

# Izolacija i identifikacija hlapljivih spojeva bosiljka

---

**Naser Eddin, Manal**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:873864>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-22**

*Repository / Repozitorij:*

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



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA  
BOSILJKA**

**ZAVRŠNI RAD**

**MANAL NASER EDDIN**

**Matični broj: 552**

**Split, rujan 2024.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE**

**IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA**  
**BOSILJKA**

**ZAVRŠNI RAD**

**MANAL NASER EDDIN**

**Matični broj: 552**

**Split, rujan 2024.**

**UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECNOLOGY  
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMISTRY**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BASIL VOLATILE  
COMPOUNDS**

**BACHELOR THESIS**

**MANAL NASER EDDIN**

**Parent number: 552**

**Split, September 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu  
Prijediplomski studij kemije

**Znanstveno područje:** prirodne znanosti  
**Znanstveno polje:** kemija  
**Mentor:** doc. dr. sc. Marina Zekić

### IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA BOSILJKA

Manal Naser Eddin, 552

#### Sažetak:

U ovom završnom radu izvršena je izolacija i identifikacija hlapljivih spojeva iz listova, cvjetova i sjemena bosiljka. Izolacija je provedena metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) koristeći sivo vlakno. Ekstrakcije su provedene u vremenskim intervalima od 40, 60 i 80 minuta. Analiza spojeva je izvršena pomoću vezanog sustava plinska kromatografija - spektrometrija masa (GC-MS). Dobiveni rezultati su se razlikovali u ovisnosti o vremenu ekstrakcije i dijelovima biljke. Najzastupljeniji spoj listova i cvjetova bosiljka je linalol, dok je najzastupljeniji spoj u sjemenu *trans- $\alpha$* -bergamoten.

**Ključne riječi:** bosiljak, hlapljivi spojevi, HS-SPME, GC-MS

**Rad sadrži:** 35 stranica, 17 slika, 4 tablica, 22 literaturnih licenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu završnog rada:

|   |             |
|---|-------------|
| 1. prof. dr. sc. Ani Radonić            | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. Nives Vladislavić | član        |
| 3. doc. dr. sc. Marina Zekić            | mentor      |

#### Datum obrane:

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Undergraduate study of Chemistry**

**Scientific area:** Natural Sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Supervisor:** Marina Zekić, PhD, assistant professor

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BASIL VOLATILE COMPOUNDS

Manal Naser Eddin, 552

#### Abstract:

In this bachelor thesis, the isolation and identification of volatile compounds from basil leaves, flowers and seeds was performed. The isolation was performed with the solid phase microextraction method (HS-SPME) using a gray fiber. The extractions were carried out at time intervals of 40, 60 and 80 minutes. The analysis of compounds was performed using a coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The obtained results differed depending on the extraction time and plant parts. The most abundant compound in the basil leaves and flowers is linalool, while the most abundant compound in the seeds is *trans*- $\alpha$ -bergamotene.

**Keywords:** basil, volatile compounds, HS-SPME, GC-MS

**Thesis contains:** 35 pages, 17 figures, 4 tables, 22 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee for evaluation and defense of bachelor thesis:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Ani Radonić, PhD, Full prof.            | chair person |
| 2. Nives Vladislavić, PhD, Associate Prof. | member       |
| 3. Marina Zekić, PhD, Assistant Prof.      | supervisor   |

#### Defence date:

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

*Završni rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Marine Zekić, u razdoblju od svibnja 2024. do rujna 2024. godine.*



## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Marini Zekić na stručnim savjetima, strpljenju te prenesenom znanju tijekom pisanja ovog završnog rada.*

*Posebna zahvala mojoj obitelji na stalnoj podršci i razumijevanju.*

## ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Izolirati hlapljive spojeve iz cvjetova, listova i sjemena bosiljka metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) korištenjem sivog vlakna.
- Identificirati izolirane spojeve korištenjem vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).
- Ispitati utjecaj vremena ekstrakcije (40, 60 i 80 minuta) na profil hlapljivih spojeva različitih dijelova bosiljka.

## SAŽETAK

U ovom završnom radu izvršena je izolacija i identifikacija hlapljivih spojeva iz listova, cvjetova i sjemena bosiljka. Izolacija je provedena metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) koristeći sivo vlakno. Ekstrakcije su provedene u vremenskim intervalima od 40, 60 i 80 minuta. Analiza spojeva je izvršena pomoću vezanog sustava plinska kromatografija - spektrometrija masa (GC-MS). Dobiveni rezultati su se razlikovali u ovisnosti o vremenu ekstrakcije i dijelovima biljke. Najzastupljeniji spoj listova i cvijetova bosiljka je linalol, dok je najzastupljeniji spoj u sjemenu *trans- $\alpha$* -bergamoten.

**Ključne riječi:** bosiljak, hlapljivi spojevi, HS-SPME, GC-MS

## **ABSTRACT**

In this bachelor thesis, the isolation and identification of volatile compounds from basil leaves, flowers and seeds was performed. The isolation was performed with the solid phase microextraction method (HS-SPME) using a gray fiber. The extractions were carried out at time intervals of 40, 60 and 80 minutes. The analysis of compounds was performed using a coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The obtained results differed depending on the extraction time and plant parts. The most abundant compound in the basil leaves and flowers is linalool, while the most abundant compound in the seeds is *trans*- $\alpha$ -bergamotene.

**Keywords:** basil, volatile compounds, HP-SPME, GC-MS

## SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| UVOD.....  | 1  |
| 1. OPĆI DIO .....  | 2  |
| 1.1 Usnače .....   | 2  |
| 1.1.1 Osnovne karakteristike usnača.....                               | 2  |
| 1.2 Bosiljak .....   | 3  |
| 1.2.1 Sorte bosiljka .....   | 4  |
| 1.2.2 Dobrobiti za zdravlje.....                                       | 5  |
| 1.3 Aroma bosiljka .....   | 6  |
| 1.3.1 Monoterpeni.....   | 7  |
| 1.3.2 Fenilpropeni.....  | 8  |
| 2 EKSPERIMENTALNI DIO.....   | 10 |
| 2.1 Biljni materijal.....  | 10 |
| 2.1.1 Sistematika bosiljka.....  | 10 |
| 2.1.2 Uzimanje i priprema uzorka .....                                 | 10 |
| 2.2 Aparatura .....  | 10 |
| 2.3 Izolacija hlapljivih spojeva.....                                  | 11 |
| 2.3.1 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi.....                 | 11 |
| 2.4 Analiza hlapljivih spojeva.....                                    | 13 |
| 3 Rezultati .....  | 15 |
| 4 Rasprava.....  | 28 |
| 4.1 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi cvijeta bosiljka ..... | 28 |
| 4.2 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi lista bosiljka .....   | 28 |
| 4.3 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi sjemena bosiljka.....  | 29 |
| 5 Zaključci .....  | 31 |

|   |                              |    |
|---|------------------------------|----|
| 6 | Popis kratica i simbola..... | 33 |
| 7 | Literatura.....              | 34 |

## UVOD

Bosiljak, *Ocimum basilicum*, jednogodišnja biljka iz porodice usnača, *Lamiaceae*, ime vuče iz grčke riječi βασιλικός, kraljevski. Porijeklom je iz Indije i sjeveroistočne Afrike, a danas je raširena diljem svijeta zbog raznovrsnosti njezine upotrebe.

U kulinarstvu, bosiljak se koristi kao začin u svježem, sušenom ili smrznutom obliku. Njegovo eterično ulje ima važnu ulogu u kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. Također je popularan kao ukrasna biljka u vrtovima te se koristi u narodnoj medicini za liječenje raznih bolesti.

Bosiljak je poznat i po svojim kemijskim svojstvima. Eterično ulje bosiljka pripada različitim kemotipovima, među kojima su najznačajniji tipovi A, B, AB i BA. Tip A jest linalolski; tip B metilkavikolski; tip AB sadrži više linalola i manje metilkavikola; tip BA sadrži više metilkavikola i manje linalola. Geografsko podrijetlo biljke je ključno za određivanje kemijskog sastava i karakteristike bosiljka. Europski kemotip bosiljka smatra se najkvalitetnijim, zbog visokog udjela linalola i metilkavikola koji mu daju karakterističnu aromu.

Osim što se koristi kao začin u kulinarstvu, bosiljak ima i značajna ljekovita svojstva. Ljekarnički naziv cijele biljke je Herba Basilici, a eteričnog ulja, koje se dobiva destilacijom svježe biljke, Oleum Basilici. Eterično ulje bosiljka pokazuje nematocidna, antibakterijska i protugljivična svojstva te djeluje kao antioksidans i insekticid.

Sve ove karakteristike čine bosiljak izuzetno važnom biljkom koja kombinira ljepotu, okus i ljekovita svojstva te ga čine dragocjenim resursom u mnogim kulturama diljem svijeta.<sup>1</sup>

# 1. OPĆI DIO

## 1.1 Usnače

Usnače, latinski *Lamiaceae*, obitelj cvjetnih biljaka s oko 230 rodova i više od 7000 vrsta, najveća je obitelj reda *Lamiales*. Usnače su gotovo svjetski rasprostranjene, a mnoge vrste se uzgajaju zbog svojih mirisnih listova i privlačnih cvjetova. Mnoge vrste iz porodice usnača koriste se zbog svojih ljekovitih i začinskih svojstava te se uzgajaju i kao ukrasne biljke. U Hrvatskoj raste tridesetak rodova s otprilike 160 vrsta, uključujući razne križance. Među češćim ili poznatijim rodovima su metvica, kadulja, majčina dušica, vrisak, bosiljak, lavanda te mrtva kopriva.<sup>2,3</sup>

### 1.1.1 Osnovne karakteristike usnača

Biljke iz porodice *Lamiaceae*, poznate kao usnače, imaju karakterističan zeljasti ili drvenasti oblik te rastu kao grmlje. Specifičan miris koji emitiraju potječe od eteričnog ulja koje se nalazi u žljezdanim dlakama.

Morfološke su razlike između mnogih svojta unutar porodice male pa ih je teško taksonomski razlučiti. Zbog toga je i broj i rodova i vrsta različit u raznih autora.

Naziv usnače dolazi zbog načina na koji su raspoređeni cvjetovi, obično s laticama spojenim u gornju i donju usnu. Gornja usna štiti reproduktivne organe, dok donja služi kao mjesto na koje pristižu oprašivači. Listovi su nasuprotni, a stabljike često imaju kvadratni presjek. Cvijet ima obično četiri prašnika od kojih su dva dulja i dva kraća, iako neke vrste imaju samo dva prašnika. Plodnica je nadržala i četverogradna, s po jednim sjemenim zametkom u svakom pretincu.

Plod je dvoplodnički kalavac koji se obično raspada na četiri jednosjemena plodića raspoređena nasuprotno. Cvjetovi su većinom skupljeni u cvatove, s malim listićima koji variraju u veličini od 3 mm do 6 cm. Cvijet se sastoji od čaške zvonolikog oblika i jednobojnog vjenčića. Vjenčić je najčešće dvousnat, rjeđe je gornja usna zakržljala pa može biti i jednousnat.<sup>2-4</sup>



## 1.2 Bosiljak

Bosiljak (slika 1) je začinska biljka koja se koristi od davnina. Pretpostavlja se da potječe iz Indije, ali danas je najčešće u upotrebi u Francuskoj i Italiji. Riječ je o jednogodišnjoj zeljastoj biljci iz porodice usnača (*Lamiaceae, Labiateae*). U obliku čaja, bosiljak djeluje umirujuće i pomaže kod probavnih tegoba te ima antiseptička svojstva. Često se koristi za inhalaciju dišnih puteva. Stabljike bosiljka sadrže 0,5 – 1,5 % eteričnog ulja, s najviše metilkavikola (55 %), estragola i eugenola. Specifičan miris i aroma biljke potječu od eugenola.



**Slika 1.** Bosiljak (*Ocimum basilicum*)

Bosiljak je jednogodišnja biljka koja može narasti do visine od 80 cm. Ima uspravnu stabljiku, a listovi su mu jajasti s oštrim vrhom. Veličina listova se povećava prema bazi stabljike. Cvjetovi su mali i bijeli, smješteni na gornjem dijelu biljke. Koriijen bosiljka je razgranat, umjereno razvijen i prodire do dubine od oko 40 cm. Sjeme zadržava sposobnost klijanja 4 do 5 godina i klije 7 do 14 dana nakon sjetve. Masa 1000 sjemenki iznosi između 1,2 i 1,8 grama. Ova biljka najbolje uspijeva u umjereno toplim klimatskim uvjetima. Najpogodnija temperatura za klijanje bosiljka je između 18 i 20 °C, ali može proklijati i na minimalnoj temperaturi od 12 °C.

Bosiljak ima aromatičan, osvježavajući i blago pikantan okus. Najbolje je koristiti ga svježeg, jer sušenjem gubi miris i okus. Sadrži tvari koje imaju protuupalna svojstva i može pomoći kod problema s bubrezima, kao i kod probavnih i dišnih tegoba.<sup>5</sup>

## 1.2.1 Sorte bosiljka

Postoji mnogo sorti bosiljka, kao i nekoliko srodnih vrsta ili hibrida. Glavna vrsta koja se koristi kao začim je slatki bosiljak (*Ocimum basilicum* var. *basilicum*), poznat i kao genoveški bosiljak. Ova sorta se ističe svojom intenzivnom aromom nalik klinčiću i ključan je sastojak poznatog talijanskog umaka Pesto alla Genovese. Genoveški bosiljak se obično koristi svježi, dodaje se jelima neposredno prije posluživanja kako bi se sačuvao njegov bogat okus.

Tajlandski bosiljak (*Ocimum basilicum* var. *thyrsoflora*) je još jedna popularna sorta, poznata po svojoj karakterističnoj aromi koja podsjeća na anis. Ova sorta je često korištena u tajlandskoj i vijetnamskoj kuhinji.

Limunski bosiljak (*Ocimum basilicum* var. *citriodorum*) je hibridna sorta koja se ističe svojim citrusnim mirisom i okusom. Ova biljka je popularna u različitim kuhinjama za dodavanje svježeg, limunskog okusa jelima.

Sveti bosiljak (*Ocimum tenuiflorum*), također poznat kao tulsi, je višegodišnja biljka koja je posebno cijenjena u tradicionalnoj indijskoj medicini. Koristi se zbog svojih ljekovitih svojstava i smatra se svetom u hinduističkoj kulturi.

*Ocimum basilicum* "Aristotel", poznat kao grčki loptasti bosiljak, je patuljasta sorta koja ima vrlo male, ali intenzivno mirisne listove. Najčešće se uzgaja kao dekorativna biljka u vrtovima ili posudama te je poznata po svojim terapijskim svojstvima, uključujući antispazmodičko djelovanje na želudac i stimuliranje probave.

Aromatična biljka planinski bosiljak (*Ocimum basilicum* "Alpino"), poznat i kao "arktički bosiljak", je sorta koja ima glatke zelene listove intenzivne arome. Ova biljka ima svježi okus koji podsjeća na mraz i vrlo je otporna na niske temperature i visoku vlažnost. Njeni listovi se koriste u infuzijama za sedativno, probavno i antimikrobno djelovanje, a ulje se primjenjuje u masaži bolnih dijelova tijela.

Ljubičasti bosiljak (*Ocimum basilicum* var. *purpurascens* "Chianti") se ističe svojom atraktivnom smeđe-crvenom bojom i vrlo aromatičnim okusom. Dostiže visinu od 20 do 50 cm i popularan je izbor za dodavanje vizualnog i okusnog bogatstva jelima.

Svaka od ovih sorti bosiljka donosi jedinstvene okuse i arome koje obogaćuju kulinarska jela i pružaju različite zdravstvene prednosti.<sup>6,7</sup>

## 1.2.2 Dobrobiti za zdravlje

Bosiljak se najčešće koristi kao začinska biljka, a njegovi sastojci imaju i zdravstvene koristi, kao što su smanjenje oksidativnog stresa i podrška zdravlju kardiovaskularnog sistema.

Bosiljak može donijeti zdravstvene koristi kada se koristi u prehrani, kao biljni lijek ili u obliku eteričnog ulja. U narodnoj medicini se koristi za liječenje ugriza zmija, prehlade i upala u nosnim kanalima, što je uobičajeno kod prehlada. Bosiljak je bogat nekim makronutrijentima, poput kalcija i vitamina K te raznim antioksidansima.

Primjerice, slatki bosiljak ima visoku koncentraciju eugenola, koji mu daje miris sličan klinčiću. Limeta i limunski bosiljci sadrže puno limonena, koji im daje citrusni miris. Eugenol i limonen poznati su po svojim antioksidativnim svojstvima.

Antioksidansi su ključni za eliminaciju slobodnih radikala iz tijela. Slobodni radikali su nestabilne molekule koje nastaju tijekom metabolizma i drugih prirodnih procesa. Također se mogu stvoriti uslijed pušenja i nekih prehrambenih navika. Antioksidansi pomažu u uklanjanju tih molekula iz tijela. Ako se slobodni radikali ne eliminiraju, mogu uzrokovati oksidativni stres, što može dovesti do oštećenja stanica i potencijalno uzrokovati bolesti. Istraživanja su povezala oksidativni stres s raznim zdravstvenim problemima, uključujući rak, srčane bolesti, reumatoidni artritis i dijabetes. Tijelo može proizvoditi određene antioksidanse, ali je također važno unositi ih kroz prehranu. Bosiljak, primjerice, sadrži antocijanine i  $\beta$ -karoten, koji su poznati antioksidansi.

*Ocimum sanctum* L. ili *Ocimum tenuiflorum* L., poznat kao sveti bosiljak ili tulusi u različitim indijskim jezicima, značajna je ljekovita biljka u tradicionalnoj i narodnoj medicini jugoistočne Azije. Istraživanja su pokazala da ima protuupalna, analgetička, antipiretička, antidijabetička, hepatoprotektivna, hipolipidemijska, antistresna i imunomodulatorna svojstva. Predklinička istraživanja na miševima su otkrila da tulusi i neki od njegovih fitokemikalija, poput eugenola, ružmarinske kiseline, apigenina, mirtenala, luteolina,  $\beta$ -sitosterola i karnosolne kiseline, mogu pomoći u prevenciji karcinoma kože, jetre, usne šupljine i pluća uzrokovanih kemikalijama.<sup>8-11</sup>

### 1.3 Aroma bosiljka

Bosiljak (*Ocimum basilicum*) je aromatična biljka koja se široko koristi u kulinarstvu zbog svog jedinstvenog mirisa i okusa. Njegova popularnost proizlazi iz bogatog sastava eteričnih ulja, koja su glavni nositelji arome. Glavni sastojci eteričnih ulja bosiljka su monoterpeni i fenilpropeni.

Linalol je jedan od najistaknutijih monoterpena u bosiljku, poznat po svojim slatkim i cvjetnim notama. Ovaj spoj je dominantan u mnogim vrstama bosiljka, uključujući slatki bosiljak, gdje pridonosi njegovoj karakterističnoj, ugodnoj aromi. 1,8-Cineol, također poznat kao eukaliptol, doprinosi svježoj eukaliptusnoj aromi koja je posebno izražena u nekim sortama poput grčkog bosiljka. Eugenol, fenilpropen koji daje intenzivnu začinsku notu sličnu klinčiću, često je prisutan u svetom bosiljku (*Ocimum sanctum*), gdje stvara toplu, pikantnu aromu. Metilkavikol ili estragol daje anisne note, osobito u tajlandskom bosiljku, koji je poznat po svom specifičnom egzotičnom aromatičnom profilu.

Osim ovih ključnih spojeva, drugi kemijski spojevi također doprinose raznolikosti aroma među različitim vrstama bosiljka. Metil-cinamat, poznat po svojoj aromi sličnoj cimetu, može se naći u nekim specijalnim sortama poput cimernog bosiljka (*Ocimum basilicum* 'Cinnamon'). Citral, prisutan u limunskom bosiljku (*Ocimum basilicum* var. *citriodora*), pruža intenzivnu citrusnu aromu koja ovu vrstu čini posebno pogodnom za upotrebu u osvježavajućim pićima i marinadama.

Različite vrste bosiljka također pokazuju specifične kombinacije ovih spojeva, što rezultira jedinstvenim aromatičnim profilima. Slatki bosiljak, koji je možda najpoznatiji i najčešće korišten u kulinarstvu, sadrži specifičnu kombinaciju linalola, eugenola i metil-cinamata koja daje ugodnu, slatku i začinsku aromu. Tajlandski bosiljak, s visokim udjelom estragola i linalola, poznat je po svojim snažnim, anisnim notama, što ga čini idealnim za azijsku kuhinju. Limunski bosiljak, s citralom kao glavnim spojem, odlikuje se izraženom citrusnom notom, dok sveti bosiljak, bogat eugenolom i metileugenolom, nudi kompleksnu pikantnu i blago balzamičnu aromu. Grčki bosiljak, s kombinacijom linalola, cineola i metilkavikola, ima intenzivnu, pikantnu aromu sa suptilnim slatkim notama, zbog čega je često korišten u mediteranskoj kuhinji.

Kombinacija ovih aromatičnih spojeva u različitim omjerima ne samo da stvara jedinstvene mirisne profile, već i omogućuje upotrebu različitih vrsta bosiljka u specifičnim

kulinarskim i medicinskim primjenama. Na primjer, visok sadržaj eugenola u svetom bosiljku čini ga korisnim u tradicionalnoj medicini zbog njegovih protuupalnih i antimikrobnih svojstava. S druge strane, citral i limonen u limunskom bosiljku mogu pružiti osvježavajuće učinke, čineći ga popularnim u kozmetičkoj industriji i aromaterapiji. Različiti čimbenici, poput genetike, okolišnih uvjeta i metoda uzgoja, doprinose ovoj raznolikosti, što bosiljak čini izuzetno svestranom biljkom koja se koristi u mnogim industrijama.<sup>12-15</sup>

### 1.3.1 Monoterpeni

Terpeni su organski spojevi koji su glavni izvor mirisa biljaka. Riječ "terpeni" vuče korijene iz naziva "terpentin" (*Balsamum terebinthinae*). Terpentin je gusta, smolasta tekućina koja može biti svijetle ili tamne boje, a sadrži smole otopljene u eteričnim uljima. Kemijski gledano, terpentin se sastoji od mješavine nezasićenih ugljikovodika, pri čemu je pinen njegov glavni sastojak.

Poznato je otprilike 30000 različitih terpena, čija se osnovna struktura temelji na 2-metilbuta-1,3-dienskoj jedinici, koja je često poznata i kao izoprenska jedinica (C<sub>5</sub>). Terpeni su također poznati pod nazivom izoprenoidi. U prirodi, terpeni se obično javljaju kao ugljikovodici, alkoholi i njihovi glikozidi, eteri, aldehidi, ketoni, karboksilne kiseline te esteri. Terpeni se obično klasificiraju prema broju ugljikovih atoma ili izoprenskih jedinica (tablica 1)

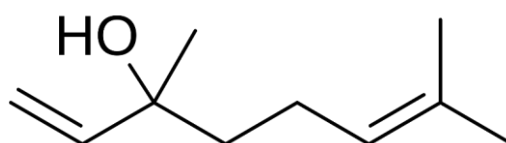
**Tablica 1.** Klasifikacija terpena

| Naziv terpena        | Broj C atoma   | Broj izoprenskih jedinica |
|----------------------|----------------|---------------------------|
| <b>Semiterpeni</b>   | 5              | 1                         |
| <b>Monoterpeni</b>   | 10             | 2                         |
| <b>Sesvikterpeni</b> | 15             | 3                         |
| <b>Diterpeni</b>     | 20             | 4                         |
| <b>Sesterterpeni</b> | 25             | 5                         |
| <b>Triterpeni</b>    | 30             | 6                         |
| <b>Tetraterpeni</b>  | 40             | 8                         |
| <b>Politerpeni</b>   | 5 <sub>n</sub> | n                         |

Kemijski sastav eteričnih ulja uglavnom čine terpeni s manjom molekulskom masom, poput monoterpena i seskviterpena.

Monoterpeni se sastoje od 10 ugljikovih atoma (dvije C<sub>5</sub> jedinice) i predstavljaju ključne komponente eteričnih ulja ljekovitih biljaka i začina. Monoterpeni su hlapljivi spojevi - sastojci eteričnih ulja. Mogu biti aciklički (linalol, citral, geraniol, mircen), monociklički (limonen, mentol) i biciklički (spojevi sa skeletom tujana i karana).

Od navedenih, kao što je već spomenuto, u bosiljku je najzastupljeniji monoterpen linalol (slika 2).<sup>16-18</sup>



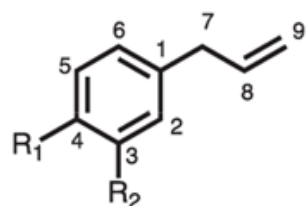
Slika 2. Strukturna formula linalola

### 1.3.2 Fenilpropeni

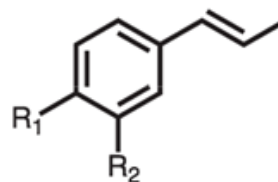
Fenolni spojevi se sastoje od barem jednog aromatskog prstena s barem jednom hidroksilnom skupinom. Osim tog strukturnog kriterija bitno je da fenolni spojevi zadovolje i biosintetski kriterij, odnosno to su spojevi koji nastaju šikiminskim biosintetskim putem ili kombinacijom šikiminskog i acetatnog biosintetskog puta.

Fenilpropeni, poput terpena, čine značajnu skupinu hlapljivih spojeva koje biljke ispuštaju. Ovi spojevi sadrže modificirani benzenov prsten (C<sub>6</sub>) s bočnim propenilnim lancem (C<sub>3</sub>). Raznolikost u strukturi fenilpropena proizlazi iz različitih položaja propenilne dvostruke veze i različitih supstituenata na benzenovom prstenu (slika 3). Te strukturne varijacije mogu utjecati na biološku aktivnost fenilpropena.

Fenilpropeni igraju ključnu ulogu u fiziološkim funkcijama biljaka, ali također značajno doprinose mirisima i okusima mnogih biljnih vrsta. Ljudi su ih kroz povijest koristili u razne svrhe; kao začine u kulinarstvu, farmaceutske agense i kao mirisne sastojke u kozmetici, zbog njihovog karakterističnog pikantnog ili biljnog mirisa.



$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$ , Kavikol  
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$ , Metilkavikol  
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3$ , Eugenol  
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3$ , Metileugenol

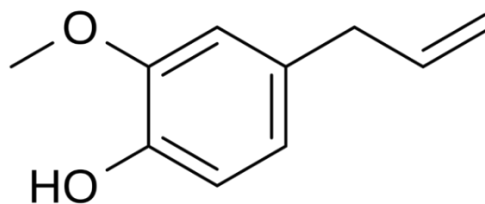


$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$ , *t*-Anetol  
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$ , *t*-Anetol  
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3$ , Izo Eugenol  
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3$ , Metilizo Eugenol

**Slika 3.** Strukture različitih fenilpropena ovisno o supstituentima i položaju dvostruke veze

Fenilpropeni su izazvali velik interes zbog svoje važnosti kao glavne aromatične komponente u raznim začinima, poput klinčića (*Eugenia caryophyllata*) i zvjezdanog anisa (*Illicium verum*), kao i u aromatičnim biljkama poput slatkog bosiljka (*Ocimum basilicum*) i komorača (*Foeniculum vulgare*). Eugenol čini 70–90 % eteričnog ulja klinčića, čime mu daje njegov prepoznatljiv, intenzivan miris. Zvezdasti anis bogat je (*E*)-anetolom (50–80 %), što mu daje jak okus anisa i sladićevu aromu. U slatkom bosiljku razlikuju se kemotipovi koji sadrže samo estragol, samo eugenol ili kombinaciju estragola i metileugenola u sličnim količinama, dok neki kemotipovi gotovo da ne sadrže fenilpropene. Komorač uglavnom sadrži estragol i (*E*)-anetol. Spomenute spojeve biljke koriste u obrani od patogena, s time da su eugenol, estragol i anetol posebno poznati po svojim antimikrobnim i protugljivičnim svojstvima.

Najpoznatiji fenilpropen u bosiljku je eugenol (slika 4), koji daje intenzivnu začinsku notu sličnu klinčiću.<sup>18-21</sup>



**Slika 4.** Strukturna formula eugenola

## 2 EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1 Biljni materijal

#### 2.1.1 Sistematika bosiljka

CARSTVO: *Plantae*

RAZRED: *Magnoliopsida*

RED: *Lamiales*

PORODICA: *Lamiaceae*

ROD: *Ocimum*

VRSTA: *O. basilicum*

#### 2.1.2 Uzimanje i priprema uzorka

Za izradu završnog rada korišteni su cvjetovi, listovi i sjeme bosiljka ubrani 5. prosinca 2023. godine na području Splita. Nakon branja, biljni materijal je čuvan u zamrzivaču do svibnja 2024. Odmrznutom biljnom materijalu odvojeni su listovi, cvjetovi i sjeme te su dijelovi usitnjeni kuhinjskim nožem.

### 2.2 Aparatura

Pri izradi završnog rada korištena je sljedeća aparatura:

- Aparatura za mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)
  - vodena kupelj s termostatom, Heidolph EKT 3001, Njemačka,
  - držač za mikroekstrakciju vršnih para, Supelco Co., SAD,
  - sivo vlakno s ovojnicom 50/30  $\mu\text{m}$  divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS), Supelco Co., SAD,
- Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)
  - GC 7820A, Agilent Technologies, SAD,
  - MSD 5977E, Agilent Technologies, SAD.

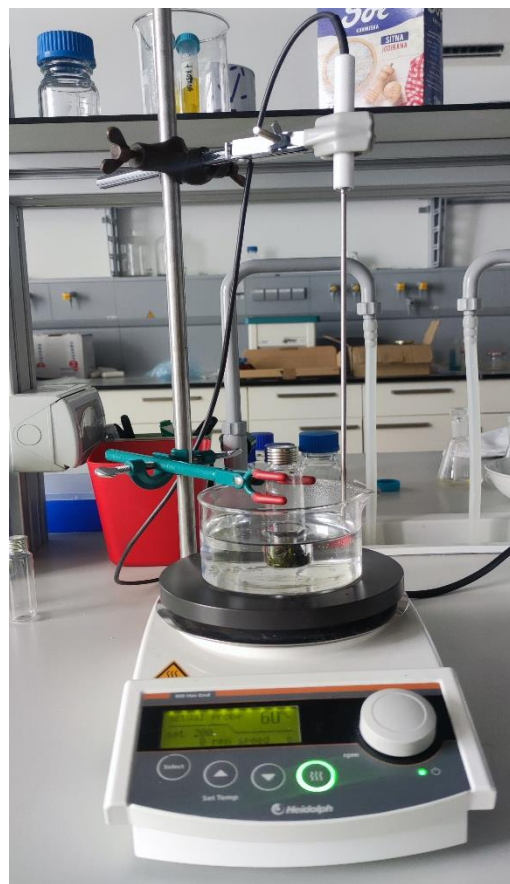


## 2.3 Izolacija hlapljivih spojeva

Pripremljeni uzorci cvijeta, lista i sjemena bosiljka podvrgnuti su mikroekstrakciji vršnih para na krutoj fazi korištenjem sivog vlakna, pri čemu je ekstrakcija provedena u tri različita vremenska intervala (40, 60 i 80 minuta).

### 2.3.1 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi

Pripremljeni i usitnjeni materijal stavlja se u staklene bočice (vijalice). Svaka staklena bočica napunjena je usitnjenim biljnim materijalom do visine od oko 1 cm (slika 5). Bočica je hermetički zatvorena i stavljena u vodenu kupelj pri temperaturi 60 °C i vremenu 15 minuta (slika 6). Tijekom zagrijavanja, vršne pare ispunjavaju prostor iznad uzorka.



**Slika 5.** Staklene bočice sa uzorkom **Slika 6.** Aparatura za mikroekstrakciju vršnih para

Za adsorpciju hlapljivih spojeva korišteno je sivo vlakno. Isto vlakno je upotrijebljeno za ekstrakciju vršnih para lista, cvijeta i sjemena bosiljka, pri čemu je adsorpcija hlapljivih spojeva trajala 40, 60 i 80 minuta. Kondicioniranje vlakna izvedeno je prema uputama proizvođača, postavljanjem SPME igle u injektor plinskog kromatografa na određenu temperaturu i u određenom vremenu. Nakon kondicioniranja SPME igla (slika 7) se probija kroz septum bočice, a vlakno se izvlači kako bi započela adsorpcija hlapljivih spojeva u trajanju od 40, 60 i 80 minuta. Po završetku adsorpcije, vlakno se uvlači natrag u iglu, koja se potom ručno prenosi i postavlja u injektor GC-MS-a na analizu. Tijekom sljedećih 7 minuta odvija se toplinska desorpcija ekstrahiranih spojeva.



**Slika 7.** SPME igla

## 2.4 Analiza hlapljivih spojeva

Analiza je provedena pomoću vezanog sustava plinske kromatografije i spektrometrije masa (GC-MS) (slika 8) koristeći GC-MS uređaj proizvođača Agilent Technologies: plinski kromatograf model 7820A i maseni spektrometar model 5977E, koji su povezani s računalom. Analize su izvedene na nepolarnoj koloni HP-5MS (5 % difenil – 95 % dimetilpolisiloksan) proizvođača Agilent Technologies, dimenzija 30 m x 0,25 mm, s debljinom stacionarne faze od 0,25 µm. Plin nositelj bio je helij s protokom od 1 mL/min.

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

- temperatura peći: 2 minute izotermno na 70 °C, zatim porast temperature od 70 °C do 200° C brzinom od 3 °C/min, s zadržavanjem od 2 minute na 200 °C
- temperatura injektora: 250 °C
- protok plina nositelja: 1 mL/min
- omjer cijepanja: 1:50
- ukupno trajanje analize: 1 sat.

Uvjeti rada spektrometra masa:

- energija ionizacije: 70 eV
- temperatura detektora: 280 °C
- interval snimanja spektra: 30-300 masenih jedinica.

Konačni rezultati GC-MS analize prikazani su na spojenom računalu u obliku kromatograma ukupne ionske struje. S kromatograma je moguće očitati vrijeme zadržavanja svakog sastojka i relativni udio pojedinog sastojka izražen u postocima. Pojedinačni spojevi identificirani su usporedbom njihovih masenih spektara s onima iz komercijalno dostupnih biblioteka masenih spektara, pri čemu su korištene Wiley275 i NIST20 biblioteke.



**Slika 8. GC-MS**

### 3 Rezultati

Hlapljivi spojevi cvijeta, lista i sjemena bosiljka izolirani su mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi korištenjem sivog vlakna. Adsorpcija hlapljivih spojeva na vlaknu je vršena u trajanju od 40, 60 i 80 minuta. Priprema uzoraka opisana je u poglavlju 2.1.2 eksperimentalnog dijela. Dobiveni uzorci hlapljivih spojeva podvrgnuti su analizi vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa. Rezultati su prikazani u tablicama (tablica 2-4) u kojima su identificirani spojevi poredani prema redoslijedu eluiranja s HP-5MS kolone. Kromatogrami ukupne ionske struje za uzorke hlapljivih spojeva prikazani su slikama (slika 9-17). Maseni udio pojedinačnih spojeva u uzorcima se izražava u postocima i predstavlja udio površine pika određenog spoja u ukupnoj površini svih pikova na kromatogramu. Spojevi su identificirani usporedbom njihovih masenih spektara sa masenim spektrima iz biblioteka masenih spektara NIST20 i Wiley275.

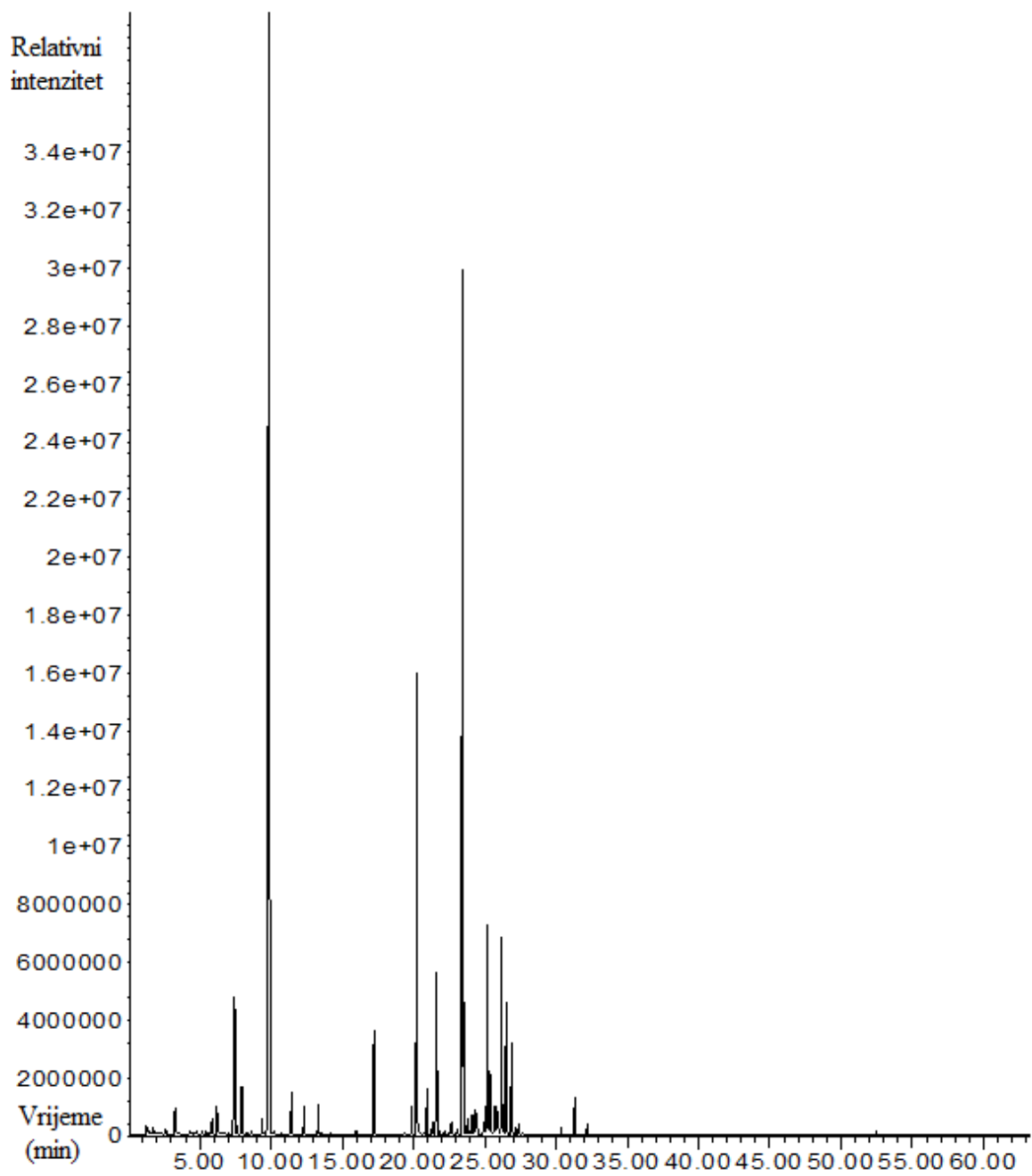
Značenje simbola u tablicama:

$t_R$  – vrijeme zadržavanja u minutama

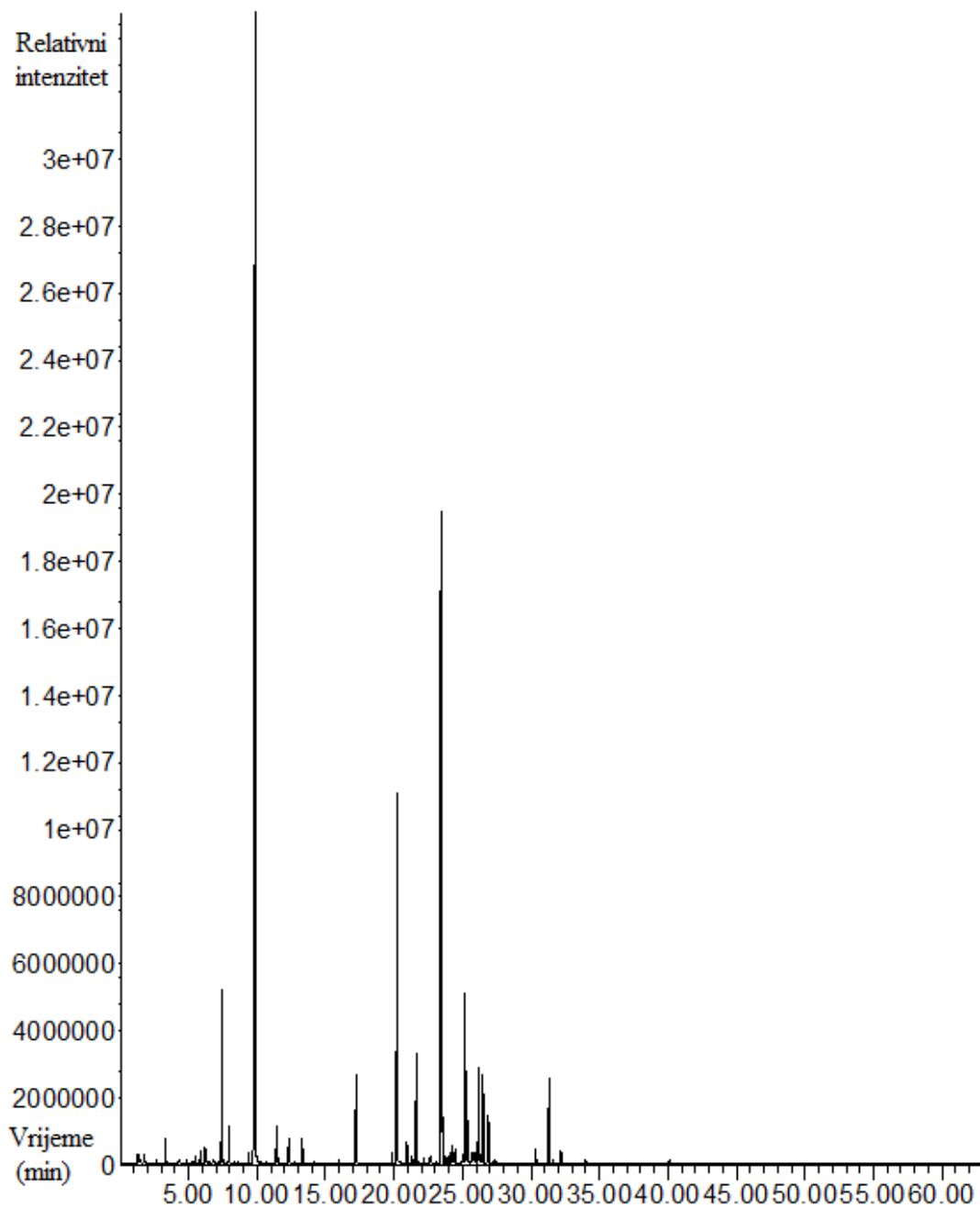
- spoj nije identificiran u uzorku.

**Tablica 2.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u vršnim parama cvijeta bosiljka izoliranim mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenima adsorpcije od 40, 60 i 80 minuta.

| <b>Redni broj</b>            | <b>Spoj</b>                         | <b>t<sub>R</sub> (min)</b> | <b>Udio (%) 40 minuta</b> | <b>Udio (%) 60 minuta</b> | <b>Udio (%) 80 minuta</b> |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1.                           | Heks-2-en-1-al                      | 3,31                       | 0,50                      | 0,42                      | 0,44                      |
| 2.                           | Benzaldehid                         | 5,47                       | -                         | 0,16                      | -                         |
| 3.                           | Okt-1-en-3-ol                       | 5,85                       | 0,40                      | 0,37                      | -                         |
| 4.                           | $\beta$ -Mircen                     | 6,19                       | 0,52                      | 0,23                      | 0,17                      |
| 5.                           | D-Limonen                           | 7,36                       | -                         | 0,34                      | 0,30                      |
| 6.                           | 1,8-Cineol                          | 7,42                       | 3,15                      | 2,89                      | 1,97                      |
| 7.                           | $\beta$ -Ocimen                     | 7,94                       | 0,83                      | 0,63                      | 0,84                      |
| 8.                           | Linalol                             | 9,89                       | 41,35                     | 47,87                     | 39,97                     |
| 9.                           | $\beta$ -Ocimen epoksid             | 11,35                      | 0,31                      | 0,27                      | -                         |
| 10.                          | Kamfor                              | 11,47                      | 0,63                      | 0,68                      | 1,12                      |
| 11.                          | Borneol                             | 12,30                      | 0,47                      | 0,55                      | 0,26                      |
| 12.                          | $\alpha$ -Terpineol                 | 13,30                      | 0,44                      | 0,49                      | 0,29                      |
| 13.                          | Bornil-acetat                       | 17,22                      | 1,59                      | 1,74                      | 1,07                      |
| 14.                          | $\alpha$ -Kubeben                   | 19,86                      | 0,43                      | 0,23                      | 0,39                      |
| 15.                          | Eugenol                             | 20,25                      | 8,89                      | 8,25                      | 11,73                     |
| 16.                          | $\alpha$ -Kopaen                    | 20,94                      | 0,71                      | 0,46                      | 0,76                      |
| 17.                          | $\beta$ -Burbonen                   | 21,32                      | 0,21                      | 0,17                      | 0,22                      |
| 18.                          | $\beta$ -Elemen                     | 21,62                      | 2,71                      | 2,36                      | 3,55                      |
| 19.                          | <i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten | 23,44                      | 18,86                     | 16,55                     | 16,78                     |
| 20.                          | $\alpha$ -Gvajen                    | 23,53                      | 1,78                      | 0,15                      | 2,01                      |
| 21.                          | Kadina-3,5-dien                     | 23,81                      | 0,25                      | -                         | -                         |
| 22.                          | Humulen                             | 24,08                      | 0,32                      | 0,29                      | 0,36                      |
| 23.                          | ( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen     | 24,26                      | 0,41                      | 0,40                      | 0,59                      |
| 24.                          | <i>cis</i> -Murola-4(14),5-dien     | 24,46                      | 0,46                      | 0,37                      | 0,43                      |
| 25.                          | $\gamma$ -Murolen                   | 25,02                      | 0,54                      | 0,22                      | 0,24                      |
| 26.                          | Germakren D                         | 25,19                      | 3,52                      | 3,61                      | 4,92                      |
| 27.                          | Biciklogermakren                    | 25,73                      | 0,68                      | 0,43                      | 0,40                      |
| 28.                          | Acifilen                            | 25,90                      | 0,47                      | 0,28                      | 0,43                      |
| 29.                          | $\delta$ -Gvajen                    | 26,18                      | 3,39                      | 2,23                      | 4,27                      |
| 30.                          | $\beta$ -Bisabolen                  | 26,30                      | -                         | 0,19                      | -                         |
| 31.                          | $\gamma$ -Kadinen                   | 26,49                      | 2,22                      | 1,94                      | 1,96                      |
| 32.                          | $\delta$ -Kadinen                   | 26,88                      | 1,68                      | 1,27                      | 1,29                      |
| 33.                          | Epikubenol                          | 30,35                      | -                         | 0,34                      | 0,26                      |
| 34.                          | $\tau$ -Kadinol                     | 31,31                      | 0,60                      | 1,78                      | 1,43                      |
| <b>UKUPNO IDENTIFICIRANO</b> |                                     |                            | <b>98,32</b>              | <b>98,16</b>              | <b>98,45</b>              |

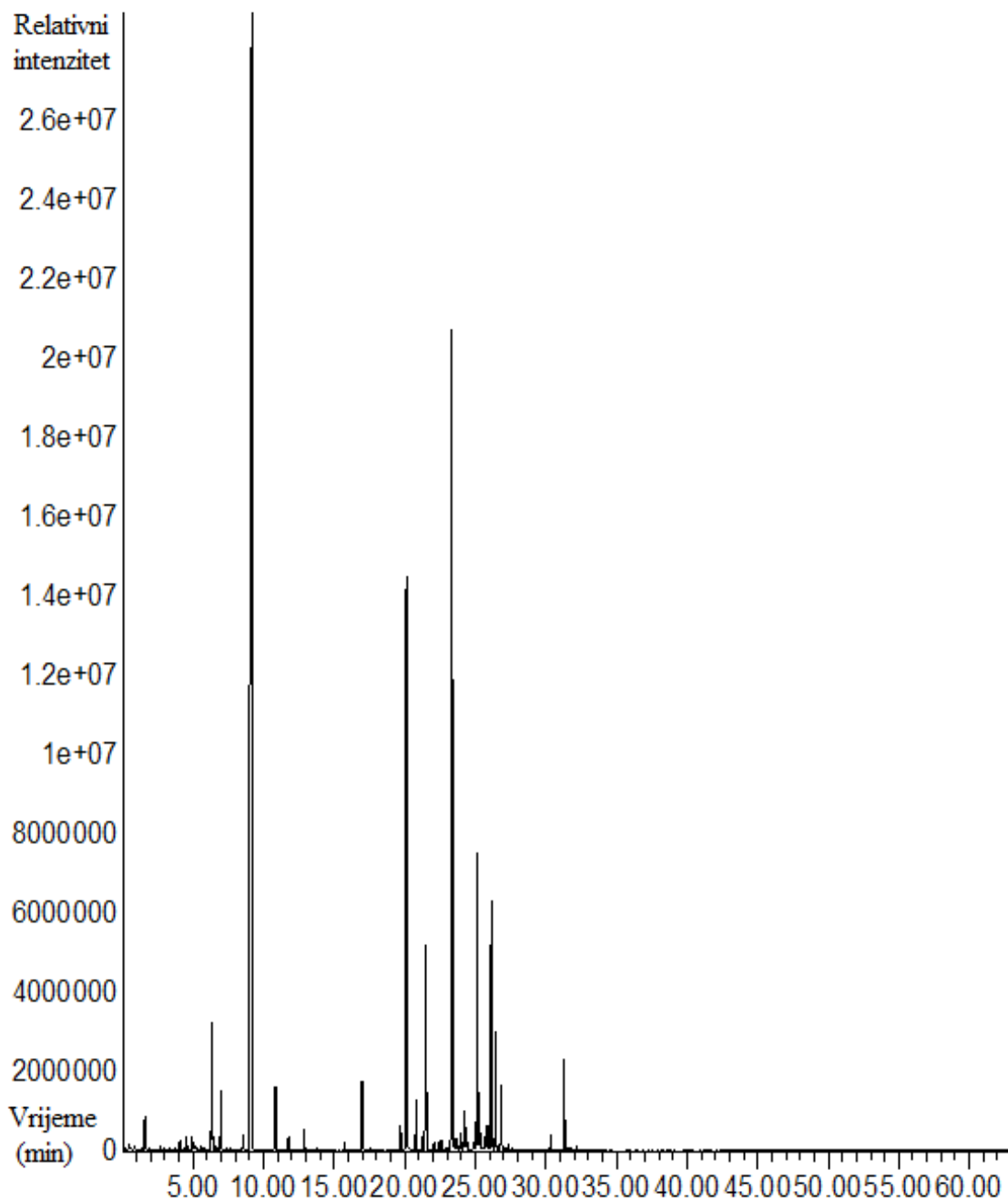


**Slika 9.** Kromatogram hlapljivog uzorka cvijeta bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 40 minuta



**Slika 10.** Kromatogram hlapljivog uzorka cvijeta bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 60 minuta.

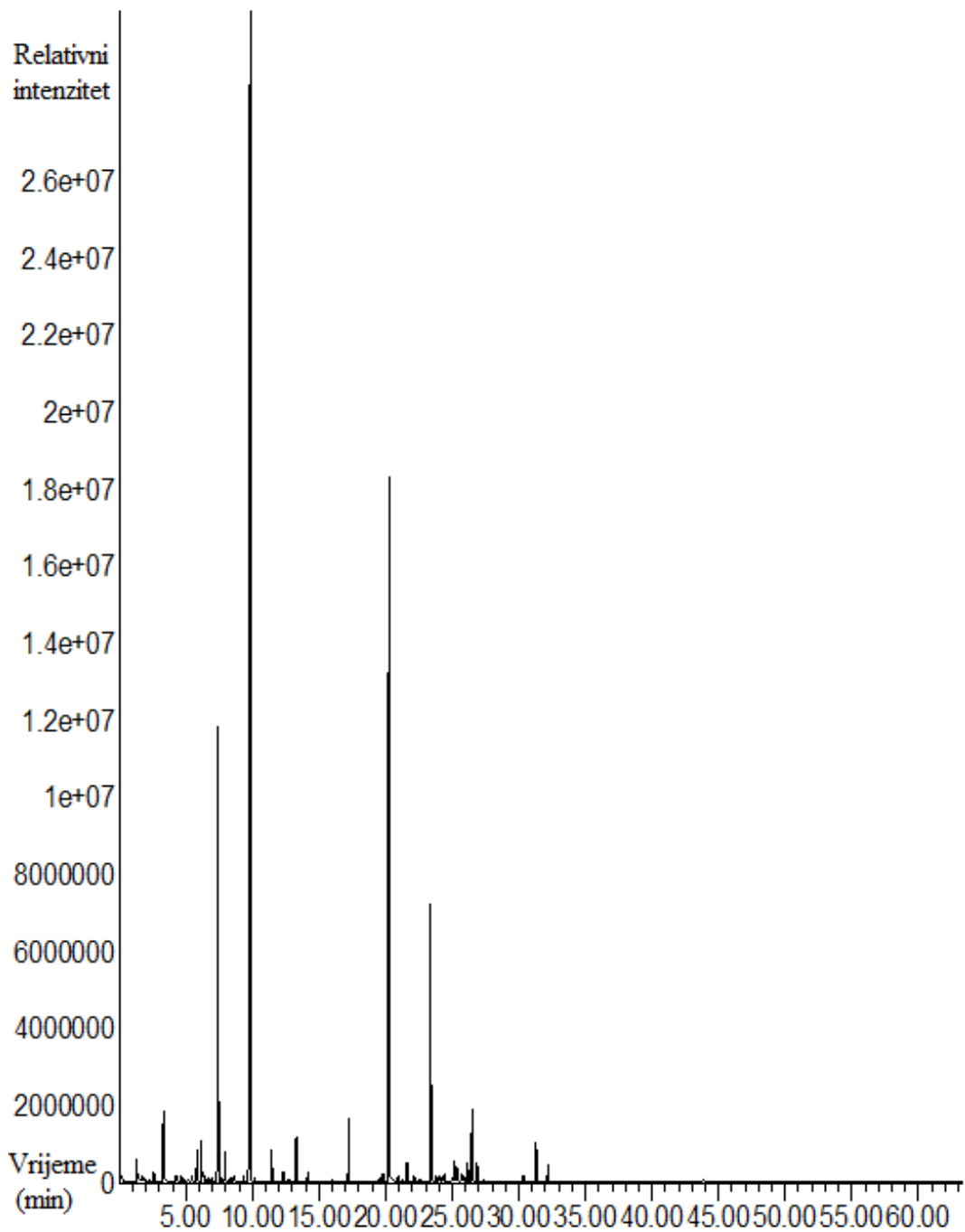




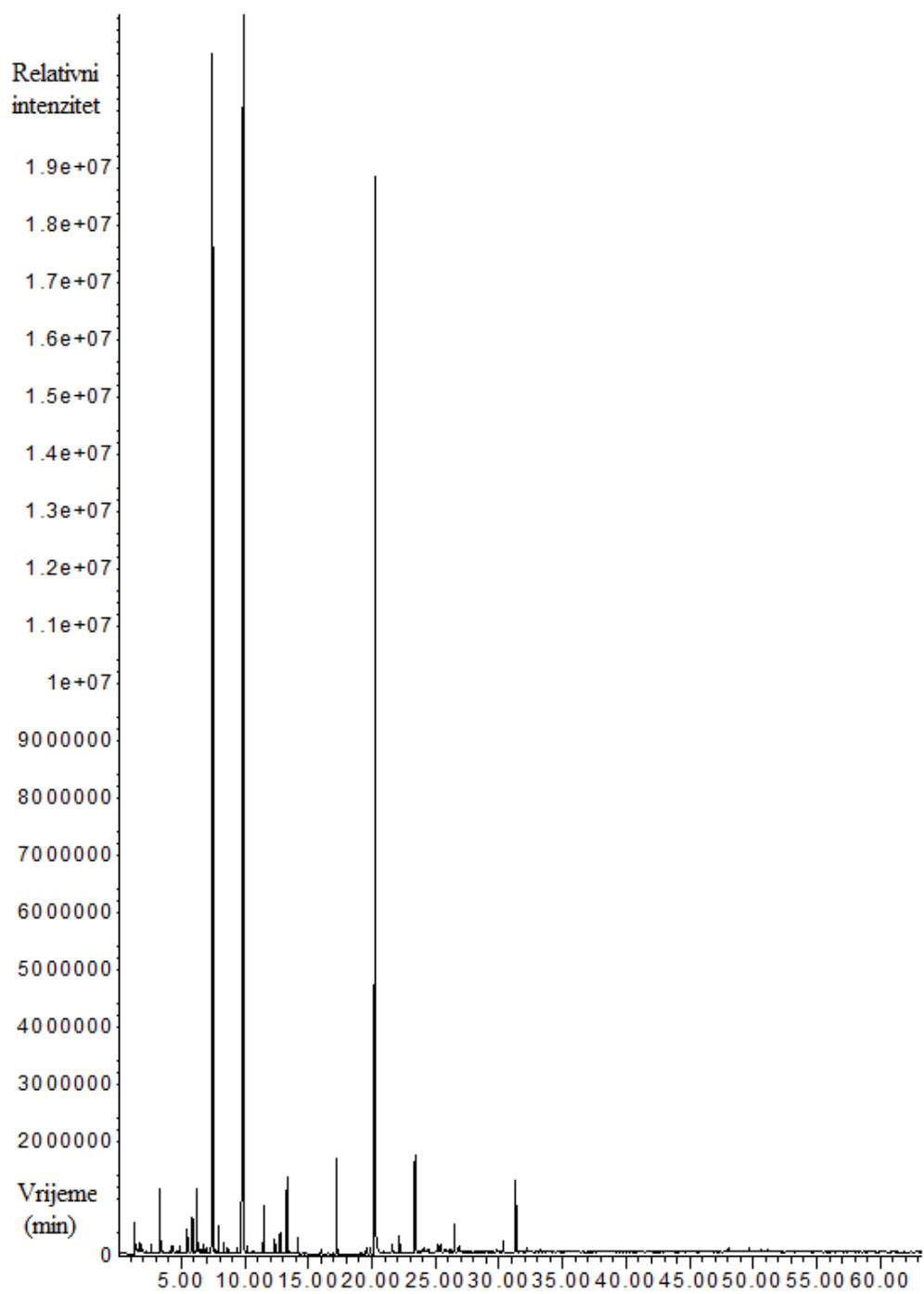
**Slika 11.** Kromatogram hlapljivog uzorka cvijeta bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 80 minuta.

**Tablica 3.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u vršnim parama lista bosiljka izoliranim mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenima adsorpcije od 40, 60 i 80 minuta.

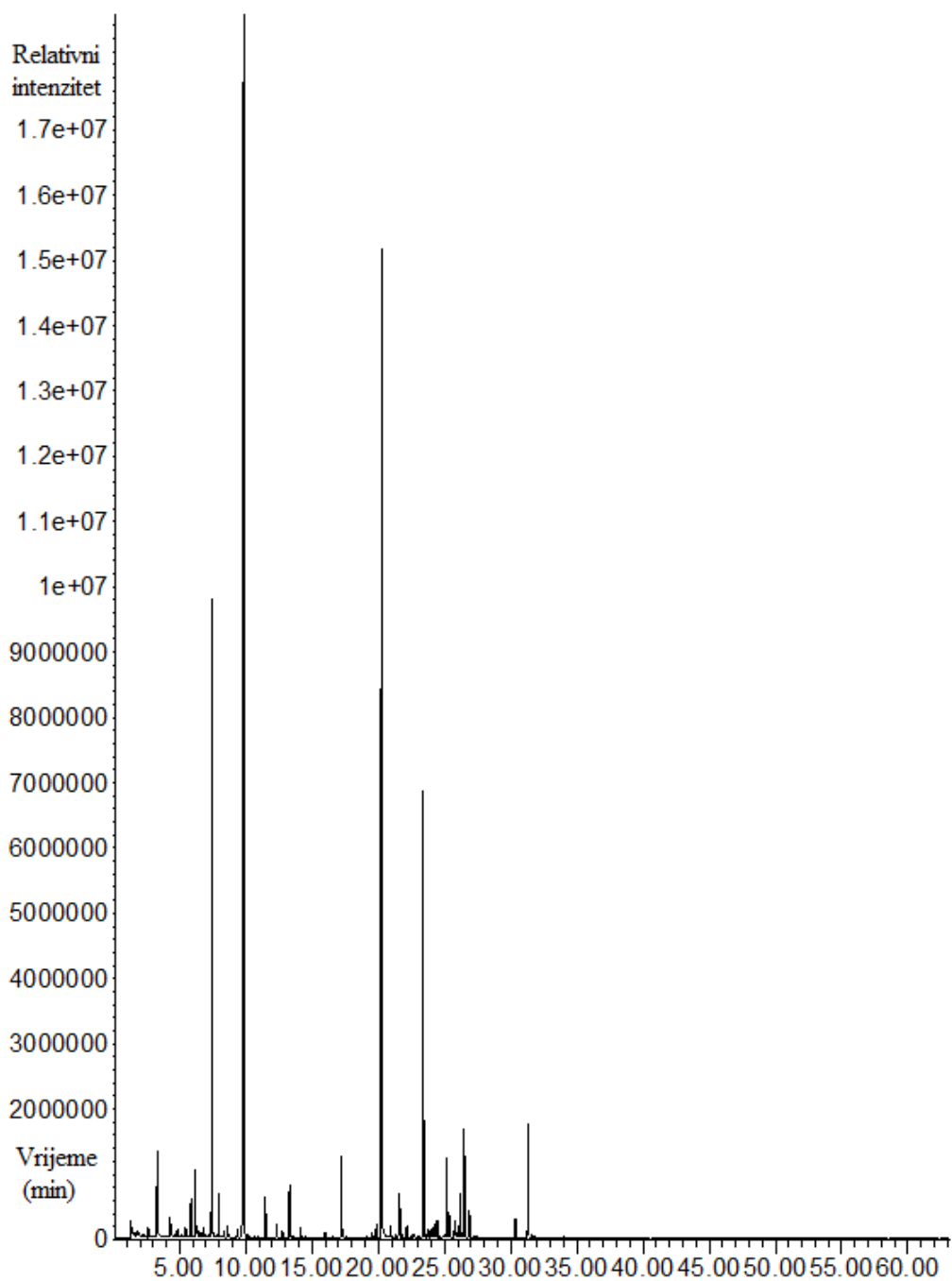
| <b>Redni broj</b>            | <b>Spoj</b>                         | <b>t<sub>R</sub> (min)</b> | <b>Udio (%) 40 minuta</b> | <b>Udio (%) 60 minuta</b> | <b>Udio (%) 80 minuta</b> |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1.                           | Heksanal                            | 2,61                       | 0,21                      | -                         | -                         |
| 2.                           | Heks-2-en-1-al                      | 3,31                       | 1,73                      | 0,92                      | 1,33                      |
| 3.                           | Heksa-2,4-dienal                    | 4,29                       | -                         | -                         | 0,37                      |
| 4.                           | Benzaldehid                         | 5,47                       | -                         | 0,39                      | -                         |
| 5.                           | Okt-1-en-3-ol                       | 5,85                       | 0,93                      | 0,94                      | 0,99                      |
| 6.                           | $\beta$ -Mircen                     | 6,19                       | 0,73                      | 0,90                      | 1,00                      |
| 7.                           | 1,8-Cineol                          | 7,42                       | 11,01                     | 20,24                     | 10,96                     |
| 8.                           | $\beta$ -Ocimen                     | 7,94                       | 0,63                      | 0,41                      | 0,68                      |
| 9.                           | Linalol                             | 9,89                       | 43,78                     | 38,25                     | 33,96                     |
| 10.                          | Kamfor                              | 11,47                      | 0,73                      | 0,82                      | 0,67                      |
| 11.                          | Borneol                             | 12,30                      | 0,35                      | -                         | -                         |
| 12.                          | Terpinen-4-ol                       | 12,76                      | -                         | 0,35                      | -                         |
| 13.                          | $\alpha$ -Terpineol                 | 13,30                      | 1,00                      | 1,23                      | 0,86                      |
| 14.                          | Oktil-acetat                        | 14,14                      | 0,22                      | 0,26                      | -                         |
| 15.                          | Bornil-acetat                       | 17,22                      | 1,45                      | 1,66                      | 1,44                      |
| 16.                          | $\alpha$ -Kubeben                   | 19,86                      | 0,20                      | -                         | 0,27                      |
| 17.                          | Eugenol                             | 20,25                      | 23,65                     | 28,67                     | 28,57                     |
| 18.                          | $\beta$ -Elemen                     | 21,62                      | 0,48                      | -                         | 0,87                      |
| 19.                          | Metileugenol                        | 22,16                      | -                         | 0,32                      | -                         |
| 20.                          | <i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten | 23,44                      | 6,45                      | 1,85                      | 8,31                      |
| 21.                          | $\alpha$ -Gvajen                    | 23,53                      | 0,34                      | -                         | 0,46                      |
| 22.                          | <i>cis</i> -Murola-4(14),5-dien     | 24,46                      | -                         | -                         | 0,38                      |
| 23.                          | Germakren D                         | 25,19                      | 0,52                      | -                         | 1,42                      |
| 24.                          | $\gamma$ -Murolen                   | 25,02                      | 0,53                      | -                         | 0,65                      |
| 25.                          | Biciklogermakren                    | 25,73                      | 0,30                      | -                         | 0,34                      |
| 26.                          | $\delta$ -Gvajen                    | 26,18                      | 0,50                      | -                         | 0,88                      |
| 27.                          | $\gamma$ -Kadinen                   | 26,49                      | 1,82                      | 0,54                      | 1,97                      |
| 28.                          | $\delta$ -Kadinen                   | 26,88                      | 0,63                      | -                         | 0,66                      |
| 29.                          | Epikubenol                          | 30,35                      | -                         | -                         | 0,40                      |
| 30.                          | $\tau$ -Kadinol                     | 31,31                      | 0,93                      | 1,40                      | 2,13                      |
| <b>UKUPNO IDENTIFICIRANO</b> |                                     |                            | <b>99,12</b>              | <b>99,15</b>              | <b>99,57</b>              |



**Slika 12.** Kromatogram hlapljivog uzorka lista bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 40 minuta



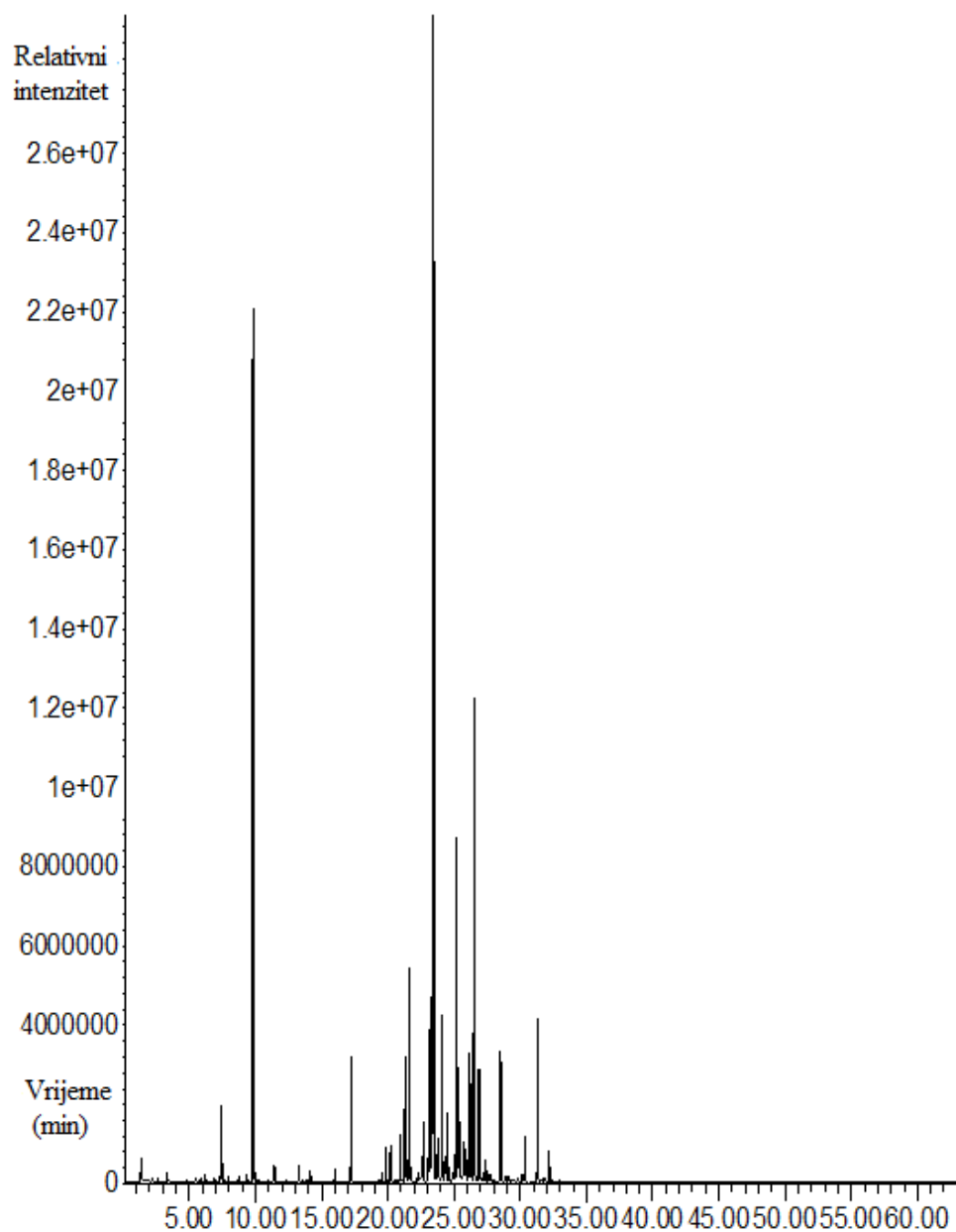
**Slika 13.** Kromatogram hlapljivog uzorka lista bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 60 minuta.



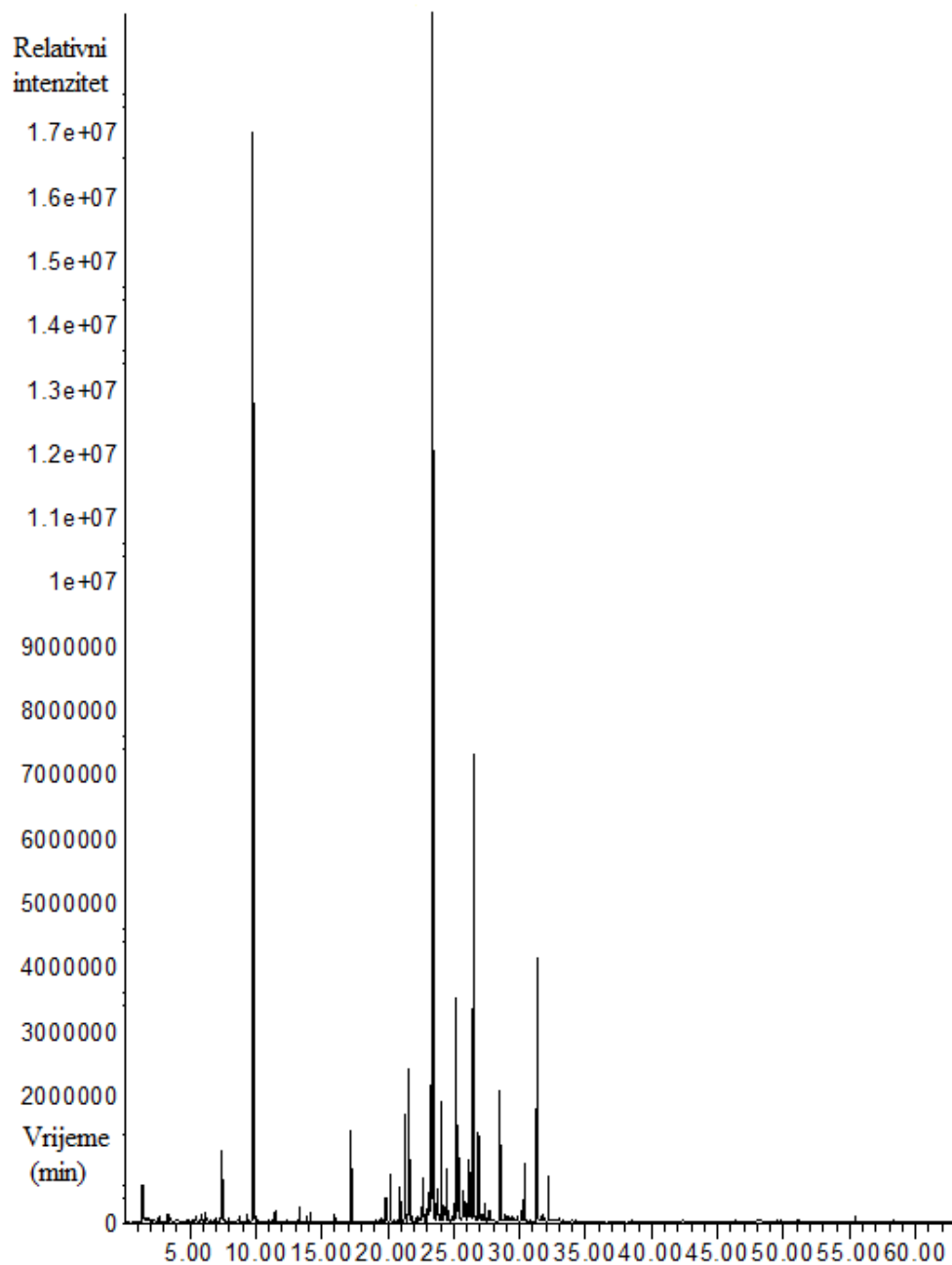
**Slika 14.** Kromatogram hlapljivog uzorka lista bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 80 minuta.

**Tablica 4.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u vršnim parama sjemena izoliranim mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenima adsorpcije od 40,60 i 80 minuta.

| <b>Redni broj</b>            | <b>Spoj</b>                         | <b>t<sub>R</sub> (min)</b> | <b>Udio (%)<br/>40 minuta</b> | <b>Udio (%)<br/>60 minuta</b> | <b>Udio (%)<br/>80 minuta</b> |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1.                           | Heks-2-en-1-al                      | 3,31                       | -                             | -                             | 0,13                          |
| 2.                           | Benzaldehid                         | 5,47                       | -                             | -                             | 0,17                          |
| 3.                           | 1,8-Cineol                          | 7,42                       | 1,16                          | 1,25                          | 1,93                          |
| 4.                           | Linalol                             | 9,89                       | 16,04                         | 20,50                         | 15,62                         |
| 5.                           | Nonanal                             | 9,91                       | -                             | 0,30                          | 0,19                          |
| 6.                           | $\beta$ -Ocimen epoksid             | 11,35                      | 0,24                          | -                             | -                             |
| 7.                           | Kamfor                              | 11,47                      | 0,23                          | -                             | 0,22                          |
| 8.                           | $\alpha$ -Terpineol                 | 13,30                      | 0,27                          | 0,28                          | 0,28                          |
| 9.                           | Oktil-acetat                        | 14,15                      | -                             | -                             | 0,18                          |
| 10.                          | Bornil-acetat                       | 17,22                      | 1,96                          | 1,59                          | 2,92                          |
| 11.                          | $\alpha$ -Kubeben                   | 19,86                      | 0,57                          | 0,47                          | 0,38                          |
| 12.                          | Eugenol                             | 20,25                      | 0,65                          | 0,90                          | 1,50                          |
| 13.                          | $\alpha$ -Kopaen                    | 20,94                      | 0,74                          | 0,69                          | 0,60                          |
| 14.                          | $\beta$ -Burbonen                   | 21,32                      | 2,23                          | 2,11                          | 3,06                          |
| 15.                          | $\beta$ -Elemen                     | 21,62                      | 3,84                          | 2,98                          | 3,42                          |
| 16.                          | <i>trans</i> -Kariofilen            | 22,69                      | 1,37                          | 1,10                          | 1,20                          |
| 17.                          | $\beta$ -Gurjunen                   | 23,20                      | 3,14                          | 2,63                          | 2,62                          |
| 18.                          | <i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten | 23,44                      | 28,01                         | 27,04                         | 23,75                         |
| 19.                          | $\alpha$ -Gvajen                    | 23,53                      | 0,56                          | 0,42                          | 0,62                          |
| 20.                          | Kadina-3,5-dien                     | 23,81                      | 0,74                          | 0,60                          | 0,49                          |
| 21.                          | Humulen                             | 24,08                      | 2,77                          | 2,20                          | 2,16                          |
| 22.                          | ( <i>Z</i> )- $\beta$ -Farnezen     | 24,26                      | 0,43                          | 0,33                          | 0,46                          |
| 23.                          | <i>cis</i> -Murola-4(14),5-dien     | 24,46                      | 1,48                          | 1,22                          | 1,31                          |
| 24.                          | $\gamma$ -Murolen                   | 25,02                      | 0,44                          | 0,37                          | -                             |
| 25.                          | Germakren D                         | 25,19                      | 6,04                          | 4,36                          | 4,85                          |
| 26.                          | Biciklogermakren                    | 25,73                      | 1,27                          | 1,02                          | 0,78                          |
| 27.                          | Acifilen                            | 25,90                      | 0,60                          | 0,53                          | 0,41                          |
| 28.                          | $\delta$ -Gvajen                    | 26,18                      | 2,54                          | 1,51                          | 2,01                          |
| 29.                          | $\beta$ -Bisabolen                  | 26,30                      | 0,46                          | 0,47                          | 0,43                          |
| 30.                          | $\gamma$ -Kadinen                   | 26,49                      | 8,77                          | 9,09                          | 9,10                          |
| 31.                          | $\delta$ -Kadinen                   | 26,88                      | 2,41                          | 2,26                          | 1,77                          |
| 32.                          | $\alpha$ -Kadinen                   | 27,40                      | 0,35                          | 0,30                          | 0,25                          |
| 33.                          | Spatulenol                          | 28,93                      | -                             | -                             | 0,30                          |
| 34.                          | Globulol                            | 29,16                      | -                             | -                             | 0,24                          |
| 35.                          | Epikubenol                          | 30,35                      | 0,76                          | 1,12                          | 1,38                          |
| 36.                          | $\tau$ -Kadinol                     | 31,31                      | 2,68                          | 5,10                          | 5,28                          |
| <b>UKUPNO IDENTIFICIRANO</b> |                                     |                            | <b>92,75</b>                  | <b>92,74</b>                  | <b>90,01</b>                  |

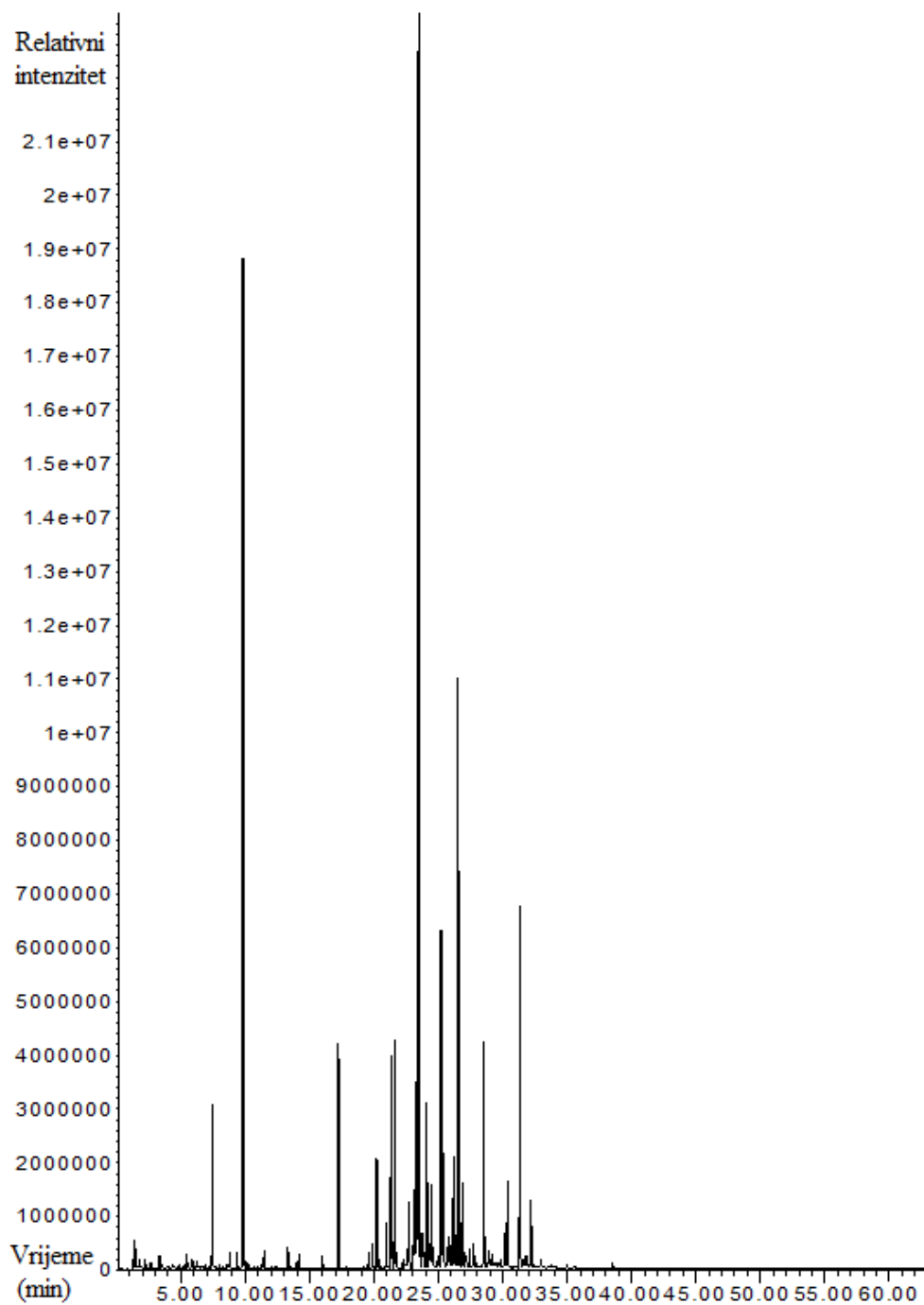


**Slika 15.** Kromatogram hlapljivog uzorka sjemena bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 40 minuta.



**Slika 16.** Kromatogram hlapljivog uzorka sjemena bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 60 minuta.





**Slika 17.** Kromatogram hlapljivog uzorka sjemena bosiljka izoliranog mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi u vremenu adsorpcije od 80 minuta.

## 4 Rasprava

U ovom završnom radu provedena je mikroekstrakcija vršnih para cvjetova, listova i sjemena bosiljka na sivom vlaknu pri čemu je adsorpcija hlapljivih spojeva vršena u trajanju od 40, 60 i 80 minuta. Cilj je bio utvrditi kako različiti dijelovi biljke reagiraju na različita trajanja ekstrakcije te kako se to odražava na prinos i aromatični profil svakog uzorka. U nastavku su detaljno opisani rezultati za svaki dio biljke u svakom vremenskom intervalu.

### 4.1 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi cvijeta bosiljka

Linalol, koji je dominantan spoj u eteričnom ulju bosiljka, pokazuje visoke udjele u svim vremenskim intervalima, od 39,97 % nakon 80 minuta do 47,87 % nakon 60 minuta. Kao terpenški alkohol, linalol doprinosi prepoznatljivom mirisu bosiljka s cvjetnim i začinskim notama. Iako se koncentracija linalola u početku povećava, najviši udio postiže se nakon 60 minuta ekstrakcije. Nakon ovog vremena, njegova koncentracija počinje opadati. Ovo sugerira da se linalol oslobađa najefikasnije u prvih 60 minuta ekstrakcije.

Eugenol, fenilpropen koji je prisutan u nižim koncentracijama, pokazuje rast od 8,89 % nakon 40 minuta do 11,73 % nakon 80 minuta. Ovaj porast ukazuje na postupno oslobađanje eugenola, koji doprinosi začinskim i začinjnim notama bosiljka. Fenilpropeni poput eugenola često se oslobađaju sporije u usporedbi s terpenima, što se odražava u njegovom povećanom udjelu tijekom duljeg vremena ekstrakcije.

1,8-Cineol, poznat i kao eukaliptol, pokazuje smanjenje udjela s 3,15 % nakon 40 minuta na 1,97 % nakon 80 minuta. Kao terpenški eter, 1,8-cineol doprinosi svježim, mentolnim notama.

*trans- $\alpha$* -Bergamoten, koji je prisutan u značajnim količinama (16,78 % nakon 80 minuta), je terpenški spoj koji pridaje složene citrusne i drvenaste note. Ostali spojevi poput  $\beta$ -elemena, germakrena D,  $\delta$ -gvajena i  $\gamma$ -kadinena identificirani su u manjim postotcima i uglavnom pokazuju povećanje udjela s duljim vremenom ekstrakcije.

## 4.2 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi lista bosiljka

Kod analize lista bosiljka, udio linalola u uzorku je najviši nakon 40 minuta ekstrakcije te iznosi 43,78 %, dok se produživanjem vremena ekstrakcije udio linalola u uzorku smanjuje (38,25 % nakon 60 minuta i 33,96 % nakon 80 minuta). Ovo ukazuje da se linalol oslobađa najefikasnije u prvih 40 minuta ekstrakcije. Produženje vremena ekstrakcije dovodi do smanjenja njegove koncentracije, što može sugerirati da linalol brže isparava ili prelazi u drugi oblik s duljim vremenom ekstrakcije. Stoga je optimalno vrijeme za ekstrakciju linalola iz lista bosiljka 40 minuta, jer ovo razdoblje omogućava maksimalnu koncentraciju ovog važnog terpenskog alkohola.

Eugenol pokazuje značajan porast udjela, s 23,65 % nakon 40 minuta do 28,67 % nakon 60 minuta, i stabilizira se na 28,57 % nakon 80 minuta. Ovaj trend pokazuje da eugenol nastavlja rasti u koncentraciji tijekom ekstrakcije, što sugerira da se oslobađa sporije i da dulja ekstrakcija omogućava postizanje viših udjela ovog spoja.

1,8-Cineol je prisutan u umjerenim koncentracijama, s udjelom od 11,01 % nakon 40 minuta i rastom do 20,24 % nakon 60 minuta, prije nego što se smanji na 10,96 % nakon 80 minuta. Ovaj spoj, koji doprinosi svježim i mentolnim notama, pokazuje promjene u koncentraciji, njegova koncentracija raste s povećanjem vremena ekstrakcije do određenog trenutka prije nego što počne opadati.

*Trans- $\alpha$* -Bergamoten je prisutan u značajnim količinama, s 6,45 % nakon 40 minuta i 8,31 % nakon 80 minuta. Ostali spojevi kao što su  $\beta$ -elemen i  $\gamma$ -kadinen također pokazuju promjene u koncentraciji s vremenom, dok spojevi poput germakrena D pokazuju povećanje udjela s duljim vremenom ekstrakcije, što dodaje kompleksnost aromatičnom profilu.

## 4.3 Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi sjemena bosiljka

*trans- $\alpha$* -Bergamoten je najdominantniji spoj u sjemenu bosiljka, s koncentracijom od 28,01 % nakon 40 minuta, 27,04 % nakon 60 minuta i 23,75 % nakon 80 minuta. Ovaj spoj, koji doprinosi citrusnim i drvenastim notama, pokazuje visoke koncentracije u svim vremenskim intervalima, s blagim opadanjem u duljim ekstrahiranjima. U usporedbi s cvijetom, gdje je također prisutan u značajnim količinama, *trans- $\alpha$* -bergamoten je znatno

dominantniji u sjemenu. To ukazuje na veću stabilnost i koncentraciju ovog spoja u sjemenu bosiljka, što ga čini ključnim za aromatični profil sjemena.

Linalol je prisutan u sjemenu bosiljka s udjelom od 16,04 % nakon 40 minuta, 20,50 % nakon 60 minuta i 15,62 % nakon 80 minuta. Iako je koncentracija linalola veća nakon 60 minuta, njegova koncentracija opada nakon duljeg vremena ekstrakcije. U usporedbi s cvijetom i listom, linalol u sjemenu bosiljka je prisutan u znatno manjem udjelu. To sugerira da sjemenke bosiljka imaju niže koncentracije linalola u usporedbi s cvijetom i listom te je optimalno vrijeme za ekstrakciju 60 minuta kada se postiže maksimalni udjel.

Eugenol u sjemenu bosiljka pokazuje udio od 0,65 % nakon 40 minuta, 0,90 % nakon 60 minuta i 1,50 % nakon 80 minuta. Ovaj fenilpropen pokazuje kontinuirani rast u koncentraciji s produžetkom vremena ekstrakcije, što je u skladu s njegovom tendencijom sporijeg oslobađanja. Eugenol je prisutan u znatno manjoj koncentraciji u sjemenu.

1,8-Cineol u sjemenu bosiljka pokazuje udio od 1,16 % nakon 40 minuta, 1,25 % nakon 60 minuta i 1,93 % nakon 80 minuta. Ovaj spoj, poznat po svojim svježim i mentolnim notama, pokazuje postupan porast koncentracije s vremenom ekstrakcije. U sjemenu bosiljka identificirane su relativno niske koncentracije ovog spoja.

## 5 Zaključci

Analizom kemijskog sastava i udjela hlapljivih spojeva u vršnim parama cvjetova, listova i sjemena bosiljka, izoliranim metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), utvrđeno je kako različiti vremenski intervali adsorpcije od 40, 60 i 80 minuta značajno utječu na aromatični profil dobivenih ekstrakata. Iako svi dijelovi bosiljka pokazuju sličan kemijski sastav, uočene su bitne varijacije u udjelima pojedinih spojeva koji oblikuju specifičnu aromu svakog dijela biljke.

- **Cvijet bosiljka**

Kod cvijeta bosiljka, linalol se ističe kao najdominantniji spoj, s najvećim udjelom zabilježenim nakon 60 minuta (47,87 %). Linalol koji je poznat po svojim cvjetnim i svježim notama čini osnovu aromatičnog profila cvijeta. Međutim, s produljenjem vremena adsorpcije na 80 minuta, udio linalola se smanjuje na 39,97 %, dok se udio eugenola i germakrena D povećava, što ukazuje na promjenu aromatičnog profila prema složenijim, začinskim i drvenastim notama s duljim vremenom ekstrakcije. Cvijet bosiljka stoga nudi prepoznatljive i intenzivne arome koje variraju od svježih i laganih do složenijih i težih, ovisno o vremenu ekstrakcije.

- **List bosiljka**

Slično cvijetu, list bosiljka također pokazuje značajan udio linalola, koji je najviši nakon 40 minuta (43,78 %) i smanjuje se s vremenom. Uz linalol, list bosiljka sadrži visoke udjele 1,8-cineola, posebno nakon 60 minuta (20,24 %), što daje biljnu, svježiju notu aromatičnom profilu lista. Udio eugenola se također povećava s dužim vremenom ekstrakcije, dajući listu dodatne začinske karakteristike. List bosiljka, zbog specifične kombinacije spojeva, nudi bogat, biljni aromatični profil koji se može koristiti u raznim industrijskim primjenama, od gastronomije do aromaterapije.

- **Sjeme bosiljka**

U slučaju sjemena bosiljka, *trans- $\alpha$* -bergamoten je dominantan spoj u svim uzorcima, bez obzira na duljinu vremena ekstrakcije. Njegov udio je najviši nakon 40 minuta (28,01 %) i lagano opada s produljenjem vremena ekstrakcije. Ovaj spoj doprinosi citrusnim i

začinskim notama u aromatičnom profilu sjemena. Dok se linalol i drugi spojevi kao što su germakren D i  $\delta$ -gvajen javljaju u nižim udjelima u odnosu na uzorke cvijeta i lista, uzorak sjemena bosiljka ima tendenciju zadržavanja složenijeg i zemljanijeg profila, s primjetnim smanjenjem svježih nota i povećanjem težih, drvenastih tonova s duljim vremenom ekstrakcije.

Kada usporedimo tri dijela bosiljka (cvijet, list i sjeme), primjećujemo da svaki ima specifičan aromatični profil koji se mijenja ovisno o vremenu ekstrakcije. Cvijet i list bosiljka imaju sličnosti u dominantnosti linalola, no list bosiljka sadrži veći udio 1,8-cineola, što mu daje prepoznatljivu biljnu aromu. S druge strane, sjeme bosiljka pokazuje veći udio *trans*- $\alpha$ -bergamotena, što rezultira drugačijim, začinsko-citrusnim karakterom. Dulji intervali ekstrakcije generalno smanjuju svježinu i povećavaju udio težih, kompleksnijih spojeva u svim dijelovima biljke.

Na temelju dobivenih rezultata, jasno je da se optimalno vrijeme mikroekstrakcije vršnih para bosiljka treba prilagoditi specifičnim potrebama i željenom aromatičnom profilu konačnog proizvoda. Kraći intervali od 40 minuta pružaju svježije, lagane i prepoznatljive arome, dok duži intervali omogućuju razvoj kompleksnijih i bogatijih profila.

## 6 Popis kratica i simbola

GC - plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography*)

MS - masena spektrometrija (engl. *Mass Spectrometry*)

GC-MS - vezani sustav plinska kromatografija - spektrometrija masa (engl. *Gas Chromatography - Mass Spectrometry*)

HP-SPME - mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *Headspace Solid-Phase Microextraction*)

HP-5MS – kolona s nepolarnom stacionarnom fazom kemijskog sastava 5% difenil - 95% dimetilpolisiloksan

t<sub>R</sub> – vrijeme zadržavanja u minutama

- spoj nije identificiran u uzorku

## 7 Literatura

1. URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/bosiljak> (31. 7. 2024.)
2. F. Zrile, Suvremena proizvodnja i ljekovita svojstva bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), Diplomski rad, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2019.
3. URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/63419> (31. 7. 2024.)
4. URL: <https://www.britannica.com/plant/Lamiaceae> (31. 7. 2024.)
5. URL: <https://www.agroklub.com/sortna-lista/ljekovito-bilje/bosiljak-349/> (31. 7. 2024.)
6. URL: [JYSK GOFYH FuD W33A 24 25s BA 89514 \(youtube.com\)](https://www.youtube.com/watch?v=SgRE9OiJW6o) (3. 8. 2024.)
7. URL: <https://www.youtube.com/watch?v=SgRE9OiJW6o> (3. 8. 2024.)
8. S. Das, K. W. Sultana, I. Chandra, In vitro propagation, phytochemistry and pharmacology of *Basilicum polystachyon* (L.) Moench (*Lamiaceae*): A short review, S. Afr. J. Bot. **155** (2023) 178-186, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.009>.
9. URL: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/266425> (3.8.2024.)
10. M. S. Baliga, R. Jimmy, K. R. Thilakchand, V. Sunitha, N. R. Bhat, E. Saldanha, S. Rao, P. Rao, R. Arora, P. L. Palatty, *Ocimum sanctum* L. (Holy Basil or Tulsi) and its phytochemicals in the prevention and treatment of cancer, Nutr. Cancer, **65** (2013) 26–35, <https://doi.org/10.1080/01635581.2013.785010>.
11. K. F. Saaban, C. H. Ang, C. H. Chuah, S. M. Khor, Chemical constituents and antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*, Iran. J. Chem. Chem. Eng., **38** (2019) 139–152, <https://doi.org/10.30492/ijcce.2019.30660>.
12. M. Patel, R. Lee, E. V. Merchant, H. R. Juliani, J. E. Simon, B. J. Tepper, Descriptive aroma profiles of fresh sweet basil cultivars (*Ocimum spp.*): relationship to volatile chemical composition, J. Food Sci., **86** (2021) 3228–3239, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15797>.
13. J. Simon, M. Morales, W. Phippen, R. Vieira, Z. Hao, Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb, Perspect. New Crops New Uses, **16** (1999).
14. P. Du, H. Yuan, Y. Chen, H. Zhou, Y. Zhang, M. Huang, Y. Jiangfang, R. Su, Q. Chen, J. Lai, et al., Identification of key aromatic compounds in basil (*Ocimum* L.) using sensory evaluation, metabolomics and volatilomics analysis, Metabolites, **13** (2023) 85,



<https://doi.org/10.3390/metabo13010085>.

15. S. M. Mulugeta, Z. Pluhár, P. Radácsi, Phenotypic variations and bioactive constituents among selected *Ocimum* species, *Plants*, **13** (2024) 64, <https://doi.org/10.3390/plants13010064>.
16. S. Marina, Terpeni - prirodni organski spojevi, Završni rad, , Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2016.
17. E. Maras, Hlapljivi spojevi cvijeta crnog jasena (*Fraxinus ornus* L.), Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, 2020.
18. B. Borović, Hlapljivi spojevi muškatne kadulje, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2020.
19. R. G. Atkinson, Phenylpropenes: occurrence, distribution, and biosynthesis in fruit, *J. Agric. Food Chem.*, **66** (10) (2018) 2259–2272, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc>.
20. T. Koeduka, The phenylpropene synthase pathway and its applications in the engineering of volatile phenylpropanoids in plants, *Plant Biotechnol.*, **31** (2014) 401–407, <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.0801a>.
21. E. Klimánková, K. Holadová, J. Hajšlová, T. Čajka, J. Poustka, M. Koudela, Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions, *Food Chem.*, **107** (2008) 464–472, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.062>.
22. M. Baković, L. Perković, G. Matijević, A. Martić, T. Vujović, S. Ekić, M. Fumić, S. Jurić, R. Čož-Rakovac, M. Roje, et al., Bioprospecting of five *Ocimum* sp. cultivars from Croatia: new potential for dietary and dermatological application with embryotoxicity tests, *Pharmaceuticals*, **16** (2023) 981, <https://doi.org/10.3390/ph16070981>.