

Ekstrakcija eteričnog ulja i koncentrata iz smilja

Kosir, Dominik

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:178716>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Smjer: Kemijsko inženjerstvo

DOMINIK KOSIR

EKSTRAKCIJA ETERIČNOG ULJA I KONCENTRATA IZ SMILJA

DIPLOMSKI RAD

VODITELJICA RADA: prof. dr. sc. Aleksandra Sander

ČLANOVI ISPITNOG POVJERENSTVA: 1. prof. dr. sc. Aleksandra Sander

2. prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

3. izv. prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Zagreb, rujan 2017

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Aleksandre Sander.

Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Aleksandri Sander, što mi je omogućila izradu diplomskog rada na ovom zavodu, te što mi je svojim stručnim znanjem i savjetima pomogla u realizaciji ovog rada, te pisanju rada i obradi rezultata. Također se zahvaljujem mag. ing. cheming. Ani Petračić na njezinoj pomoći i trudu pri izradi eksperimentalnog dijela, te doc. dr. sc. Marini Cyjetko Bubalo i mag. ing. Manueli Panić sa Zavoda za biokemijsko inženjerstvo na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu na pruženoj pomoći pri analizi uzoraka.

Također se zahvaljujem svojim roditeljima, braći i prijateljima za pomoć i podršku pruženu tijekom školovanja.

SAŽETAK

Prirodni proizvodi sve više dobivaju na važnosti zahvaljujući porastu značaja „zelene kemije“, a zbog svoje raznovrsnosti predstavljaju ogroman potencijal za razvoj novih i naprednijih proizvoda. Posebna pažnja okrenuta je prema eteričnim uljima dobivenima iz raznih biljaka. Zbog raznovrsnosti spojeva koji se u njima nalaze, te dokazanim ljekovitim učincima, eterična ulja su od velike važnosti za industrije okusa i mirisa, te farmaceutsku, prehrambenu i kozmetičku industriju.

U ovom radu ispitivane su različite metode i uvjeti ekstrakcije na izdvajanje eteričnog ulja i koncentrata iz smilja s područja Zapadne Hercegovine. Također je izvršena karakterizacija dobivenog ulja. Korištene metode su hidrodestilacija, vakuum destilacija, soxhlet ekstrakcija, te maceracija. Iz dobivenih rezultata utvrđeno je da je hidrodestilacija učinkovitija metoda za dobivanje eteričnog ulja u usporedbi s vakuum destilacijom, te da je soxhlet ekstrakcija učinkovitija od maceracije za dobivanje koncentrata. Također je ustanovljeno da maseno iskorištenje i sastav uvelike ovise o mjesecu berbe, te o količini proteklog vremena između branja i ekstrakcije ulja. Karakterizacijom dobivenog ulja utvrđeno je da se ono sastoji prvenstveno od seskviterpena, pretežno β -Himakalena, β -Selinena, α -Selinena i kariofilena, te estera i alkohola, ponegdje uz manji udio monoterpena. Udio neril acetata, kao jednog od pokazatelja kvalitete smilja opada sa starosti ubranog smilja.

Ključne riječi: *Immortelle*, *Helichrysum italicum*, ekstrakcija, eterično ulje, destilacija

SUMMARY

Natural products are becoming more important because of the ever increasing interest in „green chemistry“. Because of their diversity they represent a huge potential for development of new and advanced products. Special attention has been given to essential oils extracted from different plants. Thanks to the diversity of the compounds found in those oils, and proven health benefits, essential oils are of great importance to various types of industries, pharmaceutical and cosmetic industry in particular.

In this paper, different methods of extraction have been examined in order to determine the yield of essential oil and absolute from *Helichrysum italicum* from West Herzegovina under different conditions. Characterization of essential oil and absolute has also been performed. Methods that were used are hydrodistillation, vacuum distillation, soxhlet extraction, and leaching. It has been determined from the results that hydrodistillation is the more efficient method for obtaining essential oil compared to vacuum distillation, and that soxhlet extraction is more efficient than leaching for extracting absolute. It has also been determined that mass yield and the composition of essential oil and absolute depend on the month in which the plant was harvested, as well as the amount of time passed between harvesting the plant and extracting the oil or absolute from it. By characterizing the oil and absolute it has been determined that it consists mostly of sesquiterpenes, primarily β -Himachalene, β -Selinene, α -Selinene and Caryophyllene, with some esthers, alcohols and monoterpenes in certain samples. The amount of neryl acetate, as one of the indicators of the quality of oil, drops with time passed between the harvest and extraction.

Keywords: *Immortelle*, *Helichrysum italicum*, extraction, essential oil, distillation

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	OPĆI DIO	2
2.1.	<i>HELICHRYSUM ITALICUM</i>	2
2.2.	ETERIČNA ULJA	3
2.2.1.	<i>Funkcija eteričnih ulja u biljkama</i>	3
2.2.2.	<i>Kemijski sastav eteričnih ulja</i>	3
2.2.3.	<i>Monoterpeni i seskviterpeni</i>	3
2.2.4.	<i>Ostali spojevi koji se pojavljuju u eteričnim uljima</i>	4
2.3.	METODE IZDVAJANJA ETERIČNIH ULJA IZ BILJAKA	4
2.3.1.	<i>Hidrodestilacija</i>	5
2.3.2.	<i>Odnosenje vodenom parom</i>	5
2.3.3.	<i>Ekstrakcija organskim otapalom</i>	5
2.3.4.	<i>Soxhlet ekstrakcija</i>	5
2.3.5.	<i>Hladno prešanje</i>	6
2.3.6.	<i>Superkritična i subkritična ekstrakcija</i>	7
2.3.7.	<i>Ekstrakcija pomoću ultrazvuka</i>	8
2.3.8.	<i>Ekstrakcija pomoću mikrovalova</i>	9
2.3.9.	<i>Mikrovalna hidrodifuzija i gravitacija</i>	9
2.3.10.	<i>Mikrovalna parna destilacija i parna difuzija</i>	9
2.3.11.	<i>Trenutni kontrolirani pad tlaka</i>	10
2.4.	METODE ANALIZE ETERIČNIH ULJA	10
2.4.1.	<i>Kromatografija na stupcu</i>	10
2.4.2.	<i>Tankoslojna kromatografija (TLC)</i>	10
2.4.3.	<i>Plinska kromatografija</i>	11
2.4.4.	<i>Spektrometrija masa</i>	11
2.4.5.	<i>Plinska kromatografija uz masenu spektrometriju (GC/MS)</i>	11
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1.	PLAN I PROVEDBA EKSPERIMENTA	13
3.2.	KEMIKALIJE	13
3.3.	INSTRUMENTI	14
3.4.	ANALITIČKE METODE	14
3.5.	<i>PRIPREMA UZORAKA</i>	15
3.6.	<i>HIDRODESTILACIJA</i>	15
3.7.	<i>MACERACIJA</i>	17
3.8.	<i>EKSTRAKCIJA POMOĆU SOXHLET UREĐAJA</i>	17
3.9.	<i>EKSTRAKCIJA VAKUUM DESTILACIJOM</i>	18
4.	REZULTATI	20
4.1.	<i>HIDRODESTILACIJA</i>	20
4.2.	<i>MACERACIJA</i>	29
4.3.	<i>VAKUUM DESTILACIJA</i>	32
4.4.	<i>SOXHLET EKSTRAKCIJA</i>	34
4.5.	<i>PARNA DESTILACIJA</i>	35
5.	RASPRAVA	37
6.	ZAKLJUČAK	40

7. LITERATURA	41
8. PRILOZI	45
9. ŽIVOTOPIS	65

1. UVOD

Eterična ulja su prirodni proizvodi biljaka koja se ističu ranolikim biološkim svojstvima, te se mogu primjenjivati na ljudima, životinjama, te između ostalog i biljkama.¹ To su koncentrirane kapljevine koje sadrže veće količine nestabilnih spojeva koje se dobivaju iz raznih organa mnogih biljaka.² Prva istraživanja sastava eteričnih ulja potječu iz prve polovice 19. stoljeća, kada je M. J. Dumas uspio analizirati neke spojeve koji su sadržavali ugljikovodike, kisik, te sumpor i dušik. Eterična ulja je istraživao i Berthelot, međutim, najvažnija istraživanja proveo je O. Wallach, koji je istraživajući terpene ustanovio da su neki od njih kemijski identični, iako su prethodno bili opisivani različitim imenima. Nakon tog otkrića počeo je te spojeve separirati frakcijskom destilacijom, te ih je karakterizirao dovođenjem u reakcije s anorganskim spojevima.¹

Ljekovite i aromatične biljke sve više i više dobivaju na važnosti na polju industrije i medicine. Od početnog do konačnog proizvoda, te biljke prati više disciplina, kao što su šumarstvo, agrikultura, farmaceutska, kemijska, prehrambena, kozmetička, te industrija mirisa. Bilo koji dio biljke može se koristiti kao sirovina a dobiveni se proizvodi nazivaju prirodnim proizvodima. Međutim, prirodni proizvodi nisu nužno i sigurni proizvodi, te sukladno tome se razrijeđuju i modificiraju da bi se mogli koristiti.³

Od najveće je važnosti da se od tih biljaka dobivaju novi lijekovi, kao što je to bio slučaj sa morfijem, kininom, digitoksinom, rezerpinom, pilokarpinom i drugima, tako da te biljke značajno doprinose farmaceutskoj industriji.⁴ Osim antibakterijskih svojstava, eterična ulja pokazuju antivirusna, te antifungalna svojstva. Iako su njihova antibakterijska svojstva poznata već odavno, dodatni interes za istraživanje eteričnih ulja potaknuo je nagli razvoj zelene kemije.⁵ Smatra se da industrija mirisa, aroma i okusa vrijedi 15 milijardi dolara diljem svijeta, te se ta industrija sve više i više okreće prema eteričnim uljima, zbog interesa kupaca za prirodnim proizvodima.⁶

U ovom je radu istražen utjecaj metode ekstrakcije eteričnog ulja i koncentrata iz smilja (*Helichrysum italicum* ili *Immortelle*) te uvjeta provedbe procesa na kvalitetu dobivenog proizvoda. Kao glavni pokazatelj kvalitete odabrana je koncentracija neril acetata.

2. OPĆI DIO

2.1. *HELICHRYSUM ITALICUM*

Immortelle, odnosno *Helichrysum italicum*, spada u najistraživanije vrste roda *Helichrysum*, koji pak spada u porodicu *Asteraceae*. Veće količine *immortelle* biljke nalaze se na mediteranskom području, gdje uglavnom raste na kamenitom i pješčanom tlu izloženom suncu. Biljka može narasti do oko 60 cm, te ima žute cvjetove i listove prekrivene srebrenkastim dlačicama. Dijelovi iznad površine tla koriste se za dobivanje eteričnog ulja, dok se iz cvjetnih pupoljaka prikupljenih prije perioda cvjetanja može dobiti neobrađeni materijal za lijekove.^{7,8} *Immortelle* je u upotrebi zbog svojih antibakterijskih, antioksidacijskih i protuupalnih svojstava, te je tražena zbog svoje važnosti u industriji mirisa, te aromaterapiji.⁹

Sam sastav eteričnog ulja dobivenog od *Immortelle* ovisi o više čimbenika, kao što su stadij razvoja biljke te lokacija na kojoj je biljka prikupljena.¹⁰ Tako je provedeno više istraživanja, te su na temelju dobivenih rezultata, odnosno sastava eteričnog ulja, izdvojena 3 tipa: prvi s velikim količinama nerola i njegovih estera, drugi s velikim količinama α - i β -selinena, te treći s velikim količinama γ -curcumena.¹¹ Na temelju navedenih razlika došlo se do zaključka da te biljke nisu samo različiti ekotipovi, nego i kemotipovi.¹²



Slike 1. i 2. Biljka *Helichrysum Italicum* i polje smilja

2.2. ETERIČNA ULJA

2.2.1. Funkcija eteričnih ulja u biljkama

Biljka tijekom cijelog životnog ciklusa apsorbira tvari iz okoline, te ih kontinuirano koristi u svom razvoju. Međutim, neke adsorbirane tvari ostaju u biljci dok joj zbog vanjskih okolnosti ne zatrebaju. Poznato je da biljke otpuštaju i razne organske tvari u obliku ulja uz ugljikov dioksid. Stoga se postavlja i pitanje funkcije tih ulja u biljci. Postoje razne teorije, od kojih neke tvrde da biljka koristi ulja za da bi neke životinje, odnosno insekte ili parazite odbila od sebe, da bi neke privukla, kao što je to slučaj s biljkama mesožderkama, te da bi spriječila isparavanje vode, odnosno lakše zacijelila rane. Neki pak tvrde da su ulja otpadni produkti biljke. Međutim, mnogi smatraju da ulja u fazi formiranja možda sadrže komponente koje pak sudjeluju u formaciji biljke, te gube na važnosti nakon tog stadija, te se tako i izlučuju kao otpadni produkti, budući da se sastavi ulja u velikoj mjeri razlikuju od sastava same biljke.¹³

2.2.2. Kemijski sastav eteričnih ulja

Eterična ulja su kompleksne mješavine organskih spojeva koje daju specifičan miris biljci. Najvažniji spojevi koji se mogu naći su terpeni ugljikovodici, odnosno monoterpeni i seskviterpeni, koji se uglavnom nalaze u različitim dijelovima biljke.¹⁴ Među ostale spojeve koji se u eteričnim uljima pojavljuju spadaju i oksigenirani spojevi, tj. fenoli i alkoholi (monoterpeni i seskviterpeni), aldehidi, esteri, eteri, ketoni, laktoni i kumarini, te razni oksidi.¹⁵

2.2.3. Monoterpeni i seskviterpeni

Monoterpeni ($C_{10}H_{16}$) su spojevi koji pridonose mirisu biljke, te se radi o acikličnim (koji su derivati 2,6-dimetiloktana), monocikličnim (derivati cikloheksana sa izopropilnim supstituentom), te bicikličnim C_{10} spojevima. U eteričnim uljima oni predstavljaju jedinstvenu grupu spojeva, zahvaljujući ogromnom broju spojeva koji u tu skupinu spadaju, te raznolikosti njihovih svojstava. U biljci se proizvode iz 2 molekule izoprena, koje bivaju sintetizirane kao aktivirana molekula (IPPP). Monoterpeni i eterična ulja su se odavno koristila u različitim kulturama u prehrani, zbog svojih antibakterijskih svojstava, kao i zbog

toga što djeluju kao antioksidansi. Danas imaju važnu ulogu u farmaceutskoj industriji zbog svojih antikarcenogenih svojstava.¹⁶ U raznim literaturama opisano je oko 30 000 terpena.¹⁷

Seskviterpeni ($C_{15}H_{24}$) su podskupina terpena koji sadrže 3 jedinice izoprena. Mogu sadržavati prstenove ili bili aciklični, te u biljkama imaju ulogu sličnu monoterpenima. Puno je više cikličkih seskviterpena, nego monoterpena. Razlog tome je veća duljina lanca, te dodatna dvostruka veza.¹⁸

2.2.4. Ostali spojevi koji se pojavljuju u eteričnim uljima

Među ostale spojeve spadaju diterpeni ($C_{20}H_{32}$) i tetraterpeni (koji sadrže 8 jedinica izoprena), terpenoidi (deriviraju se iz terpena sa jednom ili više kemijski funkcionalnih grupa), te određeni aromatski spojevi koji se deriviraju iz fenil propana. Ti aromatski spojevi se dijele na spojeve supstituirane na jezgri, te one supstituirane na vanjskom lancu.¹⁷

Eterična ulja mogu sadržavati i fenole, alkohole (monoterpenske i seskviterpenske), aldehide, ketone, estere, laktone, kumarine, etere i okside. Fenoli, aldehidi, ketoni i laktoni mogu biti dosta toksični, te se ulja moraju razrijediti ovisno o koncentraciji tih tvari u njima. Svi ti spojevi u određenim količinama pridonose ljekovitim svojstvima eteričnih ulja. Neki djeluju antibakterijski, neki antiseptički, neki dezinficiraju ili pak imaju antifungalna svojstva.¹⁵

2.3. METODE IZDVAJANJA ETERIČNIH ULJA IZ BILJAKA

Postoji više metoda dobivanja eteričnih ulja iz sirovog materijala biljke. Te metode se dijele na konvencionalne (klasične) i napredne (inovativne) metode.

Klasične metode su:

1. Hidrodestilacija
2. Odošenje vodenom parom
 - 2.1. Parna hidrodestilacija
 - 2.2. Parna destilacija
 - 2.3. Hidrodifuzija
3. Ekstrakcija organskim otapalom
 - 3.1. Soxhlet ekstrakcija
4. Hladno prešanje¹⁹

2.3.1. Hidrodestilacija

Hidrodestilacija je najčešće korištena metoda izdvajanja eteričnih ulja iz biljaka.²⁰ Biljni materijal se stavi u posudu s vodom. Materijal u posudi se zagrijava to točke vrenja, pri čemu biljne komponente isparavaju zajedno s vodom, te se zatim kondenziraju u kondenzatoru, te se kapljevita smjesa odvodi u dekanter. Prednost metode je u tome što se eterična ulja ne miješaju s vodom, te je stoga eterično ulje moguće odvojiti jednostavnim dekantiranjem. Metoda također ima i određene nedostatke. Vrijeme trajanja destilacije je od 3-6 sati, moguće je da dođe do promjene nekih terpenkih molekula u dodiru s vrelom vodom, te može doći do pregrijavanja i gubitka nekih polarnih molekula pri vodenoj ekstrakciji.¹⁹

2.3.2. Odnosnje vodenom parom

Kod parne hidrodestilacije biljni materijal se stavlja na rešetku iznad vode, tako da nije u dodiru s vodom. Zagrijavanjem vode ona isparava, te ta para prolazi kroz biljni materijal, te sa sobom odnosi komponente u biljnom materijalu. Biljni materijal mora biti jednoliko raspoređen na rešetki. I voda i biljni materijal se nalaze u istoj posudi, za razliku od parne destilacije. Kod parne destilacije para se dovodi iz vanjskog izvora, tako da u samoj koloni nema vode. Kondenziranje i razdvajanje se provodi kao i kod hidrodestilacije.²¹ Kod hidrodifuzije para ide prema dolje pod utjecajem gravitacije.¹⁹

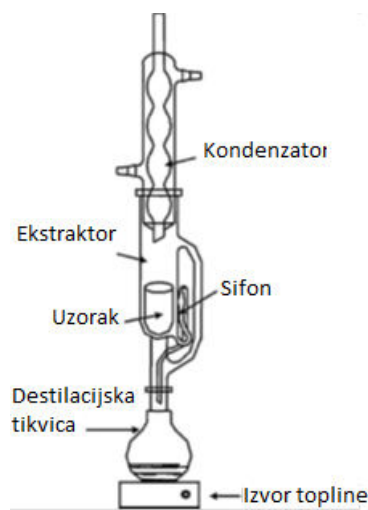
2.3.3. Ekstrakcija organskim otapalom

Kod ekstrakcije organskim otapalom, odnosno, ekstrakcije kruto-tekuće, najčešće korištena otapala su etanol, heksan, dietil eter, metanol i aceton. Metoda se popularno naziva i *leaching*, te se provodi maceracijom. Ta metoda se koristi uglavnom kada se očekuje da se u biljci nalaze tvari koje se raspadaju pri visokim temperaturama. Kod ove metode biljni materijal se stavi u posudu s otapalom, te se u toj posudi ostavi uz povremeno miješanje. Nakon toga smjesa se filtrira, te se filtrat dalje koncentrira isparavanjem otapala. Nakon isparavanja filtrat se miješa s čistim alkoholom, nakon čega se alkohol isparava pri niskim temperaturama.²

2.3.4. Soxhlet ekstrakcija

Iako se maceracija dosta često koristila za izdvajanje komponenata iz krutina, sam proces traje jako dugo, tako da je 1879. von Soxhlet razvio novu metodu, koja se danas smatra standardnom metodom koja služi kao referentna metoda *leachinga*.

Uzorak se stavi u posudu smještenu iznad tikvice s otapalom zagrijanim do temperature vrelišta. Otapalo vrije a nastala para kondenzira i natapa uzorak. Kada kapljevina dospije do razine u sifonu na kojoj se prelijeva, otopina izdvojenih komponenata i otapala prelazi iz posude u tikvicu. Postupak se ponavlja sve dok uzorak sadrži komponente topjive u odabranom otapalu. Glavne prednosti soxhlet ekstrakcije su kontinuirano dovođenje uzorka u kontakt s otapalom, sustav ostaje na visokoj temperaturi, te na kraju procesa nije potrebna filtracija, a sama je oprema jeftina. Glavni nedostatak je prevelika potrošnja otapala, koje je skupo i štetno za okoliš, te sam proces dosta dugo traje u usporedbi s modernim metodama. Također, može doći do toplinske razgradnje određenih spojeva.



Slika 3. Soxhlet uređaj

Danas konvencionalna soxhlet ekstrakcija može biti potpomognuta mikrovanim zračenjem i ultrazvukom, te može biti automatizirana ili pod visokim tlakom.²²

2.3.5. Hladno prešanje

Ova tehnika se koristi uglavnom za dobivanje eteričnih ulja iz biljaka iz porodice *Citrus*. Radi se o mehaničkom procesu gdje se biljka preša na sobnoj temperaturi, pri čemu dolazi do otpuštanja eteričnih ulja koja se zatim odnose hladnom vodom. Ulje se odvaja dekantiranjem ili centrifugiranjem. Glavni nedostaci ove metode su to što dolazi do hidrolize zbog velikih količina vode, dolazi do prijenosa mikroorganizama, te otapanja nekih oksigeniranih spojeva.²³

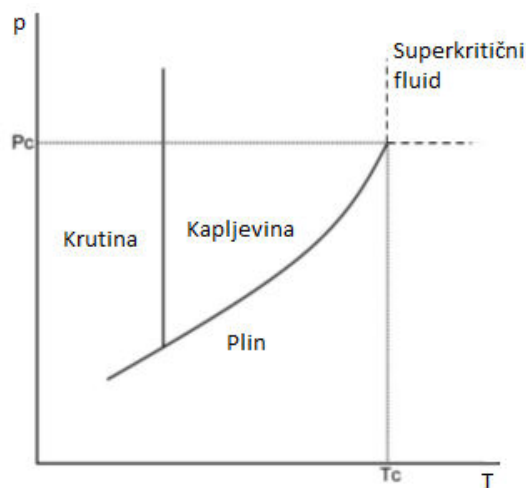
Postoje i druge konvencionalne metode, kao što su turbo-destilacija, vakum-destilacija, kontinuirana destilacija, suha destilacija, te molekularna destilacija.²¹

Pod napredne metode spadaju:

1. Superkrična fluidna ekstrakcija
2. Ekstrakcija sa subkričnom vodom
3. Ekstrakcija sa subkričnim CO₂
4. Ekstrakcija pomoću ultrazvuka
5. Ekstrakcija pomoću mikrovalova
6. Ekstrakcija pomoću mikrovalova bez otapala
7. Mikrovalna hidrodifuzija i gravitacija
8. Mikrovalna parna destilacija
9. Trenutni kontrolirani pad tlaka¹⁹

2.3.6. Superkrična i subkrična ekstrakcija

Superkrična ekstrakcija je ekstrakcija superkričnim fluidima, odnosno fluidima iznad superkrične temperature i tlaka.



Slika 4. Trofazni dijagram²⁴

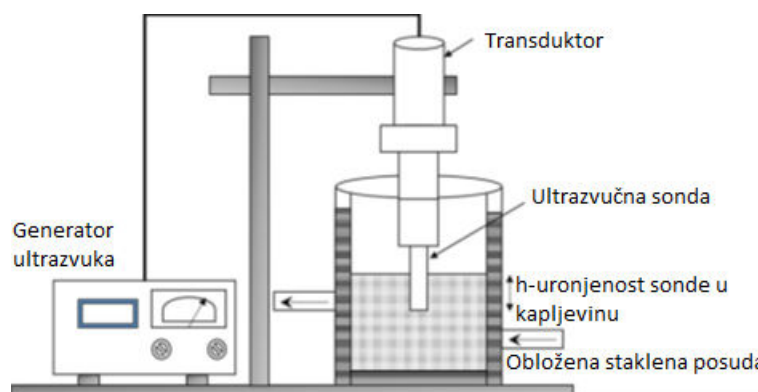
Radi se o brzjoj metodi koja smanjuje toplinsku degradaciju i zagađenje otapalom.²⁵ Glavne prednosti te metode su niska viskoznost, te visok koeficijent difuzivnosti. Superkrični fluid može lako ući u pore biljnog materijala, te jako brzo izvući potrebne komponente. Vrijeme trajanja procesa se stoga u usporedbi s konvencionalnim metodama smanjuje s par sati ili dana do par desetaka minuta. Jedna od prednosti je i visoka selektivnost koja se može podešavati mijenjanjem tlaka ili temperature. Superkrični fluidi su sposobni u potpunosti izvući potrebne komponente jer se kontinuirano propuštaju kroz biljni materijal. Proces se uglavnom provodi pod nižim temperaturama, tako da ne dolazi do toplinske razgradnje

nestabilnih spojeva. Otopljene tvari lako se odvajaju mijenjanjem tlaka.²⁶ Najčešće korišteni fluidi su ugljikov dioksid (zbog toga što mu je kritična temperatura na 31,3 °C) i voda. Ugljikov dioksid također se može na industrijskoj razini reciklirati, odnosno ponovno vraćati u proces da se smanje gubitci. Subkritična ekstrakcija je ekstrakcija na nižim temperaturama i/ili tlakovima. Subkritična ekstrakcija vodom provodi se pri temperaturi vode od 100 do 374 °C, te na povišenom tlaku koji se može kretati od 10 do 60 bara. Radi se o metodi koja ne onečišćuje okoliš, te može biti učinkovitija od tradicionalnih metoda pri ekstrakciji iz čvrstog materijala. Mijenjanjem temperature mijenja se dielektrična konstanta vode, čime se mijenja njezina polarnost, tako da se ona može modificirati ovisno o tome kakvo otapalo trebamo.²⁴

Subkritičnom ekstrakcijom s ugljikovim dioksidom mogu se ukloniti laganija ulja, međutim, razni parafini i voskovi zaostaju u biljnom materijalu. Sama metoda traje dulje od superkritične ekstrakcije ugljikovim dioksidom, te je i prinos manji, međutim, tom metodom se mogu izvući temperaturno osjetljivi spojevi, jer je sam ugljikov dioksid na nižoj, subkritičnoj temperaturi.²⁷

2.3.7. Ekstrakcija pomoću ultrazvuka

Ultrazvučni valovi su visokofrekventni mehanički valovi koji mogu proći kroz plinove, kapljevine i krutine. Oni stvaraju negativan pritisak na kapljevinu, koji ako nadjača vlačnu čvrstoću kapljevine, dovodi do stvaranja mjehurića pare, pri čemu dolazi do kavitacije. Kavitacija na granici faza kapljevitost-čvrsto dovodi do stvaranja mlazova kapljevine, koji dovode do guljenja, erozije i raspada čestica, pri čemu dolazi do oslobađanja bioaktivnih tvari iz materijala. Radi se o jeftinoj i jednostavnoj metodi koja se koristi kod oslobađanja tvari osjetljivih na toplinu.²⁸ Ultrazvuk pridonosi uništavanju stanica, poboljšava kapilarne efekte, dovodi do boljeg prodiranja otapala te poboljšava prijenos mase.²⁹



Slika 5. Dijagram ekstrakcije potpomognute ultrazvukom²⁸

2.3.8. Ekstrakcija pomoću mikrovalova

Kod mikrovalne ekstrakcije dolazi do promjene stanične strukture pod utjecajem mikrovalova. Proces ekstrakcije mikrovalovima je brži i ima veći prinos od konvencionalnih metoda. Razlog tome je što i toplinski i maseni gradijent rade u istom smjeru. Kod konvencionalnih metoda to nije slučaj, jer se prijenos mase odvija iznutra prema van, a toplina dolazi iz vanjskog izvora. Kod mikrovalnog zračenja toplina se volumetrijski generira unutar biljnog materijala.³⁰ Ekstrakcija može biti sa ili bez otapala. Mikrovalna ekstrakcija bez otapala namjenjena je laboratorijskoj primjeni za odvajanje eteričnih ulja. U ovoj metodi biljni materijal se stavlja u mikrovalni reaktor bez otapala ili vode. Mikrovalovi zagrijavaju vodu unutar biljnih organa, što dovodi do njihovog pucanja, pri čemu se eterično ulje oslobađa. To ulje zatim isparava, te se izvan reaktora kondenzira i odvaja.³¹ Kod mikrovalne ekstrakcije s otapalom, mikrovalovi također uzrokuju pucanje biljnih organa, pri čemu oslobađaju eterično ulje, koje onda dolazi u kontakt s otapalom. Otapalo mora imati visoku dielektričnu konstantu. Kod konvencionalnih metoda otapalo mora samo difundirati u biljni materijal.³²

2.3.9. Mikrovalna hidrodifuzija i gravitacija

Ova tehnika može se koristiti ne samo u laboratoriju, nego i industriji za ekstrakciju eteričnih ulja iz biljaka. Biljni materijal se stavlja u mikrovalni reaktor bez otapala i vode. Zagrijavanjem vode mikrovalovima unutar biljaka dovodi do pucanja organa koji sadrže eterična ulja, pri čemu se ona oslobađaju, te pod utjecajem gravitacije padaju s biljke kroz perforirani Pyrex disk. Voda i ulje se skupljaju, te se odvajaju u Florentinskoj posudi. Ovom metodom eterična ulja se odvajaju bez destilacije i isparavanja.³³ Metoda je posebno prikladna za ekstrakciju ulja iz onih biljaka koje imaju visok udio vlage.³⁴

2.3.10. Mikrovalna parna destilacija i parna difuzija

Mikrovalna parna destilacija, u sporedbi s konvencionalnom parnom destilacijom, traje puno kraće (u 6 minuta se dobije jednaka količina eteričnog ulja kao i kod 2 sata parnom destilacijom), te se dobije čišći proizvod. Mikrovalna parna difuzija funkcionira na istom principu kao i mikrovalna parna destilacija, međutim, pare teku kroz biljni materijal prema dolje.¹⁹ Treba razlikovati parnu destilaciju potpomognutu mikrovalovima kod koje se samo voda izvan biljke zagrijava mikrovalnim zračenjem, te mikrovalnu parnu destilaciju, kod koje se zagrijava sama biljka.³⁵

2.3.11. Trenutni kontrolirani pad tlaka

Metoda se zasniva na naglom smanjenju tlaka do vakuuma, nakon čega bi slijedio tzv. HTST tretman, odnosno tretman visokom temperaturom i visokim tlakom. Naglim isparavanjem dobiva se veća količina ekstrahiranih molekula, te se temperatura znatno brže snizi.¹⁹

2.4. METODE ANALIZE ETERIČNIH ULJA

Za analizu eteričnih ulja koriste se kromatografske metode. Kromatografija je tehnika koja se koristi za odvajanje komponenata u smjesi, i temelji se na različitoj razdiobi tvari između mobilne i stacionarne faze sustava.³⁶

1. Kromatografija na stupcu
2. Tankoslojna kromatografija
3. Plinska kromatografija
4. Spektrometrija masa
5. Plinska kromatografija uz masenu spektrometriju (GC/MS)

2.4.1. Kromatografija na stupcu

Radi se o kromatografskoj tehnici u kojoj mobilna faza (otapalo) protječe kroz kolonu punjenu krutim sorbensom pod utjecajem gravitacije. Kao kruti sorbens koristi se inače silikagel ili aluminij-oksidi. Oba spoja su polarna, te se zbog toga polarne tvari jače adsorbiraju od manje polarnih. Otapalo može biti polarno ili nepolarno. Polarno se koristi kada je potrebno eluirati polarne tvari, dok kod nepolarnih otapala nepolarne tvari putuju brže, a polarne putuju sporije, ili se vežu na stacionarnu fazu. Na redoslijed eluiranja utječe i molekulska masa.³⁷

2.4.2. Tankoslojna kromatografija (TLC)

Kod tankoslojne kromatografije stacionarna faza je tanki sloj sorbensa koji je nanesen na aluminijsku ili silikatnu podlogu. Nakon što se uzorak nanese na dno TLC pločice, pločica se postavi u posudu koja se zatvori, da bi se volumen mogao ispuniti parama otapala. Ta posuda sadrži mobilnu fazu (otapalo), s tim da otapalo mora biti ispod točke na koju se nanio uzorak. Otapalo se uzdiže uz ploču kapilarnim silama. Pločica se vadi iz posude nakon što otapalo dođe do vrha pločice. Ponekad točke nije moguće vidjeti, te je potrebno nanijeti neku otopinu koja reagira s komponentama koje se odvajaju, te daju obojeni spoj. Moguće je i koristiti

posebne pločice koje fluoresciraju pod UV svjetlom. Radioaktivne komponente odvojene na pločicama moguće je identificirati koristeći Geigerov brojač.³⁸

2.4.3. Plinska kromatografija

Kod plinske kromatografije mobilna faza je inertan plin (dušik, helij, argon), a stacionarna faza može biti kapljevina ili krutina na krutom nosaču. Plinskom kromatografijom se razdvajaju plinovi i hlapljive tvari. Hlapljive komponente koje ulaze u kolonu imaju različite koeficijente razdvajanja, te pri različitim vremenima izlaze iz kolone. Na temelju retencijskog vremena određuju se spojevi koji izlaze iz kolone. Plinska kromatografija je jako osjetljiva metoda i jako pogodna za kvantitativnu analizu (površine ispod pikova proporcionalne su količini tvari). Međutim, metoda nije pogodna za kvalitativnu analizu, te se zbog toga često kombinira s spektrometrijom masa.^{39, 40}

2.4.4. Spektrometrija masa

Spektrometrija masa analitička je metoda koja razdvaja komponente na temelju odnosa njihove mase i naboja (m/e). Prvi korak je ionizacija spoja, koja može biti elektronska ili kemijska. Kod elektronske spoj se bombardira visokoenergetskim elektronima, koji se ubrzavaju prema anodi, te se tako sudaraju s molekulama spoja, što dovodi do nastanka molekulskog kationa, koji se zatim razbija u fragmente iona. To fragmentiranje ponekad sprječava detekciju molekularnog iona. Kod kemijske ionizacije proizvode se ioni s manjim viškom unutarnje energije, tako da fragmentacija nije toliko izražena.⁴¹

Ioni nastali u ionskom izvoru zatim putuju do analizatora masa, koji razdvaja te ione prema omjeru mase i naboja. Analizatori masa mogu biti magnetski i četveropolni. Magnetski su precizniji, ali i sporiji. Kod GC-MS analize koriste se uglavnom četveropolni analizatori.⁴²

Nakon što ioni prođu kroz analizator masa, dolaze do detektora, gdje se prevode u signal proporcionalan električnoj struji, koja je pak proporcionalna njihovoj količini. Postoji više vrsta detektora, od kojih su najpoznatiji fotografska ploča, Faradayeva šalica, elektronski multiplikatori, te elektro-optički ion detektori. Spektar koji dobije naziva se maseni spektar, te on prikazuje ovisnost intenziteta o vrsti kationa.⁴¹

2.4.5. Plinska kromatografija uz masenu spektrometriju (GC/MS)

Radi se o vezanoj tehnici koja se već naširoko i uspješno koristi. Analize spojeva se kod obje zasebne metode provode u parnom stanju, te su spojevi koje analizira GC (oni niske

molekulske mase, srednje ili niske polarnosti, te u malim koncentracijama) kompatibilni i s MS tehnikom. Jedini problem s ovom tehnikom bio je nekompatibilnost različitih radnih tlakova oba uređaja, međutim, taj problem je riješen uvođenjem vakuumske pumpe i kromatografskih kapilarnih kolona.

Što se tiče analize podataka, postoje dva načina. Prvi je korištenje referentnih materijala, što može biti problem jer oni nisu uvijek dostupni, dok je drugi način kombinacija više različitih pristupa, odnosno korištenjem retencijskog vremena u kombinaciji s eksperimentalnih masenim spektrom, koji se potom uspoređuju s onim retencijskim vremenima u bazama podataka i standardnih masenih spektara.⁴³ Ovaj sustav se naveliko koristi u analizi eteričnih ulja, te je tamo skoro nezamjeniv.⁴⁴

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. PLAN I PROVEDBA EKSPERIMENTA

Cilj ovog rada bio je istražiti efikasnost ekstrakcije eteričnog ulja iz smilja koristeći razne ekstrakcijske tehnike, te provesti karakterizaciju eteričnog ulja. Eksperimenti su provedeni u studenom (druga berba u godini), svibnju i lipnju (prva berba u godini). Plan rada je bio:

- Ekstrahirati eterično ulje hidrodestilacijom
- Ekstrahirati eterično ulje maceracijom
- Ekstrahirati eterično ulje pomoću Soxhlet uređaja
- Ekstrahirati eterično ulje vakuum destilacijom
- Provesti analizu eteričnog ulja kombinacijom plinske kromatografije i masene spektrometrije

3.2. KEMIKALIJE

Za provedbu eksperimenata korištene su sljedeće kemikalije:

Otapala:

- *n*-heksan, HiPerSolv CHROMANORM
- 96% etilni alkohol (etanol), KEFO
- Dietil eter, Honeywell, Riedel-de Haëm

Pomoćne kemikalije:

- Destilirana voda

Radni materijal:

- Smilje (lat. *Helichrysum italicum*), ubrano na mjestu Uzarići, Široki Brijeg (Bosna i Hercegovina)

3.3. INSTRUMENTI

- Vezni sustav plinski kromatograf-spektrometar masa, GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu
 - AOC-20i, Auto Injector, Shimadzu
 - GC-2010, plinski kromatograf, Shimadzu
 - Rotacijski isparivač, IKA RV 10



Slika 6. Vezni sustav plinski kromatograf-spektrometar masa GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu

3.4. ANALITIČKE METODE

- Plinska kromatografija u kombinaciji s masenom spektrometrijom – korišten je uređaj GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu, a metoda se koristi kad postoje hlapljivi spojevi koje treba razdvojiti, te koji se isparavaju prije ulaska u kolonu kroz koju ih potiskuje inertni plin, nakon čega se kvalitativno analiziraju u spektrometru masa.
- Analiza uzoraka provedena je na plinskom kromatografu kombiniranom s masenim spektrometrom, na fakultetu Prehrambene biotehnologije. Etanol je korišten kao otapalo za sve uzorke, s tim da su uzorci iz 6. mjeseca otapani i u dietil eteru. Injekcijska temperatura kod plinske kromatografije iznosila je 250 °C, dok je temperatura kolonske pećnice iznosila 45 °C. Tlak je iznosio 25 kPa, kolonski protok 0,68 mL/min, a ukupni protok 51,5 mL/min.

3.5. PRIPREMA UZORAKA

Berba smilja se vrši tako da se biljka odreže oko 10 cm iznad površine tla. Tako dobivene stabiljke bilo je potrebno još usitniti da bi se s njima moglo raditi. Svaka biljka usitnjena je na komadiće duljine oko 5 cm, te je u tom stanju stavljana u posude u kojima se provodio eksperiment. Prvi eksperiment bi uvijek bio isti dan nakon ubiranja biljke.

3.6. HIDRODESTILACIJA

Hidrodestilacija u 11. mjesecu 2016. godine provedena je na tri uzorka. Eksperimenti su provedeni u aparaturi na slici 10. Tikvica od 2L u koju su uzorci stavljani bila je postavljena na grijač, te napunjena vodom do oko polovice svog volumena. Destilacija prvog uzorka (150 g uzorka) provodila se 4 sata, a drugog i trećeg 3 sata. Masa drugog i trećeg uzorka iznosila je po 100 g. Drugi uzorak sastojao se samo od cvjetova biljke smilja. Vrijeme trajanja destilacije računalo se od pada prve kapi destilata do vremena gašenja grijača. Prvi uzorak bio je star jedan dan, drugi dva dana, a treći tri dana.

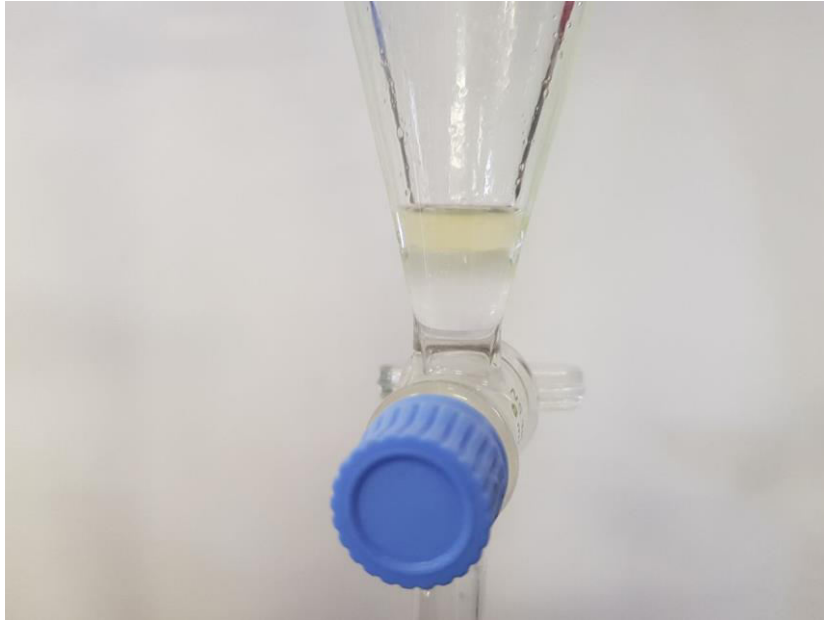


Slika 7. Aparatura za provedbu hidrodestilacije u studenom 2016. godine

Hidrodestilacija u 5. mjesecu provodila se također na 3 uzorka, od kojih je prvi uzorak smilja bio star jedan dan, drugi uzorak dva dana, a treći uzorak tri dana. Sve tri hidrodestilacije trajale su po tri sata, a uzorci su se stavljali u tikvicu od 5L, koja je do oko polovice bila napunjena vodom. Masa stavljenih uzoraka iznosila je 700 g. Destilat se nakon što bi napunio Erlenmeyerovu tikvicu prelijevao u lijevak za odijeljivanje, te bi se prije svakog prelijevanja

odvojio dio destilirane vode koji bi se zatim vratio natrag u sustav. Kod ove hidrodestilacije cvjetovi nisu zasebno destilirani.

Hidrodestilacija u 6. mjesecu također je provedena na 3 uzorka, od kojih je prvi bio star jedan dan, drugi dva dana, a treći tri dana.



Slika 8. Prikaz eteričnog ulja u lijevku za odjeljivanje dobivenog hidrodestilacijom



Slika 9. Cvjetovi smilja prije procesa hidrodestilacije

Kod prvog i trećeg uzorka provodila se destilacija cijele biljke, a kod drugog uzorka provodila se destilacija samo cvjetova od biljke. Uvjeti su isti kao i kod hidrodestilacije u 6. mjesecu.

3.7. MACERACIJA

Maceracija u 11. mjesecu provodila se na 3 uzorka. Prvi uzorak sastojao se od 61,3 g cvjetova smilja, te je stavljen u posudu koja se potom napunila heksanom. Ekstrakcija je trajala 3 dana, uz povremeno miješanje. Masa drugog uzorka smilja iznosila je 200 g, koji je stavljen u posudu koja se opet napunila heksanom, te je ekstrakcija također trajala 3 dana. Uvjeti ekstrakcije trećeg uzorka identični su uvjetima prva dva, s tim da je kao otapalo korišten etanol umjesto heksan.

Mase uzoraka za maceraciju u 5. i 6. mjesecu iznosile su po 200 g. Maceracija je trajala 3 dana, uz povremeno miješanje, s tim da je kao otapalo korišten heksan.



Slike 10. i 11. Maceracija u heksanu i etanolu

3.8. EKSTRAKCIJA POMOĆU SOXHLET UREĐAJA



Slika 12. Soxhlet ekstrakcija

Soxhlet ekstrakcija provodila se na 2 uzorka mase 40 g. Za odvajanje eteričnog ulja iz prvog uzorka koristio se heksan kao otapalo, a za odvajanje drugog uzorka etanol. Ekstrakcija se

provodila sve do obezbojenja otapala. Nakon provedene ekstrakcije otapalo je ispareno u rotavaporu.

3.9. EKSTRAKCIJA VAKUUM DESTILACIJOM

Vakuum destilacija provedena je na 3 uzorka, svaki mase 100 g. Vrijeme trajanja destilacije bilo je 3 sata. Prvi uzorak destilirani je na temperaturi od 50 °C (destilacija cvjetova smilja), drugi 70, a treći 90. Korišteni su uzorci iz 11. mjeseca, te je pri 70 i 90 °C destilirana cijela biljka. Tlak je bio ispod vrijednosti tlaka para kapljevite smjese.



Slika 13. Vakuum destilacija

3.10. PARNA DESTILACIJA

Parnom destilacijom smilja u šaržnom destilatoru kapaciteta 510 L izrađenog po narudžbi, iz 1370 kg smilja dobiveno je 890 g eteričnog ulja. Destilirano smilje ubrano je 26. Lipnja 2017. Godine. Maseno iskorištenje iznosilo je 0,0650 %. Firentinska posuda koristila se za odvajanje eteričnog ulja od vode, a sam reaktor u kojem se nalazila voda zagrijavan je plinom. Smilje je bilo postavljeno na stalak iznad vode, tako da je para nastala zagrijavanjem mogla prolaziti izravno kroz biljku.



Slika 14. Šaržni destilator kapaciteta 510 L



Slika 15. Firentinska posuda za odvajanje eteričnog ulja

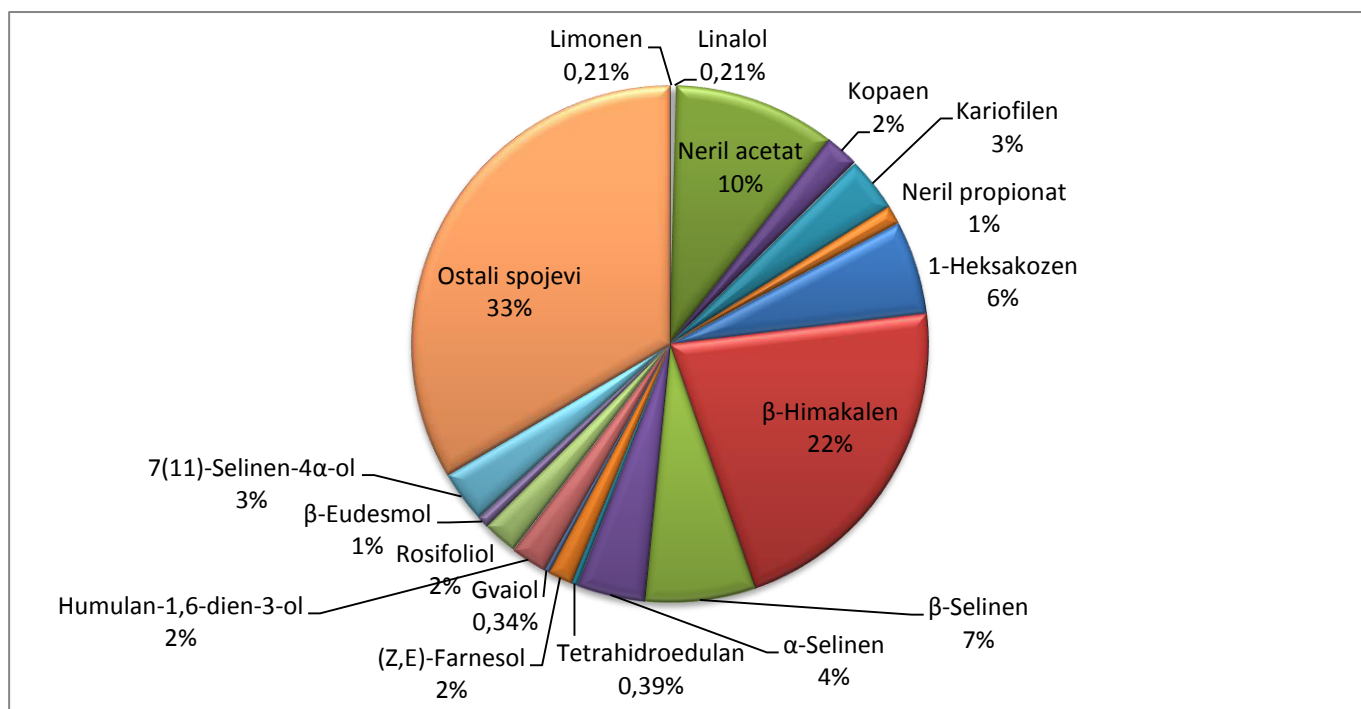
4. REZULTATI

Provedena je ekstrakcija eteričnog ulja i koncentrata (absoluta) smilja koristeći razne tehnike, te je provedena i karakterizacija dobivenih produkata. Dobiveni rezultati uspoređeni su ovisno o mjesecu berbe smilja, na temelju starosti ubranog smilja, te na temelju uvjeta ekstrakcije i analize.

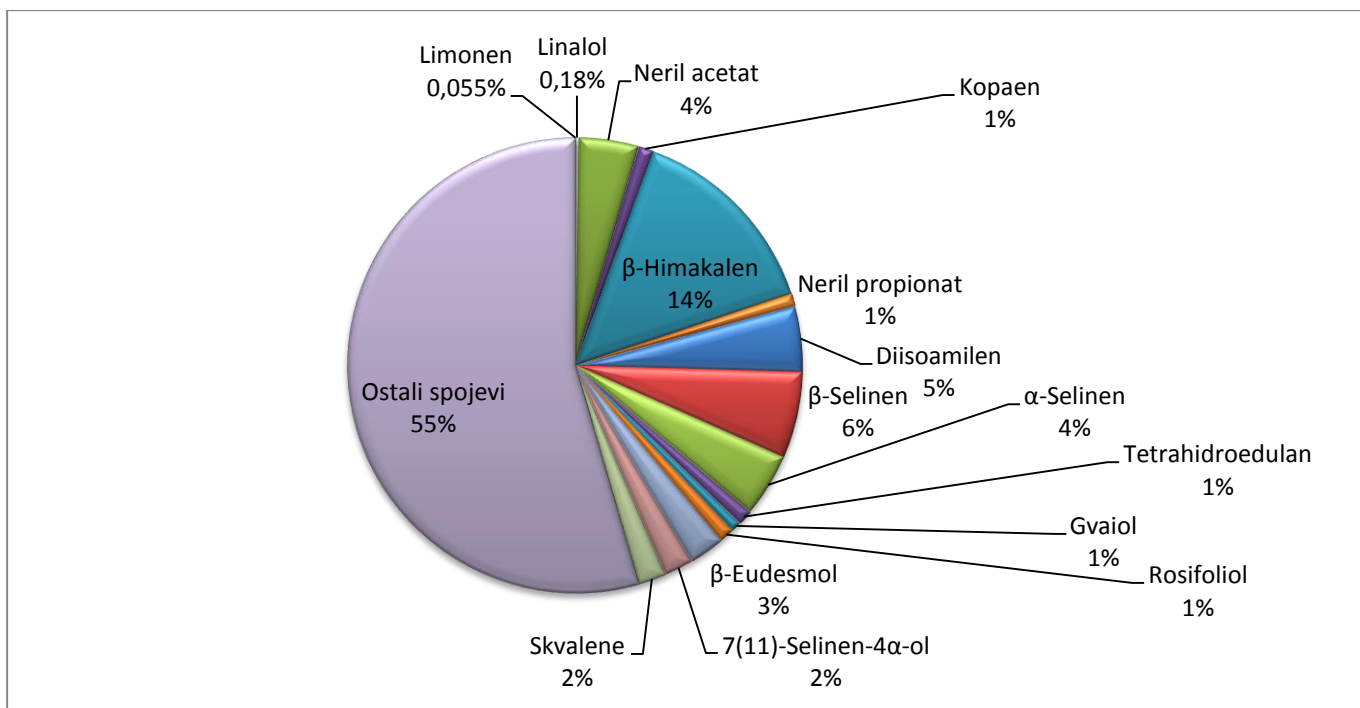
4.1. HIDRODESTILACIJA

Tablica 1. Usporedba masenih iskorištenja hidrodestilacije

berba	Starost uzorka, dan	Uzorak	$m(\text{uzorka}),$ g	$m(\text{ulja}),$ mg	Vrijeme trajanja procesa, h	Učinkovitost separacije, %
studeni	1	cvijet	100	30,0	3	0,030
	1	stabiljka	100	140,0	3	0,140
	3	stabiljka	150	230,0	4	0,153
svibanj	1	cijela biljka	700	258,4	3	0,037
	2	cijela biljka	700	150,7	3	0,022
	3	cijela biljka	700	138,2	3	0,020
lipanj	1	cijela biljka	700	269,1	3	0,038
	2	cvijet	700	673,9	3	0,963
	3	cijela biljka	700	441,3	3	0,630

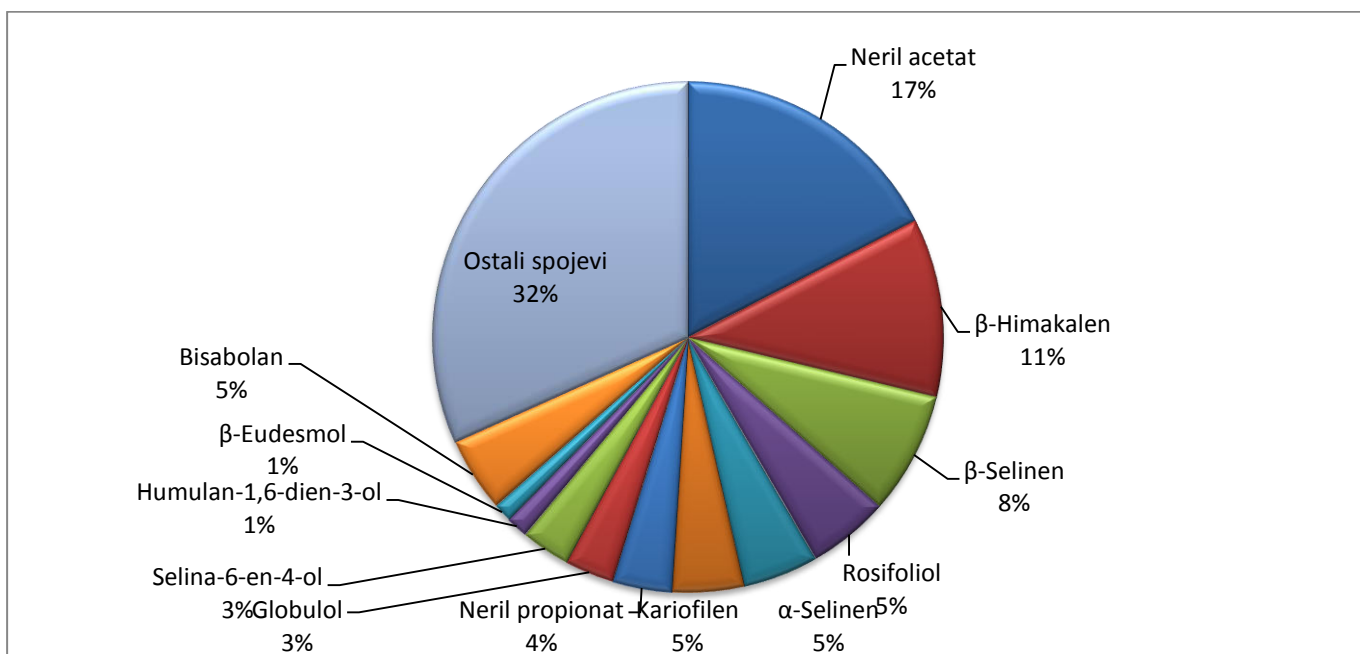


Slika 16. Sastav eteričnog ulja smilja dobivenog hidrodestilacijom stabiljki smilja starosti jedan dan (studeni 2016.)

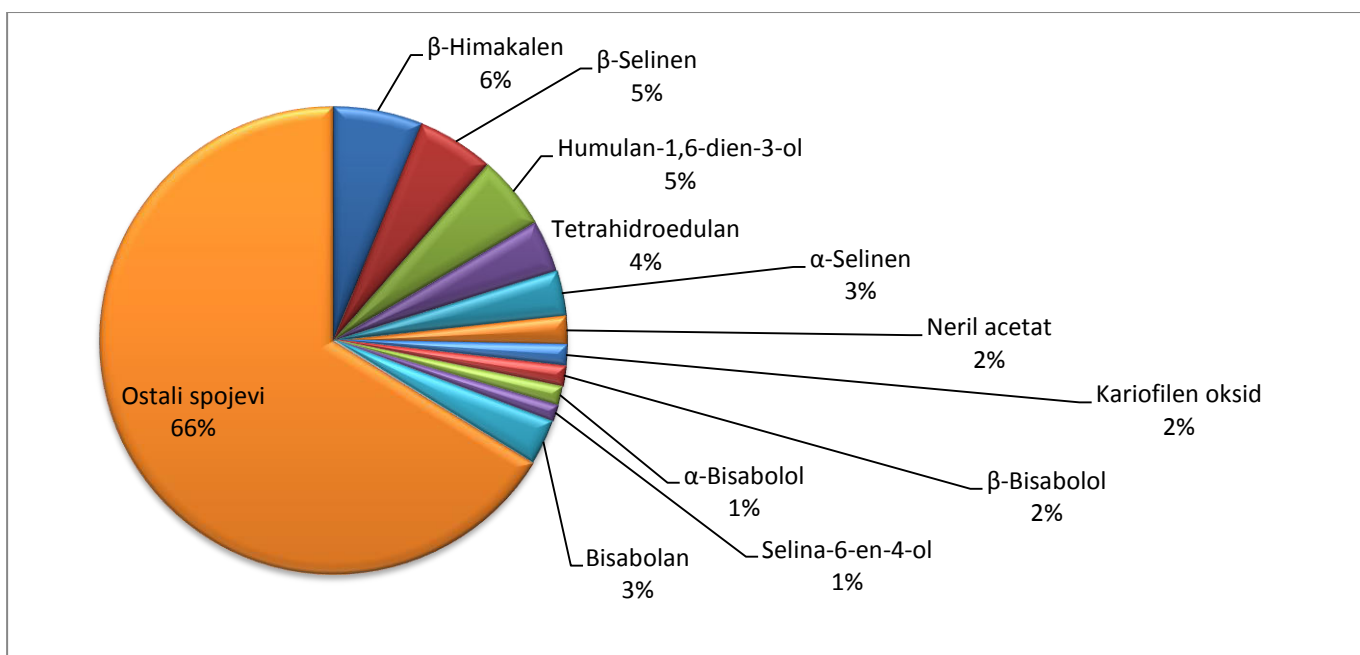


Slika 17. Sastav eteričnog ulja smilja dobivenog hidrodestilacijom stabiljki smilja starosti tri dana (studeni 2016.)

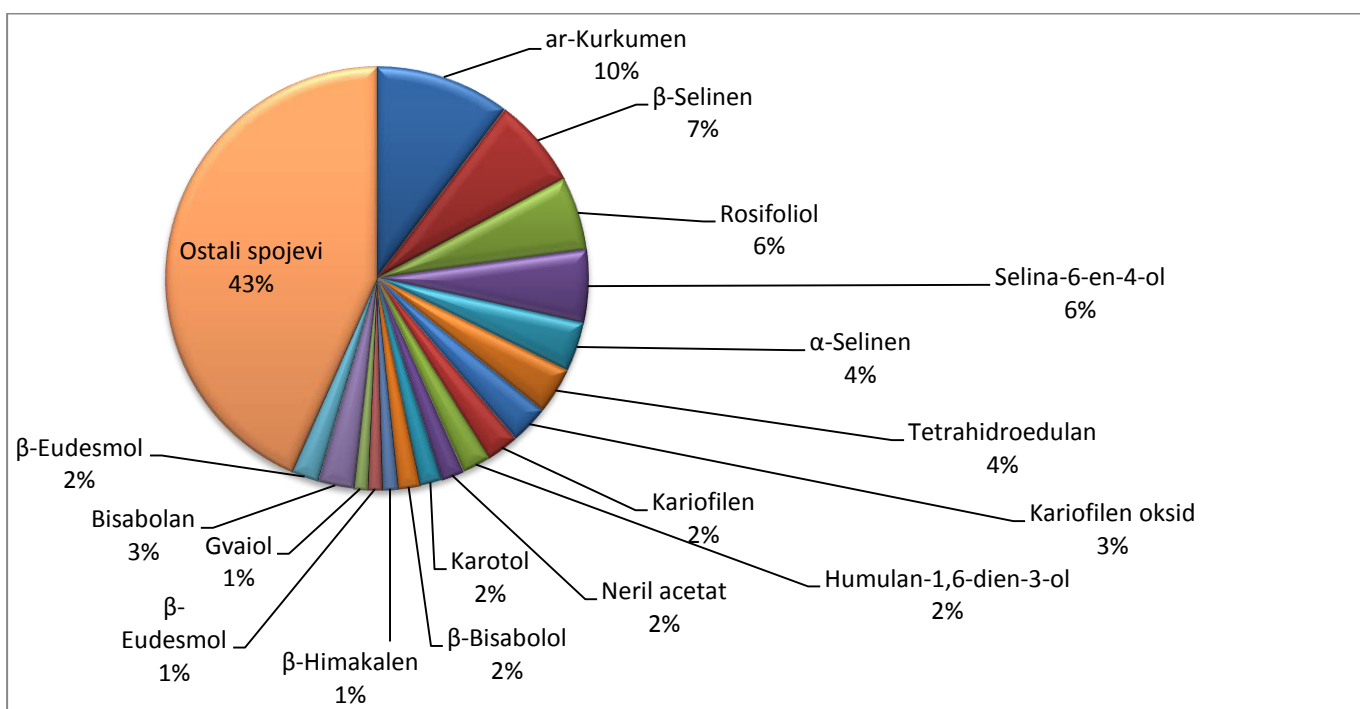
Uzorak cvjetova smilja također je destilirana, međutim, rezultati dobiveni GC/MS analizom nisu pokazali da se radi o eteričnom ulju.



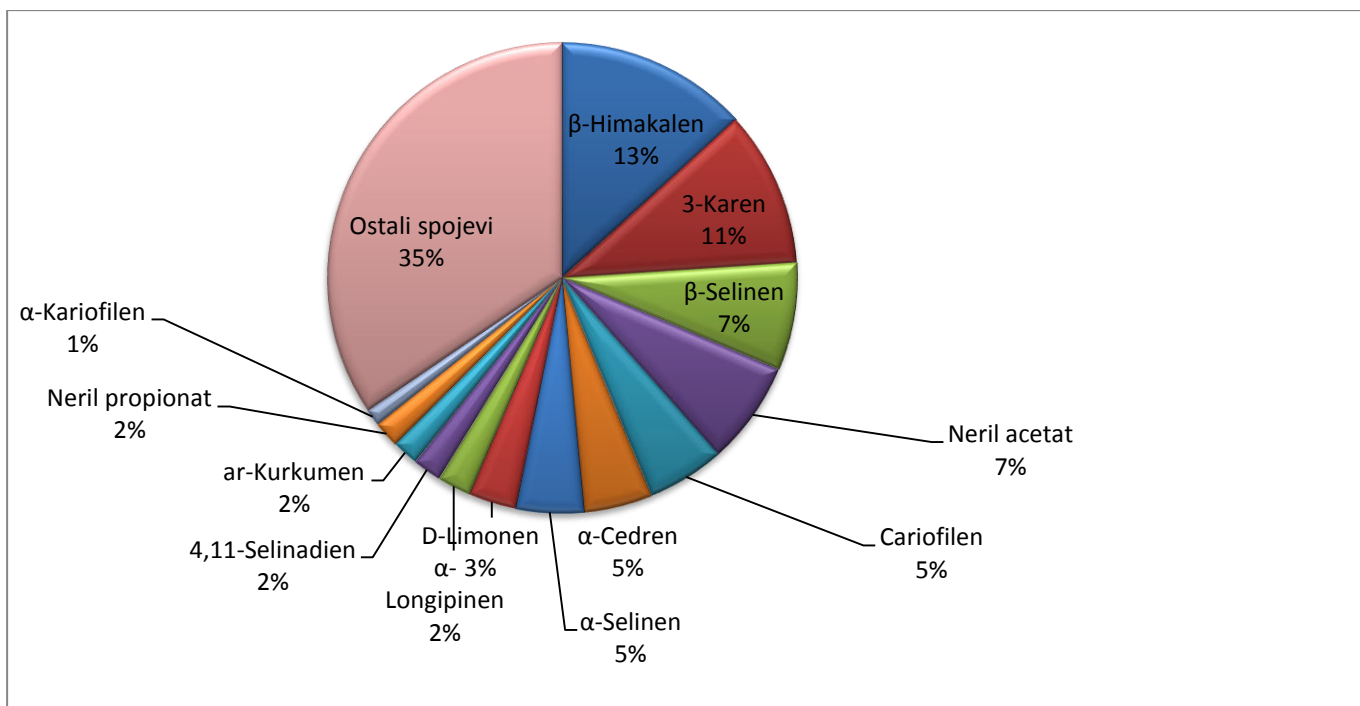
Slika 18. Sastav eteričnog ulja dobivenog iz smilja starog jedan dan (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



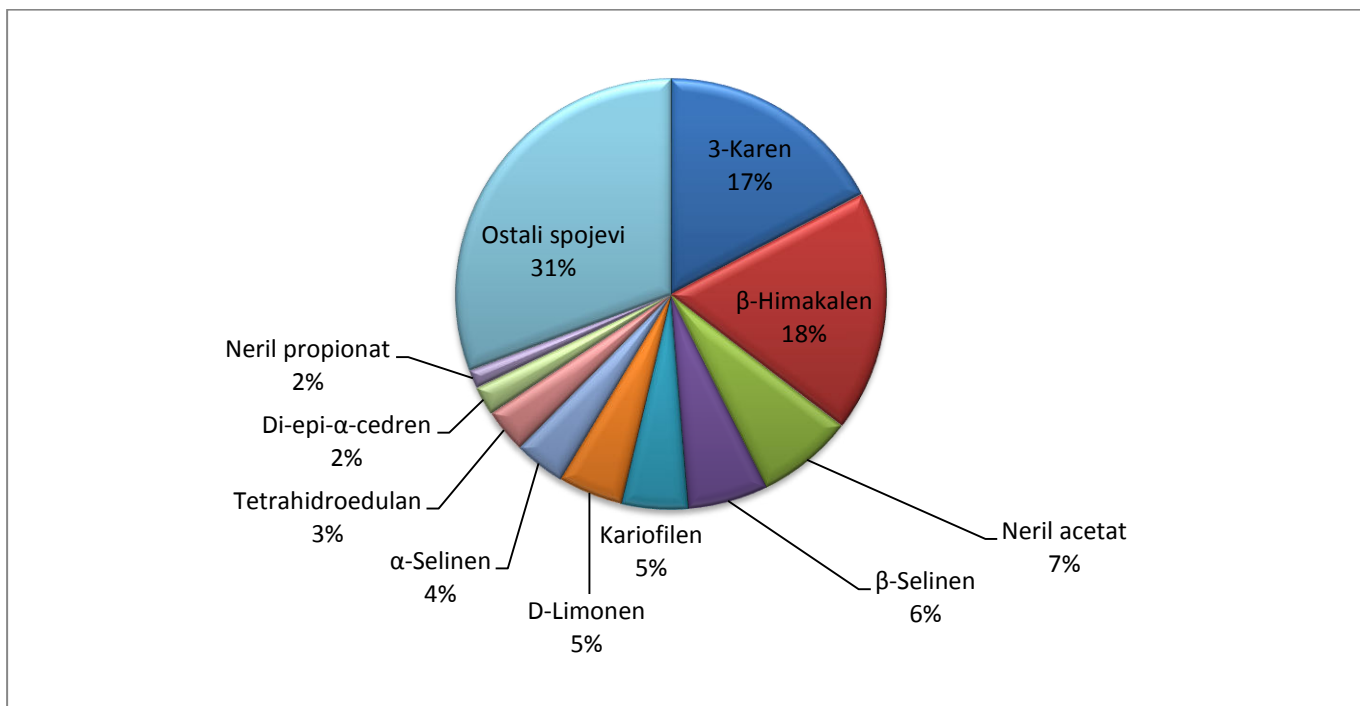
Slika 19. Sastav eteričnog ulja dobivenog iz smilja starog dva dana (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



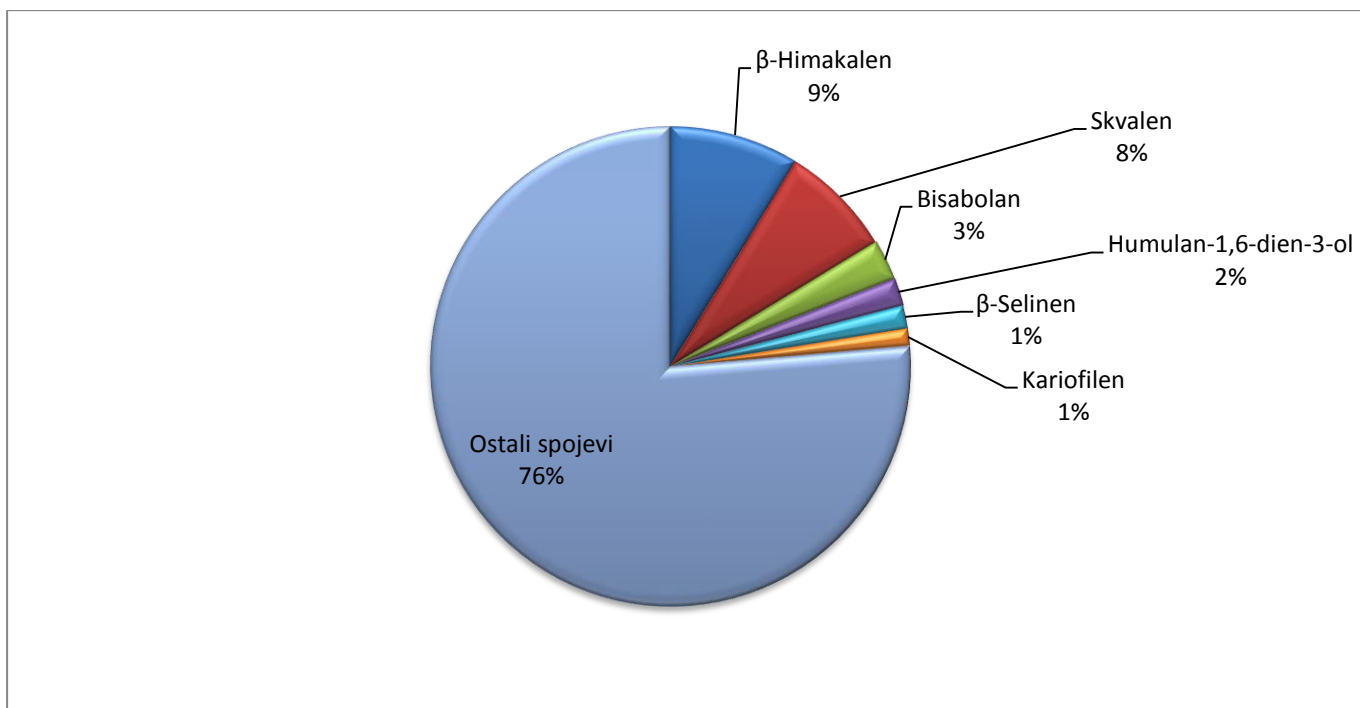
Slika 20. Sastav eteričnog ulja dobiveno iz smilja starog tri dana (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



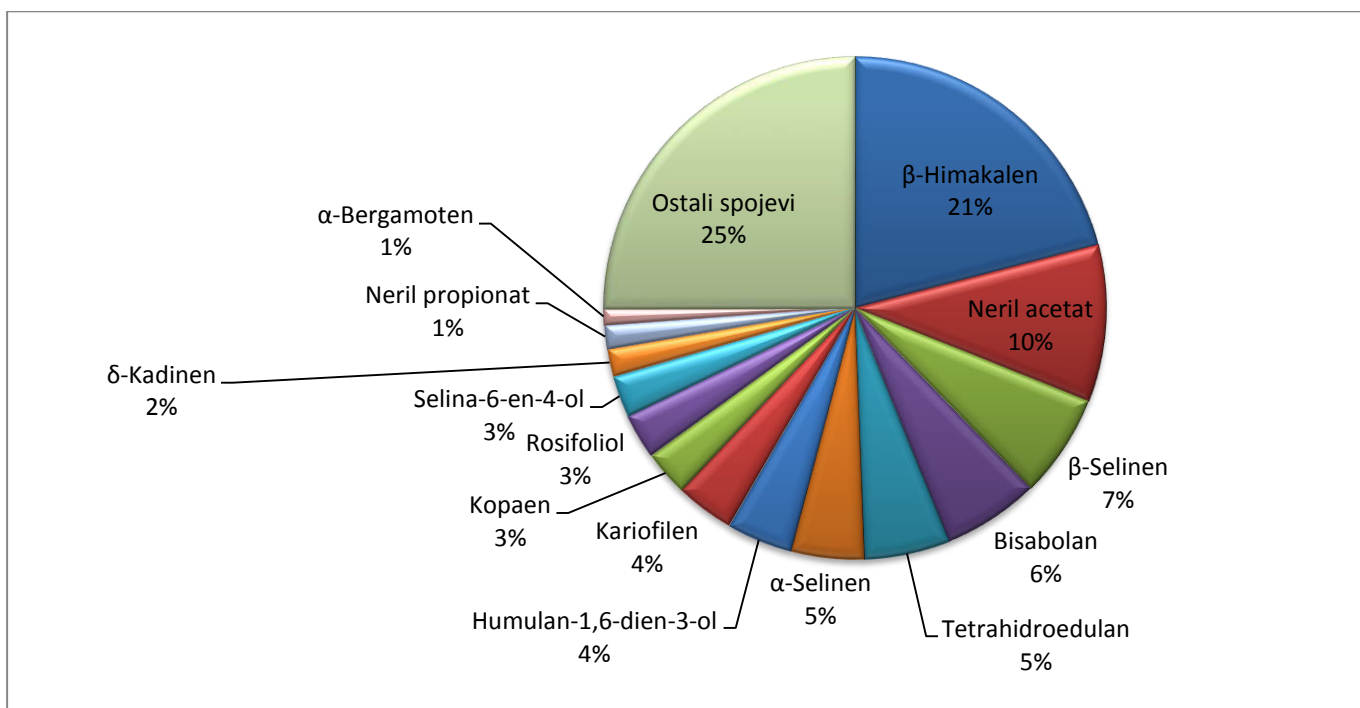
Slika 21. Sastav eteričnog ulja dobivenog od smilja starosti dva dana (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)



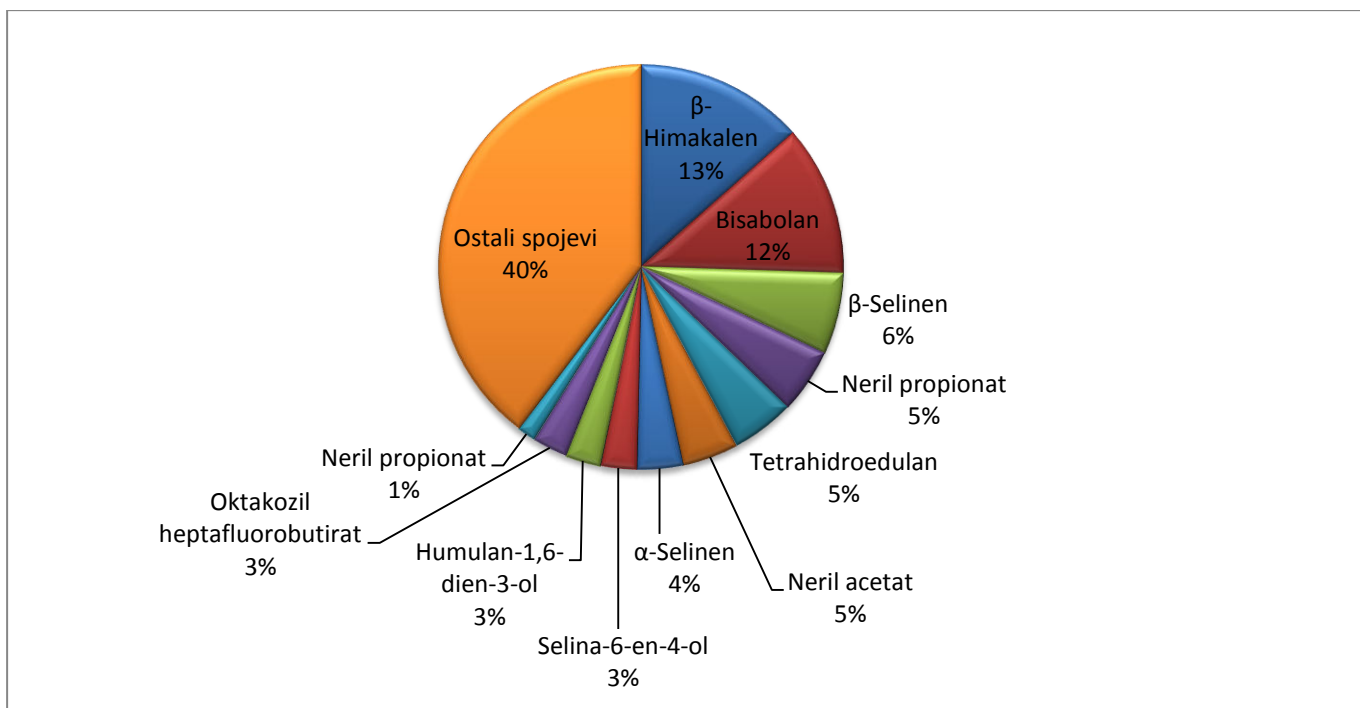
Slika 22. Sastav eteričnog ulja dobiveno od smilja starosti tri dana (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)



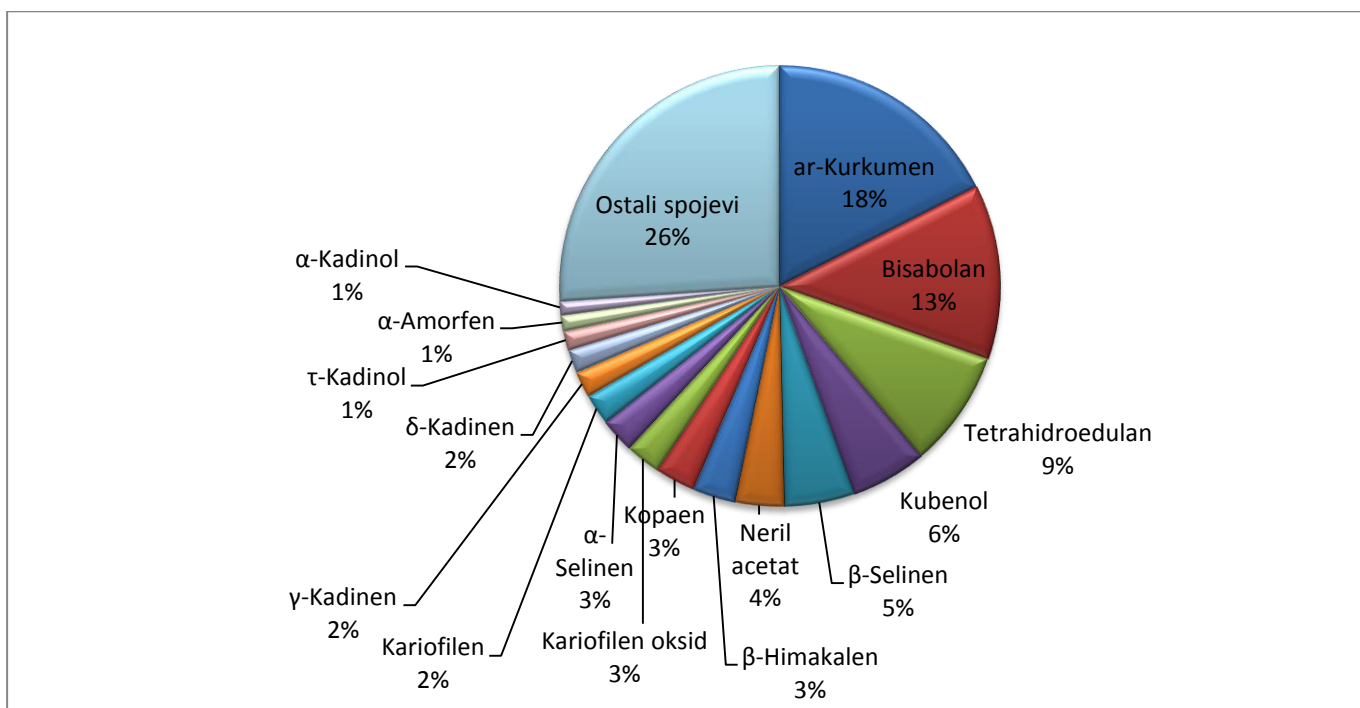
Slika 23. Sastav eteričnog ulja smilja starosti jedan dan (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



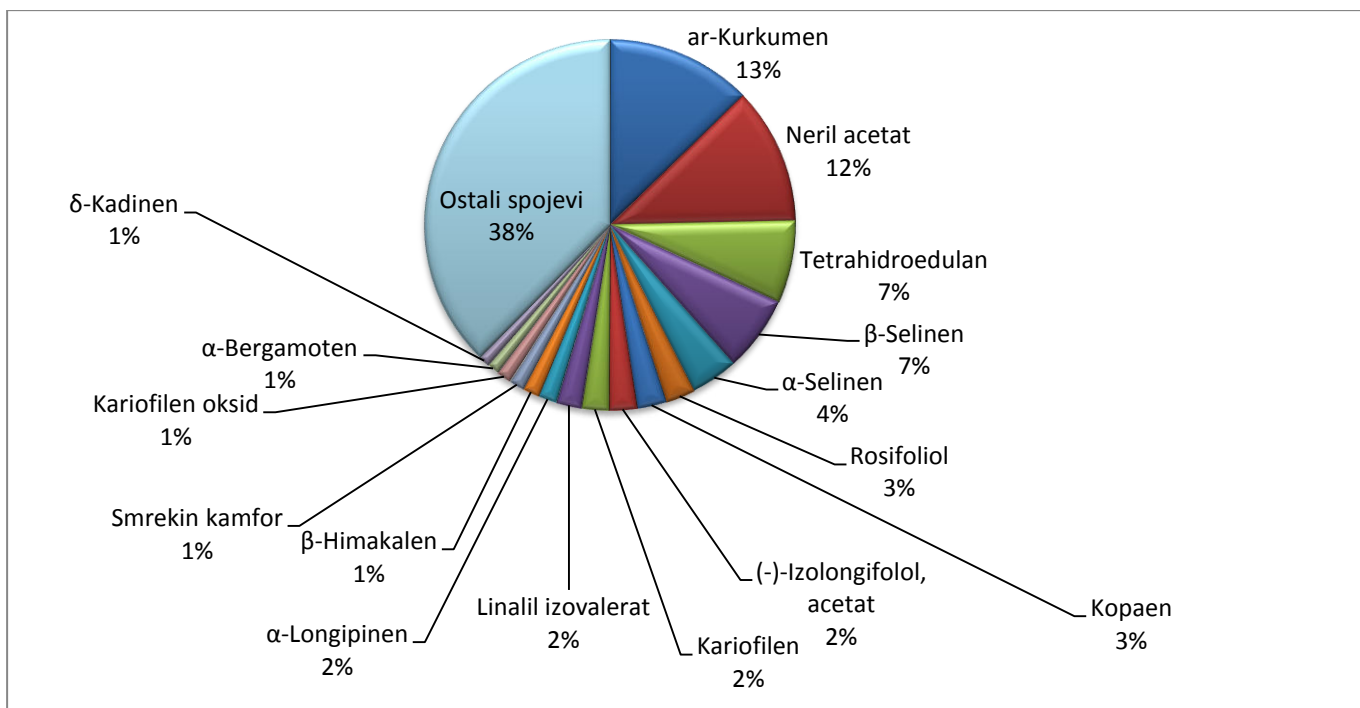
Slika 24. Sastav eteričnog ulja cvijeta smilja starosti dva dana (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



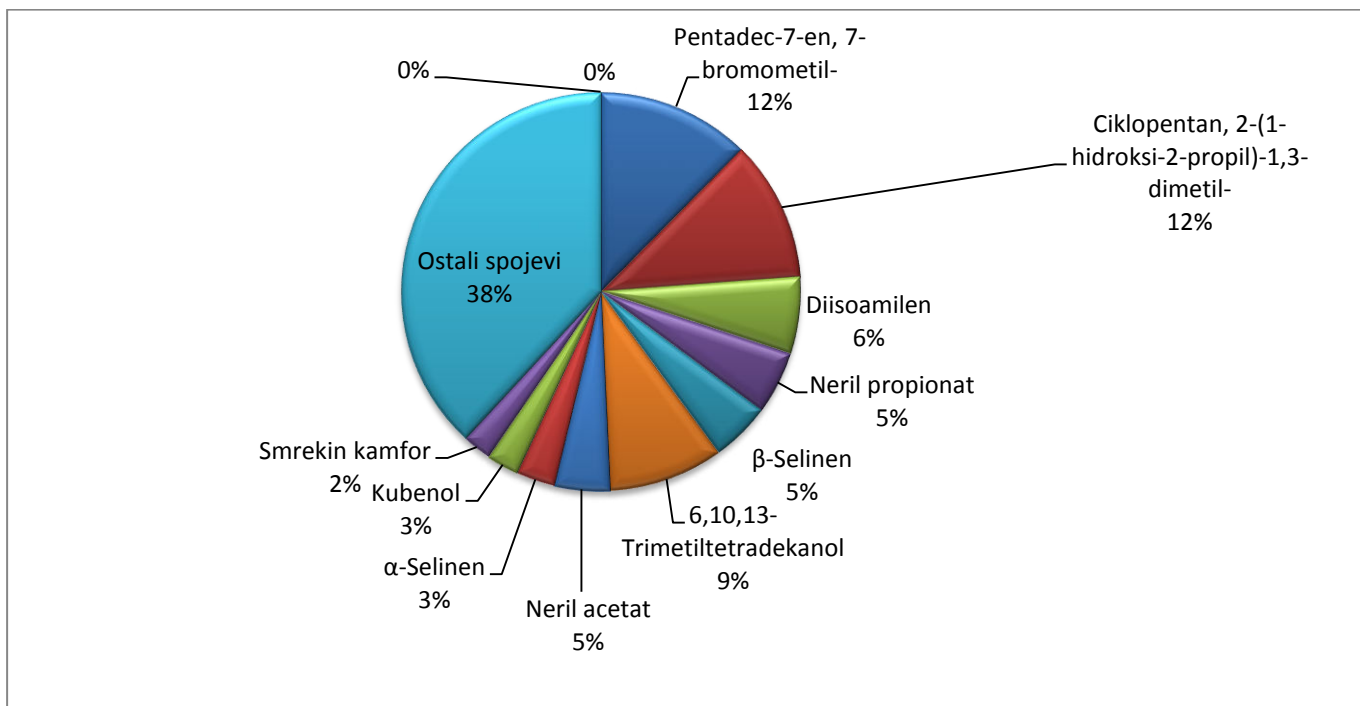
Slika 25. Sastav eteričnog ulja smilja starosti tri dana (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



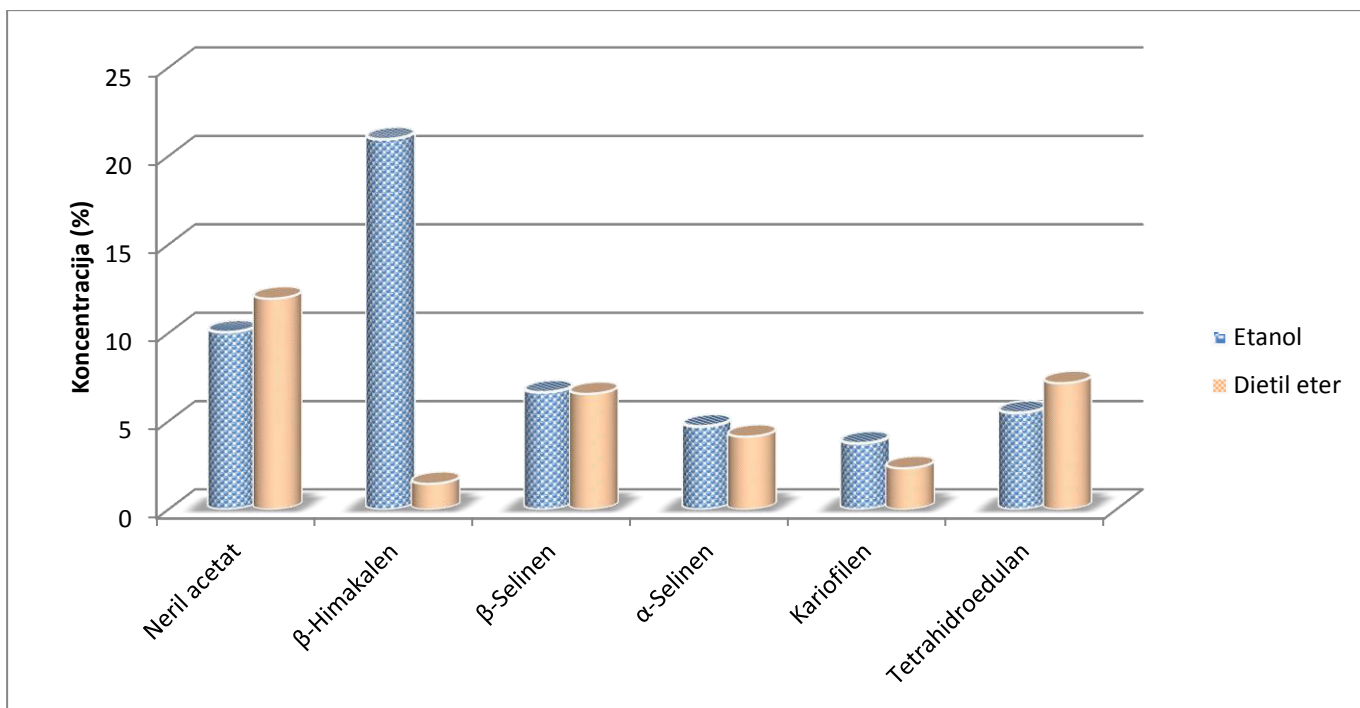
Slika 26. Sastav eteričnog ulja smilja starosti jedan dan (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)



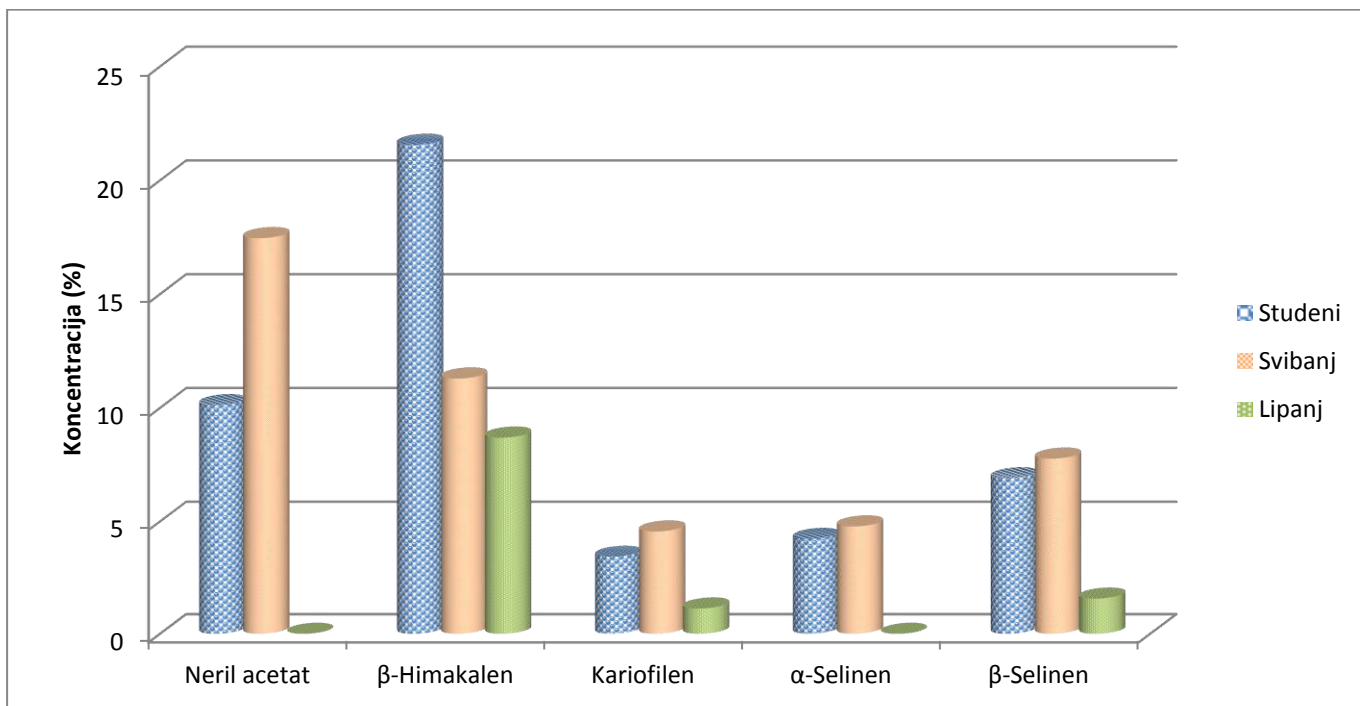
Slika 27. Sastav eteričnog ulja cvijeta smilja starosti dva dana (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)



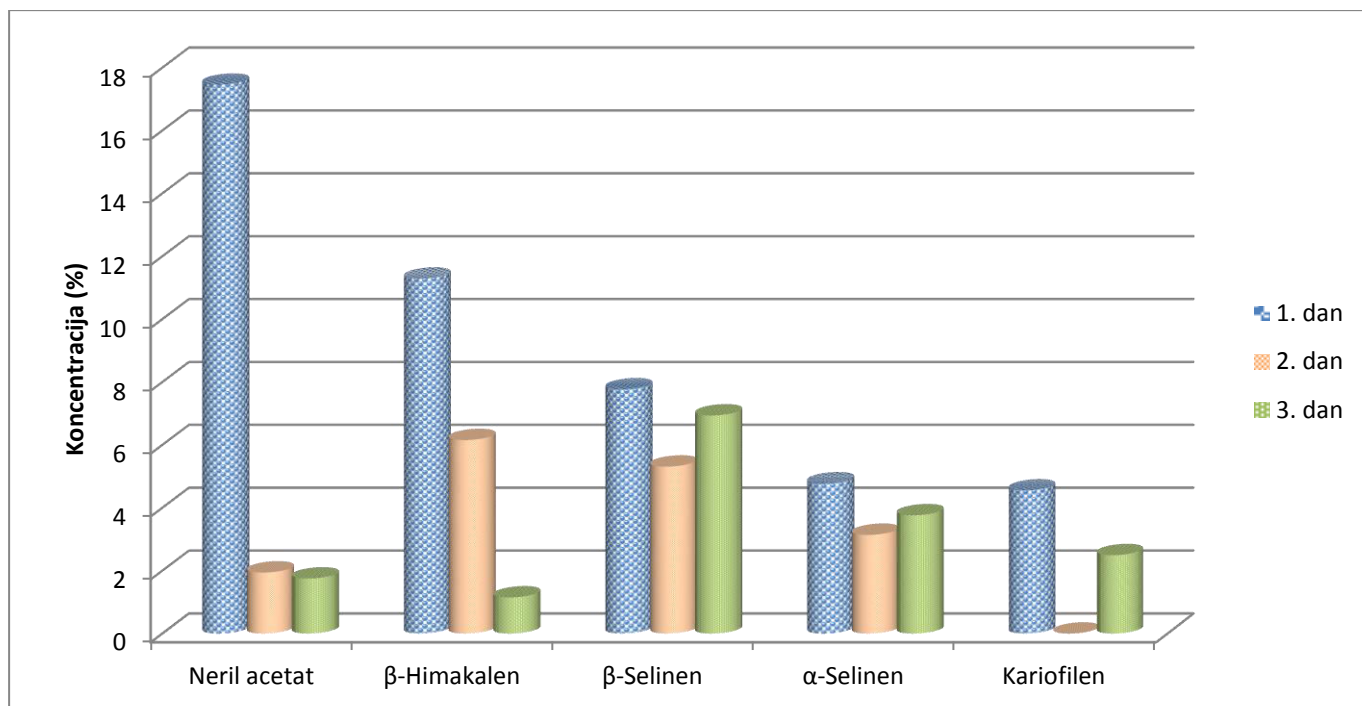
Slika 28. Sastav eteričnog ulja od smilja starosti tri dana (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)



Slika 29. Usporedba koncentracija komponenti eteričnog ulja dobivenog iz cvjetova smilja u lipnju u etanolu i dietil eteru



Slika 30. Usporedba koncentracija komponenti eteričnog ulja dobivenog prvi dan nakon branja smilja po mjesecima

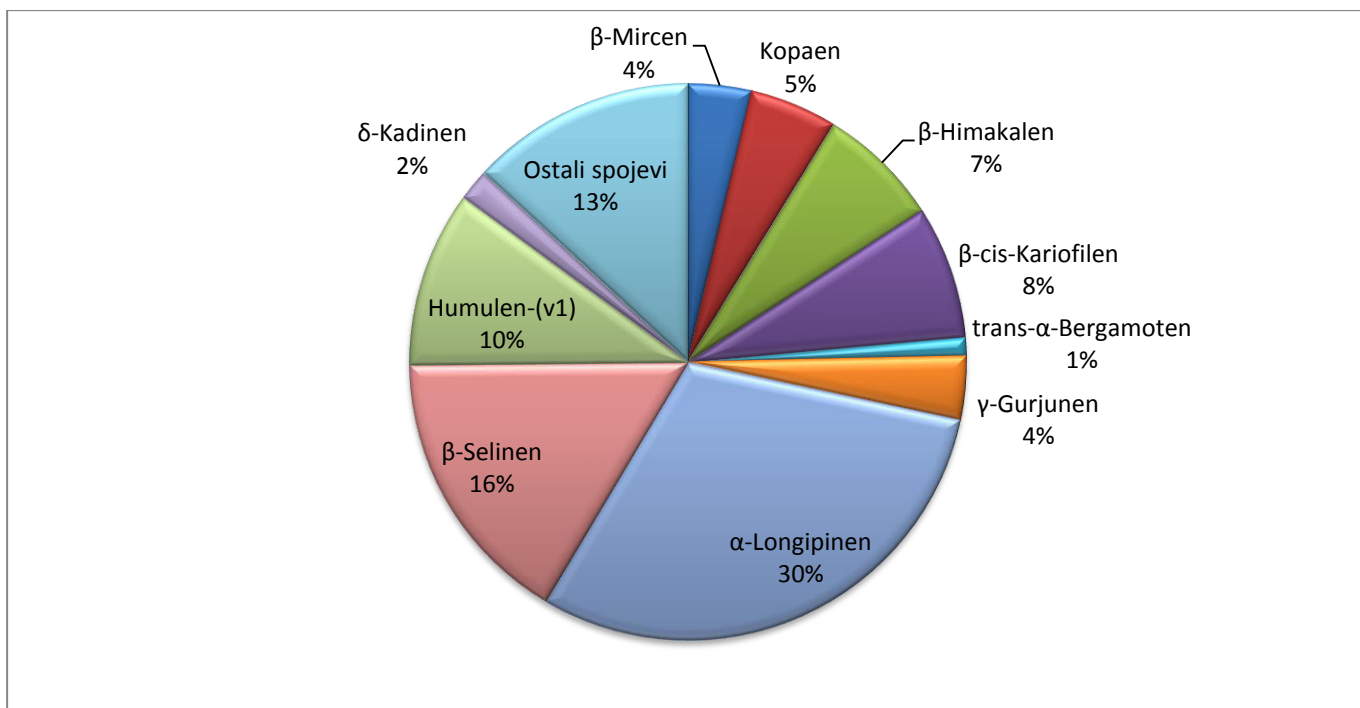


Slika 31. Usporedba koncentracija komponenti eteričnog ulja iz svibnja dobivenog prvi, drugi i treći dan nakon berbe smilja

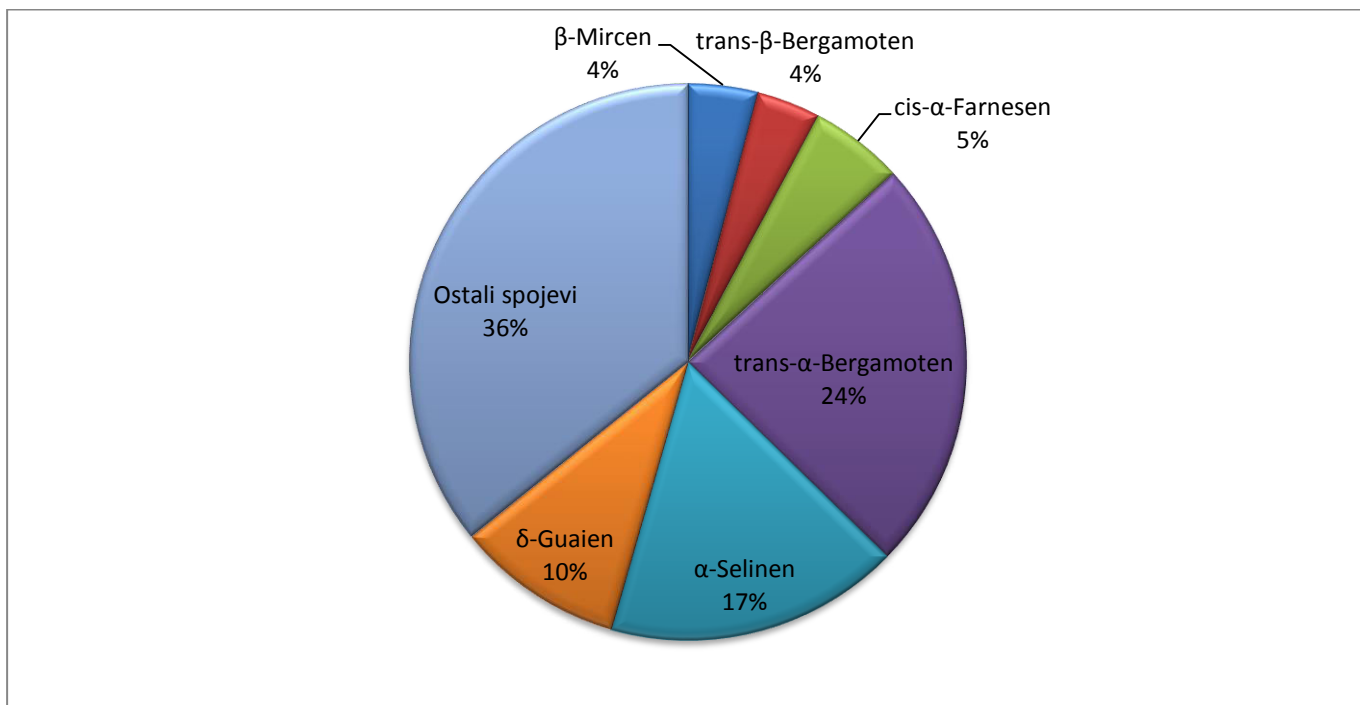
4.2. MACERACIJA

Tablica 2. Usporedba učinkovitosti separacije maceracijom

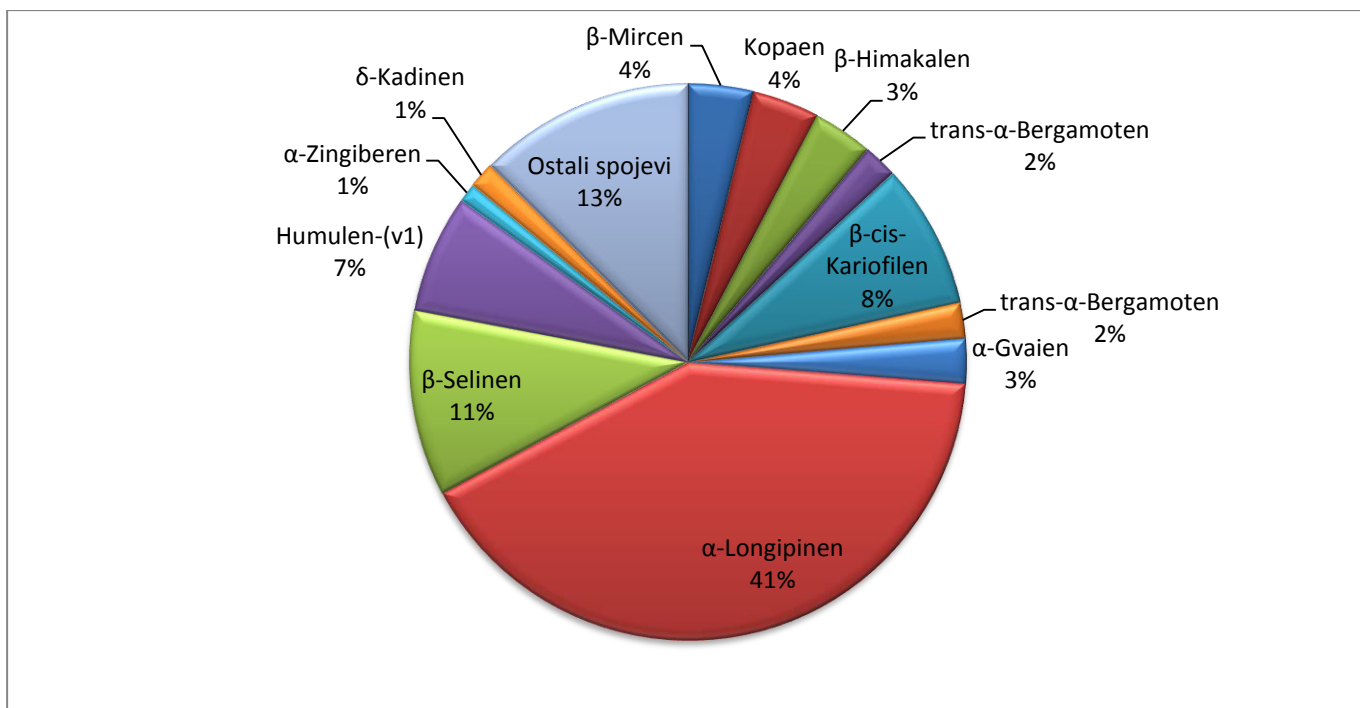
berba	Starost uzorka, dan	Uzorak	otapalo	$m(\text{uzorka}),$ g	$m(\text{ulja}),$ mg	Vrijeme trajanja procesa, dan	Učinkovitost separacije, %
studeni	1	stabiljka	<i>n</i> -heksan	200	2740	3	1,370
	1	cvijet	<i>n</i> -heksan	61,3	450	3	0,734
	2	stabiljka	etanol	200	2570	3	1,285
svibanj	1	cijela biljka	<i>n</i> -heksan	200	1290	3	0,645
lipanj	1	cijela biljka	<i>n</i> -heksan	200	2435	3	1,218



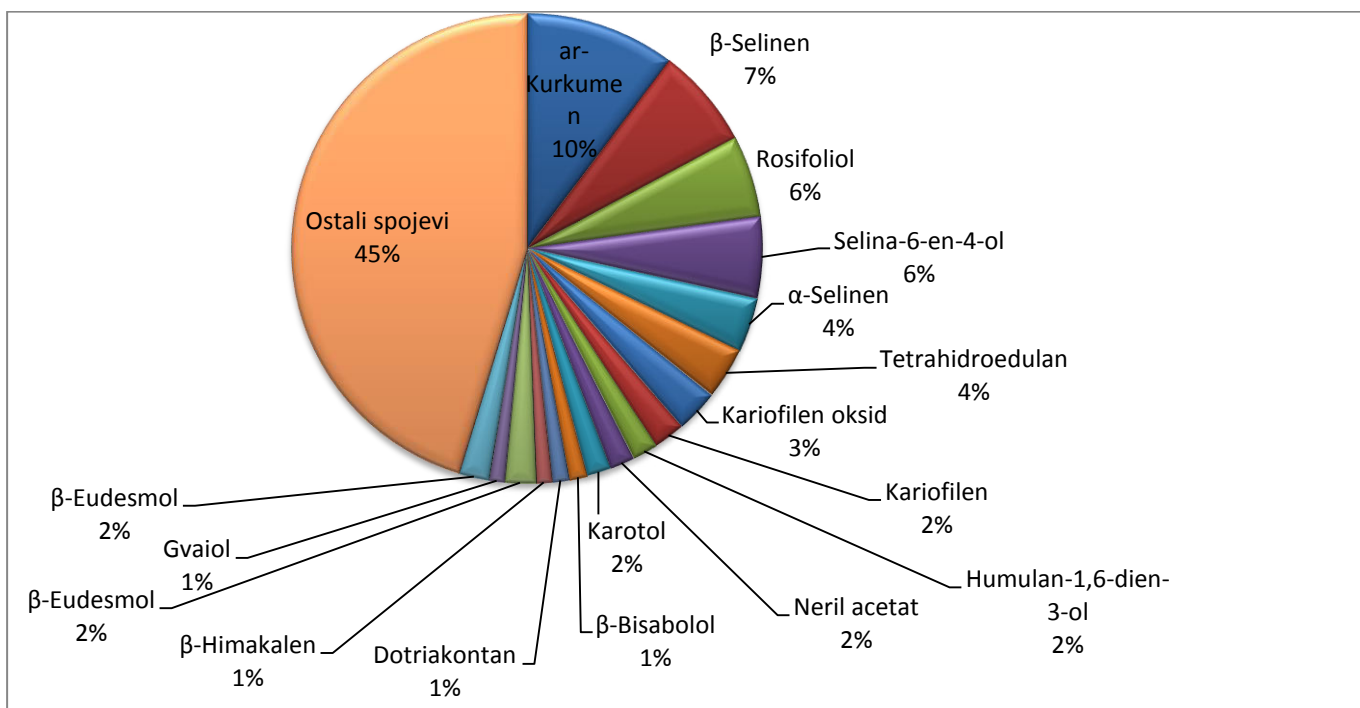
Slika 32. Sastav koncentrata stabiljki smilja dobivenog maceracijom u *n*-heksanu (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



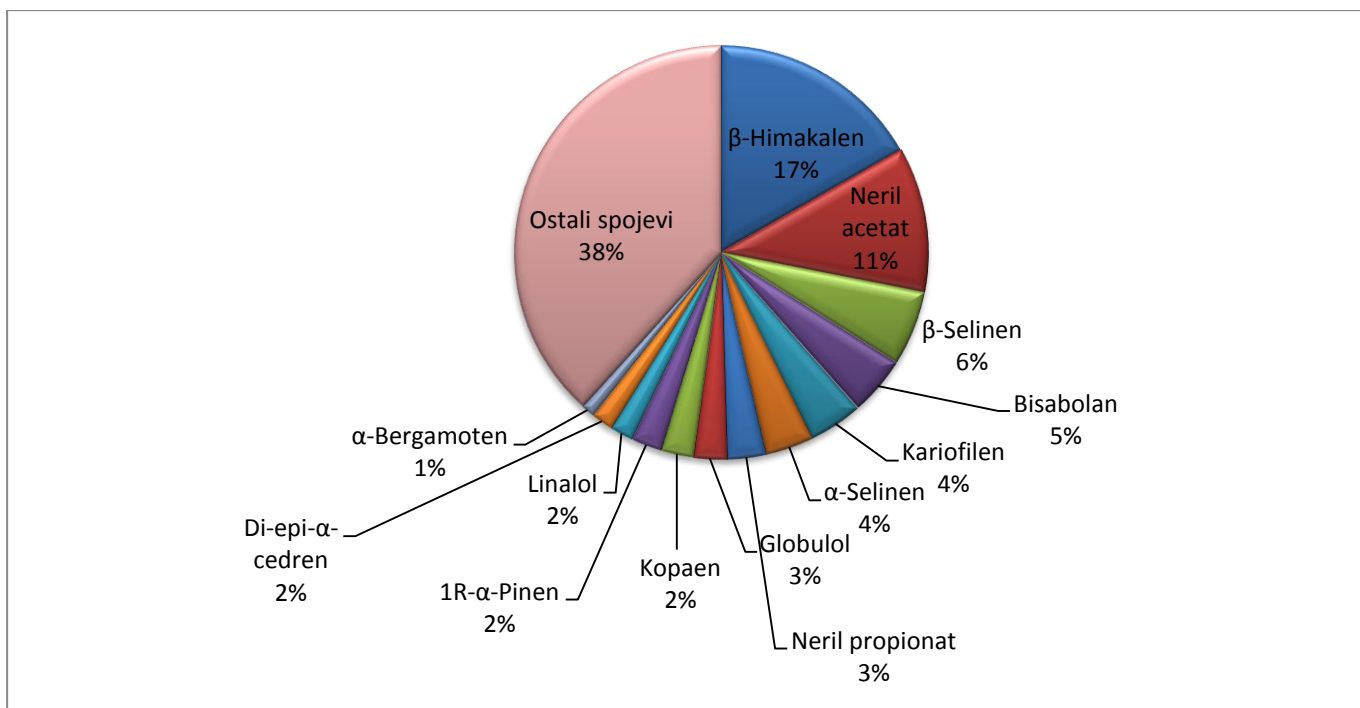
Slika 33. Sastav koncentrata stabiljki smilja dobivenog maceracijom u etanolu (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



Slika 34. Sastav koncentrata smilja dobivenog maceracijom cvjetova smilja u *n*-heksanu (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



Slika 35. Sastav koncentrata smilja dobivenog maceracijom u *n*-heksanu (otapalo za GC/MS analizu: etanol)

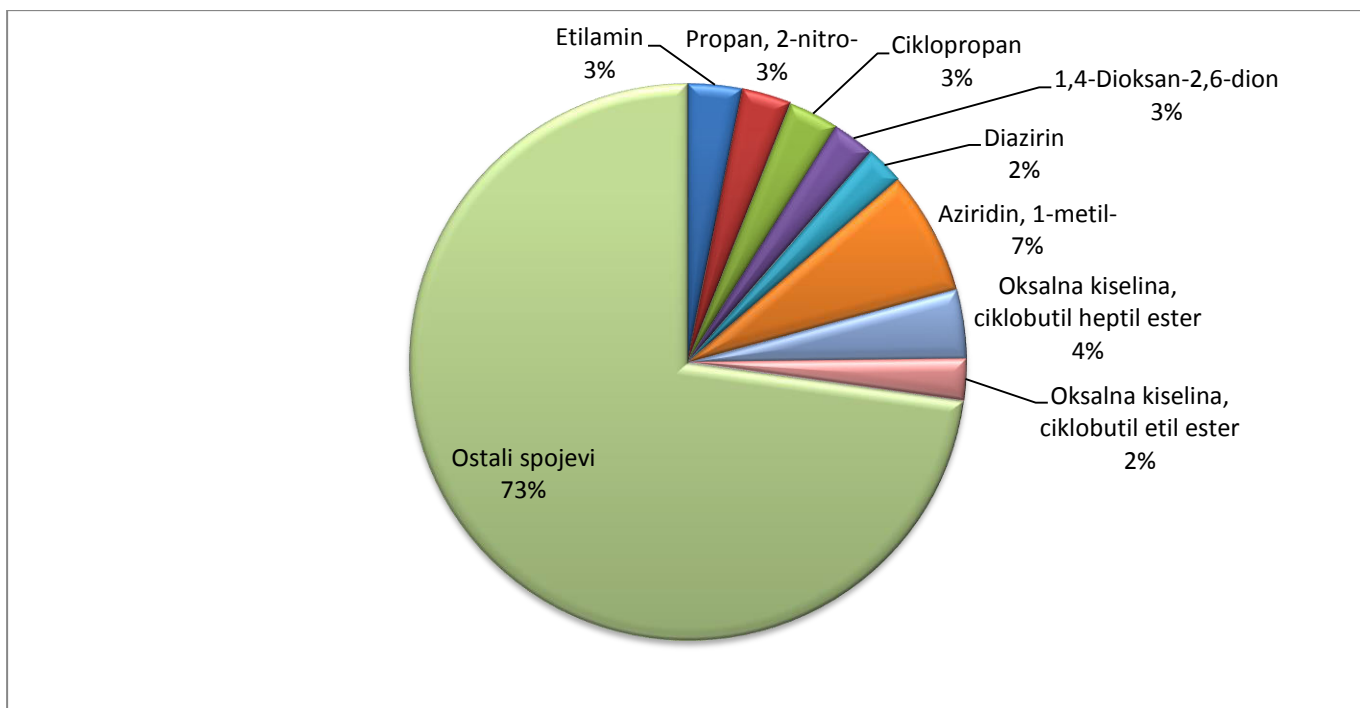


Slika 36. Sastav koncentrata od smilja dobivenog maceracijom (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)

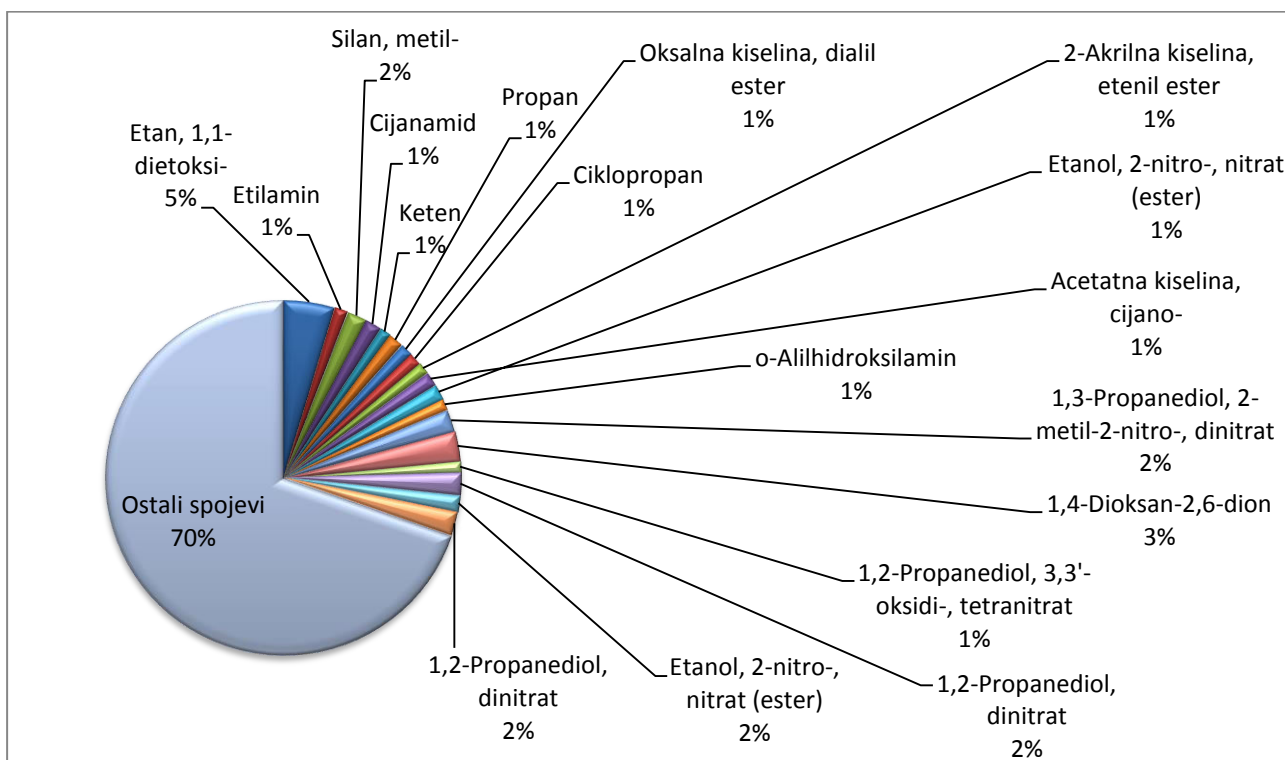
4.3. VAKUUM DESTILACIJA

Tablica 3. Usporedba učinkovitosti separacije vakuum destilacijom

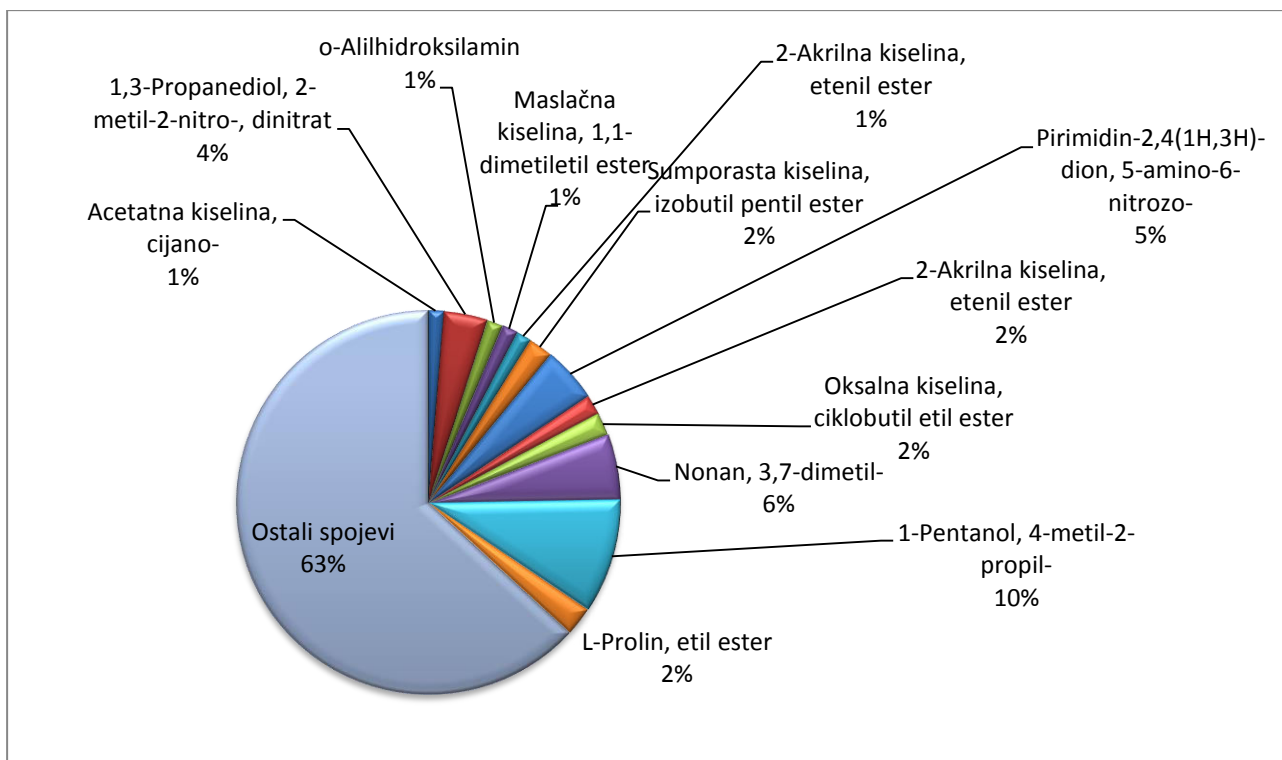
berba	Starost uzorka, dan	Uzorak	T , °C	$m(\text{uzorka})$, g	$m(\text{ulja})$, mg	Vrijeme trajanja procesa, h	Učinkovitost separacije, %
studeni	1	stabiljka	50	100	10,0	3	0,010
	2	stabiljka	70	100	-	3	-
	3	stabiljka	90	100	40,0	3	0,040



Slika 37. Sastav eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom stabiljki smilja pri 50 °C
(otapalo za GC/MS analizu: etanol)



Slika 38. Sastav eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom stabiljki smilja pri 70 °C
(otapalo za GC/MS analizu: etanol)

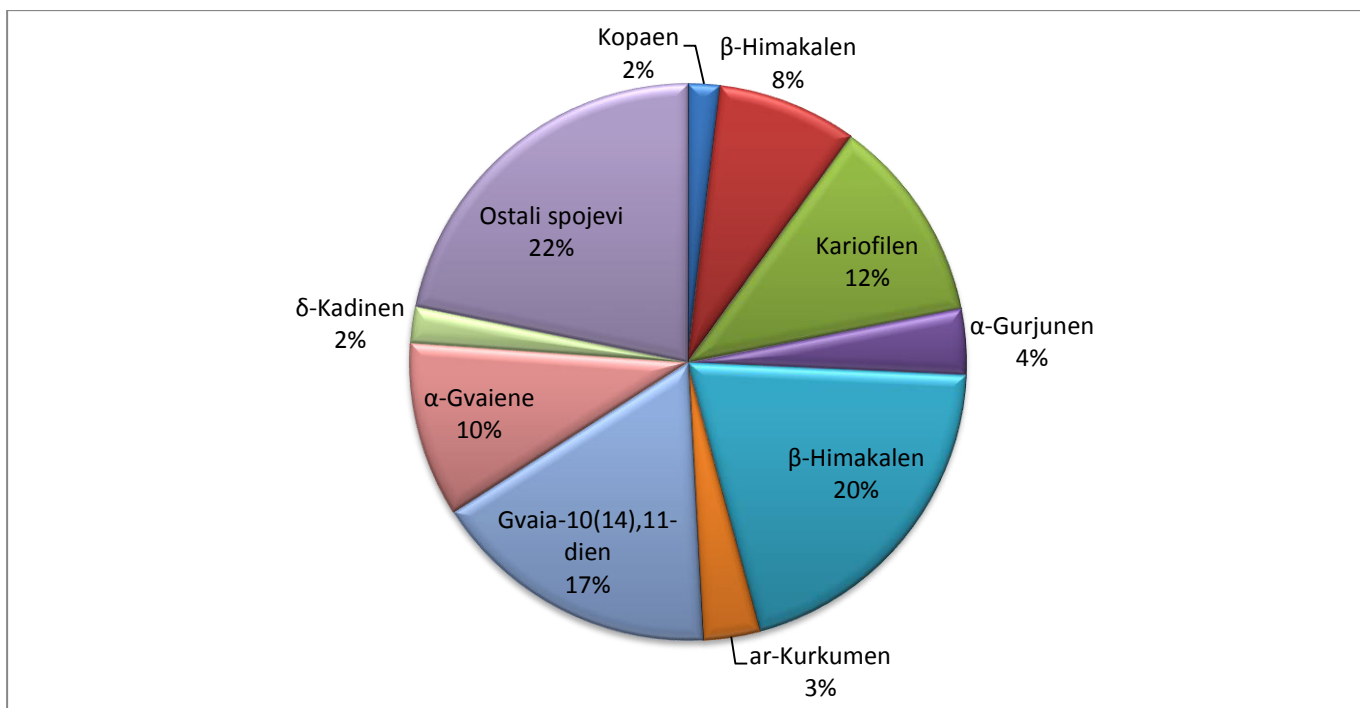


Slika 39. Sastav eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom stabiljke smiljke pri 90 °C (otapalo za GC/MS analizu: etanol)

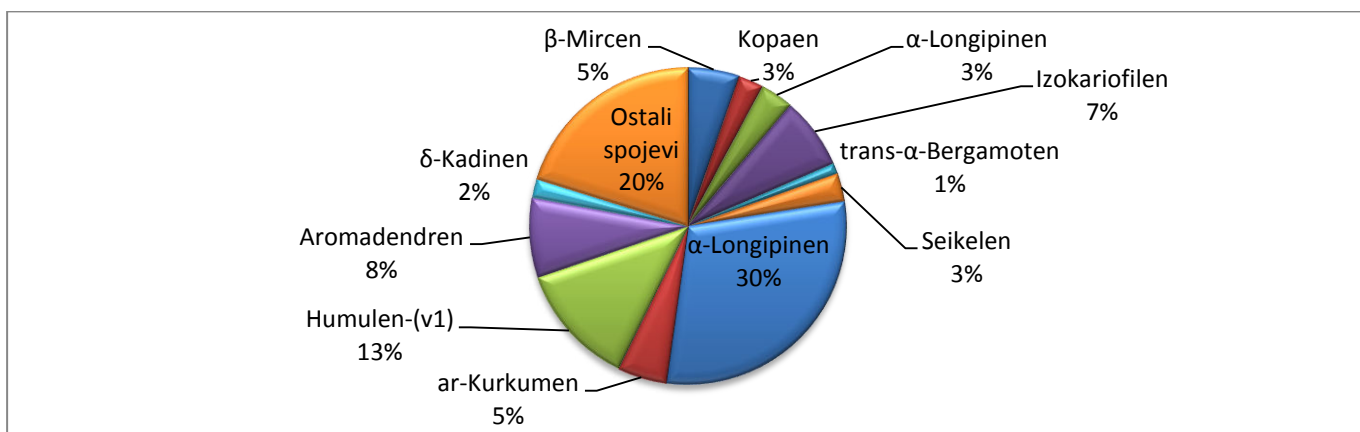
4.4. SOXHLET EKSTRAKCIJA

Tablica 4. Usporedba učinkovitosti separacije soxhlet ekstrakcijom

berba	Starost uzorka, dan	Uzorak	Otapalo	$m(\text{uzorka}),$ g	$m(\text{ulja}),$ mg	Vrijeme trajanja procesa, h	Učinkovitost separacije, %
studeni	2	stabiljka	<i>n</i> -heksan	40	810	3	2,025
	2	stabiljka	etanol	40	2710	3	6,775

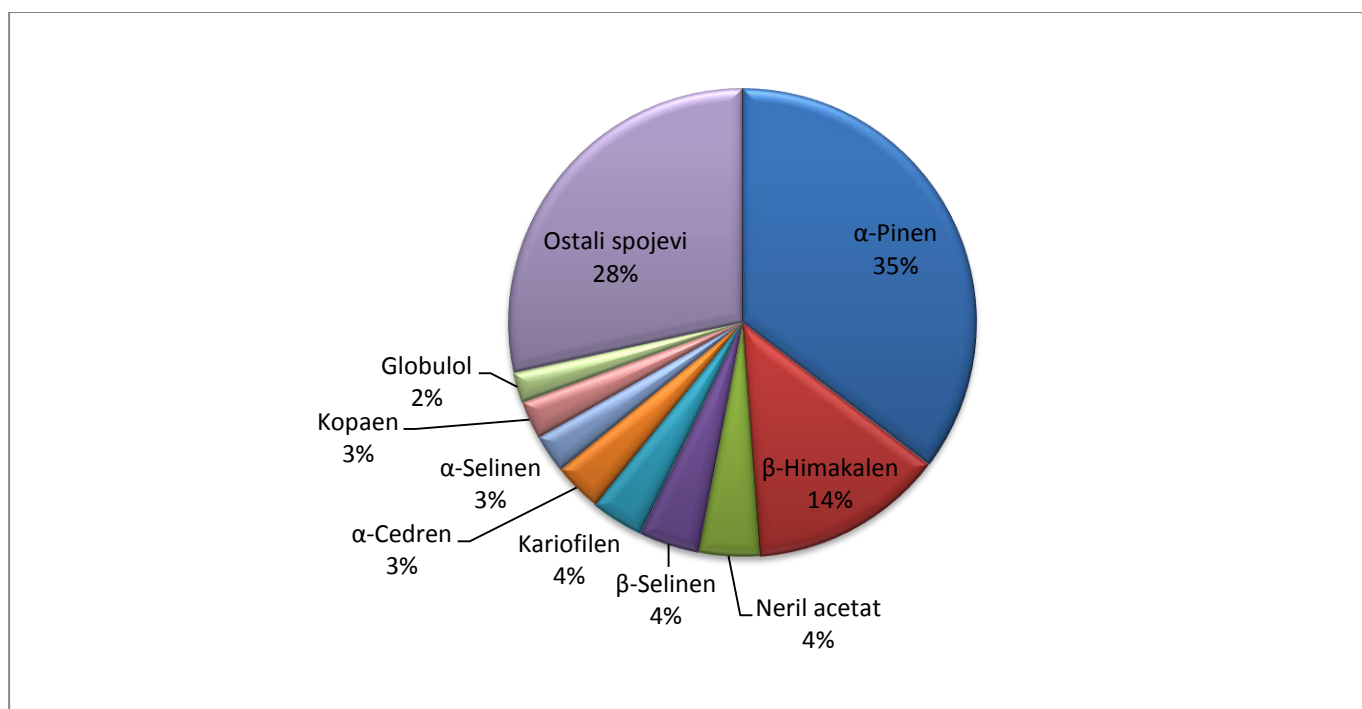


Slika 40. Sastav koncentrata dobivenog iz stabiljki smilja soxhlet ekstrakcijom *n*-heksanom (otapalo za GC/MS analizu: etanol)

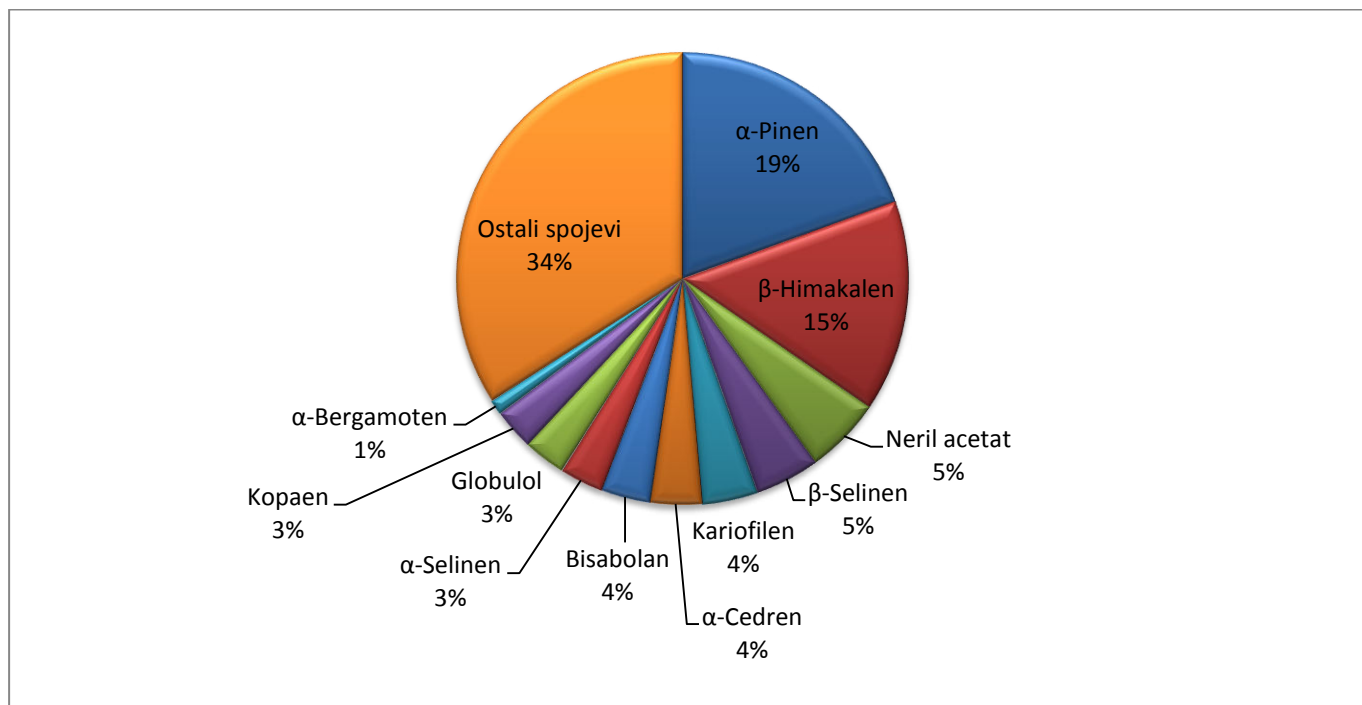


Slika 41. Sastav koncentrata dobivenog iz stabiljki smilja soxhlet ekstrakcijom etanolom (otapalo za GC/MS analizu: etanol)

4.5. PARNA DESTILACIJA



Slika 42. Sastav eteričnog ulja smilja dobivenog destilacijom parom (otapalo za GC/MS analizu: etanol)



Slika 43. Sastav eteričnog ulja smilja dobivenog destilacijom parom (otapalo za GC/MS analizu: dietil eter)

5. RASPRAVA

U ovom je radu istražen utjecaj metode dobivanja eteričnog ulja i koncentrata (absoluta) smilja ubranog u studenom, svibnju i lipnju na sastav, odnosno kvalitetu dobivenog proizvoda. S obzirom da je sirovina biljnog porijekla vrlo nestabilna i sklona truljenju istražen je i utjecaj starosti ubrane biljke na sastav i kvalitetu eteričnog ulja odnosno koncentrata smilja.

Hidrodestilacija

U tablici 1 prikazani su rezultati utjecaja vremena prikupljanja i starosti uzoraka na masu ulja koje se može dobiti hidrodestilacijom. Usporedbom masenih iskorištenja hidrodestilacije u studenom, svibnju i lipnju vidljivo je da se najveće iskorištenje dobilo u studenom, dok je najmanje iskorištenje dobiveno u svibnju. Razlog tome je što se eterično ulje prvenstveno nalazi u cvjetovima biljke koji nisu bili u potpunosti razvijeni u svibnju. Iz usporedbe masenih iskorištenja u lipnju vidljivo je da se najviše eteričnog ulja dobilo iz cvjetova biljke. Pregledom literature ovisno o lokalitetu s kojeg je smilje prikupljano iskorištenja se kreću u intervalu od 0,02 do 0,60 % za svibanj; 0,03 % (stabiljka), 0,11 % (cvijet) te 0,21 % (cijela biljka) za lipanj. ^{8, 9, 11, 12} Angioni i suradnici ¹², objavili su da je količina ekstrahiranog ulja bila najveća u rujnu (u odnosu na berbe u lipnju i srpnju), da cvijet sadrži više ulja te da je udio neril acetata kao osnovne komponente veći u stabiljci nego u cvijetu. S druge strane, Leonardi i suradnici ⁸ objavili su da je najviše ulja ekstrahirano iz uzoraka prikupljenih u svibnju (u odnosu na berbe u siječnju i listopadu). Na temelju objavljenih rezultata nije moguće predvidjeti koliko se ulja može ekstrahirati te koje su osnovne komponente s obzirom da na iskorištenje i sastav ulja u velikoj mjeri utječu lokalitet s kojeg je smilje ubrano, vrijeme berbe, vrsta uzorka (cvijet, stabiljka ili cijela biljka) te starost uzorka.

Eterična ulja dobivena hidrodestilacijom karakterizirana su GC/MS analizom pri čemu su uzorci eteričnih ulja otapani u etanolu i dietil eteru. Broj detektiranih spojeva u uzorcima kretao se od 125 do 680 a identificiranih je bilo znatno manje. U prilogu se nalaze tablice s rezultatima GC/MS analiza uzoraka koje sadrže spojeve čija je koncentracija veća od 1% te neke dodatne spojeve koji bi se trebali nalaziti u eteričnom ulju smilja čija je koncentracija manja od 1%. Karakterizacijom uzoraka eteričnih ulja dobivenih u studenom (slike 16 i 17), svibnju (slike 18 – 22) i lipnju (slike 23 – 28) hidrodestilacijom vidljivo je da je za ovo ulje karakterističan visok udio seskviterpena. Osim seskviterpena, u uljima se pojavljuju i alkoholni derivati terpena i seskviterpena, te esteri. Seskviterpeni koji se pretežito pojavljuju

su β -Himakalen, koji u koncentraciji od 31% djeluje kao insekticid, te β -Selenen, α -Selenen i kariofilen (koji se veže na kanabinoide CB₂ receptore). Kariofilen se može koristiti pri liječenju mnogih upalnih poremećaja, te također djeluje kao antikancerogeno sredstvo, i smanjuje tjeskobu i depresiju. Od estera najučestaliji je neril acetat. Udio komponenata prisutnih u najvećim koncentracijama u svim uspoređenim spojevima ovisno o otapalu u kojem se uzorak otapao za GC/MS analizu prikazan je na slici 29. Iako su koncentracije nekih spojeva približno jednake dobiveni se rezultati znatno razlikuju u broju detektiranih spojeva. Dakle, vrlo je važno definirati koje se otapalo koristi za analizu jer se dobivaju različiti rezultati. Utjecaj vremena prikupljanja uzoraka na sastav eteričnog ulja prikazan je na slici 30. Koncentracija β -himakalena, odnosno komponente koja je prisutna u najvećoj mjeri u eteričnom ulju, opada od studenog do lipnja, a koncentracija neril acetata je najveća u uzorku prikupljenom u svibnju. S obzirom na prethodno objavljene rezultate bilo je za očekivati da će najveću koncentraciju neril acetata sadržavati uzorak prikupljen u srpnju. Tu je potrebno naglasiti da ne postoje objavljeni rezultati za eterično ulje smilja prikupljenog na lokaciji s koje je uzorak analiziran u ovom radu. Utjecaj starosti biljke nakon branja na sastav eteričnog ulja prikazan je na slici 31. Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da se sastav eteričnog ulja, a posebice koncentracija neril acetata u velikoj mjeri mijenja. Publicirani radovi uglavnom ne navode koliko je prošlo vremena između branja biljke i ekstrakcije eteričnog ulja, što također može biti razlog različitim sastavima eteričnog ulja.

Maceracija

U tablici 2 prikazan je utjecaj vrste uzorka (stabiljka, cvijet, cijela biljka) i korištenog otapala na masu koncentrata (absoluta) dobivenog maceracijom. Iz prikazanih rezultata vidljivo je da su najveća masena iskorištenja dobivena iz smilja branog u studenom, a najmanja u svibnju, kada biljka još uvijek nije bila potpuno narasla. Općenito se može reći da se koncentrata dobiva više nego eteričnog ulja. Karakterizacijom koncentrata dobivenih maceracijom (slike 32 – 36) vidljivo je da je za koncentrat dobiven u studenom karakterističan visok udio α -Longipinena (biljka u heksanu), te α -Bergamotena (biljka u etanolu). Osim visokih udjela tih spojeva, kao i kod hidrodestilacije, pojavljuju se još i β -Himakalen, β -Selenen, te neril acetat. Kod koncentrata dobivenih u svibnju i lipnju ne postoji jedan spoj koji značajno po udjelu odstupa od ostalih, kao što je to bio slučaj u studenom, nego su pronađeni spojevi po svojem udjelu i tipu značajno bliži spojevima pronađenim u uzorcima dobivenim hidrodestilacijom, odnosno, pretežito se pojavljuju neril acetat, β -Himakalen, β -Selenen, α -Selenen, kariofilen, te ar-Curcumene. Maceracijom je detektiran manji broj spojeva GC/MS analizom (studeni:

145-253; svibanj: 552; lipanj: 539) u usporedbi s hidrodestilacijom. Kako se radi o drugačijom metodi separacije i dobivanju druge vrste proizvoda, očito je i da sastav mora biti drugačiji.

Vakuum destilacija

Vakuum destilacijom nisu dobiveni terpeni niti njihovi derivati tako da ova metoda nije pogodna za ekstrakciju kvalitetnog eteričnog ulja iz smilja. Maseno iskorištenje opadalo je s porastom temperature.

Soxhlet ekstrakcija

U tablici 4 prikazano je kako vrsta otapala utječe na učinkovitost ekstrakcije ulja iz stabiljki smilja prikupljenih u studenom 2016. Usporedbom masenih iskorištenja soxhlet ekstrakcije može se zaključiti da je etanol kod soxhlet ekstrakcije bolje otapalo (iskorištenje ekstrakcije etanolom 6,775 %, a iskorištenje heksanom 2,025 %). Spojevi koji se pretežito nalaze u koncentratima su seskviterpeni (slika 40 i 41). Koncentrat dobiven soxhlet ekstrakcijom etanolom karakterizira visok udio α -Longipinena, dok se ekstrakcijom heksanom dobio koncentrat visokog udjela β -Himakalena.

Destilacija vodenom parom

Usporedbom masenog iskorištenja hidrodestilacije provedene u laboratoriju u lipnju, te destilacije provedene u šaržnom destilatoru vidljivo je da se radi u prosjeku o približno istim vrijednostima. Međutim, destilacijom u šaržnom destilatoru dobiven je visok udio monoterpena, konkretno α -Pinena.

6. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitane su metode i uvjeti ekstrakcije na učinkovitost ekstrakcije eteričnog ulja i koncentrata iz smilja, te je izvršena karakterizacija dobivenih uzoraka. Utvrđeno je da je hidrodestilacija od korištenih metoda najpogodnija za ekstrakciju eteričnog ulja. Ustanovljeno je da vrijeme berbe, kao i starost ubranog smilja utječu na maseno iskorištenje, te na dobiveni sastav eteričnog ulja. Eksperimentima je također utvrđeno da je najveće iskorištenje dobiveno u studenom, zatim u lipnju, te najmanje u svibnju, kada biljka još nije bila u cvatu, što pak ukazuje na to da se eterično ulje prvenstveno dobiva iz cvjetova biljke. Ustanovljeno je da udio neril acetata, kao jednog od glavnih pokazatelja kvalitete eteričnog ulja, u eteričnom ulju značajno opada sa vremenom početka destilacije nakon berbe. Osim navedenog, za preciznu karakterizaciju uzoraka od velike je važnosti i otapalo koje se koristi u GC/MS analizi.

7. LITERATURA

1. Baser, K. H. C., Buchbauer, G., Handbook of essential oils: science, technology, and applications, CRC Press, Boca Raton, 2010., str 1-30.
2. Tongnuanchan P., Benjakul S., Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation, *Journal of Food Science*, **79** (7) (2014) 1231-1248.
3. Akhila, A., Essential oil – bearing grasses: the genus *Cymbopogon*, CRC Press, Boca Raton, 2009., str. ix.
4. Viegas, D. A., Palmeira-de-Oliveira, A., Salgueiro L., Martinez-de-Oliveira, J., Palmeira-de-Oliveira, R., *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data, *Journal of Ethnopharmacology*, **151** (2014) 54–65.
5. Burt, S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review, *International Journal of Food Microbiology*, **94** (2004) 223– 253.
6. Leandro, C. C., Hancock, P., Soulier, C., Aime, F., Rapid marker identification and characterisation of essential oils using a chemometric approach, Waters Corporation, 2008.
7. Kladar, N. V., Anačkov, G. T., Rat, M. M., Srđenović, B. U., Grujić, N. N., Šefer, E. I., Božin, B. N., Biochemical characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: phytochemical screening, chemotaxonomy, and antioxidant properties, *Chemistry & Biodiversity*, **12** (2015) 419-431
8. Leonardi, M., Ambryszewska, K. E., Melai, B., Flamini, G., Cioni, P. L., Parri, F., Pistelli, L., Essential oil composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy), *Chemistry & Biodiversity*, **10** (2013) 343-355
9. Mastelić, J., Politeo, O., Jerković, I., Contribution to the analysis of the essential oil of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. – determination of ester bonded acids and phenols, *Molecules* **13** (2008) 795-803
10. Melito, S., Sias, A., Petretto, G. L., Chessa, M., Pintore, G., Porceddu, A., Genetic and metabolite diversity of Sardinian populations of *Helichrysum italicum*, *PLOS ONE*, **8** (11) (2013) 1-11
11. Mancini, E., De Martino, L., Marandino, A., Scognamiglio, M. R., De Feo, V., Chemical composition and possible *in vitro* phytotoxic activity of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum*, *Molecules*, **16** (2011) 7725-7735
12. Angioni, A., Barra, A., Arlorio, M., Coisson, J. D., Russo, M. T., Pirisi, F. M., Satta, M., Cabras, P., Chemical composition, plant genetic differences, and antifungal activity of the essential oil of *Helichrysum italicum* G. Don ssp. *microphyllum* (Willd) Nym, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51** (2003) 1030-1034

13. Guenther, E., The essential oils - Vol 1: History - Origin in plants - Production - Analysis, D. Van Nostrand Company, Inc., 2007., str. 77-85
14. Chamorro, E. R., Zambón, S. N., Morales, W. G., Sequeira, A. F., Velasco, G. A., Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography, *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications, InTechOpen*, 2012., 1-19
15. <http://essentialoils.co.za/components.htm> (pristup 4. rujna 2017.)
16. Loza-Tavera, H., Monoterpenes in essential oils, u: Shahidi, F., Kolodziejczyk, P., Whitaker, J. R., Munguia, A. L., Fuller, G., Chemicals via higher plant bioengineering, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999.
17. Bayala, B., HN Bassole, I., Scifo, R., Gnoula, C., Morel, L., Lobaccaro, JM. A., Simpure, J., Anticancer activity of essential oils and their chemical components - a review, *American Journal of Cancer Research*, **4** (6) (2014) 591-607
18. Goldsmith, D., Pirrung, M. C., Morehead, A. T., Total synthesis of natural products: A sesquidecade of sesquiterpenes: Total synthesis, 1980-1994. Part A: Acyclic and monocyclic sesquiterpenes, Vol. 10, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2007.
19. El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Aït Addi, E. H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., Elaïssari, A., Essential oils: From extraction to encapsulation, *International Journal of Pharmaceutics*, **483** (2015) 220–243
20. Jeyaratnama, N., Noura, A. H., Kanthasamy, R., Nourb, A. H., Yuvarajb, A. R., Akindoyoa, J. O., *Industrial Crops and Products* **92** (2016) 57–66
21. Chemat, F., Boutekedjiret, C., Extraction // Steam Distillation, *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, (2015) 1-11
22. Luque de Castro, M. D., Priego-Capote, F., *Journal of Chromatography A*, **1217** (2010) 2383–2389
23. Li, Y., Essential oils: from conventional to green extraction, u: Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Chemat, F., Essential oils as reagents in green chemistry, Springer International Publishing, Avignon, 2014., 9-19
24. Herrero, M., Cifuentes, A., Ibanez, E., Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae, *Food Chemistry* **98** (2006) 136–148
25. Mustapa, A. N., Abdul Manan, Z., , Mohd Azizi, C. Y., Subcritical and supercritical fluid extraction: A critical review of its analytical usefulness, *Journal of Chemical and Natural Resources Engineering*, **Special Edition** 164-180
26. Lang, Q., Wai, C. M., Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review, *Talanta* **53** (2001) 771–782

27. <http://www.apekssupercritical.com/apeks-advantage/why-subcritical-supercritical-co2-extraction/> (pristup 4. rujna 2017.)
28. Kadam, S., Kumar, T. B., Application of Novel Extraction Technologies for Bioactives from Marine Algae, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61** (2013) 4667-4675
29. Veličković, D. T., Milenović, D. M., Ristić, M. S., Veljković, V. B., Ultrasonic extraction of waste solid residues from the *Salvia* sp. essential oil hydrodistillation, *Biochemical Engineering Journal*, **42** (2008) 97–104
30. Veggi, P. C., Martinez, J., Meireles, M. A. A., Fundamentals of microwave extraction, u: Chemut, F., Cravotto, G., Microwave-assisted extraction for bioactive compounds, Springer US, 2013., 15-47
31. Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J., Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation, *Journal of Chromatography A*, **1043** (2004) 323–327
32. Camel, V., Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, *Trends in analytical chemistry*, **19** (4) (2000) 229-247
33. Vian, M. A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F., Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils, *Journal of Chromatography A*, **1190** (2008) 14–17
34. Pérez, L., Conde, E., Domínguez, H., Microwave hydrodiffusion and gravity processing of *Sargassum muticum*, *Process Biochemistry*, **49** (2014) 981–988
35. Sahraoui, N., Vian, M. A. Bornard, I., Boutekedjiret, C., Chemat, F., Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils, comparison with conventional steam distillation, *Journal of Chromatography A*, **1210** (2008) 229–233
36. McMurry, J., Organic Chemistry: With Biological Applications, Brooks Cole, Belmont, 2010.
37. <https://www.dartmouth.edu/~welderco/CC/index.htm>, (pristup 7. rujna 2017.)
38. Faust, C. B., Johnston, J., Reed, N., Modern chemical techniques : background reading for students and chemistry teachers, Royal Society of Chemistry, London, 1992., str. 120-123
39. Turina, S., Deur-Šiftar, Đ., Laboratorijski priručnik, Tehnička knjiga, Zagreb, 1962., str 485-601
40. Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., Principles of instrumental analysis, Fifth Edition, Saunders College Pub., 1998. str. 675-708
41. De Hoffman, E., Stroobant, V., Mass spectrometry: Principles and applications, Third Edition, Wiley & Sons, Chichester, 2007., str.1-10

42. Chapman, J. R., Practical Organic Mass Spectrometry, John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 1985., str. 1-17
43. Stashenko, E., Martinez, J. R., Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Advances in Gas Chromatography, *InTechOpen*, 2014.
44. Marriott, P. J., Shellie, R., Cornwell, C., *Journal of Chromatography A*, **936** (1-2) (2001) 1-22

8. PRILOZI

Tablica 5. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja dobivenog hidrodestilacijom smilja starosti tri dana u studenom

t, min	A,%	Spoj	M(g/mol)	
17,281	0,054759	Limonen	136,24	Monoterpen
21,158	0,179269	Linalol	154,25	Alkohol
23,802	1,288796	1-metilcikloakrilna kiselina etil ester	128,169	Ester
33,608	4,232026	Neril acetat	196,29	Ester
34,335	1,081733	Kopaen	204,3511	Seskviterpen
36,778	3,233815	2-(2,5-Dimetilciklopentil)-1-propanol	156,269	Alkohol
37,462	0,925044	Neril propionat	210,317	Ester
38,541	4,593985	Diisoamilene	140,2658	Alken
38,710	14,37256	β -Himakalen	204,3511	Seskviterpen
39,113	6,141792	β -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,416	4,491169	α -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,786	1,073082	Tetrahydroedulan	196,334	Alkan
43,419	0,708303	Gvaiol	222,37	Alkohol
44,004	1,074385	Rosifoliol	222,372	Alkohol
45,603	2,534855	β -Eudesmol	222,372	Alkohol
45,711	2,034495	7(11)-Selinen-4 α -ol	222,372	Alkohol
68,422	1,996814	Skvalene	410,718	Triterpen

Tablica 6. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja dobivenog hidrodestilacijom smilja starosti jedan dan u studenom

t, min	A, %	Spoj	M, g/mol	
17,270	0,206637	Limonen	136,24	Monoterpen
21,153	0,210085	Linalol	154,25	Alkohol
23,799	2,818139	1-metilcikloakrilna kiselina etil ester	128,169	Ester
33,610	10,11769	Neril acetat	196,29	Ester
34,333	2,111456	Kopaen	204,3511	Seskviterpen
36,197	3,428558	Kariofilen	204,3511	Seskviterpen
36,779	3,731749	2-(2,5-Dimetilciklopentil)-1-propanol	156,269	Alkohol
37,464	1,192713	Neril propionat	210,317	Ester
38,538	5,843276	1-Heksakozen	364,702	Alken
38,703	21,56313	β -Himakalen	204,3511	Seskviterpen
39,109	6,904263	β -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,414	4,221954	α -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,779	0,393999	Tetrahydroedulan	196,334	Alkan
42,228	2,051669	Tridekan, 7-cikloheksil-	266,505	Alkan
42,801	1,553315	(Z,E)-Farnesol	222,366	Alkohol
43,424	0,335149	Gvaiol	222,37	Alkohol
43,879	2,270531	Humulan-1,6-dien-3-ol	222,37	Alkohol
44,011	2,184094	Rosifoliol	222,372	Alkohol
44,903	0,743785	β -Eudesmol	222,372	Alkohol
45,717	3,251458	7(11)-Selinen-4 α -ol	222,372	Alkohol
71,367	7,624496	6,6-Dimetil-4,5-tetrametilen-2-fenil-5,6-dihidro-4H-1,3-oksazin	243,35	

Tablica 7. GC/MS analiza eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom pri 90 °C

t, min	A,%	Spoj
38.525	1,280369	Acetatna kiselina, cijano-
38.933	3,666901	1,3-Propanediol, 2-metil-2-nitro-, dinitrat
43.275	1,340542	o-Alilhidroksilamin
43.608	1,338738	Maslačna kiselina, 1,1-dimetiletil ester
50.692	1,282728	2-Akrilna kiselina, etenil ester
50.941	2,062346	Sumporasta kiselina, izobutil pentil ester
60.528	1,693532	2-Akrilna kiselina, etenil ester
64.442	4,662574	Pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion, 5-amino-6-nitrozo-
71.100	1,928049	Oksalna kiselina, ciklobutil etil ester
71.921	5,4517	Nonan, 3,7-dimetil-
72.543	9,686467	1-Pentanol, 4-metil-2-propil-
72.642	2,421721	L-Prolin, etil ester

Tablica 8. GC/MS analiza eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom pri 50 °C

t, min	A,%	Spoj
19.058	3,130151	Etilamin
23.567	2,848916	Propan, 2-nitro-
27.758	2,946724	Ciklopropan
28.367	2,459766	1,4-Dioksan-2,6-dion
71.217	2,225651	Diazirin
71.551	7,170939	Aziridin, 1-metil-
72.551	4,019639	Oksalna kiselina, ciklobutil heptil ester
72.658	2,37266	Oksalna kiselina, ciklobutil etil ester

Tablica 9. GC/MS analiza eteričnog ulja dobivenog vakuum destilacijom pri 70 °C

t, min	A,%	Spoj	M(g/mol)
3,739	4,663245	Etan, 1,1-dietoksi-	118,1742
10,270	1,208632	Etilamin	45,08
11,890	1,799525	Silan, metil-	46,1438
37,000	1,487133	Cijanamid	42,04
37,333	1,056355	Keten	42,037
38,584	1,357028	Propan	44,1
38,775	1,167217	Oksalna kiselina, dialil ester	170,164
41,414	1,184321	Ciklopropan	42,08
63,408	1,076627	2-Akrilna kiselina, etenil ester	98,0999
63,583	1,278	Acetatna kiselina, cijano-	85,0614
63,883	1,462505	Etanol, 2-nitro-, nitrat (ester)	136,0636
64,303	1,034737	o-Alilhidroksilamin	73,095
65,267	2,049044	1,3-Propanediol, 2-metil-2-nitro-, dinitrat	135,12
71,104	2,73314	1,4-Dioksan-2,6-dion	116,0722
72,275	1,019137	1,2-Propanediol, 3,3'-oksidi-, tetranitrat	346,1626
72,654	2,001848	1,2-Propanediol, dinitrat	166,0895
72,982	1,514056	Etanol, 2-nitro-, nitrat (ester)	136,0636
73,543	2,191976	1,2-Propanediol, dinitrat	166,0895

Tablica 10. GC/MS analiza eteričnog ulja dobivenog soxhlet ekstrakcijom heksanom

t, min	A, %	Spoj	
34.200	1,861027	Kopaen	Seskviterpen
35.465	8,090818	β -Himakalen	Seskviterpen
36.065	11,96911	Kariofilen	Seskviterpen
38.357	3,799107	α -Gurjunen	Seskviterpen
38.564	20,11011	β -Himakalen	Seskviterpen
38.680	3,31681	ar-Kurkumen	Seskviterpen
38.971	16,80447	Gvaia-10(14),11-dien	Seskviterpen
39.278	10,15568	α -Gvaiene	Seskviterpen
40.214	2,116784	δ -Kadinen	Seskviterpen

Tablica 11. GC/MS analiza eteričnog ulja dobivenog soxhlet ekstrakcijom etanolom

t, min	A, %	Spoj	
33.494	5,257233	β -Mircen	Monoterpen
34.204	2,559123	Kopaen	Seskviterpen
35.471	3,361261	α -Longipinen	Seskviterpen
36.070	7,33728	Izokariofilen	Seskviterpen
36.703	1,136095	trans- α -Bergamoten	Seskviterpen
38.362	2,865666	Seikelen	Seskviterpen
38.568	29,69225	α -Longipinen	Seskviterpen
38.683	5,011339	ar-Kurkumen	Seskviterpen
38.976	12,56881	1R,3Z,9s-4,11,11-Trimetil-8-metilenbiciklo[7.2.0]undec-3-en	Seskviterpen
39.283	8,080511	Aromadendren	Seskviterpen
40.219	1,94472	δ -Kadinen	Seskviterpen

Tablica 12. GC/MS analiza koncentrata smilja dobivenog maceracijom u heksanu u studenom

t, min	A,%	Spoj	M(g/mol)	
33,565	3,668746	β -Mircen	136,238	Monoterpen
34,283	5,078855	Kopaen	204,3511	Seskviterpen
35,548	7,126236	β -Himakalen	204,3511	Seskviterpen
36,148	7,695963	β -cis-Kariofilen	204,3511	Seskviterpen
36,778	1,083759	trans- α -Bergamoten	204,3511	Seskviterpen
38,437	3,662625	γ -Gurjunen	204,3511	Seskviterpen
38,642	30,22194	α -Longipinen	204,3511	Seskviterpen
39,053	16,31013	β -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,359	10,23069	1R,3Z,9s-4,11,11-Trimetil-8-metilenbicyklo[7.2.0]undec-3-en	204,3511	Seskviterpen
40,292	1,792908	δ -Kadinen	204,3511	Seskviterpen

Tablica 13. GC/MS analiza koncentrata smilja dobivenog maceracijom u etanolu u studenom

t, min	A,%	Spoj	M(g/mol)	
33,565	4,056759	β -Mircen	136,238	Monoterpen
35,549	3,704278	trans- β -Bergamoten	204,3511	Seskviterpen
36,150	5,454365	cis- α -Farnesen	204,3511	Seskviterpen
38,641	24,09801	trans- α -Bergamoten	204,3511	Seskviterpen
39,051	17,14326	α -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,359	9,747546	δ -Guaien	204,3511	Seskviterpen

Tablica 14. GC/MS analiza koncentrata smilja dobivenog maceracijom cvjetova smilja u heksanu u studenom

t, min	A,%	Spoj	M(g/mol)	
33,544	3,779776	β -Mircen	136,238	Monoterpen
34,257	3,894544	Kopaen	204,3511	Seskviterpen
35,525	3,491746	β -Himakalen	204,3511	Seskviterpen
35,907	1,962547	trans- α -Bergamoten	204,3511	Seskviterpen
36,124	8,426859	β -cis-Cariofilen	204,3511	Seskviterpen
36,757	2,107751	trans- α -Bergamoten	204,3511	Seskviterpen
38,415	2,567353	α -Gvaien	204,3511	Seskviterpen
38,621	40,98264	α -Longipinen	204,3511	Seskviterpen
39,029	10,7784	β -Selinen	204,3511	Seskviterpen
39,336	6,863359	1R,3Z,9s-4,11,11-Trimetil-8-metilenbicyklo[7.2.0]undec-3-en	204,3511	Seskviterpen
39,934	1,092616	α -Zingiberen	204,3511	Seskviterpen
40,269	1,506205	δ -Kadinen	204,3511	Seskviterpen

Tablica 15. Eterično ulje otopljeno u etanolu dobiveno iz smilja starog jedan dan (svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
33,584	17,45932	Neril acetat	Ester
38,661	9,237423	β -Himakalen	Seskviterpen
39,071	7,771994	β -Selinen	Seskviterpen
43,973	5,156184	Rosifoliol	Alkohol
39,378	4,780172	α -Selinen	Seskviterpen
36,746	4,726894	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
36,166	4,554709	Kariofilen	Seskviterpen
37,432	3,746487	Neril propionat	Ester
38,387	3,116555	Globulol	Alkohol
45,674	3,107283	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
35,567	2,054227	β -Himakalen	Seskviterpen
43,82	1,39078	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
44,863	1,176291	β -Eudesmol	Alkohol

Tablica 16. Eterično ulje otopljeno u etanolu dobiveno iz smilja starog dva dana (svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,624	5,478245	β -Himakalen	Seskviterpen
39,031	5,311688	β -Selinen	Seskviterpen
43,785	5,12354	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
38,459	3,626773	Tetrahydroedulan	Alkan
39,339	3,141689	α -Selinen	Seskviterpen
36,708	3,122065	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
33,542	1,942707	Neril acetat	Ester
55,132	1,489477	Palmitinska kiselina, metil ester	Ester
42,154	1,464269	6,10,13-Trimetiltetradecil izovalerat	Ester
42,73	1,418453	Kariofilen oksid	Oksid
46,139	1,395268	β -Bisabolol	Alkohol
46,706	1,331423	α -Bisabolol	Alkohol
60,753	1,30371	Metil elaidat	Ester
44,111	1,164604	Selina-6-en-4-ol	Alkohol

Tablica 17. Eterično ulje otopljeno u etanolu dobiveno iz smilja starog tri dana (svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,768	10,29489655	ar-Kurkumen	Seskviterpen
39,065	6,938737646	β -Selinen	Sesquiterpen
43,97	5,632557157	Rosifoliol	Alkohol
45,673	4,302827671	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
39,372	3,764129096	α -Selinen	Seskviterpen
38,489	3,537961894	Tetrahydroedulan	Alkan
42,766	2,91576717	Kariofilen oksid	Oksid
36,74	2,861980646	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
42,185	2,730926474	Oktakozil heptafluorobutirat	Ester
36,161	2,494542087	Kariofilen	Seskviterpen
43,818	2,181090655	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
33,574	1,752658187	Neril acetat	Ester
44,796	1,69478494	Karotol	Alkohol
46,173	1,657610014	β -Bisabolol	Alkohol
44,146	1,246979943	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
71,977	1,22787438	Dotriakontan	Alkan
35,562	1,150978527	β -Himakalen	Seskviterpen
39,759	1,120198014	5,9-Dimetil-2-(1-metiletil)-1-ciklodekanon	Keton
45,556	1,115961215	β -Eudesmol	Alkohol
43,381	1,070011788	Gvaiol	Alkohol

Tablica 18. Eterično ulje otopljeno u dietil eteru dobiveno od smilja starosti dva dana
(svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,75	13,23171491	β -Himakalen	Seskviterpen
12,062	10,70980542	3-Karen	Monoterpen
39,127	7,424341684	β -Selinen	Seskviterpen
33,626	7,108831824	Neril acetat	Ester
36,201	5,315235408	Cariofilen	Seskviterpen
35,597	4,70586348	α -Cedren	Seskviterpen
39,425	4,678174945	α -Selinen	Seskviterpen
36,773	3,407916388	7-Izopropenil-4,4,8,8-tetrametilbiciklo[4.2.0]octan-1,5-diol	Alcohol
17,283	3,294144016	D-Limonen	Monoterpen
34,328	2,306285888	α -Longipinen	Seskviterpen
38,556	2,164943875	Oktadecil heptafluorobutanoat	Ester
38,475	1,947791121	4,11-Selinadien	Seskviterpen
38,831	1,806648057	α -Kurkumen	Seskviterpen
37,453	1,800668721	Neril propionat	Ester
23,791	1,725051266	2-Krotonska kiselina, 3-metil-, pentil ester	Ester
37,678	1,177663549	α -Kariofilen	Seskviterpen

Tablica 19. Eterično ulje otopljeno u dietil eteru dobiveno od smilja starosti tri dana (svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
12,057	17,30339351	3-Karen	Monoterpen
38,708	13,83263929	β -Himakalen	Seskviterpen
33,608	7,277544602	Neril acetat	Ester
39,101	5,999274611	β -Selinen	Seskviterpen
36,189	5,033030745	Kariofilen	Seskviterpen
17,285	4,88223257	D-Limonen	Monoterpen
35,589	4,275070446	β -Himakalen	Seskviterpen
39,404	3,836039172	α -Selinen	Seskviterpen
38,522	3,282921511	Tetrahydroedulan	Alkan
36,763	2,954761395	Ciklopentan, 2-(1-hidroksi-2-propil)-1,3-dimetil-	Alkohol
23,795	2,329176451	2-Krotonska kiselina, 3-metil-, pentil ester	Ester
34,328	2,162623169	Di-epi- α -cedren	Seskviterpen
37,448	1,368099763	Neril propionat	Ester

Tablica 20. GC/MS analiza koncentrata smilja otopljenog u etanolu, dobivenog maceracijom u heksanu (svibanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,768	10,2949	ar-Kurkumen	Seskviterpen
39,065	6,938738	β -Selinen	Seskviterpen
43,97	5,632557	Rosifoliol	Alkohol
45,673	4,302828	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
39,372	3,764129	α -Selinen	Seskviterpen
38,489	3,537962	Tetrahydroedulan	Alkan
42,766	2,915767	Kariofilen oksid	Oksid
36,74	2,730926	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
42,185	2,494542	Oktakozil heptafluorobutirat	Ester
36,161	2,181091	Kariofilen	Seskviterpen
43,674	1,752658	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
33,574	1,694785	Neril acetat	Ester
44,796	1,65761	Karotol	Alkohol
46,173	1,24698	β -Bisabolol	Alkohol
44,146	1,227874	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
71,977	1,150979	Dotriakontan	Alkan
35,562	1,120198	β -Himakalen	Seskviterpen
39,759	1,115961	5,9-Dimetil-2-(1-metiletil)-1-ciklodekanon	Keton
45,556	1,070012	β -Eudesmol	Alkohol
43,381	1,043642	Gvaiol	Alkohol
44,857	1,038863	β -Eudesmol	Alkohol

Tablica 21. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja starosti jedan dan, otopljenog u etanolu
(lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,628	7,679847	β -Himakalen	Seskviterpen
62,084	7,636436	Skvalen	Triterpen
36,713	2,753876	Bisabolan	Seskviterpen
43,785	1,868967	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
39,032	1,566562	β -Selinen	Seskviterpen
36,13	1,127269	Kariofilen	Seskviterpen
35,531	1,014368	β -Himakalen	Seskviterpen

Tablica 22. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja starosti dva dana, otopljenog u etanolu
(lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,55	19,33292	β -Himakalen	Seskviterpen
33,442	10,05807	Neril acetat	Ester
38,942	6,652457	β -Selinen	Seskviterpen
36,617	6,234729	Bisabolan	Seskviterpen
38,317	5,494617	Tetrahydroedulan	Alkan
39,258	4,719546	α -Selinen	Seskviterpen
43,508	4,230275	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alkohol
36,033	3,759832	Kariofilen	Seskviterpen
34,15	2,91709	Kopaen	Seskviterpen
43,875	2,904805	Rosifoliol	Alkohol
45,417	2,666384	Selina-6-en-4-ol	Alkohol
40,192	1,785687	δ -Kadinen	Seskviterpen
35,408	1,628303	β -Himakalen	Seskviterpen
37,292	1,550844	Neril propionat	Ester
35,825	1,028493	α -Bergamoten	Seskviterpen
39,592	1,023274	5,9-Dimetil-2-(1-metiletil)-1-ciklodekanon	Keton

Tablica 23. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja starosti tri dana, otopljenog u etanolu (lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,63	13,47533	β -Himakalen	Seskviterpen
36,716	12,02038	Bisabolan	Seskviterpen
39,037	6,454878	β -Selinen	Seskviterpen
42,718	5,178051	Neril propionat	Ester
38,465	5,033387	Tetrahydroedulan	Alkan
33,549	4,51525	Neril acetat	Ester
39,344	3,664738	α -Selinen	Seskviterpen
45,645	2,848449	Selina-6-en-4-ol	Alcohol
43,789	2,829962	Humulan-1,6-dien-3-ol	Alcohol
42,159	2,774283	Oktakozil heptafluorobutirat	Ester
37,404	1,508889	Neril propionat	Ester

Tablica 24. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja starosti jedan dan, otopljenog u dietil eteru
(lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,729	17,54943	ar-Kurkumen	Seskviterpen
36,701	12,77684	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Alkohol
38,451	6,296697	Tetrahydroedulan	Alkan
43,768	5,584987	Kubenol	Alkohol
39,022	5,11799	β -Selinen	Seskviterpen
33,530	3,589198	Neril acetat	Ester
35,521	3,148866	β -Himakalen	Seskviterpen
34,254	2,964186	Kopaen	Seskviterpen
42,714	2,561828	Kariofilen oksid	Oksid
39,328	2,537032	α -Selinen	Seskviterpen
39,714	2,331185	Tetrahydroedulan	Alkan
36,118	2,26551	Kariofilen	Seskviterpen
40,036	1,890065	γ -Kadinen	Seskviterpen
40,263	1,735231	δ -Kadinen	Seskviterpen
42,360	1,673802	2-Hidroksi-(Z)9-pentadecenil propanoat	Ester
45,047	1,39583	τ -Kadinol	Alkohol
39,462	1,179528	α -Amorfen	Seskviterpen
44,228	1,176928	Geranil tiglat	Ester
45,545	1,029912	α -Kadinol	Alkohol

Tablica 25. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja starosti dva dana, otopljenog u dietil eteru
(lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,717	12,69784	ar-Kurkumen	Seskviterpen
33,533	11,95459	Neril acetat	Ester
38,447	7,177235	Tetrahydroedulan	Alkan
39,021	6,565858	β -Selinen	Seskviterpen
36,698	6,014627	Ciklopentan, 2-(1-hidroksi-2-propil)-1,3-dimetil-	Alkohol
39,329	4,138414	α -Selinen	Seskviterpen
39,715	2,661043	5,9-Dimetil-2-(1-metiletil)-1-ciklodekanon	Keton
43,919	2,585061	Rosifoliol	Alkohol
34,252	2,539481	Kopaen	Seskviterpen
43,767	2,449804	(-)-Izolongifolol, acetat	Ester
36,118	2,348855	Kariofilen	Seskviterpen
37,389	2,173899	Linalil izovalerat	Ester
38,078	1,644942	α -Longipinen	Seskviterpen
35,520	1,463537	β -Himakalen	Seskviterpen
45,622	1,296722	Smrekin kamfor	Alkohol
42,716	1,284181	Kariofilen oksid	Oksid
35,903	1,057394	α -Bergamoten	Seskviterpen
40,262	1,010149	δ -Kadinen	Seskviterpen

Tablica 26. GC/MS analiza eteričnog ulja od smilja starosti tri dana, otopljenog u dieti eteru
(lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,703	12,37624	Pentadec-7-en, 7-bromometil-	
36,719	11,45177	Ciklopentan, 2-(1-hidroksi-2-propil)-1,3-dimetil-	Alkohol
38,464	6,208514	Diisoamilen	Alken
37,399	5,101144	Neril propionat	Ester
39,034	4,826267	β -Selinen	Seskviterpen
42,370	4,519849	6,10,13-Trimetiltetradekanol	Alkohol
33,543	4,46345	Neril acetat	Ester
42,151	3,314064	6,10,13-Trimetiltetradekanol	Alkohol
39,342	3,112733	α -Selinen	Seskviterpen
42,710	2,952299	Maslačna kiselina, 3-metil-, 3,7-dimetil-2,6-oktadienil ester	Ester
38,035	2,833087	5,9-Dimetil-2-(1-metiletil)-1-ciklodekanon	Keton
43,781	2,611666	Kubenol	Alkohol
45,631	2,369603	Smrekin kamfor	Alkohol
42,505	1,493283	6,10,13-Trimetiltetradekanol	Alkohol

Tablica 27. GC/MS analiza koncentrata od smilja dobivenog maceracijom, otopljenog u dietil eteru (lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
38,800	16,73991883	β -Himakalen	Seskviterpen
33,667	11,35693415	Neril acetat	Ester
39,150	5,864817048	β -Selinen	Seskviterpen
36,892	4,5560587	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
36,233	4,216569736	Kariofilen	Seskviterpen
39,425	3,7544571	α -Selinen	Seskviterpen
37,467	3,073274804	Neril propionat	Ester
38,525	2,57034579	Globulol	Alkohol
34,350	2,539229281	Kopaen	Seskviterpen
12,067	2,390269541	1R- α -Pinen	Monoterpen
21,192	1,811318891	Linalol	Alkohol
35,617	1,71841541	Di-epi- α -cedren	Seskviterpen
35,992	1,087597448	α -Bergamoten	Seskviterpen

Tablica 28. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja dobivenog u šaržnom destilatoru, otopljenog u etanolu (lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
11,806	35,33713	α -Pinen	Monoterpen
38,473	13,46608	β -Himakalen	Seskviterpen
33,39	4,222242	Neril acetat	Ester
38,873	4,132382	β -Selinen	Seskviterpen
35,971	3,668571	Kariofilen	Seskviterpen
35,372	3,372559	α -Cedren	Seskviterpen
17,061	3,220986	Ciklobutan, 1,2-bis(1-metiletenil)-, trans-	Monoterpen
39,182	2,661195	α -Selinen	Seskviterpen
34,113	2,627078	Kopaen	Seskviterpen
36,561	2,451994	7-Izopropenil-4,4,8,8-tetrametilbiciklo[4.2.0]oktan-1,5-diol	Alkohol
38,293	2,079211	Globulol	Alkohol

Tablica 29. GC/MS analiza eteričnog ulja smilja dobivenog u šaržno destilatoru, otopljenog u dietil eteru (lipanj)

t, min	A, %	Spoj	
11,801	19,50981	α -Pinen	Monoterpen
38,473	15,05957	β -Himakalen	Seskviterpen
33,382	5,488806	Neril acetat	Ester
38,869	4,587649	β -Selinen	Seskviterpen
35,961	3,98796	Kariofilen	Seskviterpen
35,362	3,657687	α -Cedren	Seskviterpen
36,546	3,543493	Cikloheksan, 1-(1,5-dimetilheksil)-4-metil-	Seskviterpen
39,176	3,096693	α -Selinen	Seskviterpen
38,295	3,031219	Globulol	Alkohol
34,098	2,909272	Kopaen	Seskviterpen
17,048	2,495753	Ciklobutan, 1,2-bis(1-metiletetil)-, trans-	Monoterpen
35,748	1,057046	α -Bergamoten	Seskviterpen

9. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Dominik Kosir

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

Obrazovanje:

- II. Osnovna škola, Široki Brijeg
- Gimnazija fra. Dominika Mandića, Široki Brijeg
- Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Poznavanje jezika: engleski, njemački

Rad na računalu: MS Office, ChemCad, Matlab

Izdanja

- Ko-autor članka: Reuse of TiO₂-based catalyst for solar driven water treatment; thermal and chemical reactivation, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **333**, 2017.

Priznanja

- Dekanova nagrada za zapaženi studentski rad na temu „Od čvaraka do biodizela“

Projekti

- Prva znanstvena nagrada za timski projekt „Primjena dubokih eutektičkih otapala za proizvodnju biodizela“, Tehnologijada u Rovinju, 2016.
- Prisustvovanje 25. hrvatskom sastanku kemičara i kemijskih inženjera s posterom „Ekstrakcija eteričnog ulja i koncentrata iz smilja“