

# Utjecaj različitih tehnika ekstrakcije na iskorištenje i kvalitetu eteričnog ulja Lavandula x intermedia Silver

---

**Prodanović, Nikolina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:806658>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-21**



image not found or type unknown

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Nikolina Prodanović**

**UTJECAJ RAZLIČITIH TEHNIKA EKSTRAKCIJE NA ISKORIŠTENJE I  
KVALITETU ETERIČNOG ULJA *Lavandula x Intermedia* SILVER**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2021.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Katedra za tehnološko projektiranje i farmaceutsko inženjerstvo  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

### Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Projektiranje uređaja u procesnoj industriji  
**Tema rada** je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 29. travnja 2021. godine.  
**Mentor:** prof. dr. sc. *Stela Jokić*  
**Pomoć pri izradi:** *Marija Banožić, mag. ing. preh.*

**Utjecaj različitih tehnika ekstrakcije na iskorištenje i kvalitetu eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* Silver**  
*Nikolina Prodanović, 0113143670*

### Sažetak:

Eterična ulja nastaju kao sekundarni metaboliti aromatičnih biljaka te se zbog svoje hlapivosti najčešće se izdvajaju procesom destilacije. Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj različitih tehnika ekstrakcije na iskorištenje i kvalitetu eteričnog ulja lavandina (*Lavandula x intermedia* Silver). Uzorak lavandina prikupljen je s obrta za poljoprivredu K.T.M. natura iz Erduta. Dobivanje eteričnih ulja provedeno je primjenom sljedećih tehnika: destilacija vodenom parom na pilot postrojenju, destilacija u aparaturi po Clevenger-u, destilacija potpomognuta mikrovalovima, te ekstrakcija pomoću CO<sub>2</sub> u superkričnom stanju. Ispitivanja kvalitete eteričnih ulja i zahtjevi za kakvoću pojedinog ulja provedeni su prema zahtjevima Europske farmakopeje. Identifikacija fitokemikalija u eteričnom ulju i hidrolatu lavandina provedena je primjenom metode plinske kromatografije sa spektrometrijom masa (GC-MS). Prema analizama isparljivih spojeva utvrđena je kvaliteta eteričnog ulja/ekstrakta lavandina.

**Ključne riječi:** eterično ulje, lavandin, *Lavandula x intermedia*, destilacija vodenom parom, ekstrakcija superkričnim CO<sub>2</sub>

**Rad sadrži:** 48 stranica  
16 slika  
6 tablica  
28 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1. prof. dr. sc. <i>Darko Velić</i>	Predsjednik
2. prof. dr. sc. <i>Stela Jokić</i>	član-mentor
3. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i>	član-komentor
4. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i>	zamjena člana

**Datum obrane:** 13. srpnja 2021.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Process Engineering  
Sub-department of Process Design and Pharmaceutical Engineering  
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Process Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Device design in the process industry

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 29, 2021.

**Mentor:** *Stela Jokić*, PhD, full prof.

**Technical assistance:** *Marija Banožić*, MSc

### Influence of different extraction techniques on yield and quality of essential oil *Lavandula x intermedia* Silver

*Nikolina Prodanović, 0113143670*

#### Summary:

Essential oils are produced as secondary metabolites of aromatic plants and due to their volatility are most often separated by the distillation process. The aim of this study was to determine the impact of different extraction techniques on the yield and quality of lavandin essential oil (*Lavandula x intermedia* Silver). Lavandin sample was collected from an agricultural trade K.T.M. natura from Erdut. Obtaining of essential oils was carried out by following techniques: steam distillation at the pilot plant, distillation in Clevenger apparatus, microwave assisted distillation and extraction with CO<sub>2</sub> in supercritical condition. Quality Evaluation of essential oil have been carried out according to the requirements of the European Pharmacopeia. Identification of phytochemicals in essential oil and hydrolate of lavandin was performed using the method of gas chromatography with mass spectrometry. According to analyses of volatile compounds the quality of the lavandin essential oil/extract was determined.

**Key words:** essential oils, lavandin, *Lavandula x intermedia* Silver, hydrodistillation, supercritical CO<sub>2</sub> extraction

**Thesis contains:** 48 pages  
16 figures  
6 tables  
28 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. <i>Darko Velić</i> , PhD, full. prof.          | chair person |
| 2. <i>Stela Jokić</i> , PhD, full. prof.          | supervisor   |
| 3. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assistant prof. | co-mentor    |
| 4. <i>Maja Molnar</i> , PhD, full prof.           | stand-in     |

**Defense date:** July 13, 2021

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

*Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Steli Jokić, komentoru doc. dr. sc. Krunoslavu Aladiću te mag. ing. preh. Mariji Banožić na podršci i pomoći tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada te tijekom pisanja diplomskog rada. Zahvaljujem obitelji i prijateljima na neizmjernej podršci tijekom čitavog studiranja.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. ETERIČNA ULJA.....	4
2.2. POSTUPCI DOBIVANJA ETERIČNIH ULJA.....	4
2.2.1. Hidrodestilacija u aparaturi po Clevenger-u.....	5
2.2.2. Destilacija vodenom parom .....	6
2.2.3. Destilacija potpomognuta mikrovalovima.....	6
2.2.4. Ekstrakcija pomoću CO <sub>2</sub> u superkričnom stanju.....	7
2.3. OBRADA I SKLADIŠTENJE ETERIČNIH ULJA .....	9
2.4. KONTROLA KVALITETE ETERIČNIH ULJA.....	10
2.4.1. Europska farmakopeja i AFNOR/ISO udruženja .....	10
2.4.2. COSMOS organizacija .....	11
2.5. PRIMJENA ETERIČNIH ULJA.....	13
2.6. LAVANDIN.....	13
2.6.1. Eterično ulje lavandina .....	15
2.6.2. Hidrolat lavandina i njegova potencijalna primjena.....	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	19
3.1. ZADATAK.....	20
3.2. MATERIJAL.....	20
3.2.1. Kemikalije i uređaji.....	20
3.3. METODE .....	21
3.3.1. Destilacija u aparaturi po Clevenger-u .....	21
3.3.2. Destilacija vodenom parom u pilot postrojenju .....	22
3.3.1. Destilacija potpomognuta mikrovalovima .....	24

3.3.3. Ekstrakcija pomoću CO <sub>2</sub> u superkritičnom stanju.....	25
3.3.4. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa .....	26
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	28
4.1. . KEMIJSKI PROFILI ETERIČNIH ULJA <i>Lavandula x Intermedia</i> SILVER I EKSTRAKATA DOBIVENIH RAZLIČITIM TEHNIKAMA EKSTRAKCIJE .....	29
4.2. Usporedba rezultata dobivenih u analitičkom izvješću .....	39
5. ZAKLJUČAK.....	44
6. LITERATURA .....	46

## Popis oznaka, kratica i simbola

AFNOR- francusko udruženje za normizaciju ( franc. *Association Française de Normalisation*)

CFU- jedinice koje tvore kolonije (engl. *Colony Forming Unit*)

COSMOS- standard za organsku i prirodnu kozmetiku (engl. *Cosmetic Organic and Natural Standard*)

CPAI- kemijski procesirani poljoprivredni sastojak (engl. *Chemically Processed Agro Ingredient*)

GC-MS- plinska kromatografija/masena spektrometrija (engl. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

GRAS- općenito priznata kao sigurna (engl. *Generally recognized as safe*)

ISO- Međunarodna udruga za standardizaciju (engl. *International Organization for Standardization*)

MSDS- sigurnosno-tehnički list (engl. *Material Safety Data Sheet*)

PeMo- udio petrokemijskih sastojaka (engl. *Petrochemical Moiety*)

Ph. Eur. - Europska farmakopeja (engl. *European Pharmacopoeia*)

PPAI- fizikalno procesirani poljoprivredni sastojak (engl. *Physically Processed Agro Ingredient*)

SC-CO<sub>2</sub> - superkritični CO<sub>2</sub> ( engl. *Supercritical CO<sub>2</sub>*)

SFE- ekstrakcija superkritičnim fluidima (engl. *Supercritical Fluid Extraction*)



## **1. UVOD**

Obzirom na frekventnu razmjenu i kultiviranje domaćih i stranih vrsta aromatičnih biljaka na svjetskom tržištu javlja se potreba za istraživanjem tehnologija kojima se mogu ostvariti što bolja iskorištenja aromatičnog bilja u cilju proizvodnje eteričnih ulja i hidrolata. Osim toga nastoji se postići kraće vrijeme proizvodnje, čime se mogu smanjiti proizvodni troškovi te reducirati onečišćenje okoliša koje se posebno javlja ekstrakcijom organskim otapalima. Biljne vrste koje se sve više koriste u kozmetičkoj, farmaceutskoj industriji i industriji parfema pripadaju porodici Lamiaceae (Labiatae) te rodu *Lavandula*, a sadrže brojne višegodišnje vrste s aromatičnim cvjetovima te listovima (Baydar, 2009). Takve vrste posjeduju mnoge benefite, poput smirujućih svojstava na ljudski organizam, antikancerogenih, protuupalnih te antifungalnih svojstava. Trenutno u svijetu postoji oko 39 vrsta lavande (*Lavandula* spp.), a vrste lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill), lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel) te klasasta lavanda (*Lavandula spica* Medik.) mogu se pronaći u svakodnevnoj komercijalnoj uporabi (Baydar, 2009). Eterično ulje lavandina može se dobiti različitim tehnikama ekstrakcije i destilacije, ovisno o željenim komponentama u finalnom eteričnom ulju i hidrolatu. Destilacija se može provesti upotrebom vodene pare, korištenjem aparature po Clevenger-u te primjenom mikrovalova. Uporabom zelenih metoda ekstrakcije, poput ekstrakcije sa superkričnim fluidima dobivaju se ekstrakti bogati eteričnim uljem iznimno visoke kvalitete. Nasuprot tome, kod drugih metoda ekstrakcije poput destilacije vodenom parom te hidrodestilacije po Clevenger-u, primjenom viših temperatura smanjuje se iskorištenje i kvaliteta dobivenog eteričnog ulja i hidrolata. Kako bi se odredila svojstva eteričnih ulja i hidrolata dobivenih različitim metodama ekstrakcije i destilacije, koriste se kromatografske tehnike poput vezanog sustava plinske kromatografije i masene spektrometrije. Ovakve tehnike omogućavaju uvid u kvantitativni te kvalitativni sastav eteričnih ulja i hidrolata i ukazuju na stupanj iskorištenja polaznog materijala u finalne proizvode. Hidrolat se često promatra kao nusproizvod u postupku ekstrakcije eteričnog ulja lavandina, iako ima brojna korisna svojstva, te se može upotrijebiti u kozmetičkoj industriji za razvoj širokog spektra finalnih proizvoda poput krema koje se mogu koristiti za ruke i za tijelo, losiona i pilinga za tijelo (Jokić i Penić, 2020). Prije upotrebe hidrolata u takvim proizvodima potrebno je provesti analize dobivenog hidrolata koji mora biti mikrobiološki ispravan da bi se mogao dalje koristiti kao dio kozmetičkih pripravaka.

## **2.TEORIJSKI DIO**

## 2.1. ETERIČNA ULJA

Eterična ulja predstavljaju smjesu liposolubilnih hlapivih komponenata s izrazitom aromatičnošću koje potječu od viših biljaka, a ne sadrže trigliceride. Mogu se dobiti iz lista, cvjetova i drugih dijelova različitih biljaka te usplođa citrusa. Obzirom na vrlo malu topivost u vodi te izrazitu hlapivost eterična ulja najčešće se dobivaju destilacijom vodenom parom (Bakkali i sur., 2008). Eterična ulja imaju vrlo složeni kemijski sastav kojega čine terpeni pravilnog ili nepravilnog oblika, fenilpropanski derivati, alkoholi, esteri te brojni drugi kemijski spojevi odgovorni za dobivanje specifične arome eteričnih ulja (Barbarić i Raič, 2014). Najpoznatija eterična ulja koja se upotrebljavaju su eterično ulje ljekovite kadulje (*Salvia officinalis* L.), timijana (*Thymus vulgaris* L.), ulje paprene metvice (*Mentha Piperita* L.), ulje ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.), ulje klinčića (*Syzygium aromaticum* L.) te cimeta (*Cinnamomum zeylanic* Blume) (Kuštrak, 2014).

## 2.2. POSTUPCI DOBIVANJA ETERIČNIH ULJA

S obzirom na malu količinu eteričnih ulja prisutnih u različitim biljkama ili korama citrusa, za njihovu proizvodnju potrebna je velika količina polaznog sirovog materijala, a najčešći postupci za proizvodnju eteričnih ulja su tiještenje (prešanje) i primjena destilacije vodenom parom, vodena destilacija ili vodeno-parna destilacija (Jokić i Aladić, 2020). Postupkom tiještenja isključivo iz kora citrusa može se dobiti mala količina eteričnih ulja jer velika količina zaostaje u pogači koja nastaje kao nusprodukt prešanja biljnih materijala, zbog čega je znatno smanjen prinos eteričnog ulja. Za postupak prešanja koriste se hidrauličke preše. Polazna sirovina nalazi se između užlijebljenih ploča gdje se primjenom hidrauličkog tlaka omogućava istiskivanje eteričnog ulja. Destilacija vodenom parom najčešće se upotrebljava ukoliko polazni biljni materijal (npr. ljekovito ili aromatično bilje) ima visoke količine eteričnog ulja čije su komponente visokohlapive, liposolubilne i stabilne na temperaturama destilacije ulja. Pri provođenju destilacije vodenom parom potrebno je upotrijebiti svježu ili blago prosušenu biljku koja se ravnomjerno postavlja na perforirane rešetke u destilatoru te se kroz nju propušta vodena para odozdo i zatvara se destilator kako bi započeo proces destilacije vodenom parom. Vodena para kondenzira se s parama eteričnih ulja u kondenzatoru te se odvodi u separator gdje se može uočiti sloj eteričnog ulja i hidrolata koji

se jednostavno odjeljuju. Manja postrojenja primjenjuju destilaciju vodom gdje se biljna sirovina prelijeva vodom te zagrijava u destilatoru s duplom stjenkom pri čemu je biljka potopljena, a nastale pare kondenziraju se u kondenzatoru te se nastali destilat sakuplja u posudi gdje se vidljivo odvaja eterično ulje od hidrolata. Destilacija se može provesti i kombinacijom vode i pare tako da se polazni biljni materijal stavi na perforirane rešetke, ispod kojih se nalazi voda koja ključa čime se stvara vodena para koja prolazi odozdo kroz biljni materijal. Nakon toga smjesa vodene pare kondenzira s eteričnim uljem u kondenzatoru te se sakuplja u posudu gdje se odvaja uljna faza od hidrolata. Osim navedenih postupaka destilacije koji se najčešće koriste moguće je upotrijebiti i druge metode za proizvodnju eteričnih ulja i hidrolata, poput zelenih metoda ekstrakcije kao što je upotreba superkritičnog CO<sub>2</sub> ili ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (Jokić i Aladić, 2020).

### **2.2.1. Hidrodestilacija u aparaturi po Clevenger-u**

Jedna od značajnijih metoda koja se primjenjuje za destilaciju eteričnih ulja manje gustoće podrazumijeva korištenje aparature po Clevenger-u kojom se smanjuje količina komponenata eteričnog ulja koja zaostaje dispergirana u hidrosolu (vodi) (Sadgrove i sur., 2014). Aparatura po Clevenger-u postavlja se na tikvicu ispunjenju s prethodno odvaganim i prosušanim biljnim materijalom te se stavlja određena količina vode koja prekriva biljni materijal, dok je iznad aparature po Clevenger-u potrebno vertikalno postaviti kondenzator. Tikvica okruglog dna s biljnim materijalom zagrijava se plaštom za grijanje do vrenja hidrosola nakon čega se u aparaturi po Clevenger-u sakupljaju destilat (eterično ulje) te kondenzat (isparena voda koja se kondenzira u kondenzatoru) te se prema gustoći odvajaju u dvije nemješljive faze. Aparatura po Clevenger-u veoma je korisna za odvajanje eteričnih ulja manje gustoće pri čemu se u aparaturi, ulja nalaze iznad kondenzata i tako se kondenzat sa zaostalim komponentama eteričnih ulja nakon dostizanja određene razine može se vratiti natrag u tikvicu kako bi se ponovo vršila destilacija i kako bi se povećalo iskorištenje i kvaliteta dobivenog eteričnog ulja (Sadgrove i Jones, 2015).

### **2.2.2. Destilacija vodenom parom**

Postupak destilacije vodenom parom može se primijeniti kao jedna od metoda za dobivanje eteričnih ulja i hidrolata nešto manje kvalitete u samom aroma profilu te se provodi većinom u poluindustrijskim ili industrijskim postrojenjima. Uređaj za destilaciju vodenom parom sastoji se od kotla u kojem se provodi destilacija, kondenzatora u kojem kondenzira vodena para i pare eteričnog ulja te florentinske boce u kojoj se odvajaju eterično ulje i hidrolat. Prilikom destilacije vodenom parom, para se generira u parnim kotlovima izvan destilatora te se dovodi u destilacijski kotao, ukoliko se radi o većim industrijskim postrojenjima. Željeni biljni materijal nalazi se na perforiranom dnu, tako da para prolazi kroz biljni materijal i sa sobom odnosi pare eteričnog ulja. Voda može zagrijavati i pomoću duplikatora, čime se omogućava indirektno zagrijavanje vode uz stvaranje vodene pare koja prolaskom kroz blago prosušeni ili svježiji biljni materijal odnosi pare eteričnih ulja u kondenzator. Višecijevnim kondenzatorom odnosno uvođenjem hladne vode, omogućena je kondenzacija vodene pare i para eteričnog ulja koja se sakupljaju u prihvatnu posudu tzv. florentinsku bocu. U florentinskoj boci se uslijed različite topljivosti i gustoće razdvajaju dvije faze, gdje jedna faza, najčešće gornja, čini eterično ulje ispod koje se nalazi hidrolat kao druga faza (Jokić i Aladić, 2020).

### **2.2.3. Destilacija potpomognuta mikrovalovima**

Proces ekstrakcije eteričnih ulja moguće je provesti pomoću neionizirajućeg mehanizma mikrovalova pri čemu se dio apsorbirane elektromagnetske energije pretvara u toplinsku energiju uzrokujući zagrijavanje prethodno u vodi natopljenog i blago prosušenog ili svježeg biljnog materijala (Mandal i sur., 2007). Mikrovalovi se sve češće koriste kako bi se značajno reduciralo vrijeme trajanja ekstrakcije aktivnih tvari iz biljnog materijala, te zbog veće učinkovitosti procesa te smanjene uporabe otapala i visoke selektivnosti odabranog polarnog otapala prema željenim komponentama iz različitih biljnih materijala (Nayak i sur., 2015). Unutar elektromagnetskog spektra mikrovalovi nalaze se između radio valova te infracrvenog zračenja, u rasponu valnih duljina od 1 mm do 300 mm te u frekvencijskom rasponu od 300 MHz do 300 GHz (Chan i sur., 2011). Destilacija potpomognuta mikrovalovima odvija se dielektričnim zagrijavanjem vlage tj. polarnog otapala u biljnim

materijalima tako da naglim povišenjem temperature i unutarnjeg tlaka dolazi do pucanja staničnih membrana biljnog materijala čime se ekstrahiraju aktivne tvari u okolinu (Wang i Weller, 2006). Zagrijavanje u vodi potopljenog biljnog materijala odvija se mehanizmom ionske vodljivosti pri čemu ioni migriraju elektroforetski pod utjecajem izmjeničnog električnog polja te rotacijom dipola. Polarne molekule usmjeravaju se ovisno o jačini električnog polja te uslijed nemogućnosti prilagodbe električnim komponentama, djelovanjem sile trenja vibriraju pri čemu se razvija toplina, čime je omogućena ekstrakcija željenih aktivnih tvari iz biljnog materijala. Tijekom ekstrakcije mikrovalovima potrebno je postići optimalnu temperaturu procesa ekstrakcije čime se smanjuje površinska napetost i viskoznost otapala kako bi otapalo lakše prodiralo kroz stjenke biljnog materijala (Veggi i sur., 2013). Osim temperature potrebno je odrediti i optimalno vrijeme ekstrakcije gdje se učinkovitost ekstrakcije povećava s duljim vremenom kontakta biljnog materijala i polarnog otapala pod utjecajem mikrovalova, ali se ujedno degradiraju termolabilni spojevi iz biljnog materijala (Mandal i sur., 2007). Snaga mikrovalova mora biti, kao i vrijeme i temperatura, regulatorno postavljena kako bi se spriječila razgradnja termolabilnih komponenata. Veličina čestica biljnog materijala koji se ekstrahira treba omogućiti što veću aktivnu površinu između polarnog otapala, zbog čega se biljna sirovina često melje u fini prah veličine čestica od 100  $\mu\text{m}$  do 2 mm (Kormin i sur., 2010). Osim navedenih faktora koji utječu na učinkovitost potrebno je osigurati dovoljno veliki volumen otapala kako bi se u njemu mogao potopiti sav biljni materijal kako bi se omogućilo homogeno zagrijavanje materijala mikrovalnim zračenjem (Chan i sur., 2011).

### **2.2.3. Ekstrakcija pomoću CO<sub>2</sub> u superkričnom stanju**

Zelene tehnike ekstrakcije iz biljnih materijala upotrebljavaju se sve češće kao zamjena konvencionalnih tehnologija te uslijed brojnih prednosti poput poboljšavanja kvalitete postojećih proizvoda uz mogućnost razvoja novih proizvoda u farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji (Jokić i Aladić, 2020). U zelenu tehniku ekstrakcije ubrajamo ekstrakciju superkričnim CO<sub>2</sub> (SC-CO<sub>2</sub>). Ova vrsta ekstrakcije posjeduje brojne prednosti poput kemijske inertnosti, netoksičnosti, primjene niskih temperatura za postizanje superkričnog stanja čime se omogućava ekstrakcija biljnih materijala na nižim temperaturama uz očuvanje izvorne kvalitete polazne biljne sirovine te smanjenje energetske troškova postrojenja. SC-CO<sub>2</sub> je izrazito nepolarno otapalo u kojem topivost tvari opada povećavanjem broja polarnih

skupina te stoga korištenje CO<sub>2</sub> kao otapala nije pogodno za ekstrakciju polarnih spojeva. Inertnost CO<sub>2</sub> kao otapala omogućava ekstrakciju iz različitih materijala uz dobivanje proizvoda visoke kvalitete i sigurnosti za primjenu u proizvodnji različitih proizvoda. Postizanje kritične točke za CO<sub>2</sub> odvija se na oko 31 °C te 73 bara čime se omogućuje očuvanje termosenzibilnih komponenata iz biljnih sirovina uz sprječavanje degradacije uzrokovano oksidacijom komponenata osjetljivih na kisik čime se zadržava i poboljšava kvaliteta dobivenog ekstrakta. CO<sub>2</sub> kao superkrično otapalo može se jednostavno ukloniti po završetku ekstrakcije tako da se smanji tlak ili poveća temperatura obzirom na prethodno postignuto superkrično stanje. SC-CO<sub>2</sub> se pretežno upotrebljava zbog čistoće finalnog proizvoda jer u ekstraktu i finalnom proizvodu ne zaostaju otopljeni ostaci otapala, kontaminanti te tvari koje bi mogle utjecati na gubitak kvalitete dobivenog proizvoda. Obzirom na nižu temperaturu prilikom provođenja ekstrakcije superkričnim fluidima omogućeno je dobivanje eteričnih ulja iz različitih biljnih materijala te je moguće postići frakcijsku ekstrakciju različitih visokovrijednih bioaktivnih komponenata, poput antioksidansa te u vodi netopivih vitamina A i tokoferola. Ovisno o komponenti koja se želi izolirati primjenjuju se male promjene tlakova te niže temperature, za razliku od drugih toplinskih procesa ekstrakcije ili destilacije biljnih sirovina. Ekstrakcija SC-CO<sub>2</sub> odvija se kroz pet faza gdje u prvoj fazi dolazi do upijanja superkričnog otapala u čvrsti matriks stanice pri čemu se povećava promjer intracelularnih kanala u stanicama biljnog materijala. Tako se smanjuje rezistencija za prijenos mase aktivnih tvari koje se žele izolirati te samim time u drugoj fazi dolazi do otapanja bioaktivnih tvari, koje se žele izolirati, u superkrično otapalo. Topivost tvari ovisi o prirodi (polarnosti) komponenata koje se žele izdvojiti čime se može produljiti vrijeme trajanja ekstrakcije aktivnih tvari. Iduća faza slijedi nakon otapanja aktivne komponente u otapalu, gdje se prema mehanizmu difuzije omogućava prolazak otopljene aktivne tvari (ulja) u superkričnom fluidu kroz sloj vanjskog sfernog omotača krutog inertnog materijala na vanjsku površinu čestice. Otopljena aktivna tvar difundira kroz film superkričnog fluida koji okružuje česticu u glavnu struju fluida kako bi se dobiveni ekstrakt mogao eliminirati iz ekstraktora (Aladić, 2015). Učinkovitost procesa ekstrakcije SC-CO<sub>2</sub> ovisi o parametrima pri kojima se provodi proces ekstrakcije (vrijeme, tlak, temperatura i protok otapala), svojstvima korištenog otapala i aktivne tvari koja se želi ekstrahirati (difuzivnost, gustoća, viskoznost, oblik i veličina čestica) te o interakcijama između aktivne tvari koja se



ekstrahira i otapala (poroznost sloja, raspodjela veličine čestica, koeficijent difuzije) te o kootapalu ako se dodaje za povećanje efektivnosti ekstrakcije (Jokić, 2011).

### **2.3. OBRADA I SKLADIŠTENJE ETERIČNIH ULJA**

Eterična ulja čini smjesa lakohlapivih, liposolubilnih komponenata s izrazitom aromatičnošću što omogućava primjenu eteričnih ulja u različitim područjima prehrambene, kemijske i farmaceutske industrije. Osiguranje stalnog kemijskog sastava prethodno proizvedenog eteričnog ulja može se postići ukoliko se proces ekstrahiranja željenih aktivnih tvari provodi pri istim procesnim parametrima koji se učinkovito reguliraju te ukoliko se biljna sirovina od koje se želi proizvesti eterično ulje uzgaja na vrlo malim oscilacijama klimatskih uvjeta, tla i ostalim uvjetima uzgoja (Bakkali i sur., 2008). Ovisno o zahtjevima za kvalitetu finalnog proizvoda moguće je provesti deterpenizaciju ili rektifikaciju eteričnih ulja. Proces rektifikacije provodi se u vakuumu ili pomoću vodene pare, a označava frakcijsku destilaciju pri čemu se mogu ukloniti najlakše ili najteže hlapive komponente. Tako se dobiva eterično ulje obogaćeno ili osiromašeno određenim komponentama ovisno o zahtjevima za kvalitetu finalnog proizvoda. Osim toga, tako dobiveno eterično ulje ima postojaniji miris tj. aromu te je topljivije u razrijeđenom alkoholu. Najveći problem u eteričnim uljima predstavljaju terpeni jer daju neželjeni aroma profil. Netopivi su u alkoholu te su izrazito nezasićeni spojevi uslijed čega se uočava sklonost ka nepoželjnim reakcijama polimerizacije i oksidacije te se zbog toga eterična ulja podvrgavaju procesu deterpenizacije. Deterpenizacija se provodi procesom destilacije na osnovi razlike vrelišta monoterpena i aromatskih spojeva s kisikom ili upotrebom selektivnih otapala zbog razlike u topljivosti monoterpena, koji su slabo topivi u razrijeđenim alkoholima, te aromatskih spojeva s kisikom koji su dobro topivi u razrijeđenim alkoholima (Kalođera i sur., 1998). Eterična ulja nakon proizvodnje i procesa obrade zahtijevaju čuvanje u hermetički zatvorenim i tamnim posudama kako ne bi došlo do oksidacijskih procesa uslijed njihove izrazite hlapivosti čime se omogućava očuvanje kvalitete i aromatskog profila eteričnih ulja do daljnje namjene (Jokić i Aladić, 2020).

## **2.4. KONTROLA KVALITETE ETERIČNIH ULJA**

Kontrola kvalitete eteričnih ulja provodi se nakon proizvodnje i naknadne obrade prema normama za kvalitetu eteričnih ulja dane Europskom farmakopejom, AFNOR/ISO (International Organization for Standardization ) normama te COSMOS (Cosmetics Organic and Natural Standard) certifikacijom ukoliko su eterična ulja proizvedena po načelima zelene kemije.

### **2.4.1. Europska farmakopeja i AFNOR/ISO udruženja**

S obzirom na Ph. Eur, prema normi Aetherola 01/2018:2098, eterična ulja mogu se smatrati gotovim proizvodom, ali se mogu i dodatno obrađivati čime se, ovisno o načinu poboljšavanja kvalitete, dobivaju deterpenirana ulja s reduciranim brojem monoterpenskih ugljikovodika (C10) te deseskviterpenirana ulja pri čemu se osim monoterpenskih ugljikovodika uklanjaju i seskviterpenski ugljikovodici (C15), zatim rektificirano eterično ulje koje se obogaćuje ili osiromašuje pojedinim komponentama procesom frakcijske destilacije te x-free eterično ulje s uklonjenom specifičnom komponentom koja narušava kvalitetu dobivenog proizvoda (Štefanac, 2018).

Ph. Eur. prikazuje pojedinačnu monografiju sa zahtjevima za kvalitetu eteričnih ulja s točno određenim i dopuštenim udjelom pojedinih komponenata dobivenog eteričnog ulja uz točno određena fizikalno-kemijska svojstva prema vrsti upotrebljavanog biljnog materijala.

Prema Jokić i Aladić (2020) fizikalno-kemijski parametri koji se analiziraju su :

1. Boja, izgled i miris- u skladu s Ph. Eur. i AFNOR normama,
2. Relativna gustoća- screening metoda za utvrđivanje mogućih dodataka organskih otapala, biljnih ulja ili sintetskih tvari obzirom na razliku gustoće dobivenih eteričnih ulja i vode,
3. Optička rotacija - metoda za određivanje zakretanja polarizirane svjetlosti u eteričnim uljima koje posjeduju kiralne molekule eteričnih ulja. Služi za utvrđivanje patvorenja prema mogućim razlikama u optičkoj rotaciji kiralnih molekula dobivenog eteričnog ulja, od standardnog uzorka eteričnog ulja obzirom na karakteristične kiralne molekule,

4. Kiselinski broj- otkrivanje patvorina određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina u eteričnom ulju,
5. Plinska kromatografija- omogućava otkrivanje patvorina na osnovu odvajanja molekula eteričnih ulja uz mjerenje udjela tih molekula u eteričnom ulju,
6. Udio ukupnih estera- provodi se ako su eterična ulja bogata esterima te je praćenjem udjela ukupnih estera moguće utvrditi patvorenje eteričnog ulja,
7. Tankoslojna kromatografija- služi za utvrđivanje identiteta tj. za potvrđivanje dominantnog kemijskog sastava pojedinog eteričnog ulja,
8. Ostatak nakon sušenja- uslijed destilacije dolazi do sušenja biljnog materijala zagrijavanjem čime tako dobivena eterična ulja, za razliku od eteričnog ulja dobivenog prešanjem, moraju imati manji ostatak nakon sušenja zagrijavanjem,
9. Točka ledišta- moguće utvrditi patvorenje dodatkom etanola čime se snižava točka ledišta dobivenog eteričnog ulja,
10. Otapanje u alkoholu- moguće je otkrivanje grubih patvorina dodatkom biljnih ulja na osnovu topivosti eteričnih ulja, najčešće u 70% ili 80% etanolu,
11. Određivanje kemijskog sastava- omogućava otkrivanje patvorenja eteričnih ulja.

AFNOR i ISO udruženja propisuju smjernice za procese proizvodnje te određivanje kvalitete eteričnih ulja pomoću općih ili pojedinačnih normi, pri čemu opće norme propisuju način uzorkovanja i metode analize, dok su pojedinačnim normama dani zahtjevi za kvalitetu određenih eteričnih ulja. Norme dane AFNOR te ISO udruženjima razlikuju se za pojedina eterična ulja prema granicama dozvoljenih prisutnih molekula ili prema fizikalnom sastavu dobivenog eteričnog ulja, obzirom na norme koje su propisane Ph. Eur.

#### **2.4.2. COSMOS organizacija**

Procjena kvalitete proizvedenog eteričnog ulja dana je različitim certifikatima od kojih su najpoznatiji MSDS (Material Safety Data Sheet) pri čemu se plinskom kromatografijom utvrđuje identitet te udio prisutnih komponenata eteričnog ulja, certifikat organskog uzgoja

izdan prema COSMOS organizaciji te tehnički list s definiranim dominantnim alergenima u proizvedenom eteričnom ulju.

COSMOS organizacijom omogućava se izdavanje dva certifikata, COSMOS Organic te COSMOS Natural. Bez obzira na vrstu izdanog certifikata svi sastojci te dobiveni proizvodi moraju biti proizvedeni prema principima zelene kemije uz dodatno praćenje sredstava za čišćenje pogona za proizvodnju koji također moraju biti sukladni principima zelene kemije. Kako bi se dobiveni proizvod mogao certificirati kao COSMOS Organic potrebna je 95 %-tna prisutnost organskih sastojaka te za izdavanje certifikata COSMOS Natural potrebno je da je finalni proizvod dobiven od prirodnih sastojaka, s ili bez prisustva organskih komponenata.

Prema COSMOS standardima (2020), upotrebljavani sastojci za proizvodnju eteričnih ulja i kozmetičkih proizvoda, svrstani su u nekoliko skupina :

- 1.PPAI (physically processed agro ingredient)- ovu skupinu čine procesirani poljoprivredni sastojci, ulja te proizvodi bazirani na vodi ili ulju, organskog ili neorganskog podrijetla. Eterična i biljna ulja certificirana su kao 100 % organska ukoliko sadrže isključivo PPAI sastojke. Zabranjeno je korištenje biljnih, animalnih ili materijala baziranih na mikroorganizmima koji su GMO te uporaba sastojka ekstrahiranih iz živih ili ubijenih životinja.
- 2.CPAI (chemically processed agro ingredient)- ovu skupinu predstavljaju kemijski procesirani poljoprivredni sastojci, alkohol, glicerol te surfaktanti na biljnoj bazi. Ovisno o težini proizvedenog alkohola u odnosu na masu zaostale vode certificirani alkoholi označeni su s određenim postotkom organskog podrijetla. Certificirani glicerol, poput alkohola, označava se kao organski, ali nikad kao 100 % organski glicerol. Zabrane za kemijski procesirane poljoprivredne sastojke ekvivalentne su onima danim kod fizikalno procesiranih poljoprivrednih sastojaka, uz pridržavanje principa zelene kemije.
- 3.Voda- potrebno je ispuniti higijenske zahtjeve pri čemu vrijedi CFU < 100/ml
- 4.Minerali i tvari mineralnog podrijetla- upotrebljavani minerali te mineralne tvari ne smiju biti kemijski modificirani. Dozvoljeni minerali prilikom oformljivanja konačnog proizvoda dani su prema „ *Appendix IV* “ te se mogu podvrgnuti samo onim fizikalnim procesima obrade danim normama „ *Appendix IV* “

5. PeMo (Petrochemical Moiety)- predstavlja udio dopuštenih petrokemijskih sastojaka (<2 %), izuzev konzervansa i sredstava za denaturaciju

6. Sastojci koji nisu biljnog ili animalnog podrijetla- popis dopuštenih sastojaka dan je „COSMOS Appendix V.1. “

## 2.5. PRIMJENA ETERIČNIH ULJA

Eterična ulja sa visokim udjelom linalil acetata i linalola primjenjuju se u kozmetičkoj industriji za izradu različitih krema, losiona te za proizvodnju parfema, dok se eterična ulja sa višim udjelom kamfora upotrebljavaju u aromaterapiji te fitoterapiji (Herraiz-Peñalver i sur., 2013). Razlog dominantnog mirisa u eteričnim uljima proizlazi iz sinteze i akumulacije monoterpena u nadzemnim dijelovima biljke, pri čemu je iznimno važno odabrati odgovarajući stadij rasta biljke kako bi se prikupila što veća količina eteričnog ulja i na taj način povećala produktivnost tj. iskorištenje preradom biljnog materijala. Kako bi se izbjeglo narušavanje kvalitete eteričnog ulja uslijed oksidacije masnih kiselina, upotrebljavaju se antioksidansi. Antioksidanse čine molekule sa sposobnošću inhibiranja oksidacije. Pri oksidaciji dolazi do prijenosa elektrona ili vodika na oksidativni agens uz stvaranje slobodnih radikala te mogućnošću ulaska slobodnih radikala u lančane reakcije uz razaranje drugih kemijskih spojeva. Antioksidansi mogu djelovati tako da utječu na sniženje energije slobodnih radikala, zaustavljanjem lančane reakcije oksidacije ili sprječavanjem tvorbe slobodnih radikala. Kako bi se mogla utvrditi stabilnost kemijskih spojeva u eteričnim uljima potrebno je provoditi testove antioksidativne aktivnosti praćenjem prisutnosti i udjela antioksidativnih komponenti, točnije kod eteričnih ulja praćenjem prisutnosti i udjela sekundarnih metabolita, polifenola, karotenoida, flavonoida i drugih kemijskih spojeva s antioksidativnom aktivnosti (Blažeković i sur., 2010).

## 2.6. LAVANDIN

*Lavandula x intermedia* (lavandin), prikazana **Slikom 1**, je sterilni hibrid dobiven od *Lavandula angustifolia* Miller i *Lavandula latifolia* L. Područje rasprostranjenosti lavandina je vrlo široko, a uključuje Mediteran i jugoistočne predjele Indije. Lavandin je poludrvenasta

višegodišnja biljka s okruglastim grmovima visine 80-100 cm te promjera oko 150 cm. Listovi lavandina su sivozelene ili zelene boje te su vrlo aromatični kao i cvjetovi koji se uočavaju na terminalnim dijelovima klasa. Uzgoj lavandina vrši se suhom, propusnom i toplom tlu pH vrijednosti 6,5 -7,5, uz korištenje komposta ili organskog gnoja uz redovito kultiviranje i češće obrezivanje grmova u prvoj godini. Obzirom na vrste hibridnih kultivara lavandina moguća je razlika u boji cvjetova i listova te aromatičnosti.



**Slika 1** Polje *Lavandula x intermedia* Silver (K.T.M. Natura, Erdut, Izvor: Autor)

*Lavandula angustifolia* i *Lavandula x intermedia* razlikuju se prema kemijskom sastavu, načinu i uvjetima uzgoja, aromatskom profilu, prinosima i cijenama dobivenih proizvoda. Promatrajući *Lavandula x intermedia* te *Lavandula angustifolia* može se uočiti kako *Lavandula angustifolia* raste na nešto većim nadmorskim visinama (600-1400 m) te s manji prinosima (15 kg lavande/ha), za razliku od *Lavandula x intermedia* s puno većim prinosima (do 100 kg lavandina/ha) što čini proizvode od lavande znatno skupljima od proizvoda dobivenih od lavandina. Eterično ulje lavandina zahvaljujući svojim komponentama ima

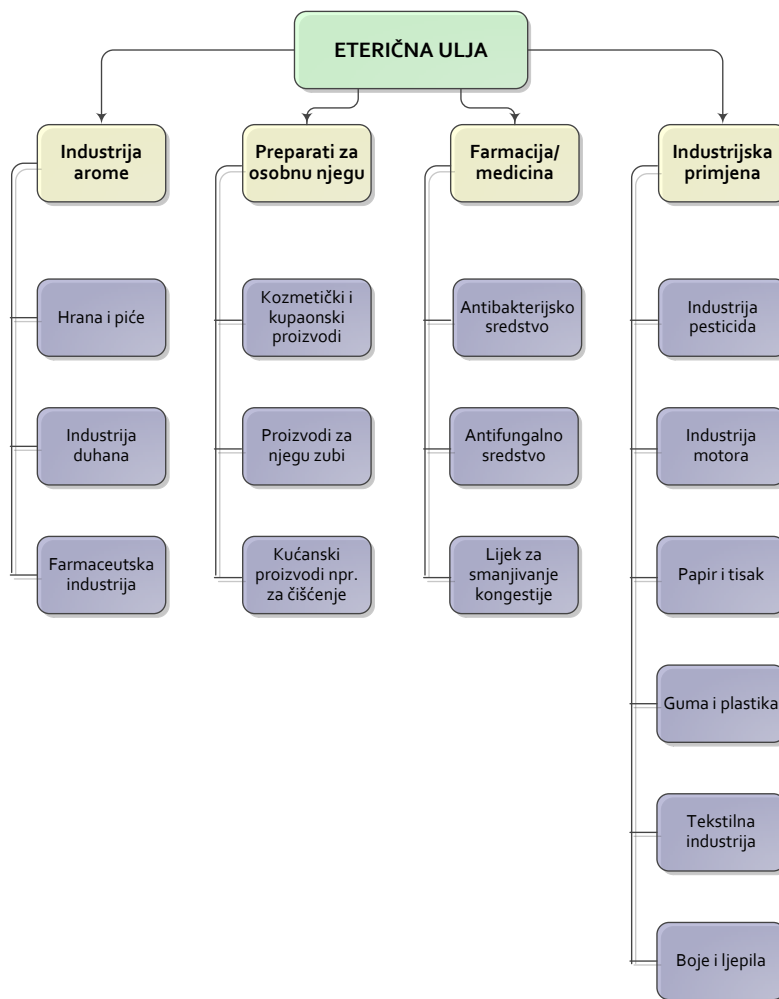
veliko terapijsko djelovanje, intenzivnije antibakterijsko djelovanje na kožne infekcije te jače protuvirusno i protugljivično djelovanje od eteričnog ulja lavande. Eterično ulje lavande posjeduje već dobro poznata regenerativna i umirujuća svojstva te se pretežno upotrebljava u medicini za liječenje infekcija, opekline, iritacija i upalnih procesa na koži te nesanice (Cavanagh i Wilkinson, 2005). Eterična ulja proizvedena od lavandina niže su kvalitete od eteričnog ulja lavande te sadrže značajno veći udio kamfora i 1,8-cineola za razliku od eteričnog ulja lavande (Lis-Balchin, 2002). Eterično ulje lavande u kemijskom sastavu ističe se prisutnošću estera linalil acetata te alkohola linaloola. Prisutnošću estera u eteričnom ulju lavande moguće je definirati intenzitet mirisa (blag, slatkast, medno cvjetni miris), a prema udjelu kamfora te 1,8-cineola, analitičari mogu utvrditi vrstu eteričnog ulja. Stoga, vrlo je važno pravilno deklarirati proizvode kako bi kupci mogli biti sigurni jesu li kupili pravo eterično ulje lavande koje može pomoći kod nesanice i nervoze ili su kupili lavandin koji popravlja raspoloženje, osvježava i stimulira živčani sustav.

### **2.6.1. Eterično ulje lavandina**

Eterično ulje lavandina, dobiveno od prosušenih cvjetova prikazanih **Slikom 2**, odlikuje cvjetna aroma s jačim mirisnim notama od eteričnog ulja lavande, uslijed prisutnosti veće količine kamfora. Osnovni kemijski sastav eteričnog ulja lavandina čine linalool (28,0 % - 38,0 %), linalil acetat (19,0 % - 29,0 %), kamfor (7,0 % - 11,0 %) te 1,8-cineol (5,0 - 10,0 %), uz manje količine drugih kemijskih spojeva poput, terpinen-4-ol, borneola, lavandulil acetata i drugih komponenata. Primjena eteričnog ulja lavandina kao komponente za dobivanje finalnih proizvoda zahvaljujući brojnim benefitnim svojstvima izrazito je široka, što je vidljivo **Slikom 3**, no uslijed posjedovanja antiinflamatornih, antidepresivnih te antiseptičkih svojstava lavandina uz snažniji aromatski profil uglavnom se zadržava u kemijskoj i kozmetičkoj industriji.



Slika 2 Prikaz osušenih cvjetova *Lavandula x intermedia* Silver (Izvor: Autor)



Slika 3 Industrije i kategorije proizvoda koje koriste eterična ulja (Mujić i Jokić, 2018)



Osim navedenih primjena, eterično ulje lavandina se može upotrijebiti za liječenje depresije uslijed prisustva veće količine kemijskog spoja 1,8-cineola (Milanović, 2015). 1,8-cineol ima izrazito energizirajuća svojstva te mu se pripisuje svojstvo podizanja raspoloženja, dok se ne preporučuje za liječenje anksioznosti jer prisustvo veće količine 1,8-cineola minimizira djelovanje umirujućih komponenata (linalola te linalilacetata) eteričnog ulja. Primjena je također moguća prilikom ubrzavanja zarastanja rana, olakšavanja simptoma respiratornih bolesti i reduciranja ožiljaka, ali se ne preporučuje za liječenje opekotina uslijed mogućih iritacija.

### **2.6.2. Hidrolat lavandina i njegova potencijalna primjena**

Hidrolati predstavljaju vrlo vrijedne nusproizvode dobivene iz različitih aromatičnih biljaka destilacijskim procesima te se mogu naći po drugim nazivima, poput, hidrosola, aromatične vode, cvjetne vodice, esencijalne vode te biljnih destilata. U hidrolatima su prisutne različite komponente iz eteričnog ulja, u različitim koncentracijama ovisno o topljivosti tih komponenata u vodi. Kvaliteta dobivenog hidrolata ovisi o vrsti i količini otopljenih tvari te vremenu sakupljanja hidrolata, pri čemu kraće vrijeme sakupljanja rezultira prikupljanjem komponenata s nižom točkom ključanja, poput aldehida, ketona i monoterpenskih alkohola, dok dulje vrijeme sakupljanja rezultira otapanjem tvari s višom točkom ključanja poput terpenoida. Uslijed vrlo male količine eteričnog ulja u hidrolatu može doći do mikrobiološkog kvarenja hidrolata lavandina. Najčešći uzročnici mikrobiološkog kvarenja predstavljaju mezofilne bakterije i gljivice koje kao hranu tj. supstrat koriste nehlapive u vodi, topive te termostabilne komponente hidrolata. Prisutnost takvih mikroorganizama u hidrolatu uzrokuje promjenu organoleptičkih svojstava hidrolata te pojavu toksičnih komponenata čime se ograničava upotreba u industriji. Kako bi se osigurala mikrobiološka stabilnost hidrolata potrebno je postupati u skladu s dobrom higijenskom praksom od trenutka sijanja biljke i branja, transporta biljnog materijala u tvornicu, do koraka kojim se provode procesi ekstrakcije eteričnih ulja uz dobivanje hidrolata kao nusproizvoda. Osim poštivanja dobre higijenske prakse prilikom procesiranja biljnog materijala za dobivanje hidrolata koji se koristi za razvoj finalnih proizvoda, vrlo je važan pravilan način čuvanja dobivenih proizvoda

(na hladnom i tamnom mjestu ili u zatamnjanim bočicama). Dobiveni proizvodi moraju biti mikrobiološki stabilni i sigurni za ljudsku primjenu, stoga je potrebno provoditi sustavnu provjeru prisutnosti mikroorganizama uzročnika kvarenja u svim koracima procesiranja biljnog materijala. Hidrolat lavandina prema **Tablici 1** može se koristiti kao zamjena za vodenu fazu u proizvodnji različitih kozmetičkih proizvoda, te se može koristiti u farmaceutskoj, kemijskoj industriji i za potrebe aromaterapije (Barbarić i Raič, 2014).

**Tablica 1** Potencijalna primjena hidrolata lavandina na osnovu dostupnih pripravaka na tržištu (Izvor: Autor)

<b>Primjena hidrolata lavandina</b>	<b>Način uporabe ili svrha</b>
Vodica za čišćenje lica	Nanositi se na kožu pomoću vate
Maska za lice	Miješa se sa glinom ili maslacom za tijelo te se ispiru nakon 10-15 minuta
Sprej (maglica) za osvježavanje auta	Izbjegavati polirane i obojane površine, uklanja miris dima
Aromatična zamjena za vodu u proizvodima za osobnu higijenu	Poboljšava se aroma losiona, kreme
Sprej za stopala	Za osvježavanje i neutralizaciju neugodnih mirisa
Parfemska vodica za tijelo ili kosu	Osvježavanje kose i tijela

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Cilj ovog rada je proučiti iskorištenje i kvalitetu eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* Silver, dobivenog primjenom različitih tehnika ekstrakcije. Za proizvodnju eteričnih ulja upotrebljavana je destilacija vodenom parom, hidrodestilacija u aparaturi po Clevenger-u, ekstrakcija superkritičnim CO<sub>2</sub> te destilacija potpomognuta mikrovalovima. Identifikacija fitokemikalija u eteričnom ulju i hidrolatu lavandina provedena je primjenom metode plinske kromatografije sa spektrometrijom masa (GC-MS) te je prema analizama isparljivih spojeva utvrđena kvaliteta eteričnog ulja/ekstrakta lavandina.

### 3.2. MATERIJAL

Kako bi se odredilo iskorištenje i kvaliteta dobivenog eteričnog ulja lavandina, korišten je svježi do blago prosušeni nadzemni dio *Lavandula x intermedia* Silver, prikupljenog 2020 godine na K.T.M. natura, obrtu za poljoprivredu, Erdut, Republika Hrvatska.

#### 3.2.1. Kemikalije i uređaji

Kemikalije

- komercijalni CO<sub>2</sub> čistoće 99,97 % (w/w) proizvođača Messer Croatia Plin (Osijek, Hrvatska)
- *n*-heksan, p. a. (J. T. Baker, Milano, Italija)

Uređaji :

- Aparatura po Clevenger-u (Witeg Labortechnik GmbH, Njemačka)
- Superkritični CO<sub>2</sub> ekstraktor (konstruiran na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku, Hrvatska)
- Mikrovalni uređaj za ekstrakciju i sintezu (Milestone flexiWAVE, Italija)
- Pilot postrojenje za destilaciju vodenom parom (Inovacioni Preduzetnički Centar-

procesno inženjerstvo, Srbija)

- Analitička vaga (Crystal - 200 CAL CE, Gibertini Elettronica, Italija)
- Uređaj za plinsku kromatografiju/masenu spektrometriju (GC/MS; Agilent Technologies II7890B/5977A, SAD)
- Uređaj za usitnjavanje uzoraka (Sample mill, model SM-450C, Izrael)

### 3.3. METODE

#### 3.3.1. Hidrodestilacija u aparaturi po Clevenger-u

Pripravljena je suspenzija prethodno osušenih i usitnjenih cvjetova lavandina (100 g) te destilirane vode (1 L). Tikvica s pripremljenom suspenzijom spojena je na aparaturi po Clevenger-u, prikazano **Slikom 4**, te je provedeno postepeno zagrijavanje suspenzije preko grijača.



**Slika 4** Aparatura po Clevenger-u (Izvor: Autor)

Zagrijavanjem cvjetova lavandina s destiliranom vodom došlo je do isparavanja vode, te je nastala para sa sobom odnijela eterično ulje iz cvijeta. Para se hladila u Liebigovom hladilu, uz promjenu agregatnog stanja, te je nastala voda kroz staklenu cjevčicu ponovo ulazila u ciklus, a kondenzirano eterično ulje se skupljalo u graduiranoj cjevčici aparature. Postupak je trajao 2 sata kako bi se dobilo što više eteričnog ulja. Izdvojeno eterično ulje čuvano je pri temperaturi 4 – 6 °C te analizirano pomoću GC-MS.

### **3.3.2. Destilacija vodenom parom u pilot postrojenju**

Pripremljeni su blago prosušeni cvjetovi lavandina te su pravilno raspoređeni na perforirano dno destilatora, prikazanog **Slikom 5**, kako bi se omogućio nesmetan prolazak pare kroz cvjetove lavandina. Nakon stavljanja blago prosušenih cvjetova lavandina u destilator, zatvorio se poklopac destilatora te se otvorio ventil za puštanje vodene pare, nakon čega se otvorio ventil za cirkulaciju rashladne tekućine u kondenzatoru i hladnjaku. Vodena para prolazila je kroz cvjetove lavandina, raspoređenih na perforiranoj rešetki, te je sa sobom odnosila čestice eteričnog ulja. Vodena para sa česticama eteričnog ulja prolazila je kroz cijevi hladene vodom, te je došlo do kondenzacije vode i eteričnih ulja. Kondenzirana smjesa eteričnog ulja lavandina i hidrolata sakupljana je u florentinsku bocu (separator), uprizorenog **Slikom 6**, gdje se eterično ulje kao lakša komponenta izdvojila na površini hidrolata, što je uočljivo razlikom boja između dobivenog eteričnog ulja i hidrolata. Provedeno je naknadno dekantiranje dobivenog eteričnog ulja te hidrolata. Izdvojeno eterično ulje čuvano je pri temperaturi 4 – 6 °C te analizirano pomoću GC-MS.



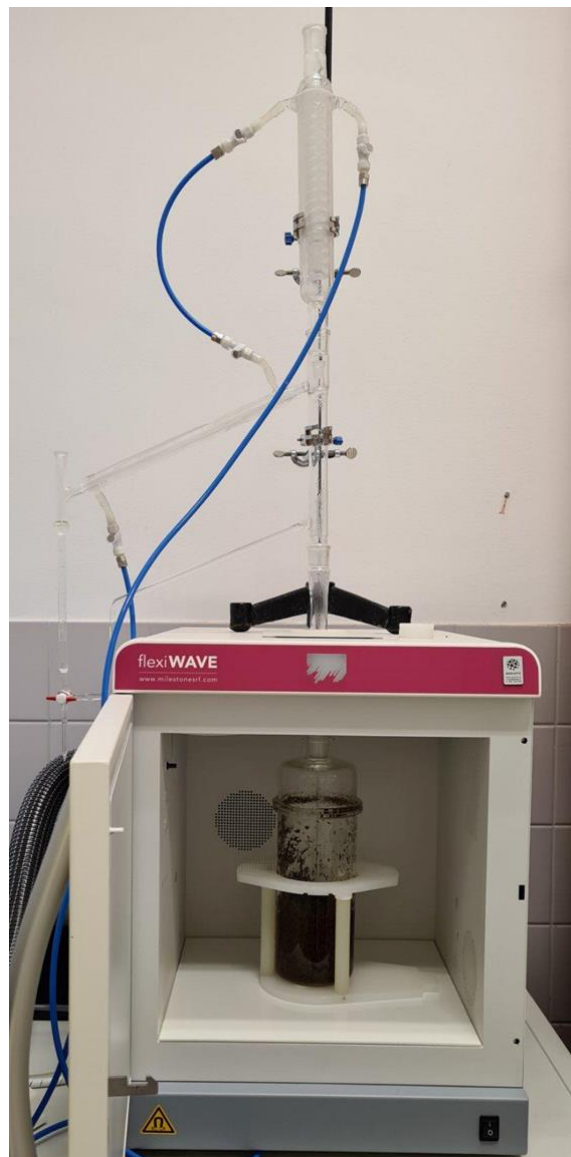
**Slika 5** Pilot postrojenje za destilaciju (Izvor: Autor)



**Slika 6** Florentinska boca sa eteričnim uljem i hidrolatom lavandina (Izvor: Autor)

### 3.3.3. Destilacija potpomognuta mikrovalovima

Osušen i usitnjen lavandin mase 100 g stavljen je u tikvicu i potopljen s 1 L destilirane vode. Pripremljena tikvica s uzorkom postavljena je na postolje mikrovalnog uređaja za ekstrakciju i sintezu prikazanog **Slikom 7**, te je spojena s Grahamovim hladilom. Snaga korištenih mikrovalova za ekstrakciju željenih spojeva iznosila je 1800 W uz trajanje procesa ekstrakcije od 40 minuta. Naglim povišenjem temperature i unutarnjeg tlaka došlo je do pucanja staničnih membrana biljnog materijala čime se omogućilo otpuštanje aktivnih tvari u okolinu. Izdvojeno eterično ulje čuvano je pri temperaturi 4 – 6 °C te analizirano pomoću GC-MS.



**Slika 7** Mikrovalni ekstraktor (Izvor: Autor)

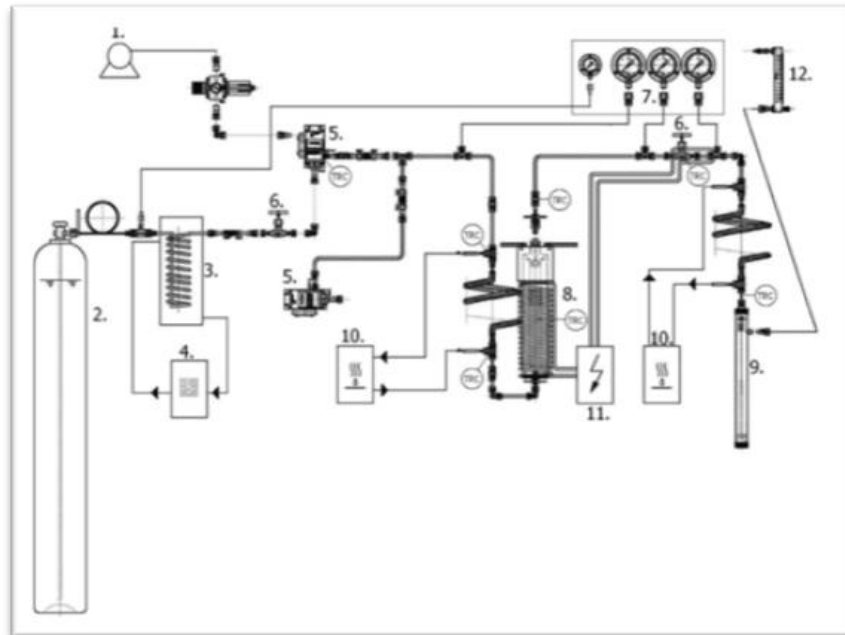


### 3.3.4. Ekstrakcija pomoću CO<sub>2</sub> u superkričnom stanju

Ekstrakcija je provedena u postrojenju za ekstrakciju superkričnim CO<sub>2</sub>, konstruiranom na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku te prikazanom na **Slici 8**. Rashladna kupelj pothlađuje CO<sub>2</sub> na -5 °C koji se uvodi u pumpu. Visokotlačna pumpa komprimira CO<sub>2</sub> na željeni tlak ekstrakcije i dovodi ga u ekstraktor. U ekstraktoru se nalazilo 50 g osušenih i samljevenih cvjetova lavandina. Tako stlačeni CO<sub>2</sub> zagrijavao se preko istostrujnog izmjenjivača topline na temperaturu ekstrakcije i uvodio u ekstraktor gdje je prelazeći preko uzorka obavljao ekstrakciju topljivih spojeva. Procesni uvjeti upotrebljavani za ekstrakciju komercijalnim superkričnim CO<sub>2</sub> bili su:

- Tlak (90 bar)
- Temperatura (40 °C)
- Protok fluida (1,4 kg/h)
- Vrijeme (5 min)
- Tlak u separatoru 15 bar

Dobiveni ekstrakti čuvani su na 4 – 6 °C do GC-MS analize.



**Slika 8** Shematski prikaz uređaja za superkričnu ekstrakciju (Aladić, 2015):

1. Kompresor; 2. CO<sub>2</sub> spremnik; 3. Izmjenjivač topline od nehrđajućeg čelika; 4. Rashladna kupelj; 5. Zrakom pogonjena hidraulična pumpa Haskel MS-71; 6. Ventili (B-HV); 7. Manometri; 8. Ekstraktor; 9. Separator; 10. Vodena kupelj; 11. Centralizirani sistem grijača od staklenih vlakana; 12. Mjerač protoka

### 3.3.5. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa

Nakon provedenih metoda destilacije i ekstrakcije cvjetova lavandina provedena je GC-MS (Gas chromatography–mass spectrometry) analiza isparljivih spojeva u dobivenim eteričnim uljima i ekstraktima lavandina, prikazano **Slikom 9**. Pripremljen je uzorak organskog otapala *n*-heksana, koji je korišten kao kontrolni u odnosu na uzorke ispitivanih eteričnih ulja lavandina. Za potrebe analize svi ekstrakti i eterična ulja otopljeni su u *n*-heksanu. GC-MS analiza omogućuje analizu velikog broja spojeva prisutnih u eteričnom ulju i ekstraktu, a temelji se na tehnikama masene spektrometrije te plinske kromatografije. Masena spektrometrija omogućava određivanje relativnih masa i količina iona nastalih ionizacijom atoma i molekula te raspadom ioniziranih molekula nekog uzorka. Tehnikom plinske kromatografije omogućeno je prevođenje uzorka u isparljivo stanje te prenošenje plinom nosačem u kromatografsku kolonu gdje se vrši razdvajanje komponenata uzoraka na temelju vrelišta pojedine komponente i temperaturnog gradijenta. Separacija spojeva provedena je na kapilarnoj koloni H5-5MS (dužine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm, debljine sloja stacionarne faze 0,25  $\mu\text{m}$ , J&W, SAD).

Korišteni su sljedeći uvjeti rada plinskog kromatografa za HP-5MS kolonu:

- temperaturni program kolone: 2 min izotermno na 70 °C, zatim uz porast temperature od 200 °C, brzinom 3 °C / min izotermno 18 min,
- energija ionizacije: 70 eV,
- temperatura ionskog izvora: 230 °C,
- interval snimanja masa: 30 – 300 masenih jedinica kod eteričnog ulja i ekstrakata smilja i 45 – 450 masenih jedinica kod eteričnog ulja i ekstrakata konopljike.

Za svaki analizirani uzorak, kao rezultat GC-MS analize dobiveni su sljedeći podatci:

- kromatogram ukupne ionske struje,
- naziv spoja ili spojeva čiji spektar ili spektri su najbliži spektru nepoznatog spoja pojedinog pika iz kromatograma ukupne ionske struje; sličnosti spektara koji se uspoređuju izraženi su vjerojatnošću u postotcima,

- vrijeme zadržavanja pojedinog spoja,
- relativni udio pojedinog spoja izražen u postocima.

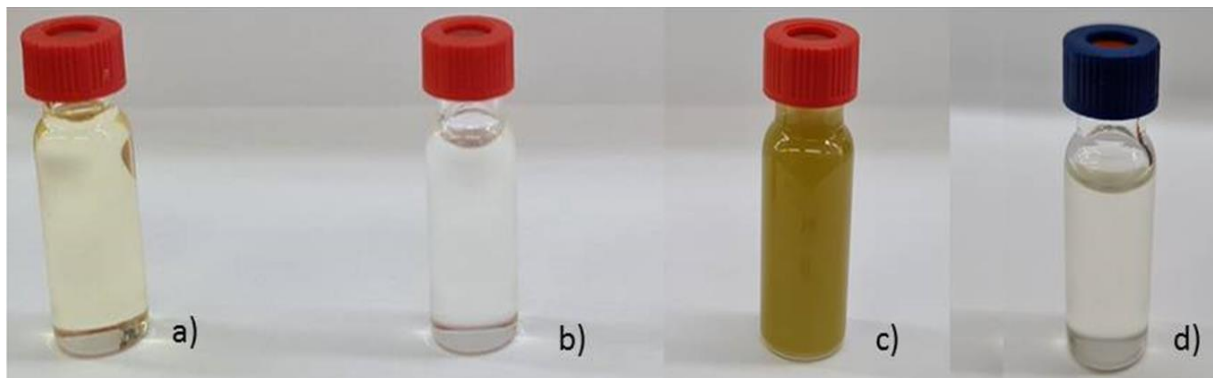
Pomoću detektora na izlasku iz kolone registrirani su isparljivi kemijski spojevi prisutni u uzorku, što je vidljivo formiranjem kromatograma. Postotni sastav isparljivih spojeva uzoraka izračunat je iz površine pikova kromatograma primjenom metode normalizacije (bez korekcijskih faktora).



**Slika 9** Uređaj za GC-MS (Izvor: Autor)

## **4.REZULTATI I RASPRAVA**

U radu su provedene analize eteričnih ulja i ekstrakata cvjetova *Lavandula x intermedia* Silver dobivenih različitim metodama ekstrakcije i destilacije, prikazanih **Slikom 10**, te je provedena GC-MS analiza uz formiranje kromatograma.



**Slika 10** Uzorci eteričnih ulja i ekstrakata lavandina nad kojima je provedena GC-MS analiza: a) Ekstrakt lavandina dobiven ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima, b) Eterično ulje lavandina dobiveno destilacijom vodenom parom, c) Ekstrakt lavandina dobiven SC-CO<sub>2</sub> na 90 bara, d) Eterično ulje lavandina dobiveno hidrodestilacijom po Clevenger-u (Izvor: Autor)

#### **4.1. KEMIJSKI PROFILI ETERIČNIH ULJA *Lavandula x Intermedia* Silver I EKSTRAKATA DOBIVENIH RAZLIČITIM TEHNIKAMA EKSTRAKCIJE**

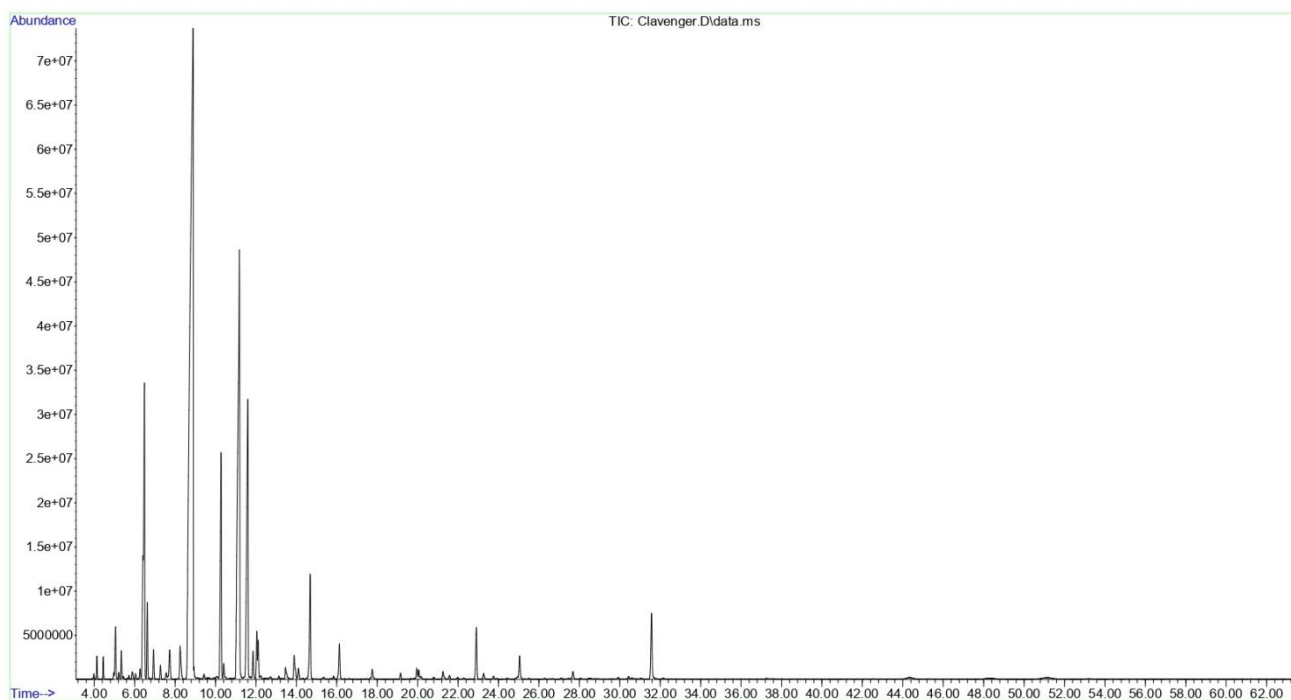
**Tablicom 2** dan je prikaz kemijskih spojeva prisutnih u eteričnom ulju *Lavandula x intermedia* Silver, dobivenog metodom hidrodestilacije po Clevenger-u. Analizom kemijskih spojeva u lavandinu pomoću GC-MS utvrđena je prisutnost različitih kemijskih spojeva, među kojima su najvažniji te najzastupljeniji 1,8-cineol (8,02 %), borneol (16,89 %), linaool (43,06 %), kamfor (5,12 %), 4-terpineol (7,96 %), linalil acetat (2,44 %) te  $\beta$ -farnesen (1,27 %).

**Tablica 2** Kemijski profil isparljivih spojeva eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* Silver dobiven hidrodestilacijom po Clevengeru određen pomoću GC-MS analize

Redni	Spoj	Engleski naziv	%
1.	Triciklen	Tricyclen	0,01
2.	$\alpha$ -Tujen	$\alpha$ -Thujene	0,08
3.	$\alpha$ -Pinen	$\alpha$ -Pinene	0,34
4.	Kamfen	Camphene	0,34
5.	Sabinen	Sabinene	0,10
6.	3-oktanon	3-octanone	0,12
7.	$\beta$ -Mircen	$\beta$ -Myrcene	0,47
8	$\alpha$ -Felandren	$\alpha$ -Phellandrene	0,07
9.	<i>p</i> -Cimen	<i>p</i> -Cymene	0,02
10.	$\beta$ -Felandren	$\beta$ -Phellandrene	/
11.	1,8-cineol	1,8-cineole	8,02
12.	cis-ocimen	cis-ocimene	1,26
13.	gama-terpinen	gama-terpinene	0,25
14.	trans-sabinen hidrat	trans-sabinene hydrat	0,19
15.	Linalool oksid	Linalool oxide	0,80
16.	$\alpha$ -Terpinolen	$\alpha$ -Terpinolene	/
17.	Linalool	Linalool	43,06
18.	Kamfor	Camphor	5,12
19.	Heksil izobutirat	Hexyl isobutyrate	0,37
20.	Borneol	Borneol	16,89
21.	4-terpineol	4-terpineol	7,96
22.	Kripton	Cryptone	/
23.	Heksil butanoat	Hexyl butanoate	0,73
24.	Heksil-2- metilbutanoat	Hexyl-2- methylbutanoate	0,69
25.	Linalil acetat	Linalyl acetate	2,44

26.	Lavandulil acetat	Lavandulyl acetate	0,82
27.	Heksil tiglat	Hexyl tiglate	0,28
28.	Neril acetat	Neryl acetate	0,13
29.	Geranil acetat	Geranyl acetate	0,25
30.	Zingiberen	Zingiberene (cas)	0,13
31.	trans-kariofilen	trans-caryophyllene	0,21
32.	$\beta$ -farnesen	$\beta$ -Farnesene	1,27
33.	D-germakren	D-germacrene	0,07
34.	$\beta$ -Seskvifelandren	$\beta$ -Sesquiphellandrene	/

GC-MS metodom praćen je odziv komponenata prisutnih u eteričnom ulju kroz vrijeme što je vidljivo razvojem kromatograma prikazanog na **Slici 11**. Vidljivo je kako su svi prisutni spojevi u eteričnom ulju lavandina u rasponu vrijednosti prema propisima danima u teorijskom dijelu rada.



**Slika 11** Kromatogram dobiven GC-MS analizom eteričnog ulja lavandina dobivenog hidrodestilacijom po Clevenger-u

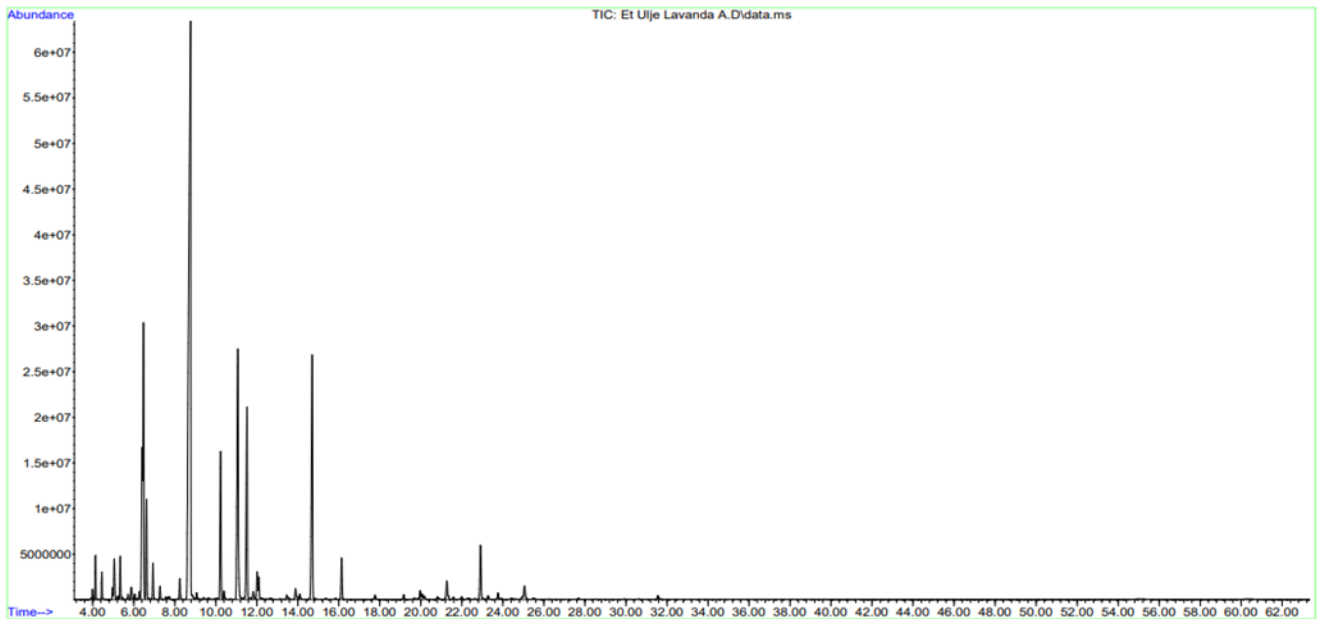
**Tablicom 3** dan je prikaz kemijskih spojeva prisutnih u eteričnom ulju i hidrolatu *Lavandula x intermedia* Silver, dobivenog destilacijom u pilot postrojenju. Analizom kemijskih spojeva u eteričnom ulju pomoću GC-MS detektirana je prisutnost različitih kemijskih spojeva, među kojima su najvažniji te najzastupljeniji  $\beta$ -Felandren (4,68 %), 1,8-cineol (7,38 %), borneol (10,73 %), linaool (36,34 %), kamfor (4,61 %), 4-terpineol (6,59%), linalil acetat (9,19 %) te  $\beta$ -Farnesen (2,01 %). GC-MS analizom u hidrolatu lavandina utvrđena je prisutnost 1,8-cineola (10,80 %), linalol oksida (4,55 %), linaloola (27,27 %), kamfora (13,66 %), borneola (15,84 %), 4-terpineola (10,21 %) te kripton (1,64 %). GC-MS metodom praćen je odziv komponenata prisutnih u eteričnom ulju i hidrolatu kroz vrijeme, što je vidljivo na kromatogramima prikazanom na **Slici 12 i 13**. Uočljivo je kako su svi prisutni spojevi u eteričnom ulju lavandina u skladu s propisanim vrijednostima danima u teorijskom dijelu rada te kako se u hidrolatu uočava manje prisutnih kemijskih spojeva za razliku od eteričnog ulja lavandina.

**Tablica 3** Kemijski profil isparljivih spojeva eteričnog ulja i hidrolata *Lavandula x intermedia* Silver dobivenih destilacijom vodenom parom određenih pomoću GC-MS analize

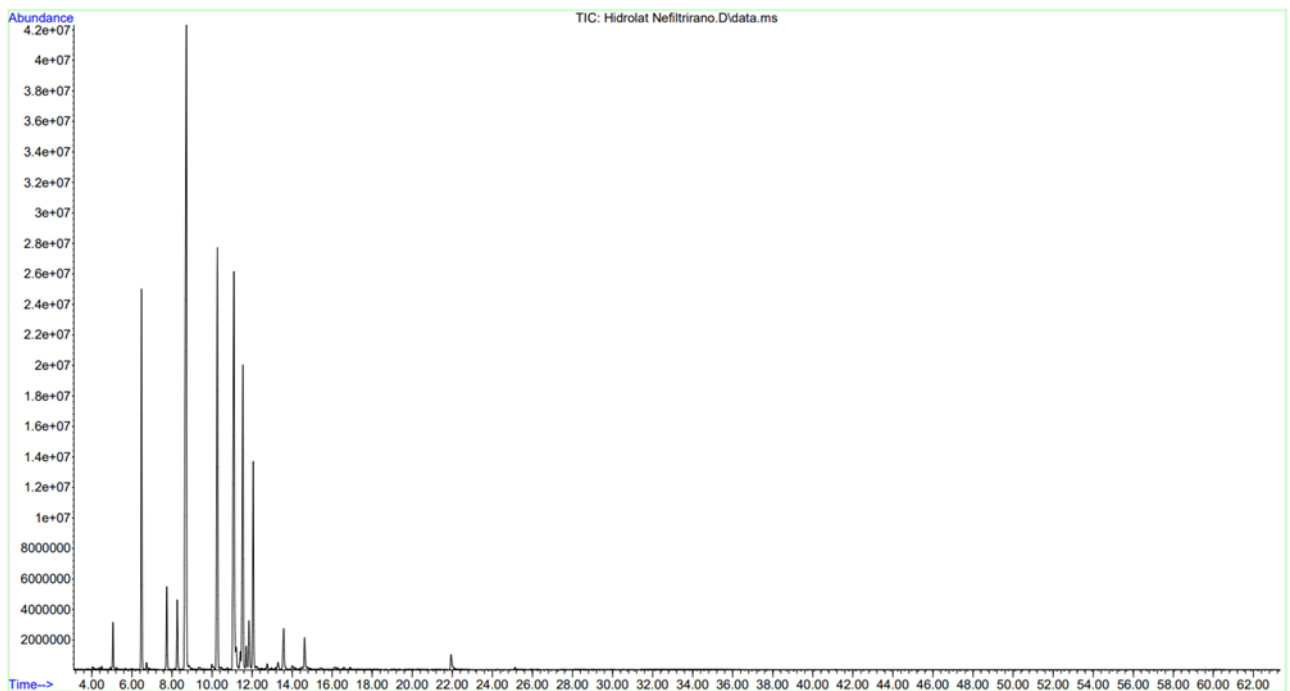
Redni broj	Spoj	Compound	Sadržaj u eteričnom ulju (%)	Sadržaj u hidrolatu (%)
1.	Triciklen	Tricyclen	0,03	/
2.	$\alpha$ -Tujen	$\alpha$ -Thujene	0,19	/
3.	$\alpha$ -Pinen	$\alpha$ -Pinene	1,04	/
4.	Kamfen	Camphene	0,58	/
5.	Sabinen	Sabinene	0,27	/
6.	3-oktanon	3-octanone	0,10	0,06
7.	$\beta$ -Mircen	$\beta$ -Myrcene	1,01	/
8.	$\alpha$ -Felandren	$\alpha$ -Phellandrene	0,07	/
9.	<i>p</i> -Cimen	<i>p</i> -Cymene	0,23	/
10.	$\beta$ -Felandren	$\beta$ -Phellandrene	4,68	/
11.	1,8-cineol	1,8-cineole	7,38	10,80
12.	cis-ocimen	cis-ocimene	2,57	/



13.	gama-terpinen	gama-terpinene	0,26	/
14.	trans-sabinen hidrat	trans-sabinene hydrat	0,07	/
15.	Linalol oksid	Linalool oxide	0,14	4,55
16.	$\alpha$ -terpinolen	$\alpha$ -terpinolene	0,68	/
17.	Linalool	Linalool	36,34	27,27
18.	Kamfor	Camphor	4,61	13,66
19.	Heksil izobutirat	Hexyl isobutyrate	0,31	/
20.	Borneol	Borneol	10,73	15,84
21.	4-terpineol	4-terpineol	6,59	10,21
22.	Kripton	Cryptone	0,30	1,64
23.	Heksil butanoat	Hexyl butanoate	0,73	/
24.	Heksil2 metilbutanoat	Hexyl2- methylbutanoate	0,45	/
25.	Linalil acetat	Linalyl acetate	9,19	/
26.	Lavandulil acetat	Lavandulyl acetate	1,41	/
27.	Heksil tiglat	Hexyl tiglate	0,17	/
28.	Neril acetat	Neryl acetate	0,17	/
29.	Geranil acetat	Geranyl acetate	0,31	/
30.	Zingiberen	Zingiberene (cas)	0,27	/
31.	trans-kariofilen	trans-caryophyllene	0,79	/
32.	$\beta$ -Farnesen	$\beta$ -Farnesene	2,01	/
33.	D-germakren	D-germacrene	0,23	/
34.	$\beta$ -Seskvifelandren	$\beta$ Sesquiphellandrene	0,06	/



**Slika 12** Kromatogram dobiven GC-MS analizom eteričnog ulja lavandina dobivenog destilacijom vodenom parom u pilot postrojenju



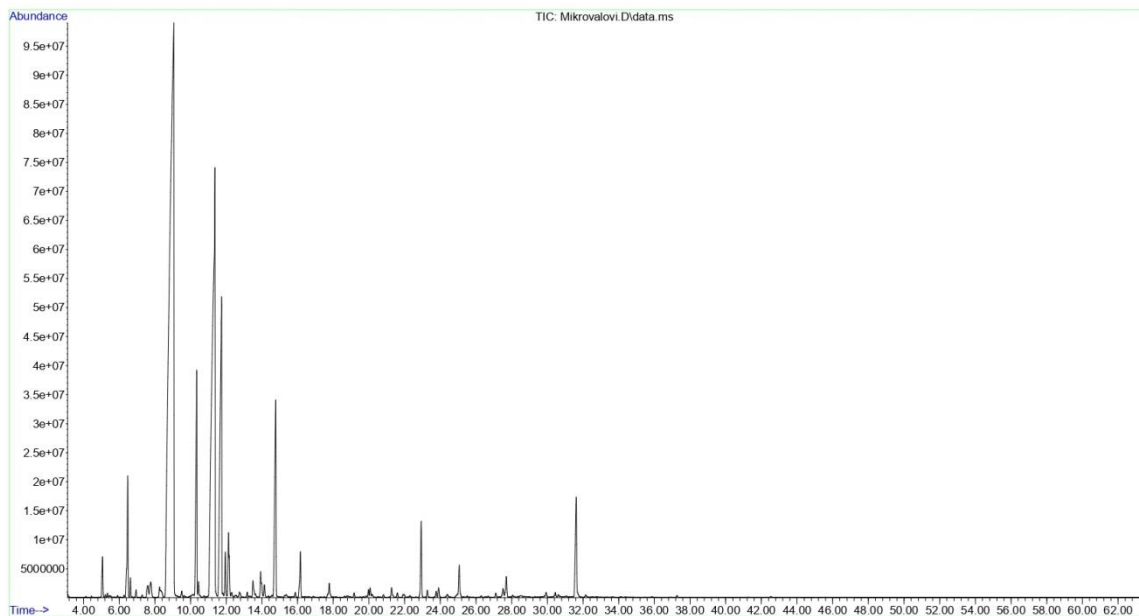
**Slika 13** Kromatogram dobiven GC-MS analizom hidrolata lavandina dobivenog destilacijom vodenom parom u pilot postrojenju

**Tablicom 4** dan je prikaz kemijskih spojeva prisutnih u ekstraktu *Lavandula x intermedia* Silver, dobivenog metodom ekstrakcije potpomognutom mikrovalovima tijekom 40 minuta. Analizom kemijskih spojeva u lavandinu pomoću GC-MS utvrđena je prisutnost različitih kemijskih spojeva, među kojima su najvažniji te najzastupljeniji 1,8-cineol (2,13 %), borneol (20,96 %), linaool (43,03 %), kamfor (4,73 %), 4-terpineol (9,09 %) te linalil acetat (4,38 %). GC-MS metodom praćen je odziv komponenata prisutnih u ekstraktu kroz vrijeme što je vidljivo razvojem kromatograma prikazanog na **Slici 14**. Vidljivo je kako su svi prisutni spojevi u ekstraktu lavandina u skladu s vrijednostima danima u teorijskom dijelu rada.

**Tablica 4** Kemijski profil isparljivih spojeva eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* Silver dobiven ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima određen pomoću GC-MS analize

Redni broj	Spoj	Compound	Sadržaj (%)
1.	Triciklen	Tricyclen	/
2.	$\alpha$ -Tujen	$\alpha$ -Thujene	/
3.	$\alpha$ -Pinen	$\alpha$ -Pinene	0,01
4.	Kamfen	Camphene	0,01
5.	Sabinen	Sabinene	/
6.	3-oktanon	3-octanone	0,04
7.	$\beta$ -Mircen	$\beta$ -Myrcene	0,06
8.	$\alpha$ -Felandren	$\alpha$ -Phellandrene	/
9.	<i>p</i> -Cimen	<i>p</i> -Cymene	0,03
10.	$\beta$ -Felandren	$\beta$ -Phellandrene	/
11.	1,8-cineol	1,8-cineole	2,13
12.	cis-ocimen	cis-ocimene	0,26
13.	gama-terpinen	gama-terpinene	0,04
14.	trans-sabinen hidrat	trans-sabinene hidrat	0,35
15.	Linalol oksid	Linalool oxide	0,47
16.	$\alpha$ -Terpinolen	$\alpha$ -Terpinolene	0,24
17.	Linalool	Linalool	43,03
18.	Kamfor	Camphor	4,73
19.	Heksil izobutirat	Hexyl isobutyrate	0,25

20.	Borneol	Borneol	20,96
21.	4-terpineol	4-terpineol	9,09
22.	Kripton	Cryptone	0,73
23.	Heksil butanoat	Hexyl butanoate	/
24.	Heksil2 metilbutanoat	Hexyl2- methylbutanoate	/
25.	Linalil acetat	Linalyl acetate	4,38
26.	Lavandulil acetat	Lavandulyl acetate	0,90
27.	Heksil tiglata	Hexyl tiglate	0,28
28.	Neril acetat	Neryl acetate	0,07
29.	Geranil acetat	Geranyl acetate	0,13
30.	Zingiberen	Zingiberene (cas)	0,05
31.	trans-kariofilen	trans-caryophyllene	0,20
32.	$\beta$ -Farnesen	$\beta$ -Farnesene	/
33.	D-germakren	D-germacrene	0,11
34.	$\beta$ -Seskvifelandren	$\beta$ -Sesquiphellandrene	0,03



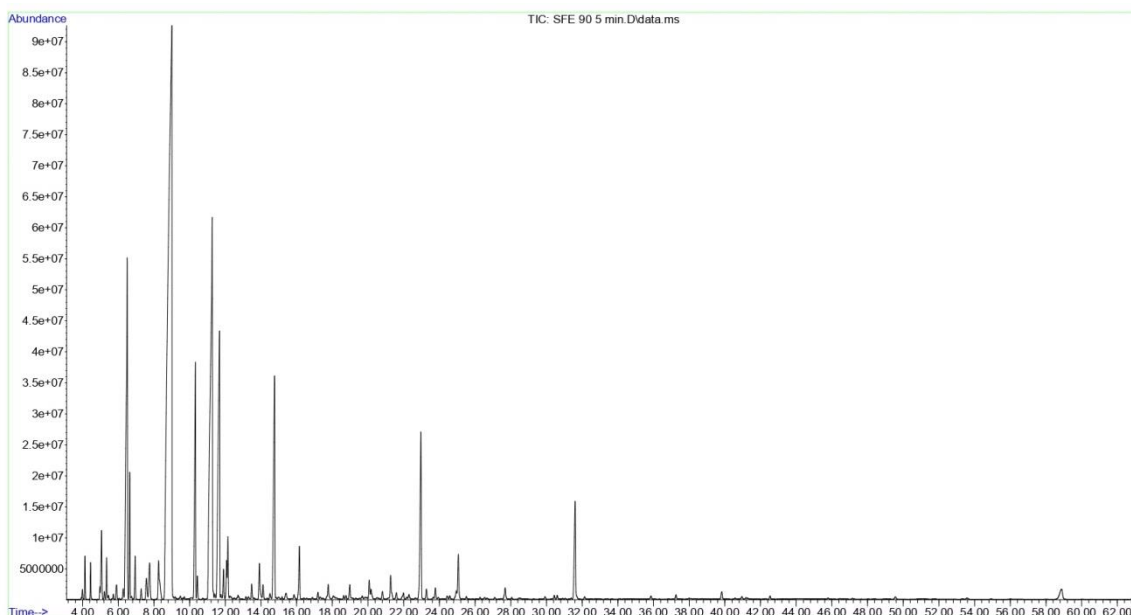
**Slika 14** Kromatogram dobiven GC-MS analizom ekstrakta lavandina dobivenog ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima

**Tablicom 5** dan je prikaz kemijskih spojeva prisutnih u ekstraktu *Lavandula x intermedia* Silver, dobivenog metodom ekstrakcije superkričnim CO<sub>2</sub> na 90 bara tijekom 5 minuta. Dobiveni ekstrakt lavandina posjedovao je intenzivan miris, vidljivo veću viskoznost te jači intenzitet žute boje s laganim tonom zelene boje, za razliku od ostalih proizvedenih eteričnih ulja i ekstrakata lavandina. Analizom kemijskih spojeva u lavandinu pomoću GC-MS utvrđena je prisutnost različitih kemijskih spojeva, među kojima su najvažniji te najzastupljeniji 1,8-cineol (8,10 %), borneol (14,01 %), linaool (37,24 %), kamfor (4,55 %), 4-terpineol (6,93 %) te linalil acetat (4,83 %). GC-MS metodom praćen je odziv komponenata prisutnih u ekstraktu kroz vrijeme što je vidljivo na kromatogramu prikazanom na **Slici 15**. Vidljivo je kako su svi prisutni spojevi u ekstraktu lavandina u skladu s vrijednostima danima u teorijskom dijelu rada.

**Tablica 5** Kemijski profil isparljivih spojeva eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* Silver dobiven ekstrakcijom SC-CO<sub>2</sub> određen pomoću GC-MS analize

Redni broj	Spoj	Compound	Sadržaj (%)
1.	Triciklen	Tricyclen	0,02
2.	$\alpha$ -Tujen	$\alpha$ -Thujene	0,12
3.	$\alpha$ -Pinen	$\alpha$ -Pinene	0,48
4.	Kamfen	Camphene	0,44
5.	Sabinen	Sabinene	0,15
6.	3-oktanon	3-octanone	0,11
7.	$\beta$ -Mircen	$\beta$ -Myrcene	0,52
8.	$\alpha$ -Felandren	$\alpha$ -Phellandrene	0,09
9.	<i>p</i> -Cimen	<i>p</i> -Cymene	0,19
10.	$\beta$ -Felandren	$\beta$ -Phellandrene	/
11.	1,8-cineol	1,8-cineole	8,10
12.	cis-ocimen	cis-ocimene	1,52
13.	gama-terpinen	gama-terpinene	0,14

14.	trans-sabinen hidrat	trans-sabinene hydrat	0,50
15.	Linalol oksid	Linalool oxide	0,84
16.	$\alpha$ -Terpinolen	$\alpha$ -Terpinolene	1,10
17.	Linalool	Linalool	37,24
18.	Kamfor	Camphor	4,55
19.	Heksil izobutirat	Hexyl isobutyrate	0,34
20.	Borneol	Borneol	14,01
21.	4-terpineol	4-terpineol	6,93
22.	Kripton	Cryptone	0,46
23.	Heksil butanoat	Hexyl butanoate	0,88
24.	Heksil-2- metilbutanoat	Hexyl-2-methylbutanoate	0,69
25.	Linalil acetat	Linalyl acetate	4,83
26.	Lavandulil acetat	Lavandulyl acetate	0,91
27.	Heksil tiglát	Hexyl tiglate	0,33
28.	Neril acetat	Neryl acetate	0,06
29.	Geranil acetat	Geranyl acetate	0,12
30.	Zingiberen	Zingiberene (cas)	0,23
31.	trans-kariofilen	trans-caryophyllene	0,51
32.	$\beta$ -Farnesen	$\beta$ -Farnesene	/
33.	D-germakren	D-germacrene	0,21
34.	$\beta$ -Seskvifelandren	$\beta$ -Sesquiphellandrene	0,10



**Slika 15** Kromatogram dobiven GC-MS analizom ekstrakta lavandina dobivenog ekstrakcijom superkritičnim CO<sub>2</sub> na 90 bara tijekom 5 minuta

## 4.2. USPOREDBA REZULTATA ANALIZA ETERIČNIH ULJA DOBIVENIH RAZLIČITIM TEHNIKAMA EKSTRAKCIJE

**Tablicom 6** predstavljene su detektirane vrijednosti dominantnih spojeva u proizvedenim ekstraktima i eteričnom ulju lavandina, naspram vrijednosti propisanih za eterično ulje lavandina, te su uočljiva znatna odstupanja. Vidljivo je kako eterično ulje lavandina ima znatno viši udio kamfora za razliku od eteričnog ulja lavande. Metodom hidrodestilacije po Clevenger-u u dobivenom eteričnom ulju lavandina detektirane su sljedeće vrijednosti dominantnih spojeva: linalool (43,06 %), linalil acetat (2,44 %), kamfor (5,12 %) te 1,8-cineol (8,02 %). Metodom destilacije vodenom parom u pilot postrojenju detektirani su sljedeći dominantni spojevi: linalool (36,34 %), linalil acetat (9,19 %), kamfor (4,61 %) te 1,8-cineol (7,38 %). Ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima u ekstraktu lavandina GC-MS analizom dobiveni su sljedeći dominantni spojevi: linalool (43,03 %), linalil acetat (4,38 %), kamfor (4,73 %) te 1,8-cineol (2,13 %). Ekstrakcijom cvjetova lavandina pomoću superkritičnog CO<sub>2</sub> u proizvedenom ekstraktu dobivene su sljedeće vrijednosti dominantnih spojeva: linalool (37,24 %), linalil acetat (4,83 %), kamfor (4,55 %) te 1,8-cineol (8,10 %).

Ovisno u upotrebljavanoj tehnici ekstrakcije/destilacije lavandina može se primijetiti kako se u dobivenim ekstraktima/eteričnim uljima uslijed prisutnosti vode povećava količina linaloola, te smanjuje količina linalil acetata. Povišenje udjela linaloola može se pripisati razgradnji linalil acetata u linalool u prisutnosti vode.

**Tablica 6** Usporedba dobivenih vrijednosti dominantnih spojeva u proizvedenim ekstraktima i eteričnom ulju lavandina naspram propisanih vrijednosti za eterično ulje lavande, danih prema Ph. Eur.

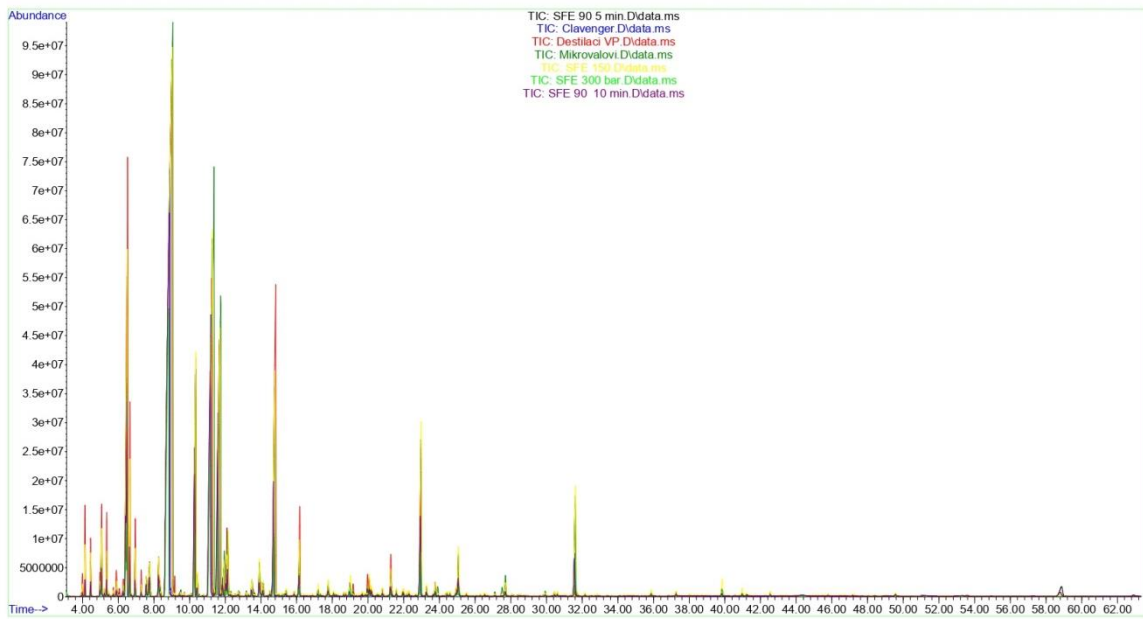
Metoda destilacije/ekstrakcije	Dominantni spojevi	Main Compounds	Sadržaj (%)	Zahtjev za eterično ulje lavande (%)
Clevenger	Linalool	Linalool	43,06	20,00-45,00
	Linalil acetat	Linalyl acetate	2,44	25,00-47,00
	Kamfor	Camphor	5,12	maximum 1,2
	1,8-cineol	1,8-cineole	8,02	maximum 2,5
Destilacija vodenom parom	Linalool	Linalool	36,34	20,00-45,00
	Linalil acetat	Linalyl acetate	9,19	25,00-47,00
	Kamfor	Camphor	4,61	maximum 1,2
	1,8-cineol	1,8-cineole	7,38	maximum 2,5
Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima	Linalool	Linalool	43,03	20,00-45,00
	Linalil acetat	Linalyl acetate	4,38	25,00-47,00
	Kamfor	Camphor	4,73	maximum 1,2
	1,8-cineol	1,8-cineol	2,13	maximum 2,5
Ekstrakcije superkričnim CO <sub>2</sub>	Linalool	Linalool	37,24	20,00-45,00
	Linalil acetat	Linalyl acetate	4,83	25,00-47,00



	Kamfor	Camphor	4,55	maximum 1,2
	1,8-cineol	1,8-cineole	8,10	maximum 2,5

Navedene vrijednosti dominantnih spojeva u ekstraktima i eteričnom ulju lavandina prikazane su pomoću kromatograma danog **Slikom 16**. Vidljivo je kako se odzivni pikovi koji predstavljaju kemijske spojeve preklapaju tj. kako nema značajnih odstupanja u njihovoj količini bez obzira na vrstu korištene metode za proizvodnju ekstrakta/eteričnog ulja od cvjetova lavandina. Promatrajući druge znanstvene radove (Baydar i sur., 2009; Sandrine i sur., 2013) uočene su razlike u kemijskom sastavu isparljivih spojeva obzirom na vrstu korištenog hibrida, uvjete i područje uzgoja te upotrebljavanje različitih dijelova biljke *Lavandula x intermedia* za ekstrahiranje/destilaciju. Prema Kara i Baydar (2013) procesom hidrodestilacije prosušenih cvjetova *Lavandula x intermedia* Silver, uzgojenih 2009. te 2010. godine, tijekom 3 h dobiveni su sljedeći udjeli dominantnih kemijskih spojeva: linalool (2009. godine 44,90 %, 2010. godine 46,80 %), linalil acetat (2009. godine 10,50 %, 2010. godine 7,14 %) te kamfor (2009. godine 12,6 %, 2010. godine 8,99 %). Prema dobivenim rezultatima Kara i Baydar (2013) vidljiva su odstupanja u udjelu isparljivih dominantnih spojeva *Lavandula x intermedia* Silver uzgojenog na području Isparte (Turska) u 2009. te 2010. godini, obzirom na rezultate dobivene ekstrahiranjem/destilacijom lavandina s područja K.T.M. Erduta u 2021. godini. Uzgoj lavandina u Isparti proveden je na nadmorskoj visini od 1050 m u polusušnim klimatskim uvjetima, dok je u K.T.M. natura uzgoj proveden na znatno nižim nadmorskim visinama, što je uočljivo u odstupanju rezultata ispitivanih uzoraka (ekstrakata i eteričnih ulja lavandina). Prosječna temperatura 2009. godine iznosila je 12,9 °C, dok je 2010. godine bila nešto viša (13,7 °C). Količina padalina tijekom 2009. godine iznosila je 666,7 mm/m<sup>2</sup>, a 2010. 710,4 mm/m<sup>2</sup>. Uočljivo je kako se porastom temperature i količine padalina smanjuje udio kamfora i linalil acetata te povećava udio linaloola (Kara i Baydar, 2013). Razlike u udjelu dominantnih isparljivih spojeva mogu se pripisati različitim područjima uzgoja, promjeni klimatskih uvjeta, vremenu branja, vrstama upotrebljivanih metoda ekstrakcije i destilacije te njihovom trajanju. Sandrine i sur. (2013) proveli su različite tehnike ekstrakcije/destilacije *Lavandula x intermedia* uzgojenog na području sjevera Francuske u 2011. godini. Cilj rada bio je proučiti utjecaj različitih tehnika

ekstrakcije/destilacije na iskorištenje i kvalitetu dobivenog eteričnog ulja lavandina. Hidrodestilacijom lavandina u aparaturi po Clevenger-u tijekom 4h dobiveni su sljedeći dominantni isparljivi spojevi: linalool ( $47,51 \pm 0,27$  %), linalil acetat ( $16,42 \pm 0,47$  %), kamfor ( $6,13 \pm 0,13$  %). Destilacijom vodenom parom dobiveno je eterično ulje sa sljedećim sastavom: linalool ( $38,79 \pm 6,46$  %), linalil acetat ( $14,00 \pm 11,91$  %) te kamfor ( $6,04 \pm 0,02$  %). Proces ekstrakcije potpomognut mikrovalovima odvijao se u vremenu od 60 minuta pri snazi mikrovalova od 500 W, te su GC-MS analizom u eteričnom ulju potvrđeni sljedeći isparljivi spojevi: linalool ( $25,16 \pm 15,86$  %), linalil acetat ( $23,32 \pm 1,80$  %) i kamfor ( $4,33 \pm 3,33$  %). Uspoređujući udjele kemijski isparljivih spojeva u eteričnom ulju dobivenom hidrodestilacijom po Clevenger-u, naspram eteričnog ulja proizvedenog od lavandina hidrodestilacijom po Clevenger-u s područja K.T.M. natura, vidljivo je kako se udjeli prisutnog linaloola i kamfora podudaraju u oba eterična ulja, te je detektiran veći udio linalil acetata u eteričnom ulju proizvedenom od lavandina s područja Isparte. Viši udio linalil acetata može se pripisati dužem vremenu hidrodestilacije. Promatrajući GC-MS analizu isparljivih spojeva eteričnog ulja proizvedenog destilacijom vodenom parom, usporedno spojevima dobivenih destilacijom lavandina s K.T.M. natura, vidljiva su gotovo potpuna preklapanja prema udjelu kemijskih spojeva. Mikrovalnom ekstrakcijom u proizvedenom ekstraktu lavandina te GC-MS analizom isparljivih spojeva uočena su odstupanja u udjelu linalil acetata, usporedno s ekstraktom lavandina, dobivenog destilacijom potpomognutom mikrovalovima s područja K.T.M. natura. Viši udio linalil acetata može se pripisati duljem vremenu izlaganja mikrovalovima manje snage (60 minuta, 500 W). Aromatski profil najviše nalik *Lavandula x intermedia* Silver postignut je proizvodnjom ekstrakta superkritičnim CO<sub>2</sub> (Ph.Eur. VI. Izdanje, 2007). Primjenom superkritičnog CO<sub>2</sub> pri tlaku od 90 bara i konstantnoj temperaturi od 40 °C vidljiv je razvoj većeg spektra prisutnih kemijskih spojeva za razliku od drugih upotrebljivanih metoda destilacije/ekstrakcije. Prema analizi fizikalnih svojstava, poput boje i mirisa, vidljivo je kako su eterična ulja proizvedena destilacijom vodenom parom te hidrodestilacijom po Clevenger-u bez boje, sa slabijim definiranim mirisom, za razliku od ekstrakata proizvedenih destilacijom potpomognutom mikrovalovima te SC-CO<sub>2</sub>, gdje je uočljiv intenzivan miris nalik lavandinu te žuta do blago zelenkasta boja.



**Slika 16** Pregled preklapanja pikova svih spojeva u eteričnim uljima lavandina dobivenih destilacijom vodenom parom i hidrodestilacijom po Clevenger-u sa ekstraktima dobivenima SFE i destilacijom potpomognutom mikrovalovima

## **5. ZAKLJUČAK**

Obzirom na upotrebljavane tehnike ekstrakcije/destilacije *Lavandula x intermedia* Silver s područja K.T.M. natura (Erdut) uočeno je kako se primjenom različitih tehnika ekstrakcije značajno može utjecati na vrijeme trajanja procesa te kvalitetu proizvedenih ekstrakta/eteričnih ulja. Obzirom na analizirane isparljive spojeve dobivene ekstrakcijom/destilacijom lavandina može se zaključiti sljedeće:

1. Analizom uzoraka pomoću GC-MS tehnike uočeni su podjednaki udjeli isparljivih spojeva u dobivenim eteričnim uljima i ekstraktima lavandina bez obzira na primijenjenu tehniku ekstrakcije/destilacije. Eterično ulje lavandina sastoji se od sljedećih dominantnih komponenti ovisno o primijenjenoj metodi: linalool (36,34-43,06 %), linalil acetat (2,44-9,19 %), kamfor (4,55-5,12 %) te 1,8-cineol (2,13-8,10 %).
2. Uporabom suvremenih tehnika poput ekstrakcije superkritičnim CO<sub>2</sub> i potpomognute mikrovalovima značajno se reducira vrijeme ekstrakcije što je izuzetno značajno s ekonomskog aspekta i uštede energenata. Nadalje takva dobivena ulja su intenzivnog mirisa nalik polaznoj sirovini lavandinu i iznimno zanimljiva za primjenu u daljnjem razvoju novih kozmetičkih pripravaka.
3. Hidrolat lavandina koji nastaje kao nusproizvod u postupku destilacije eteričnih ulja sadrži značajne količine isparljivih spojeva koji su prisutni i u eteričnom ulju lavandina, te se može koristiti i u razvoju nekih kozmetičkih proizvoda ukoliko se ispita njegova mikrobiološka stabilnost.

## **6. LITERATURA**

- Aladić K: Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis Sativa* L.) ulja superkritičnim CO<sub>2</sub> iz pogače nakon hladnog prešanja. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2015.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M: Biological effects of essential oils – A review. *Food Chemical Toxicology* ,46(2):446–475, 2008.
- Barbarić M, Raič M: Priručnik za uzgoj lavande i smilja, Mostar, 2014.
- Baydar H: Lavender. Medicinal and Aromatic Plant Science and Technology (3th press). *Suleyman Demirel University Press* 51: 274-278, Isparta (na turskom), 2009.
- Blažeković B, Vladimir-Knežević S, Brantner A, Štefan BM: Evaluation of Antioxidant Potential of *Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': A Comparative Study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules* 15: 5971-5987, 2010.
- Cavanagh HM, Wilkinson JM: Lavender essential oil: a review. *Australian Infection Control* 10: 35–37, 2005.
- Chan CH, Yusoff R, Ngoh, GC, Wai-Lee Kung F: Microwave – assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A* 1218:6213-6225, 2011.
- Cosmetics Organic and Natural Standard Version 3.1 – (1 lipnja 2020). *COSMOS-standard AISBL*, Rue du Commerce 124, 1000 Brussels, Belgium
- European Pharmacopoeia, Sixth Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2007.
- Herraiz-Peñalver D, Angeles Cases M, Varela F, Navarrete P, Sánchez-Vioque R, Usano-Alemany J: Chemical characterization of *Lavandula latifolia* Medik, essential oil from Spanish wild populations. *Biochemical Systematics and Ecology* 46:59–68, 2013.
- Jokić S, Aladić K: Ekstrakcija i destilacija bioaktivnih komponenti iz ljekovitog i aromatičnog bilja. U *Prerađivač ljekovitog bilja*, str. 63-86. Razvojna Agencija Mrav d.o.o., Kutina, 2020.
- Jokić S: Matematičko modeliranje ekstrakcije ulja iz zrna soje superkritičnim CO<sub>2</sub>. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2011.
- Jokić S, Penić S: Prirodna kozmetika. U *Prerađivač ljekovitog bilja*, str. 99-127. Razvojna agencija Mrav d.o.o., Kutina, 2020.
- Kalođera Z, Blažević N, Salopek N, Jurišić R: Eterična ulja (*aetherola*). *Farmaceutski glasnik* 54:195-210, 1998.
- Kara N, Baydar H: Determination of Lavender and Lavandin cultivars (*Lavandula* sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey. *Turkish Journal of Field Crops* 18(1): 58-65, 2013.

- Kormin F, Ahmed, I, Yunus, RM, Yusof ZAM: The potential of modified microwave extraction system (MMES) to extract bioactive components from ferns. *International Journal of Engineering and Technology* 10:7-21, 2010.
- Kuštrak D: Morfološka i mikroskopska analiza začina. *Golden marketing*, Zagreb, 2014.
- Lis-Balchin MT: Lavender. The genus *Lavandula* (1st edition). *Taylor and Francis eBooks*, New York, 2002.
- Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S: Microwave assisted extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Review* 1:7–18, 2007.
- Milanović I: Farmakološki efekti etarskog ulja ruzmarina *Rosmarinus officinalis*, L. (Lamiaceae), na miševima soja NMRI- Haan i pacovima soja WISTAR. *Doktorska disertacija*. Univerzitet u Novom Sadu Medicinski fakultet, Novi Sad, 2015.
- Mujić I, Jokić S: Ekstrakcija i ekstraktori biljnih sirovina. Studio HS internet d.o.o., Osijek, 2018.
- Nayak B, Dahmoune F, Moussi K, Remini H, Dairi S, Aoun O, Khodir M: Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. *Food Chemistry* 187: 507-516, 2015.
- Sadgrove N, Jones G: A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. *Agriculture* 5:48-102, 2015.
- Sadgrove N, Jones GL, Greatrex BW: Isolation and characterisation of (–)-genifurantal: The principal antimicrobial component in traditional smoking applications of *Eremophila longifolia* (*Scrophulariaceae*) by Australian Aboriginal peoples. *Journal of Ethnopharmacology* 154:758–766, 2014.
- Sandrine Périno-Issartier, Christian Ginies, Giancarlo Cravotto, Farid Chemat: A comparison of essential oils obtained from lavender via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. *Journal of Chromatography A* 1305:41– 47, 2013.
- Štefanac D: Kemijski sastav i biološka aktivnost eteričnih ulja. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, 2018.
- Veggi PC, Martinez J, Meireles MAA: Fundamentals of microwave extraction. U: Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice. *Springer Science+Business Media* 4: 15–52, 2013.
- Wang LJ, Weller CL: Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food and Science Technology* 17(6):300–312, 2006.