog omjera mase i naboja (m/z) u elektromagnetskom polju. Ova metoda pruža informacije o elementarnom sastavu, molekularnoj težini, strukturi i obilju molekula u uzorku. Osnovno načelo spektrometrije mase uključuje ionizaciju molekula, odvajanje iona na temelju omjera njihove mase i naboja i detekciju iona za stvaranje spektra mase (slika 9).³⁷



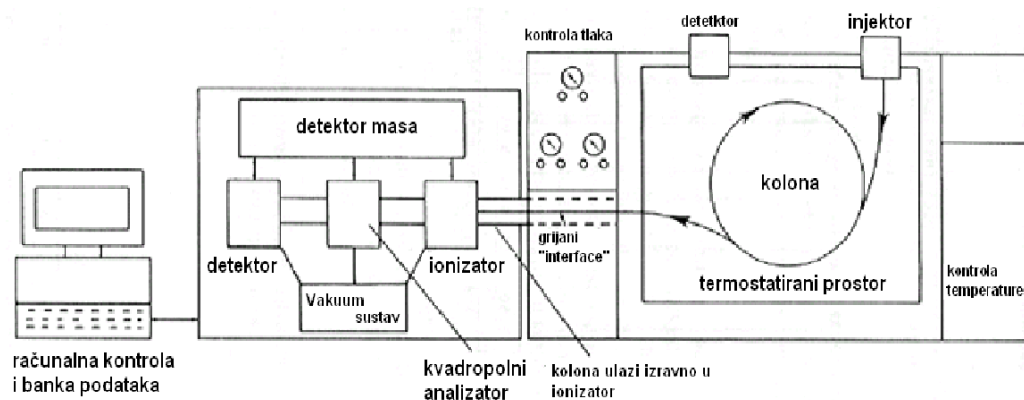
Slika 9. Spektrometar masa - 1. sustav za unošenje uzorka; 2. ionski izvor; 3. katoda; 4. anoda; 5. elektronski snop; 6. električno polje; 7. ionski snop; 8. magnetsko polje; 9. detektor; 10. elektronička obradba signala; 11. zapis spektra⁴³

1.5.5. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC-MS)

Plinska kromatografija povezana sa spektrometrijom masa (GC-MS) je metoda koja se danas najčešće koristi za analizu hlapljivih spojeva. Spajanje ovih dviju metoda proizišlo je iz potrebe za nedvosmislenim identificiranjem komponenti složenih smjesa, budući da su spojevi podložni analizi GC-om (niske molekularne težine, srednje ili niske polarnosti te malih koncentracija) također kompatibilni sa zahtjevima MS-a. Osim toga, obje analize odvijaju se u istom agregacijskom stanju (parna faza). Jedini nedostatak je razlika u tlakovima, međutim, taj problem je vrlo brzo riješen uvođenjem učinkovite vakuumske pumpe te kapilarnih stupaca plinske kromatografije.⁴⁴

Odvajanje plinskom kromatografijom obično daje informacije o koncentraciji i vremenu zadržavanja spoja (retencijsko vrijeme), dok spektrometrija masa pruža informacije o masi, strukturi i obrascu fragmentacije spojeva prisutnih u uzorku. Kombinirajući snagu razdvajanja plinske kromatografije s identifikacijskim mogućnostima spektrometrije masa, GC-MS omogućuje analizu složenih smjesa i identifikaciju pojedinačnih spojeva unutar smjese. Pruža vrijedne informacije o kemijskom sastavu, strukturi i obilju analita prisutnih u

uzorku. Ova metoda je vrlo osjetljiva, selektivna i može detektirati spojeve u niskim koncentracijama, što je čini svestranim alatom u mnogim analitičkim laboratorijima.⁴⁵



Slika 10. Shematski prikaz vezanog sustava plinska kromatografija–spektrometrija masa (GC-MS)⁴²

2. EKSPERIMENTALNI DIO

Zadatak ovog diplomskog rada je bio izolirati eterično ulje iz različitih dijelova biljke petrovac (cvijet, list i stabljika) sakupljene na različitim lokacijama duž jadranske obale. Hidrodestilacija je provedena u aparaturi po Clevengeru, a spojevi eteričnih ulja su identificirani veznim sustavom plinska kromatografija – spektrometrija masa (GC-MS). Nakon provedene identifikacije i kvantifikacije sastojaka eteričnih ulja ove biljke s različitih lokacija napravljena je usporedba.

2.1. MATERIJALI

2.1.1. Biljni materijal

U eksperimentalnom dijelu ovog rada uzorci petrovca sakupljeni su u periodu pune cvatnje biljke odnosno u kolovozu i rujnu 2022. godine na različitim lokacijama duž obale Jadrana – Krk, Senj, Pag, Jadrija Šibenik, Žabarić, Split, Drašnice, Korčula, Pelješac, Neretva i Cavtat. Prije samog postupka izolacije eteričnog ulja, dijelovi biljnog materijala su odijeljeni (list, cvijet, stabljika) te sušeni 15 dana na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Uzorci su herbarizirani u Zavodu za biokemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

2.1.2. Kemikalije i aparatura

U radu su korištene sljedeće kemikalije:

- Pentan
- Dietileter
- Bezvodni natrijev sulfat

U radu je korištena sljedeća aparatura:

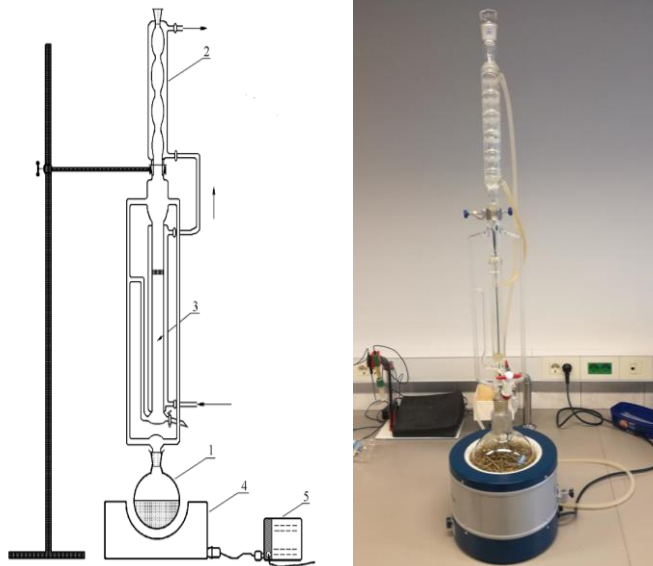
- aparatura za hidrodestilaciju po Clevengeru
- vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)

- plinski kromatograf (Agilent Inc., SAD), model 8890 GC
- spektrometar masa (Agilent Inc., SAD), model 7000 GC/TQ
- kapilarna kolona HP-5MS ((5% fenil)-metilpolisiloksan, 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,25 μm Agilent Inc., SAD)

2.2. METODE RADA

2.2.1. Hidrodestilacija u aparaturi po Clevengeru

Eterična ulja uzoraka petrovca izolirana su postupkom hidrodestilacije u aparaturi po Clevengeru (slika 11). U tikvicu s okruglim dnom dodan je biljni materijal i destilirana voda tako da se prekrije biljni materijal te je tikvica postavljena u električni grijač. Na tikvicu je okomito postavljena središnja cijev u koju je stavljena destilirana voda i 1 mL smjese pentana i dietil-etera u omjeru 1:1. Navedena smjesa se naziva “trap” te služi kao otapalo u kojem se tijekom destilacije sakuplja eterično ulje. Korištenjem trapa nastoje se spriječiti mogući gubitci spojeva eteričnih ulja. Destilacija je trajala tri sata te se nakon hlađenja aparature otopina eteričnog ulja vrlo pažljivo odijelila od vodenog sloja, uz pomoć kapaljke/pipete (slika 12). Destilirano eterično ulje je potom osušeno pomoću bezvodnog natrijevog sulfata i čuvano na -18°C do analize.



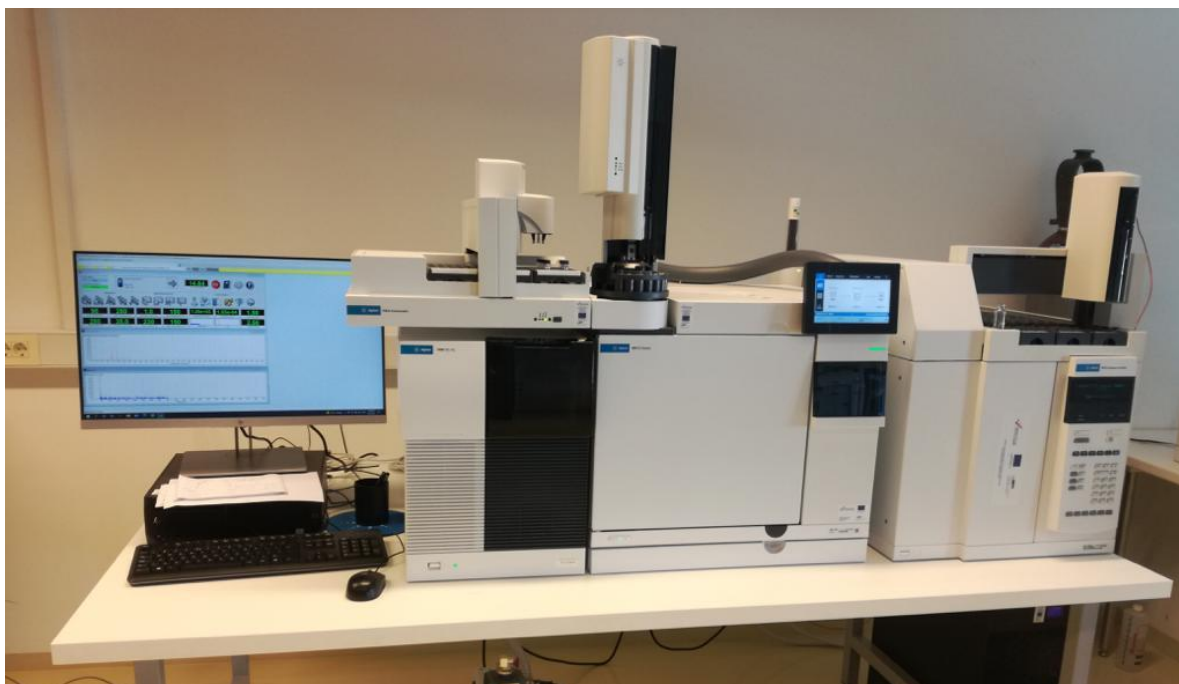
Slika 11. Aparatura za vodenu destilaciju po Clevengeru: 1- tikvica s okruglim dnom, 2 - Liebigovo hladilo, 3 - središnji dio aparature, 4 – električni grijač, 5 – otpornik promjenjive struje (reostat)



Slika 12. Otopine eteričnih ulja različitih dijelova biljke

2.3.2. GC-MS analiza hlapljivih spojeva

Analiza hlapljivih spojeva izoliranih iz eteričnog ulja različitih dijelova petrovca, provedena je vezanim sustavom GC-MS (slika 13).



Slika 13. Vezani sustav plinska kromatografija – spektrometrija masa spojeni s računalom

Separacija komponenti je provedena na koloni HP-5MS.

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

- temperaturni program kolone: 60°C tijekom prve 3 minute, zatim je zagrijan na 246°C pri brzini od 3°C/min i održavan 25 minuta izotermno
- plin nosač: helij s brzinom protoka od 1 mL/min
- omjer cijepanja: 1:50
- ulazna temperatura: 250°C
- volumen ubrizgavanja uzorka: 1 µL.

Uvjeti rada spektrometra masa:

- energija ionizacije: 70 eV
- temperatura izvora iona: 200°C
- temperatura kvadrupola: 150°C

Pojedinačni pikovi identificirani su usporedbom njihovih retencijskih indeksa (u odnosu na C₈-C₂₀ *n*-alkane za HP-5MS) s onima autentičnih uzoraka i literaturom, kao i usporedbom njihovih spektara masa s bibliotekom spektara Wiley 7 MS (Wiley, NY, SAD) i NIST02 (Gaithersburg, MD, SAD).

3. REZULTATI

Biljni material korišten u ovom istraživanju je prethodno osušen na suhom i hladnom mjestu. Za uzorke deset lokacija izolirano je eterično ulje iz cvijetova i listova, dok je za uzorak sakupljen na području srednje Dalmacije (Žaborić, Šibenik) eterično ulje izolirano iz cvijeta, lista i stabljike. Kemijski sastav eteričnih ulja biljke petrovac sakupljene na različitim lokacijama duž jadranske obale određen je GC-MS tehnikom korištenjem nepolarne kolone HP-5MS. Rezultati kemijskog sastava eteričnih ulja listova i cvjetova u tablici su prezentirani obzirom na zemljopisnu širinu lokacije na kojoj je uzorak sakupljen. Lokacija Krk se nalazi na sjevernoj, a lokacija Cavtat na južnoj obali Jadrana. Rezultati lokacije Žaborić prikazuju kemijski sastav cvijeta, lista i stabljike te su izdvojeni u posebnu tablicu. Ova lokacija je u neposrednoj blizini lokacije Jadrija, no za razliku od Jadrije čije područje karakterizira miješanje slatke vode brojnih podzemnih izvora rijeke Krke, lokacija Žaborić je tipična morska lokacija.

Kemijski sastavi su prikazani tablicama 6-8, dok su slikama 14-16 prikazani kromatogrami ukupne ionske struje eteričnih ulja petrovca sakupljenog u Žaboriću. Kemijski sastavi analiziranih ulja su uspoređeni međusobno, te sa do danas dostupnim publikacijama istraživanja na ovu temu.

Tablica 6. Kemijski profil eteričnih ulja petrovca izoliranih iz cvjetova biljaka sakupljenih na različitim lokacijama duž obale Jadrana

Red. Br.	Spoj	RI	Krk	Senj	Pag	Šibenik	Split	Drašnice	Korčula	Pelješac	Neretva	Cavtat
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1.	α -tujen	931	-	-	0,12	0,36	-	-	-	-	-	-
2.	α -pinen	938	1,81	2,61	3,17	0,88	0,91	1,13	1,90	3,01	1,32	1,80
3.	sabinen	977	18,87	16,62	31,43	31,73	1,65	5,05	0,68	3,46	0,75	0,32
4.	β -pinen	979	-	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-
5.	β -mircen	993	-	0,25	0,15	0,33	-	-	-	-	-	-
6.	oktanal	1004	-	-	-	-	0,37	-	-	-	-	-
7.	α -terpinen	1019	0,60	0,25	1,12	0,84	-	-	-	-	-	-
8.	p -cimen	1027	-	-	0,67	0,54	-	0,94	1,34	0,66	-	-
9.	limonen	1032	72,37	72,94	50,82	55,22	93,39	87,86	85,92	85,42	97,31	96,78
10.	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1035	-	-	-	0,44	-	-	0,09	-	-	-
11.	(<i>E</i>)- β -ocimen	1042	1,30	2,89	0,17	0,77	3,03	0,42	1,12	1,57	0,61	-
12.	γ -terpinen	1062	2,27	2,43	7,08	2,79	-	2,83	8,93	5,54	-	0,51
13.	<i>cis</i> -sabinen hidrat	1070	-	-	0,19	0,31	-	-	-	-	-	-
14.	terpinolen	1090	-	-	0,19	0,36	-	-	-	-	-	-
15.	linalol	1098	-	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-
16.	terpinen-4-ol	1179	2,77	2,00	4,58	4,77	-	0,60	-	0,33	-	-
	Ukupno identificirano		99,99	99,99	99,96	99,64	99,99	99,28	99,98	99,99	99,99	99,41

RI = retencijski indeks na HP-5MS koloni;

“ - “ = spoj nije identificiran

Tablica 7. Kemijski profil eteričnih ulja petrovca izoliranih iz listova biljaka sakupljenih na različitim lokacijama duž obale Jadrana

Red. Br.	Spoj	RI	Krk	Senj	Pag	Šibenik	Split	Drašnice	Korčula	Pelješac	Neretva	Cavtat
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1.	α -tujen	926	0,19	-	0,29	0,43	-	-	-	0,54	-	-
2.	α -pinen	932	0,88	0,38	0,51	0,47	-	-	-	2,84	0,49	0,47
3.	sabinen	972	18,66	16,48	23,74	31,81	0,80	18,21	3,07	15,89	3,39	1,24
4.	β -pinen	991	-	0,16	-	0,12	-	-	-	-	-	-
5.	oktanal	1004	-	-	0,29	0,11	0,69	0,32	-	0,99	-	0,49
6.	α -terpinen	1016	1,2	0,87	1,45	2,01	-	0,56	-	1,60	-	-
7.	p -cimen	1023	1,34	0,1	1,40	0,86	-	3,76	5,00	4,30	-	0,15
8.	limonen	1027	63,10	71,07	39,71	35,29	79,13	44,81	79,44	45,32	93,20	24,36
9.	(<i>E</i>)- β -ocimen	1037	1,13	3,32	0,30	0,12	0,42	-	0,79	0,34	0,46	-
10.	benzenacetaldehid	1039	-	-	0,10	0,13	-	0,63	-	0,39	-	1,58
11.	γ -terpinen	1057	5,41	2,69	6,64	6,00	0,55	5,43	8,74	7,81	0,89	0,38
12.	<i>cis</i> -sabinen hidrat	1070	0,19	-	0,87	0,78	-	-	-	0,23	-	0,56
13.	terpinolen	1088	0,48	0,13	0,65	0,73	-	0,29	-	0,60	-	-
14.	linalol	1098	0,19	-	0,99	0,83	-	-	-	0,37	-	0,68
15.	<i>cis-p</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	1120	-	-	0,22	0,10	0,62	-	-	0,25	-	0,33
16.	<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	1136	0,29	-	0,93	0,84	1,40	1,30	0,21	0,75	-	10,32
17.	<i>cis</i> -verbenol	1140	-	-	0,63	0,09	0,90	0,51	-	0,23	-	6,29
18.	<i>trans</i> -verbenol	1145	0,22	-	-	0,50	1,04	0,82	0,22	0,88	-	2,12
19.	pinokarvon	1160	-	-	0,09	0,09	-	-	-	-	-	-

20.	terpinen-4-ol	1177	5,75	4,12	18,96	17,07	1,55	15,69	2,30	13,19	1,56	2,35
21.	isokarveol	1185	-	-	-	0,08	1,14	0,45	-	-	-	6,44
22.	α -terpineol	1088	0,22	0,52	0,69	0,47	1,63	1,33	0,21	0,96	-	3,64
23.	mirtenol	1212	-	-	0,13	0,20	0,89	0,55	-	0,23	-	2,69
24.	<i>trans</i> -karveol	1218	-	-	0,10	0,10	1,82	0,94	-	0,33	-	7,82
25.	<i>cis</i> -karveol	1226	-	-	-	0,11	-	0,36	-	-	-	-
26.	verbenon	1228	-	-	0,12	0,11	1,57	0,64	-	0,25	-	12,01
27.	<i>trans</i> -krisantenil acetat	1235	-	-	0,20	0,16	-	0,44	-	-	-	-
28.	karvon	1241	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	2,08
29.	karvakrol	1301	-	-	-	-	-	0,41	-	-	-	-
30.	mirtenil acetat	1501	-	-	0,11	0,10	0,64	0,37	-	0,34	-	-
31.	10-(acetilmetil)-3-karen	1327	-	-	0,11	0,09	0,91	0,61	-	0,38	-	1,82
32.	β -longipinen	1390	-	-	-	0,09	0,82	0,52	-	0,30	-	1,05
33.	kuparen	1403	-	-	-	-	0,66	-	-	-	-	1,72
34.	β -vatiren	1501	-	-	-	-	0,63	-	-	-	-	-
35.	spatulenol	1575	-	-	0,08	-	-	0,55	-	0,49	-	1,63
	Ukupno identificirano		99,25	99,84	99,31	99,89	98,28	99,50	99,98	99,80	99,99	94,84

RI = retencijski indeks na HP-5MS koloni;

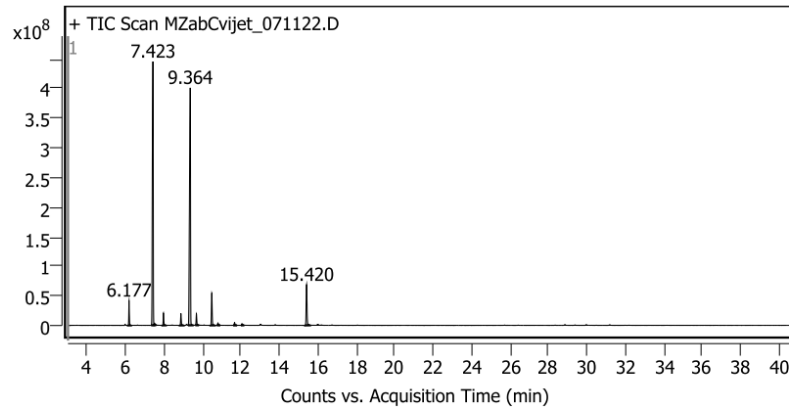
“ - “ = spoj nije identificiran

Tablica 8. Kemijski profil eteričnih ulja izoliranih iz različitih dijelova biljke petrovac sakupljene na lokaciji Žaborić

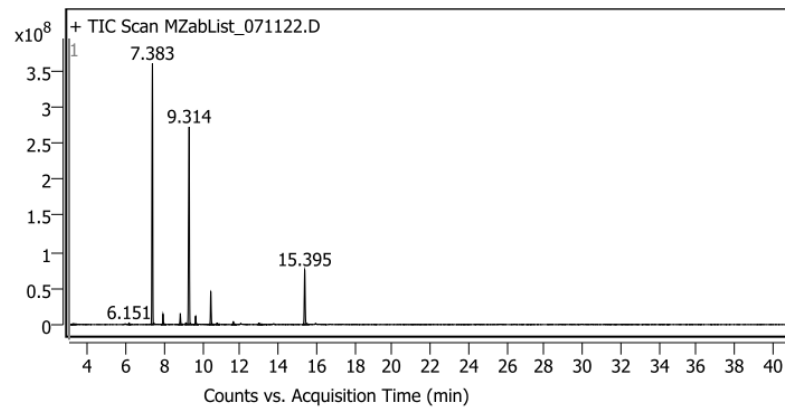
Red. Br.	Spoj	RI	cvijet (%)	list (%)	stabljika (%)
1.	<i>α</i> -pinen	932	2,16	0,07	0,37
2.	sabinen	972	42,58	50,18	42,04
3.	<i>β</i> -pinen	991	1,08	0,99	0,85
4.	<i>α</i> -terpinen	1016	1,21	1,09	1,47
5.	<i>p</i> -cimen	1023	-	0,09	0,27
6.	limonen	1027	43,14	35,92	36,45
7.	<i>cis-β</i> -ocimen	1037	0,95	0,80	1,15
8.	<i>γ</i> -terpinen	1057	2,79	3,49	5,28
9.	<i>trans</i> -sabinen hidrat	1065	0,12	0,10	0,39
10.	terpinolen	1088	0,13	0,41	0,47
11.	linalol	1098	0,08	-	0,15
12.	<i>cis-p</i> -mentha-2-en-1-ol	1118	-	0,10	0,13
13.	<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	1136	-	-	0,08
14.	terpinen-4-ol	1176	3,54	5,35	10,36
15.	<i>α</i> -terpineol	1088	-	-	0,07
	Ukupno identificirano		97,78	98,59	99,53

RI = retencijski indeks na HP-5MS koloni;

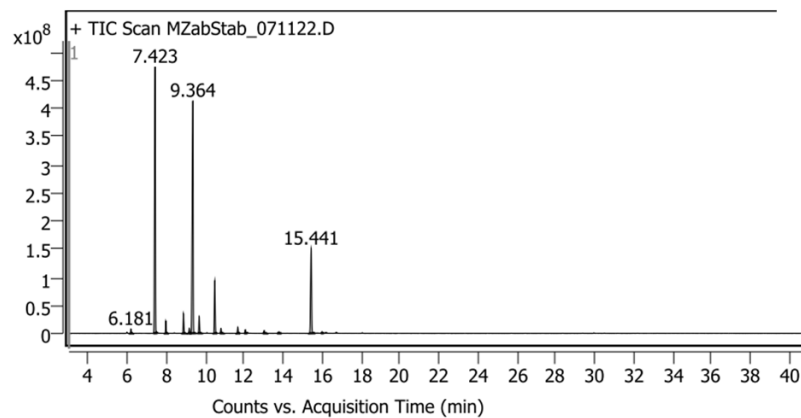
“ - “ = spoj nije identificiran



Slika 14. Kromatogram ukupne ionske struje eteričnog ulja iz cvijeta petrovca sakupljenog na području Žaborića



Slika 15. Kromatogram ukupne ionske struje eteričnog ulja lista petrovca sakupljenog na području Žaborića



Slika 16. Kromatogram ukupne ionske struje eteričnog ulja stabljike petrovca sakupljenog na području Žaborića

4. RASPRAVA

Analizom kemijskog sastava eteričnih ulja iz cvjetova biljke petrovac, *Crithmum maritimum* L. sakupljenih na različitim lokacijama duž obale Jadrana ukupno je identificirano šesnaest komponenti od kojih većina pripada skupini monoterpena i monoterpenoida te je izoliran i jedan neterpenski spoj (oktanal). Kao glavni sastojak ovih ulja, pronađen u svim ispitivanim uljima, javlja se limonen (50,82 do 97,31%). Najviše ga je pronađeno u uljima biljaka sakupljenih na južnoj obali Jadrana, lokacija Neretva (97,31%) i Cavtat (96,78%), a najmanje u uljima uzoraka sakupljenih na srednjoj obali Jadrana, uzorak Jadrija, Šibenik (55,22%) i Pag (50,82%). Također, eterična ulja sakupljena na sjevernoj obali Jadrana uz limonen imaju i značajan udio sabinena (16,62 do 31,73%). U svim uzorcima je pronađen je α -pinen (0,88 - 3,17%) kao komponenta s manjim udjelom u ukupnoj masi ulja. Ostale manje važne komponente koje nisu identificirane u svim uzorcima su α -tujen (0 - 0,36%), β -pinen (0 - 0,11%), β -mircen (0 - 0,33%), oktanal (0 - 0,37%), α -terpinen (0-1,12%), *p*-cimen (0 - 1,34%), (Z)- β -ocimen (0 - 0,44%), (E)- β -ocimen (0 - 3,03%), γ -terpinen (0 - 8,93%), *cis*-sabinen hidrat (0 - 0,31%), terpinolen (0 - 0,36%), linalol (0 - 0,16%) i terpinen-4-ol (0 - 4,77%).

Analizom kemijskog sastava eteričnih ulja listova biljke petrovac sakupljene na različitim lokacijama duž obale Jadrana identificirano je ukupno trideset i pet komponenti od kojih najzastupljeniji spojevi pripadaju skupini monoterpena i monoterpenoida. S manjim udjelima zastupljeni su i seskviterpenski i fenolni spojevi. I kod ulja listova kao najzastupljenija komponenta identificirana je limonen (24,36 do 93,20%). Najviše koncentracije limonena su pronađene u uljima uzoraka sakupljenih na južnoj i srednjoj obali Jadrana, lokacija Neretva (93,20%), lokacija Split (79,13%) i Korčula (79,44%), a najniže također na najjužnoj lokaciji, u Cavtatu (24,36%) te u uzorku s Jadrije (35,29%). U svim ispitivanim uzorcima identificiran je i visoki udio sabinena (0,80 - 31,18%) te u nešto nižem udjelu γ -terpinen (0,38 - 8,74%) i terpinen-4-ol (1,55 - 18,96%).

Rezultati kemijske analize sastava eteričnih ulja različitih dijelova (cvijet, list, stabljika) biljke petrovac sakupljene na području srednjeg Jadrana, lokacija Žaborić, nedaleko od Šibenika, pokazuju da je identificirano ukupno petnaest spojeva s dominacijom monoterpenskih spojeva. Kao kvantitativno najzastupljenije komponente, u svim dijelovima biljke su identificirani sabinen (42,04 do 50,18%), limonen (35,92 do 43,14%) i γ -terpinen (2,79 do 5,28%). Među komponentama ulja zastupljenim s nižim udjelom u svim uzorcima je identificiran terpinen-4-ol. Viši udio ovog spoja identificiran je u stabljici (10,36%). Uočena je prisutnost značajne koncentracije α -pinena u cvjetovima (2,16%), te α -terpinena u cvjetovima (1,21%) i stabljici (1,47%). U svim uzorcima su identificirani β -pinen (0,85 do 1,08%), *cis*- β -ocimen (0,80 -1,15%), *trans*-sabinen hidrat (0,10 do 0,39%) i terpinolen (0,13 do 0,47%) u znatno nižim koncentracijama. Ostale kvantitativno manje zastupljene komponente, koje nisu identificirane u svim dijelovima biljke su *p*-cimen (0,09% u listu i 0,27% u stabljici), linalol (0,08% u cvijetu i 0,15% u stabljici), *cis-p*-mentha-2-en-1-ol (0,10% u listu i 0,13% u stabljici), *trans-p*-menth-2-en-1-ol (0,08% u stabljici) te α -terpineol (0,07% u stabljici).

Obzirom na dobivene rezultate sastava i sadržaja hlapljivih spojeva u eteričnom ulju petrovca, može se povući paralela s prethodnim studijama koje su istaknule veliku geografsku varijabilnost u glavnim hlapljivim spojevima petrovca. Prema Pateiri i sur.⁴⁶, mogu se razlikovati dva različita kemotipa eteričnog ulja petrovca s obzirom na sadržaj dilapiola: kemotip I s udjelom 15-17% i kemotip II s 0-6%.

Renna¹⁴ je ispitivao kemijski sastav eteričnih ulja petrovca na temelju rezultata različitih studija i istaknuo razlike u sastavu i prinosu, koji mogu značajno varirati ovisno o geografskom podrijetlu biljke, stadiju životnog ciklusa, razdoblju sakupljanja biljke, dijelu biljke koji se analizira pa se s obzirom na to mogu definirati različiti kemotipovi: tip aromatskih monoterpena, tip monoterpenskih ugljikovodika, tip fenilpropanoida i njihovi intermedijarni oblici.

Budući da dilapiol nije identificiran tijekom istraživanja kemijskih sastava eteričnih ulja u ovom istraživanju, možemo zaključiti, u skladu s Pateirom i sur.⁴⁶, da petrovac sakupljen duž obale Jadrana pripada kemotipu II, a prema zaključcima Renna¹⁴, pripada kemotipu monoterpenskih ugljikovodika eteričnog ulja.

Do danas su načinjene dvije analize kemijskog sastava eteričnog ulja iz nadzemnog dijela biljke petrovac sakupljene u Hrvatskoj. Prva analiza prethodno osušenih nadzemnih dijelova biljke (cvijet, list, stabljika) sakupljene na području Splita napravljena je od strane Generalić Mekinić i sur.²⁶ Kao glavni sastojak svih uzoraka identificiran je limonen (62,2% -cvijet, 74,2% - list i 57,5% - stabljika). Slijede γ -terpinen (13,8% - cvijet, 4,6% - list te 12,0% - stabljika) i sabinen (12,0% - cvijet, 8,1% - list i 13,4% - stabljika). Druga analiza načinjena je od strane Kulišić-Bilušić i sur.⁴⁷ Ovi su uzorci sakupljeni na istoj lokaciji kao i prethodni. Analiza eteričnog ulja prethodno osušenog uzorka pokazala je da su najzastupljenije komponente limonen (58,37%), sabinen (26,46%), terpinen-4-ol (5,59%) i γ -terpinen (2,81%).

Pavela i sur.⁴⁸ su na području Francuske, centralne Italije i Sicilije sakupili uzorke različitih dijelova biljke petrovac. Analize su pokazale različitost kemijskih sastava ovih ulja. Eterično ulje iz nadzemnog dijela biljke i iz sjemena biljke iz Francuske je bogatije fenilpropanskim spojevima (60,4 i 53,1%), kao što su dilapiol (55,7 i 39,9%) i miristicin (4,4 i 12,8%). Ulje nadzemnih dijelova biljke iz Francuske kao najzastupljenije spojeve sadrži dilapiol 55,7%, γ -terpinen 14,0%, timol metil eter 11,8%, dok ulje iz sjemena sadrži dilapiol 39,9%, γ -terpinen 21,2%, miristicin 12,8%, timol metil eter 11,1%. Eterično ulje nadzemnog dijela biljke iz centralne Italije kao najzastupljenije komponente sadrži limonen 38,4%, γ -terpinene 19,9% i sabinen 12,4%. Eterično ulje iz listova biljke sakupljene na Siciliji sadrži timol metil eter 47,4%, γ -terpinen 38,9%, *p*-cimen 10,1%, dok ono iz cvjetova sadrži γ -terpinen 46,4%, timol metil eter 33,0% i *p*-cimen 11,6%. Ulje iz listova biljke sa Sicilije (druga lokacija) sadrži timol metil eter 42,9% i γ -terpinen 36,3%

Koutsaviti i sur.⁴⁹ su odredili kemijski sastav eteričnih ulja različitih dijelova (listovi, cvijetovi i stabljika) svježe biljke petrovac iz Grčke te kao glavne spojeve identificirali monoterpe, s limonenom (43,5%), sabinenom (21,7%) i γ -terpinenom (19,2%) kao glavnim sastojcima.

Houta i sur.²⁷ su odredili kemijski sastav različitih djelova (listovi, stabljika, sjeme i cvijetovi) petrovca kultiviranog u Tunisu. Rezultati su pokazali da je najzastupljeniji sastojak

ulja stabljike, cvijeta i sjemena γ -terpinen (32,78%, 43,29% i 39,74%). Najzastupljeniji pak sastojak ulja iz listova ove biljke bio je dilapiol (41,35%).

Brojne ostale analize eteričnih ulja biljke petrovac su uglavnom rađene na uzorcima cjelovitih nadzemnih dijelova biljke.

Analiza nadzemnog dijela petrovca sakupljenog u Portugalu pokazala je da su najzastupljenije komponente tog ulja γ -terpinen (37,2%), sabinen (21,2%) i timil metil oksid (16,4%).⁵⁰ Druga analiza eteričnog ulja petrovca iz Portugala pokazala je da su najzastupljenije komponente γ -terpinen (33,6%), sabinene (32,0%) i timol metil oksid (15,7%).²⁵ Analiza nadzemnih dijelova šest uzoraka petrovca iz Portugala pokazala je da su najzastupljenije komponente γ -terpinen, timol metil eter, *o*-cimen i β -felandren.⁵¹ Barroso i sur.⁵² su u ulju iz nadzemnog dijela biljke iz Portugala kao glavne komponente, u udjelu većem od 80%, identificirali sabinen, γ -terpinen i metil timol.

Analiza ulja nadzemnog dijela biljke iz Italije pokazala je da su najzastupljenije komponente monoterpeni (npr., γ -terpinene 50.0%) i monoterpenoidi (npr., metil timil eter 18.2%).¹⁹ Ulje sa Sicilije također dominantno sadrži monoterpenske (β -mircen 13.66%, *p*-cimen 11.67% i β -felandren 6.57%) i monoterpenoidne komponente (timol acetat 14.38%).²³ Ulje dobiveno iz nadzemnih dijelova biljke sakupljene u centralnoj Italiji kao najzastupljenije komponente sadrži limonen (38,4%), γ -terpinen (19,9%) i sabinen (12,4%).⁵³ Najzastupljenije komponente ulja iz Italije su sabinen, γ -terpinen, limonen i β -felandren. Ista analiza je pokazala da dilapiol nikada nije identificira u grčkim uzorcima, da je timol metil eter sadržan u većem udjelu u uzorcima sa Krete i iz Španjolske te da je karvakrol metil eter u znatnijim količinama zastupljen u uzorcima sa Chiosa, Grčka i onima iz Italije, koji sadrže i izoterpinolen.⁵⁴ Ruberto i sur.⁵⁵ su analizom eteričnog ulja petrovca biljke sa Sicilije kao najzastupljenije komponente identificirali limonen (22,3%), γ -terpinen (22,9%) i timol metil eter (25,5%). Flamini i sur.⁵⁶ su analizom eteričnog ulja petrovca iz nadzemnih dijelova biljke iz Italije sakupljene tijekom različitih vegetacijskih perioda kao najzastupljenije komponente identificirali γ -terpinen (41-68%), sabinen (u visokim količinama je prisutan samo za vrijeme dozrijevanja plodova) (30%), dok je količina dilapiola bila najveća tijekom prosinca (10%).

Eterično ulje nadzemnog dijela petrovca uzgojenog u Grčkoj kao najzastupljenije komponente sadrži sabinen (17,6%), γ -terpinen (17,5%), *p*-cimen (16,7%), β -felandren (15,5%), timol metil eter (9,3%), terpinen-4-ol (4,8%) i dilapiol (2,0%) za uzorke uzgojene u 2016. godini. Uzorci uzgojeni tijekom 2017. godine kao najzastupljenije spojeve sadrže β -felandren (30,9%), γ -terpinen (19,6%), sabinen (15,8%), timol metil eter (7,6%), terpinen-4-ol (4,8%) i dilapiol (0,1%).²² Drugi uzorak eteričnog ulja nadzemnog dijela petrovca uzgojenog u Grčkoj kao najzastupljenije komponente sadrži sabinen (49,45%) i γ -terpinen (31,37%).²⁴

Eterično ulje iz svježih listova biljke iz Tunisa kao glavnu komponentu sadrži dilapiol (83,3 – 94,6%).⁵⁷ Druga analiza eteričnog ulja nadzemnih dijelova biljke iz Tunisa pokazala je da su najzastupljenije komponente γ -terpinen, timol metil eter i dilapiol.⁵⁸ Houta i sur.⁵⁹ su pokazali da eterično ulje dobiveno iz listova i sjemena petrovca sakupljenog u Tunisu kao najzastupljenije komponente sadrži timol metil eter (20,81 i 26,7%), *p*-cimen (8,08 i 15,28%), γ -terpinen (21,5 i 30,56%) i dilapiol (20,6 i 25,8%).

Eterično ulje iz svježih nadzemnih dijelova biljke sakupljene u Turskoj kao najzastupljenije komponente sadrži sabinen (22,31%), limonen (12,08%), β -felandren (10,30%), (*Z*)- β -ocimene (8,59%), α -pinene (7,08%), γ -terpinene (28,36%) i terpinen-4-ol (2,57%).⁶⁰

Ulje iz prethodno osušenih uzoraka biljke s Anatolskog otočja, Turska, kao glavnu komponentu sadrži sabinen (35,61%).⁶¹ Još jedna analiza kemijskog sastava ulja petrovca iz Turske pokazala je da su najzastupljenije komponente ulja iz biljke iz Antalije β -felandren (30%), (*Z*)- β -ocimen (14%) i *p*-cimen (13%), dok ulje iz Mersina sadrži visoki udio β -felandrena (14%), γ -terpinena (24%) i sabinena (12%) kao monoterpenskih spojeva. Glavni pak fenolni sastojak ulja iz Antalije je timol metil eter (25%), dok je dilapiol (21%) glavni fenolni sastojak ulja iz Mersine.⁶² Baser i sur.⁶³ su kao najzastupljenije komponente ulja iz Turske identificirali sabinen (26,90%), limonen (24,2%), γ -terpinen (19,3%) i terpinen-4-ol (9,0%). Özcan i sur.⁶⁴ su analizom eteričnog ulja nadzemnog dijela biljke sa dvije lokacije u Turskoj kao najzastupljenije komponente identificirali γ -terpinen (36 i 88%), β -felandren (21 i 22%), sabinen (13 i 9%) i *p*-cimen (8% u oba uzorka).

Najzastupljeniji sastojci eteričnog ulja nadzemnog dijela biljke sakupljene u Francuskoj su γ -terpinen (33,0%), timol metil eter (22,0%) i dilapiol (17,5%).⁶⁵ Eterično ulje dobiveno iz sjemena i listova petrovca sakupljenog također u Francuskoj kao najzastupljenije komponente sadrži timil metil eter (21,07 i 26,32%), *p*-cimen (9,64 i 19,41%), γ -terpinen (26,5 i 31,59%) i dilapiol (12,9 i 21,1%).⁵⁹

Najzastupljenije komponente eteričnog ulja iz nadzemnih dijelova petrovca sakupljenog u Alžiru su γ -terpinen (50,5%), timol metil eter (33,6%) i *p*-cimen (12,6%).⁶⁶

Najzastupljenije komponente nadzemnih dijelova petrovca sakupljenog na Cipru su γ -terpinen (39,3%), β -felandren (22,6%), karvakrol metil eter (10,4%), (*Z*)- β -ocimen (8,2%) i *p*-cimen (6,4%).⁶⁷

Katsouri i sur.⁶⁸ su kao najzastupljenije komponente ulja iz nadzemnog dijela biljke s Amorgos otočja iz Grčke identificirali sabinen, *p*-cimen, β -felandren, γ -terpinen, terpinen-4-ol, metil timol i dilapiol.

5. ZAKLJUČAK

Analizom kemijskog sastava eteričnih ulja iz cvjetova biljke petrovac, *Crithmum maritimum* L. sakupljenih na različitim lokacijama duž obale Jadrana ukupno je identificirano šesnaest komponenti od kojih većina pripada skupini monoterpena i monoterpenoida. Kao glavni sastojci ulja iz cvjetova identificirani su monoterpeni limonen i sabinen.

Analizom kemijskog sastava eteričnih ulja listova biljke petrovac sakupljene na različitim lokacijama duž obale Jadrana identificirano je ukupno trideset i pet komponenti od kojih najzastupljeniji spojevi pripadaju skupini monoterpena i monoterpenoida. Kao najzastupljenija komponenta identificiran je limonen, a u svim ispitivanim uzrocima identificiran je i visoki udio sabinena.

Rezultati kemijske analize sastava eteričnih ulja cvijeta, lista i stabljike biljke petrovac sakupljene u Žaboriću, pokazuju da je identificirano ukupno petnaest spojeva s dominacijom monoterpena. Kao kvantitativno najzastupljenije komponente u svim dijelovima biljke identificirani su sabinen, limonen i γ -terpinen. Ulje stabljike sadrži i veći udio terpinen-4-ola. Uočena je i prisutnost značajnije količine α -pinena u cvjetovima, te α -terpinena u cvjetovima i stabljici.

Varijacije u kemijskom sastavu eteričnog ulja različitih dijelova petrovca sakupljenih na različitim lokacija duž Jadrana mogu se pripisati čimbenicima kao što su uvjeti tla, klima i lokalni utjecaji na okoliš.

Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se istražio kemijski sastav eteričnog ulja petrovca sa šireg raspona lokacija duž obale Hrvatske, kao i istraživanje specifičnih ekoloških i genetskih čimbenika koji pridonose uočenim kemijskim varijacijama. Takve će studije produbiti razumijevanje kemijske raznolikosti petrovca i njegovih implikacija za terapijsku i industrijsku upotrebu.

LITERATURA

1. *T. J. Flowers, T. D. Colmer*. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.* **115**(3) (2015) 327-331, doi: <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcu267>.
2. URL: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=24203> (20. 6. 2023.).
3. *A. K. Parida, A. B. Das*. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **60**(3) (2005) 324-349, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>.
4. *R. Munns, M. Tester*. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59** (2008) 651-681, doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>.
5. *L. Liu, B. Wang*. Protection of halophytes and their uses for cultivation of saline alkali soil in China. *Biol.* **10**(5) (2021) 353, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/biology10050353>.
6. *R. Martins-Noguerol, L. Matías, I. M. Pérez-Ramos, X. Moreira, S. Muñoz-Vallés, J. M. Mancilla-Leytón, M. Francisco, A. García-González, C. Andrés-Gil, E. Martínez-Force, M. C. Millán-Linares, J. Pedroche, M. E. Figueroa, A. J. Moreno-Pérez, J. Cambrollé*. Differences in nutrient composition of sea fennel (*Crithmum maritimum*) grown in different habitats and optimally controlled growing conditions. *J. Food Compos. Anal.* **106** (2022) 104266, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104266>.
7. *A. Atia, Z. Barhoumi, R. Mokded, C. Abdelly, A. Smaoui*. Environmental eco-physiology and economical potential of the halophyte *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae). *J. Med. Plants Res.* **5**(16) (2011) 3564-3571.
8. URL: <https://www.plantea.com.hr/motar/> (25. 6. 2023.)
9. URL: <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Crithmum+maritimum&mobile=1> (25. 6. 2023)
10. URL: <https://floradegalicia.wordpress.com/2020/10/12/crithmum-maritimum/> (25. 6. 2023.)
11. *L. Cornara, C. D'Arrigo, F. Pioli, B. Borghesi, C. Bottino, E. Patrone, M. G. Mariotti*. Micromorphological investigation on the leaves of the rock samphire (*Crithmum maritimum* L.): Occurrence of hesperidin and diosmin crystals. *Plant Biosyst.* **143** (2009) 283-292, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/11263500902722527>.

12. F. Cunsolo, G. Ruberto, V. Amico, M. Piattelli. Bioactive metabolites from Sicilian marine fennel, *Crithmum maritimum*. J. Nat. Prod. **56**(9) (1993) 1598-1600, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/np50099a022>.
13. J. Tardío, M. D. C. Sánchez-Mata, R. Morales, M. Molina, P. García-Herrera, P. Morales, C. Díez-Marques, V. Fernández-Ruiz, M. Camara, M. Pardo de Santayana, M. C. Matallana Gonzalez, B. M. Ruiz-Rodríguez, D. Sanchez-Mata, M. E. Torija-Isasa, J. J. Guil Guerrero, N. Boussalah. Ethnobotanical and food composition monographs of selected Mediterranean wild edible plants. Mediterranean wild edible plants (2016) 273-470, doi: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-3329-7_13.
14. M. Renna. Reviewing the prospects of sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) as emerging vegetable crop. Plants **7**(4) (2018) 92, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/plants7040092>.
15. URL: <http://www.b4fn.org/resources/species-database/detail/crithmum-maritimum/> (30. 6. 2023.)
16. K. Grigoriadou, E. Maloupa. Micropropagation and salt tolerance of in vitro grown *Crithmum maritimum* L. Plant Cell, Tissue Organ Cult. **94** (2008) 209-217, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-008-9406-9>.
17. J. L. Guil-Guerrero, I. Rodríguez-García. Lipids classes, fatty acids and carotenes of the leaves of six edible wild plants. Eur. Food Res. Technol. **209** (1999) 313-316, doi: [10.1007/s002170050501](http://dx.doi.org/10.1007/s002170050501).
18. L. Meot-Duros, C. Magné. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. Plant Physiol. Biochem. **47**(1) (2009) 37-41, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.09.006>.
19. D. Piatti, S. Angeloni, F. Maggi, G. Caprioli, M. Ricciutelli, L. Arnoldi, S. Bosisio, G. Mombelli, E. Drenaggi, G. Sagratini. Comprehensive characterization of phytochemicals in edible sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) grown in central Italy. J. Food Compos. Anal. **115** (2023) 104884, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104884>.
20. O. Politeo, M. Popović, M. Veršić Bratinčević, K. Kovačević, B. Urlič, I. Generalić Mekinić. Chemical profiling of sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) essential oils and their isolation residual waste-waters. Plants **12**(1) (2023) 214, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/plants12010214>.
21. R. Campana, M. Tiboni, F. Maggi, L. Cappellacci, K. Cianfaglione, M. R. Morshedloo, E. Frangipani, L. Casettari. Comparative analysis of the antimicrobial activity of essential oils and their formulated microemulsions against foodborne

- pathogens and spoilage bacteria. *Antibiotics* **11**(4) (2022) 447, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11040447>.
22. *V. Zafeiropoulou, E. M. Tomou, A. Douros, H. Skaltsa.* The effect of successive harvesting on the volatile constituents of two essential oils of cultivated populations of sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) in Greece. *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **24**(1) (2021) 1-11, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2021.1875054>.
 23. *G. D'Agostino, B. Giambra, F. Palla, M. Bruno, N. Badalamenti.* The application of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. and *Crithmum maritimum* L. as biocidal on two Tholu bommalu indian leather puppets. *Plants* **10**(8) (2021) 1508, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/plants10081508>.
 24. *I. N. Pasiyas, D. D. Ntakoulas, K. Raptopoulou, C. Gardeli, C. Proestos.* Chemical composition of essential oils of aromatic and medicinal herbs cultivated in Greece Benefits and drawbacks. *Foods* **10**(10) (2021) 2354, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/foods10102354>.
 25. *J. M. Alves-Silva, I. Guerra, M. J. Gonçalves, C. Cavaleiro, M. T. Cruz, A. Figueirinha, L. Salgueiro.* Chemical composition of *Crithmum maritimum* L. essential oil and hydrodistillation residual water by GC-MS and HPLC-DAD-MS/MS, and their biological activities. *Ind. Crops. Prod.* **149** (2020) 112329, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112329>.
 26. *I. Generalić Mekinić, I. Blažević, I. Mudnić, F. Burčul, M. Grga, D. Skroza, I. Jerčić, I. Ljubenković, M. Boban, M. Miloš, V. Katalinić.* *J. Food Sci. Technol.* **53** (2016) 3104-3112, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-016-2283-z>.
 27. *O. Houta, A. Akrouf, H. Najja, M. Neffati, H. Amri.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Crithmum maritimum* cultivated in Tunisia. *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **18**(6) (2015) 1459-1466, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2013.764209>.
 28. *Z. Kalodjera, N. Blažević, N. Salopek, R. Jurišić.* Eterična ulja (aetherolea). *Farm. Glas.* **54**(6) (1998) 195-210.
 29. *M. L. Faleiro, M. G. Miguel.* Use of essential oils and their components against multidrug-resistant bacteria, u M. Rai i K. Kon (ur.), *Fighting multidrug resistance with herbal extracts, essential oils and their components.* Academic Press (2013) 65-94, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-398539-2.00006-9>.
 30. *A. Naeem, T. Abbas, T. M. Ali, A. Hasnain.* Essential oils: Brief background and uses. *Ann. Short Reports* **1**(6) (2018).

31. *S. Bano*. Chemistry of natural products – Terpenoids. Faculty of Science-Jamia Hamdard, New Delhi, 2007, str. 2-4 .
32. *J. Buckle*. Basic plant taxonomy, basic essential oil chemistry, extraction, biosynthesis and analysis. Clinical aromatherapy: Essential Oils in Healthcare. Vol. 3, Churchill Livingstone, London, 2015, str. 37-72.
33. URL: <https://vutropedija.com/terpeni/> (19. 6. 2023.)
34. URL: <https://essentialoils.co.za/components.htm> (19. 6. 2023.)
35. *A. C. Stratakos, A. Koidis, A.* Methods for extracting essential oils, u V. R. Preedy (ur.), Essential oils in food preservation, flavor and safety. Institute for Global Food Security, Belfast, 2016, str. 31-38.
36. *A. El Asbahani, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E. A. Addi, H. Casabianca, A. El Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F. N. R. Renaud, A. Elaissari, A.* Essential oils: From extraction to encapsulation. Int. J. Pharm. **483**(1-2) (2015) 220-243, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>.
37. *McMurry J.* Organic chemistry with biological applications. Brooks/Cole Cengage Learning, California, 2011, str. 367-395.
38. URL: <https://www.studysmarter.co.uk/explanations/chemistry/organic-chemistry/column-chromatography/> (21. 6. 2023.)
39. URL: http://chem.grf.unizg.hr/media/download_gallery/vje%C5%BEba%201..pdf (21. 6. 2023.)
40. *A. A. Bele, A. Khale.* An overview on thin layer chromatography. Int. J. Pharm. Sci. Res. **2**(2) (2011) 256-267, doi: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.2\(2\).256-67](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.2(2).256-67).
41. *E. Stauffer, J. A. Dolan, R. Newman.* Gas Chromatography and Gas Chromatography. Fire Debris Analysis **8** (2008) 235-293, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-012663971-1.50012-9>.
42. *Lj. Žilić.* Hlapljivi spojevi smilja. *Završni rad*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, 2019, str. 23-25.
43. URL: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=39268> (25. 6. 2023.)
44. *E. Stashenko, J. R. Martínez.* Gas chromatography-mass spectrometry. Advances in gas chromatography **1** (2014) 1-38, doi: <http://dx.doi.org/10.5772/57492> .

45. M. D. Asfaw. Basic Essential Oil Extraction Techniques and Procedures from Aromatic Plants. *J. Chromatogr. Sep. Tech.* **13**(6) (2022) 489, doi: <http://dx.doi.org/10.35248/2157-7064.22.13.489>.
46. L. Pateira, T. Nogueira, A. Antunes, F. Venâncio, R. Tavares, J. Capelo. Two chemotypes of *Crithmum maritimum* L. from Portugal. *Flavour Fragr. J.* **14**(5) (1999) 333–343, doi: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1026\(199909/10\)14:5<333::aid-ffj839>3.0.co;2-v](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1099-1026(199909/10)14:5<333::aid-ffj839>3.0.co;2-v).
47. T. Kulišić-Bilušić, I. Blažević, B. Dejanović, M. Miloš, G. Pifat. Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. *J. Food Biochem.* **34** (2010) 286–302, doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00330.x>.
48. R. Pavela, F. Maggi, G. Lupidi, K. Cianfaglione, X. Dauvergne, M. Bruno, G. Benelli. Efficacy of sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say and *Spodoptera littoralis* (Boisd.) Ind. Crops Prod. **109** (2017) 603–610, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.013>.
49. A. Koutsaviti, V. Antonopoulou, A. Vlassi, S. Antonatos, A. Michaelakis, D. P. Papachristos, O. Tzakou. Chemical composition and fumigant activity of essential oils from six plant families against *Sitophilus oryzae* (Col: Curculionidae). *J. Pest Sci.* **91**(2) (2017) 873–886, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-017-0934-0>.
50. S. Pedreiro, A. Figueirinha, C. Cavaleiro, O. Cardoso, M. M. Donato, L. Salgueiro, F. Ramos. Exploiting the *Crithmum maritimum* L. Aqueous Extracts and Essential Oil as Potential Preservatives in Food, Feed, Pharmaceutical and Cosmetic Industries. *Antioxidants* **12**(2) (2023) 252, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12020252>.
51. E. Beeby, M. Magalhães, J. Poças, T. Collins, M. F. L. Lemos, L. Barros, I. C. F. R. Ferreira, C. Cabral, I. M. Pires. Secondary metabolites (essential oils) from sand-dune plants induce cytotoxic effects in cancer cells. *J. Ethnopharmacol.* **258** (2020) 112803, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.112803>.
52. J. G. Barroso, L. G. Pedro, M. S. S. Pais, J. J. C. Scheffer. Analysis of the Essential Oil of *Crithmum maritimum* L. *J. Essent. Oil Res.* **3**(5) (1991) 313–316, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1991.9697950>.
53. S. L. Kamte Ngahang, F. Ranjbarian, K. Cianfaglione, S. Sut, S. Dall'Acqua, M. Bruno, F. H. Afshar, R. Iannarelli, G. Benelli, L. Cappellacci, A. Hofer, F. Maggi, R. Petrelli. Identification of highly effective antitrypanosomal compounds in essential oils from the Apiaceae family. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **156** (2018) 154–165, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.032>.

54. *M. Tsoukatou, C. Tsitsimpikou, C. Vagias, V. Roussis.* Chemical intra-Mediterranean variation and insecticidal activity of *Crithmum maritimum*. *Z. Naturforsch. C.* **56** (2001) 211–215, doi: <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2001-3-407>.
55. *G. Ruberto, D. Biondi, M. Piattelli.* Composition of the volatile oil of *Crithmum maritimum* L. *Flav. Fragr. J.* **6**(2) (1991) 121–123, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.2730060205>.
56. *G. Flamini, E. Mastroianni, P. L. Cioni, I. Morelli, L. Panizzi.* Essential oil from *Crithmum maritimum* grown in Liguria (Italy): seasonal variation and antimicrobial activity. *J. Essent. Oil Res.* **11**(6) (1999) 788–792, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1999.9712022>.
57. *M. B. Mustapha, A. Zardi-Bergaoui, I. Chaieb, G. Flamini, R. Ascrizzi, H. B. Jannet.* Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Crithmum Maritimum* L. Essential Oil against Stored-Product Beetle *Tribolium Castaneum*. *Chem. Biodivers.* **17**(3) (2020) e1900552, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201900552>.
58. *I. Jallali, Y. Zaouali, I. Missaoui, A. Smeoui, C. Abdelly, R. Ksouri.* Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoïdes* L. *Food Chem.* **145** (2014) 1031–1038, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.034>.
59. *O. Houta, A. Akrouf, M. Neffati, H. Amri.* Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Potentials of *Crithmum maritimum* Cultivated in Tunisia Arid Zones. *J. Biol. Act. Prod. Nat.* **1**(2) (2011) 138–143, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/22311866.2011.10719081>.
60. *M. M. Özcan, N. Uslu, G. Figueredo, F. A. Juhaimi, K. Ghafoor, E. Babiker, O. N. Alsawmahi, M. M. Özcan, A. Isam, M. Ahmed.* The effect of fermentation process on bioactive properties, essential oil composition and phenolic constituents of raw fresh and fermented sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) leaves. *Indian J. Tradit. Knowl.* **18**(4) (2019) 800–804, doi: <http://dx.doi.org/10.56042/ijtk.v18i4.29025>.
61. *E. Fanouriou, D. Kalivas, D. Daferera, P. Tarantilis, P. Trigas, P. Vahamidis, G. Economou.* Hippocratic medicinal flora on the Greek Island of Kos: Spatial distribution, assessment of soil conditions, essential oil content and chemotype analysis. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* **9** (2018) 97–109, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.03.003>.
62. *F. Senatore, F. Napolitano, M. Ozcan.* Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae) growing wild in Turkey. *Flavour Fragr. J.* **15** (2000) 186–189, doi: [http://dx.doi.org/10.1002/1099-1026\(200005/06\)15:3<186::aid-ffj889>3.0.co;2-i](http://dx.doi.org/10.1002/1099-1026(200005/06)15:3<186::aid-ffj889>3.0.co;2-i).

63. K. H. Baser, T. Özek, B. Demirci, Y. Saritas. Essential Oil of *Crithmum maritimum* L. from Turkey. *J. Essent. Oil Res.* **12** (2000) 424–426, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2000.9699555>.
64. M. M. Özcan, L. G. Pedro, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso. Constituents of the Essential Oil of Sea Fennel (*Crithmum maritimum* L.) Growing Wild in Turkey. *J. Med. Food* **9**(1) (2006) 128–130, doi: <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2006.9.128>.
65. R. Pavela, G. Benelli, L. Pavoni, G. Bonacucina, M. Cespi, K. Cianfaglione, I. Bajalan, M. R. Morshedloo, G. Lupidi, D. Romano, A. Canale, F. Maggi. Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? *Ind. Crops Prod.* **129** (2019) 631–640, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.073>.
66. N. Nabet, H. Boudries, N. Chougui, S. Loupassaki, S. Souagui, F. Burló, F. Hernandez, A. Carbonell-Barrachina, K. Madani, R. Larbat. Biological activities and secondary compound composition from *Crithmum maritimum* aerial parts. *Int. J. Food Prop.* **20**(8) (2016) 1843–1855, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1222541>.
67. K. Polatoğlu, Ö. C. Karakoç, Y. Yücel Yücel, S. Gücel, B. Demirci, K. H. C. Başer, F. Demirci. Insecticidal activity of edible *Crithmum maritimum* L. essential oil against Coleopteran and Lepidopteran insects. *Ind. Crops Prod.* **89** (2016) 383–389, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.032>.
68. E. Katsouri, C. Demetzos, D. Perdetzoglou, A. Loukis. An Interpopulation Study of the Essential Oils of Various Parts of *Crithmum maritimum* L. Growing in Amorgos Island, Greece. *J. Essent. Oil Res.* **13** (2001) 303–308, doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2001.9712220>.