

Usporedba profila hlapljivih spojeva eteričnih ulja motra te hlapljivih spojeva pripadajućih hidrolata dobivenih različitim postupcima ekstrakcije

Bakarić, Andrea

Master's thesis / Diplomski 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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:073331>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**

Repository / Repozitorij:

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



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

**USPOREDBA PROFILA HLAPLJIVIH SPOJEVA
ETERIČNIH ULJA MOTRA TE HLAPLJIVIH
SPOJEVA PRIPADAJUĆIH HIDROLATA
DOBIVENIH RAZLIČITIM POSTUPCIMA
EKSTRAKCIJE**

DIPLOMSKI RAD

Andrea Bakarić

Matični broj: 169

Split, listopad 2024.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

**USPOREDBA PROFILA HLAPLJIVIH SPOJEVA
ETERIČNIH ULJA MOTRA TE HLAPLJIVIH
SPOJEVA PRIPADAJUĆIH HIDROLATA
DOBIVENIH RAZLIČITIM POSTUPCIMA
EKSTRAKCIJE**

DIPLOMSKI RAD

Andrea Bakarić

Matični broj: 169

Split, listopad 2024.

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

**COMPARISON OF THE PROFILES OF
VOLATILE COMPOUNDS IN SEA FENNEL
ESSENTIAL OILS AND THE VOLATILE
COMPOUNDS IN THEIR HYDROLATES
OBTAINED BY VARIOUS EXTRACTION
METHODS**

GRADUATION THESIS

Andrea Bakarić

Parent number: 169

Split, October 2024.

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Diplomski studij Organska kemija i biokemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija

Mentor: Prof. dr. sc. Olivera Politeo
Komentor: Dr. sc. Marijana Popović

USPOREDBA PROFILA HLAPLJIVIH SPOJEVA ETERIČNIH ULJA MOTRA TE HLAPLJIVIH SPOJEVA PRIPADAJUĆIH HIDROLATA DOBIVENIH RAZLIČITIM POSTUPCIMA EKSTRAKCIJA

Andrea Bakarić, 169

Sažetak: Cilj diplomskog rada bio je izolirati i identificirati spojeve eteričnih ulja motra (*Crithmum maritimum* L.) i pripadajućih hidrolata biljaka prikupljenih s područja Bresta u Francuskoj i Žaborića u Hrvatskoj. Izolacija hlapljivih spojeva iz eteričnih ulja provedena je vodenom destilacijom u aparaturi po Clevengeru, dok je analiza hlapljivih spojeva hidrolata podrazumijevala primjenu metode mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi i ekstrakcije tekuće- tekuće korištenjem diklormetana. Za analizu svih uzoraka korišten je sustav plinske kromatografije- spektrometrije masa (GC-MS), koji omogućava precizno razdvajanje i identifikaciju spojeva. U eteričnom ulju motra iz Bresta najzastupljeniji spojevi su dilapiol (62,10%), timil metil eter (18,00%) i γ -terpinen (9,88%), dok su u eteričnom ulju motra iz Žaborića najzastupljeniji spojevi limonen (62,85%), sabinen (13,13%) i α -pinen (3,51%). Analizom hidrolata iz Bresta metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) kao dominantni spojevi ističu se dilapiol (60,81%) i timil metil eter (14,84%), a u hidrolatu iz Šibenika (Žaborić) dobivenom istom metodom dominiraju terpinen-4-ol (47,46%) i (Z)-karveol (8,01%). Hidrolati su također pripremljeni za analizu ekstrakcijom tekuće- tekuće s diklormetanom pri čemu se analizom u hidrolatu iz Bresta istaknuo dilapiol (85,81%) visokim udjelom, a u hidrolatu iz Žaborića najzastupljeniji spoj je terpinen-4-ol (23,47%). Rezultati ovog istraživanja pokazali su postojanje razlika u sastavu eteričnih ulja i hidrolata motra prikupljenih na dvije lokacije, što ukazuje da različiti okolišni uvjeti doprinose razlikama u kemijskom sastavu istih biljaka. Ove razlike u sastavu mogu imati važne implikacije za primjenu motra u prehrambenoj industriji, kozmetici i medicini, ovisno o specifičnim svojstvima prisutnih spojeva. Dobiveni podaci pružaju temelj za daljnja istraživanja i potencijalni razvoj novih proizvoda na bazi motra.

Ključne riječi: motar, vodena destilacija, eterično ulje, hidrolat, hlapljivi spojevi, GC- MS

Rad sadrži: 47 stranica, 27 slika, 2 tablice, 63 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | |
|---|--------------|
| 1. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić | predsjednica |
| 2. Dr. sc. Marijana Popović | komentor |
| 3. Prof. dr. sc. Olivera Politeo | mentor |

Datum obrane: 15.10.2024.

Rad je tiskan u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATION THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study in organic chemistry and biochemistry

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Supervisor: Prof. Olivera Politeo, PhD

Co-supervisor: Marijana Popović, PhD

COMPARISON OF THE PROFILES OF VOLATILE COMPOUNDS IN SEA FENNEL ESSENTIAL OILS AND THE VOLATILE COMPOUNDS IN THEIR HYDROLATES OBTAINED BY VARIOUS EXTRACTION METHODS

Andrea Bakarić, 169

Abstract: The aim of this work was to isolate and identify the compounds of the essential oils of sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) and associated hydrolates of plants collected from the area of Brest in France and Žaborić in Croatia. Isolation of volatile compounds from essential oils was performed by water distillation in a Clevenger apparatus, while the analysis of volatile hydrolate compounds was performed by solid-phase microextraction methods of peak vapors on the solid phase and liquid-liquid extraction using dichloromethane. A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system was used to analyze all samples, allowing precise separation and identification of the compounds. In the essential oil of sea fennel from Brest, the most abundant compounds are dillapiol (62,10%), thymyl methyl ether (18,00%) and γ -terpinene (9,88%), while in the essential oil of sea fennel from Šibenik (Žaborić) the most abundant compounds are limonene (62,85%), sabinene (13,13%) and α -pinene (3,51%). The analysis of the hydrolate from Brest obtained by solid-phase microextraction method (SPME) shows that dillapiol (60,81%) and thymyl methyl ether (14,84%) are the dominant compounds, while in the hydrolate from Žaborić obtained by the same method terpinene-4-ol (47,46%) and (Z)-carveol (8,01%) dominate. The hydrolates were also prepared for analysis by liquid-liquid extraction with dichloromethane, whereby the analysis revealed the compound dillapiol (85,81%) with a high percentage in the hydrolate from Brest, and the most abundant compound in the hydrolate from Žaborić was terpinene-4-ol (23,47%). The results of this study show that there are differences in the composition of the essential oils and hydrolates of sea fennel collected from two locations, suggesting that different environmental conditions contribute to differences in the chemical composition of the same plants. These differences in composition may have important implications for the use of sea fennel in the food industry, cosmetics and medicine, depending on the specific properties of the compounds present. The data obtained will form a basis for further research and the possible development of new products based on sea fennel.

Keywords: sea fennel, hydrodistillation, essential oil, hydrolat, volatile compounds, GC- MS

Thesis contains: 47 pages, 27 figures, 2 tables, 63 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|---|---------------|
| 1. Ivana Generalić Mekinić, PhD, Assoc. Prof. | chair person |
| 2. Marijana Popović, PhD | co-supervisor |
| 3. Prof. Olivera Politeo, PhD, Full Prof. | supervisor |

Defence date: 15.10.2024.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko- tehnološkog fakulteta u Splitu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Olivere Politeo i komentorstvom dr. sc. Marijane Popović u razdoblju od lipnja 2023. do listopada 2024. godine.

Ovaj rad je izrađen u sklopu projekta SEAFENNELAMED (PRIMA 2021, Section 2) (<https://seafennel4med.com/>).

ZAHVALA

Posebnu zahvalnost izražavam svojoj mentorici prof. dr. sc. Oliveri Politeo i komentorici dr. sc. Marijani Popović na vodstvu, izrazito velikoj susretljivosti, ukazanom strpljenju i prenesenom znanju te savjetima tijekom cjelokupne izrade ovog diplomskog rada.

Hvala svim prijateljima i predivnim ljudima koje sam upoznala tijekom ovog studentskog razdoblja i koji su mi uljepšali i upotpunili svaki dio njega.

Najveće hvala mojoj obitelji, mojim roditeljima, mojoj seki i mom dečku koji su mi bili najveća podrška i vjetar u leđa kada je bilo najteže.

I za kraj, ovaj diplomski rad želim posvetiti svom didi Pinikeu za kojeg ne sumnjan da me ponosno gleda odozgo.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA:

- **Izolirati hlapljive spojeve eteričnih ulja putem hidrodestilacije u aparaturi po Clevengeru za hrvatski i francuski ekotip biljke motar (*Crithmum maritimum* L.).**
- **Izolirati hlapljive spojeve hidrolata putem mikroekstrakcije vršnih para (HS-SPME) te ekstrakcijom tekuće- tekuće.**
- **Provesti analizu uzoraka eteričnih ulja i hidrolata pomoću vezanog sustava plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC- MS).**
- **Identificirati hlapljive spojeve u eteričnim uljima i hidrolatima motra iz Žabarića (Hrvatska) i Bresta (Francuska).**

SAŽETAK

Cilj diplomskog rada bio je izolirati i identificirati spojeve eteričnih ulja motra (*Crithmum maritimum* L.) i pripadajućih hidrolata biljaka prikupljenih s područja Bresta u Francuskoj i Žaborića u Hrvatskoj. Izolacija hlapljivih spojeva iz eteričnih ulja provedena je vodenom destilacijom u aparaturi po Clevengeru, dok je analiza hlapljivih spojeva hidrolata podrazumijevala primjenu metode mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi i ekstrakcije tekuće- tekuće korištenjem diklormetana. Za analizu svih uzoraka korišten je sustav plinske kromatografije- spektrometrije masa (GC-MS), koji omogućava precizno razdvajanje i identifikaciju spojeva. U eteričnom ulju motra iz Bresta najzastupljeniji spojevi su dilapiol (62,10%), timil metil eter (18,00%) i γ -terpinen (9,88%), dok su u eteričnom ulju motra iz Žaborića najzastupljeniji spojevi limonen (62,85%), sabinen (13,13%) i α -pinen (3,51%). Analizom hidrolata iz Bresta metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) kao dominantni spojevi ističu se dilapiol (60,81%) i timil metil eter (14,84%), a u hidrolatu iz Šibenika (Žaborić) dobivenom istom metodom dominiraju terpinen-4-ol (47,46%) i (Z)-karveol (8,01%). Hidrolati su također pripremljeni za analizu ekstrakcijom tekuće- tekuće s diklormetanom pri čemu se analizom u hidrolatu iz Bresta istaknuo dilapiol (85,81%) visokim udjelom, a u hidrolatu iz Žaborića najzastupljeniji spoj je terpinen-4-ol (23,47%). Rezultati ovog istraživanja pokazali su postojanje razlika u sastavu eteričnih ulja i hidrolata motra prikupljenih na dvije lokacije, što ukazuje da različiti okolišni uvjeti doprinose razlikama u kemijskom sastavu istih biljaka. Ove razlike u sastavu mogu imati važne implikacije za primjenu motra u prehrambenoj industriji, kozmetici i medicini, ovisno o specifičnim svojstvima prisutnih spojeva. Dobiveni podaci pružaju temelj za daljnja istraživanja i potencijalni razvoj novih proizvoda na bazi motra.

Ključne riječi: motar, vodena destilacija, eterično ulje, hidrolat, hlapljivi spojevi, GC- MS

ABSTRACT

The aim of this work was to isolate and identify the compounds of the essential oils of sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) and associated hydrolates of plants collected from the area of Brest in France and Žaborić in Croatia. Isolation of volatile compounds from essential oils was performed by water distillation in a Clevenger apparatus, while the analysis of volatile hydrolate compounds was performed by solid-phase microextraction methods of peak vapors on the solid phase and liquid-liquid extraction using dichloromethane. A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system was used to analyze all samples, allowing precise separation and identification of the compounds. In the essential oil of sea fennel from Brest, the most abundant compounds are dillapiol (62,10%), thymyl methyl ether (18,00%) and γ -terpinene (9,88%), while in the essential oil of sea fennel from Šibenik (Žaborić) the most abundant compounds are limonene (62,85%), sabinene (13,13%) and α -pinene (3,51%). The analysis of the hydrolate from Brest obtained by solid-phase microextraction method (SPME) shows that dillapiol (60,81%) and thymyl methyl ether (14,84%) are the dominant compounds, while in the hydrolate from Žaborić obtained by the same method terpinene-4-ol (47,46%) and (Z)-carveol (8,01%) dominate. The hydrolates were also prepared for analysis by liquid-liquid extraction with dichloromethane, whereby the analysis revealed the compound dillapiol (85,81%) with a high percentage in the hydrolate from Brest, and the most abundant compound in the hydrolate from Žaborić was terpinene-4-ol (23,47%). The results of this study show that there are differences in the composition of the essential oils and hydrolates of sea fennel collected from two locations, suggesting that different environmental conditions contribute to differences in the chemical composition of the same plants. These differences in composition may have important implications for the use of sea fennel in the food industry, cosmetics and medicine, depending on the specific properties of the compounds present. The data obtained will form a basis for further research and the possible development of new products based on sea fennel.

Keywords: sea fennel, hydrodistillation, essential oil, hydrolat, volatile compounds, GC- MS

SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. Motar	2
1.2. Eterična ulja.....	4
1.2.1. Kemijski sastav eteričnih ulja	5
1.2.2. Terpeni	5
1.3. Metode izolacije hlapljivih spojeva.....	6
1.3.1. Destilacija.....	7
1.3.2. Vodena destilacija	7
1.3.3. Ekstrakcija tekuće- tekuće.....	9
1.3.4. Tehnika izolacije vršnih para	10
1.3.5. Sorpcijske tehnike	10
1.3.6. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi	10
1.4. Metode analize hlapljivih spojeva.....	12
1.4.1. Kromatografija	12
1.4.2. Plinska kromatografija (GC)	13
1.4.3. Spektrometrija masa (MS)	13
1.4.4. Vezani sustav plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC- MS)	15
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	17
2.1. Kemikalije	17
2.2. Uređaji.....	17
2.3. Biljni materijal.....	17
2.4. Postupak izolacije eteričnog ulja i hidrolata.....	18
2.5. Priprema uzorka za SPME analizu	19
2.6. Priprema uzorka uz dodatak diklormetana.....	20
2.7. GC- MS analiza.....	21
3. REZULTATI I RASPRAVA	23
3.1. Profili identificiranih spojeva eteričnih ulja.....	23
3.2. Profili identificiranih hlapljivih spojeva hidrolata	31
4. ZAKLJUČAK	39
5. LITERATURA.....	40

UVOD

Motar (*Crithmum maritimum* L.) je samonikla halofitna biljka koja pripada obitelji Apiceae, a poznat je još i pod nazivom petrovac ili morski komorač. Zbog svoje izražene arome često se koristi u prehrambene svrhe u mediteranskoj kuhinji, a zbog svojih pozitivnih bioloških svojstava mogao bi imati veliki značaj u industriji. Eterična ulja su hlapljive tvari često ugodnog i intenzivnog mirisa koja se dobivaju procesom destilacije iz raznih biljnih materijala te se zbog svojih svojstava koriste u tradicionalnoj medicini i kozmetici. Hidrolati, poznati i kao hidrosoli ili mirisne vodice, su cvjetne, aromatske vodice koje nastaju kao nusproizvod procesa destilacije odnosno izolacije eteričnih ulja. Motar obiluje eteričnim uljem koje se danas koristi za razne svrhe, a istraživanja eteričnog ulja motra su posljednjih godina u velikom porastu.

Cilj ovog rada je istražiti razlike u kemijskim profilima eteričnih ulja motra ubranih na područjima Bresta i Žabarića te usporediti kemijske profile njihovih hidrolata. Također, cilj je i uvidjeti razlike u sastavu hlapljivih spojeva hidrolata izoliranih pomoću mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) te ekstrakcijom tekuće- tekuće, uz dodatak diklormetana (DCM).

1. OPĆI DIO

1.1. Motar

Biljka motar, poznata i pod nazivom petrovac, najrasprostranjeniji je i najpoznatiji halofit na našoj obali. Halofiti su biljke koje rastu na slanim područjima odnosno staništima. Premda je motar samonikla biljka prilagođena rastu uz obalni krški reljef, halofiti mogu rasti na obalama močvara i pješčanim plažama. Za razliku od mnogih drugih biljaka, halofiti su razvili niz strategija za preživljavanje u uvjetima visoke slanosti te neki halofiti imaju čak i sposobnost boljeg rasta u prisutnosti soli. Upravo zbog toga na njihov rast najveću ulogu ima salinitet. Određeni broj halofitnih biljaka koje su visoko otporne na sol imaju nekoliko ekonomskih prednosti i mogu se uzgajati kao hrana, stočna hrana/krmno bilje i gorivo na slanim zemljištima uz navodnjavanje slanom vodom.^[1]

Podizanje razine mora posljednjih godina, kao i njegov utjecaj na zaslanjivanje obalnog tla i vode, rezultiralo je povećanim znanstvenim interesom za ovim biljkama, prilagođenim uvjetima visoke slanosti. Problem klimatskih promjena, kao što je porast prosječnih temperatura, i utjecaj istih na svakodnevni život jedni su od glavnih problema današnjice. Smatra se da će u budućnosti veliku važnost u poljoprivredi upravo imati uzgoj vrsta koje su prilagođene uvjetima visokog saliniteta te imaju sposobnost rasta na nepovoljnim staništima.^[2]



Slika 1. Motar (*Crithmum maritimum* L.)^[3]

Motar (*Crithmum maritimum* L.) (slika1) trajna je zeljasta biljka koja pripada porodici štitarki (*Apiaceae*). Stabljika motra je u osnovi drvenasta, a u gornjem dijelu je razgranata te može narasti i do 50 cm u visinu. Listovi su mesnati i debeli te su složeni, odnosno razdijeljeni, na izdužene mesnate segmente, duljine oko 2,5- 5 cm, plavkastozelene ili sivkastozelene boje. Žučkastozeleni cvjetovi motra su maleni i skupljeni su u štitaste cvatove te cvatu u periodu od srpnja do rujna.^[4]

Jestivi dio motra su mesnati i sočni listovi koji su slanog okusa. Oni sadrže značajnu količinu vitamina C i karotenoida.^[5] Zbog visokog udjela eteričnog ulja u listu motra imaju snažan miris te je poželjno prije kiseljenja ili drugog načina pripreme ostaviti biljku par dana da malo uvene kako bi dio eteričnog ulja ishlapio.^[6]

Uporaba motra u mediteranskoj kuhinji sve je veća, a najčešće se koristi kao dodatak salatama, ili se kiseli poput krastavca, nakon čega se dodaje brojnim jelima. Zbog svog jedinstvenog slanog okusa najviše se sljubljuje s jelima od morskih plodova. Obzirom da je sušeni motar veoma aromatičan često se koristi kao začin ili kao glavni sastojak za bojenje, na primjer u zelene tjestenine, zbog klorofila kojim obiluje.^[7] Motar sušen smrzanjem daje više ili manje intenzivnu, ovisno o korištenoj količini, zelenu boju hrani koju se dodaje.^[8]



Slika 2. Ukiseljeni motar^[9]

Motar također ima veliki značaj u narodnoj medicini gdje se koristi u razne svrhe zbog prisutnosti bioaktivnih spojeva u njegovom sastavu. Tako se na primjer u Španjolskoj ukiseljeni listovi motra koriste kao digestiv zbog antiskorbutskih i diuretičkih svojstava. Na jugu Italije koristi se kao lijek protiv hripavca i prehlade dok stanovnici središnje Italije koriste listove motra za pripravu čaja protiv probavnih, karminativnih i želučanih smetnji.^[10]

U mnogim zemljama diljem svijeta svježi listovi motra koriste se za pripremu juha ili se konzerviraju kao kapari u octu.^[11]

1.2. Eterična ulja

Eterična ulja su smjese raznih hlapljivih i često biološki aktivnih spojeva, a koriste se već stoljećima diljem svijeta. Široki spektar mirisnih spojeva eteričnih ulja posljedica je i velikog broja različitih biljaka iz kojih su ista izolirana. Zbog vrlo izražene arome, eterična ulja često se nazivaju i aromatičnim uljima. No osim ugodnog mirisa, često imaju i terapijske vrijednosti zahvaljujući svom kemijskom sastavu.

Eterična se ulja, ovisno o sastavu i podrijetlu sastoje od spektra različitih kemijskih spojeva, najčešće terpena, ketona, aldehida, alkohola, estera i još mnogih drugih. Način primjene eteričnog ulja te njegova primjena ovise najčešće o spoju koji je u sastavu ulja najzastupljeniji.

Kao što je gore spomenuto, eterična ulja su složene mješavine mirisnih tvari ili mješavine mirisnih tvari i tvari bez mirisa, gdje se mirisna tvar definira kao kemijski čist spoj hlapljiv pri normalnim uvjetima. Boja eteričnih ulja varira obično od bezbojne do blago žute boje. Neke od njihovih karakteristika su da imaju visok indeks loma svjetlosti i nisku gustoću, osim u nekim slučajevima kao kod ulja cimeta i klinčića koja su gušća od vode. Iako su slabo topljivi u vodi, topljivi su u većini organskih otapala kao što su etanol i dietil eter te se dobro miješaju s biljnim uljima, voskovima i mastima.^[12]

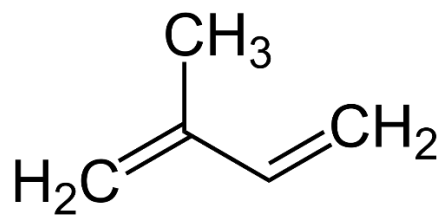
1.2.1. Kemijski sastav eteričnih ulja

Eterična ulja vrlo su složene prirode te mogu sadržavati i preko 100 spojeva zastupljenih u različitim koncentracijama. Dvije ili tri komponente su većinom prisutne u značajno visokim udjelima (20-70%) dok su ostale komponente uglavnom prisutne u tragovima. Glavne komponente eteričnih ulja su ugljikovodici, alkoholi, esteri, oksidi, ketoni, aldehidi i fenilpropanoidi. Komponente eteričnih ulja možemo većinski svrstati u lipofilne terpenoide, fenilpropanoide te kratkočlane alifatske ugljikovodične derivate. Nedostatak čak jedne komponente eteričnog ulja može značajno promijeniti njegovu aromu.^[13]

Kemijski sastav eteričnih ulja može se uvelike razlikovati zbog fizioloških (biljni organ, ontogeneza), genetskih i okolišnih čimbenika, odnosno sastava tla s kojeg je biljni materijal prikupljen i vremenskih uvjeta kojima je biljka bila izložena, kao i ostalih čimbenika poput morfoloških svojstava biljke, parametara žetve (vrijeme žetve) i proizvodnih parametara (postupak izolacije eteričnog ulja).^[14] Morfološka svojstva odnosno vidljiva svojstva biljnih vrsta predstavlja veličina, oblik, način prirasta izbojka, tekstura i boja biljke.^[15]

1.2.2. Terpeni

Terpeni su najveća skupina prirodnih spojeva koje odlikuje intenzivan miris. Klasifikacija terpena temelji se na broju izoprenskih jedinica koje su prisutne u njihovoj strukturi. Ovisno o broju n u općoj formuli terpena $(C_5H_8)_n$ ili broja C atoma, terpeni se dijele na hemiterpene (C_5), monoterpene (C_{10}), seskviterpene (C_{15}), diterpene (C_{20}), sesterpene (C_{25}), triterpene (C_{30}), tetraterpene (C_{40}) i politerpene ($>C_{40}$). Najzastupljeniji terpeni u eteričnim uljima su monoterpeni s čak oko 90%. Neki od najvažnijih terpena su geraniol, linalol, citronelol, citronelal i citral.^[16,17]



Slika 3. Izoprenska jedinica^[18]

1.3. Metode izolacije hlapljivih spojeva

Isparljivi spojevi eteričnih ulja često su u biljnom materijalu prisutni u jako malim količinama te je prije fizikalno- kemijske analize potrebna priprema uzorka za postizanje veće koncentracije hlapljivih spojeva u uzorku.

Isparljivost i slaba polarnost, odnosno slaba topljivost u vodi i dobra topljivost u nepolarnim otapalima, glavna su svojstva eteričnih ulja, te se ista upotrebljavaju kao temelj za njihovu izolaciju. Pri odabiru metode izolacije treba obratiti pozornost i na moguć nastanak artefakata.

Artefakti su spojevi koji nastaju dekompozicijom ili reakcijom pojedinih isparljivih spojeva tijekom izolacije, a isti nisu prisutni u izvornom biljnom uzorku. Poželjno je odabrati metodu izolacije pri kojoj neće doći do nastanka artefakata te koja će osigurati izolaciju ulja uz minimalne gubitke.^[19]

Metode izolacije hlapljivih spojeva u laboratoriju dijele se na^[19]:

- destilacijske metode
- tehnike vršnih para
- sorpcijske tehnike
- ekstrakcijske metode.

1.3.1. Destilacija

Destilacija je metoda koja se upotrebljava za izolaciju eteričnih ulja iz biljnog materijala pri kojoj hlapljive organske tvari, koje se ne miješaju s vodom, isparavaju u smjesi s vodenom parom na temperaturi nižoj od njihova vrelišta. Prilikom destilacije vrijedi Daltonov zakon parcijalnih tlakova, odnosno tlak pare iznad heterogene smjese jednak je zbroju parcijalnih tlakova komponenti bez obzira kakav je sastav smjese. Prije početka destilacije poželjno je biljni materijal usitniti jer tada dio eteričnog ulja koji je na površini odmah destilira dok preostali dio destilira kada dođe na površinu biljnog materijala procesom osmoze. Glavni fizikalni proces tokom destilacije eteričnog ulja je difuzija odnosno miješanje različitih tvari iz područja više koncentracije u područje manje koncentracije, sve dok se ne uspostavi ravnoteža sustava.

Obzirom na kontakt biljnog materijala i vode razlikujemo: vodenu destilaciju (hidrodestilaciju), vodeno-parnu destilaciju, destilaciju vodenom parom i hidrodifuziju.^[19]

1.3.2. Vodena destilacija

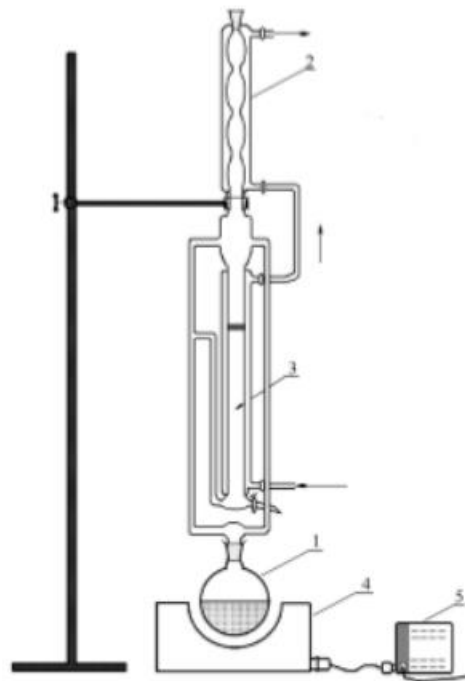
Najčešći tip destilacije koja se koristi za izolaciju eteričnog ulja u laboratoriju je vodena destilacija. Kod ovog postupka usitnjeni biljni materijal postavi se u tikvicu s vodom te se tikvica zagrijava do trenutka ključanja vode, dok je čitavo vrijeme biljni materijal u izravnom kontaktu s vodom. Pare eteričnog ulja i vode se kondenziraju u hladilu te se sakupljaju u središnjem dijelu aparature.

Postoje različite izvedbe aparature za vodenu destilaciju. Najčešće korištene laboratorijske aparature vodene destilacije za izolaciju eteričnog ulja su^[19]:

- aparatura prema Ungeru
- aparatura prema Europskoj farmakopeji
- aparatura prema Clevengeru.

Vodena destilacija je prikladna za fino usitnjeni biljni materijal i cvjetove dok nije pogodna za materijale koji sadrže komponente lako topljive u vodi, one koji saponificiraju i/ili imaju visoko vrelište.

U ovom radu za izolaciju eteričnog ulja motra korištena je vodena destilacija u aparaturi prema Clevengeru koja je prikazana na slici 4.



Slika 4. Shema aparature prema Clevengeru: 1- tikvica s okruglim dnom, 2- vodeno hladilo, 3- središnji dio aparature za vodenu destilaciju, 4- kalota, 5- otpornik promjenjive struje tj. reostat^[20]

Kod destilacije u aparaturi prema Clevengeru biljni materijal i voda se nalaze u tikvici s okruglim dnom koja je smještena u kaloti. Kalota zagrijava smjesu biljnog materijala i vode do točke vrenja nakon čega se vodena para i komponente eteričnog ulja penju kroz cijevi središnjeg dijela aparature. Prilikom prolaska kroz cijevi dolazi do njihova hlađenja prolaskom te kondenziranja. Eterično ulje i hidrolat se nakupljaju u središnjem dijelu aparature. Hidrolat predstavlja vodu obogaćenu djelomično otopljenim ili emulgiranim komponentama eteričnog ulja te u vodenoj destilaciji predstavlja stupac vode ispod sloja eteričnog ulja.

1.3.3. Ekstrakcija tekuće- tekuće

Ekstrakcija je proces u kojem se iz biljnog materijala tvari odjeljuju na temelju njihove različite topljivosti u ekstrakcijskom sredstvu.

Proces ekstrakcije biljnog materijala ima nekoliko koraka^[19]:

- Priprema biljnog materijala za ekstrakciju (usitnjavanje i sušenje biljke)
- Izbor pogodnog ekstrakcijskog sredstva (za polarne ekstrakte voda, EtOH, ili MeOH, za srednje polarne ekstrakte EtAc, CH₂Cl₂, a za nepolarne ekstrakte heksan, CHCl₃ ili petroleter)
- Odabir ekstrakcijske metode pogodne za željenu analizu
- Difuzija otapala u stanice korištenog biljnog materijala
- Otapanje metabolita u otapalu
- Difuzija otapala s otopljenim tvarima izvan stanica
- Ispiranje

Čimbenici koji utječu na ekstrakciju su temperatura, pH-vrijednost, gibanje otapala i veličina čestica. Proces ekstrakcije olakšava se usitnjavanjem biljnog materijala jer tada proces ovisi isključivo o topljivosti čemu pogoduje povišenje temperature.

Neke od vrsta ekstrakcija su^[19]:

- Ekstrakcija neisparljivim otapalima
- Ekstrakcija isparljivim otapalima
 - Ekstrakcija u Soxhlet aparaturi
 - Ultrazvučna ekstrakcija
 - Mikrovalna ekstrakcija
 - Ekstrakcija subkritičnim i superkritičnim otapalom

1.3.4. Tehnika izolacije vršnih para

Sakupljanje vršnih para uzorka (engl. *headspace*) je najjednostavniji način izolacije hlapljivih spojeva. Vršne pare su najisparljiviji spojevi koji se nalaze u ravnoteži s uzorkom. Ova metoda izolacije je pogodna za uzorke koji imaju intenzivan miris. Tehnike izolacije vršnih para dijele se na statičke i dinamičke.

Prednosti ove metode je njezina jednostavnost i brzina, nije potrebno korištenje otapala, potrebna je vrlo mala količina uzorka te nema nastanka artefakata.

Nedostatci metode su da je aromatični profil uzorka ovisan o temperaturi uzorkovanja te relativna koncentracija komponenti vršnih para ne prikazuje stvarnu koncentraciju u uzorku zbog razlike isparljivosti aromatičnih spojeva.^[21]

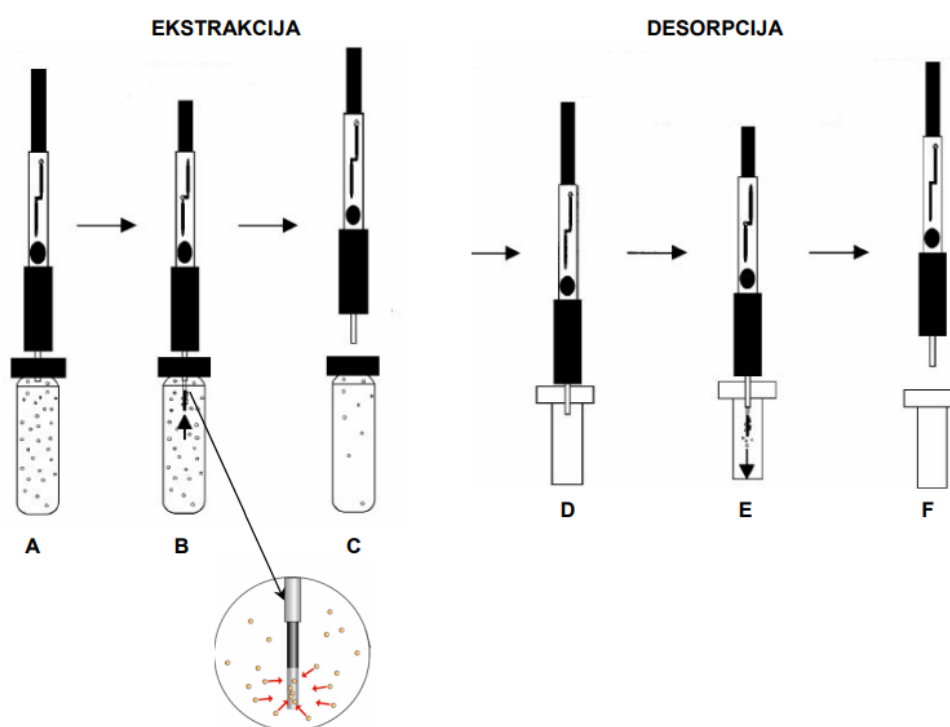
1.3.5. Sorpcijske tehnike

Sorpcijske tehnike su jedna od metoda izolacije hlapljivih spojeva koje omogućuju brzu ekstrakciju bez korištenja otapala i predkoncentraciju aromatičnih spojeva. Ove tehnike se temelje na raspodjeli organskih spojeva između faze, vodene ili parne, i tankog polimernog filma. Najčešće korištene sorpcijske tehnike su mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi i sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću.^[21]

1.3.6. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi

Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *Headspace solid phase microextraction*, HS-SPME) je često upotrebljavana sorpcijska tehnika kod izolacije aromatičnih tvari. Kod ove tehnike koristi se silikonsko vlakno dugačko oko 1-2 cm koje je prekriveno polimernim filmom na koji se sakupljaju isparljivi spojevi iz uzorka. Silikonska vlakna dijele se najčešće na nepolarna, miješana i polarna vlakna.

Samo vlakno se nalazi u sustavu igle. Igla je postavljena na SPME držač za uzorkovanje i desorpciju. Uzorak eteričnog ulja postavlja se u SPME posudu i zatvara se septom. Kroz iglu se uvodi vlakno u vršne pare iznad uzorka ili u sam tekući uzorak. Odredi se vrijeme mikroekstrakcije tokom kojeg se isparljivi spojevi absorbiraju na vlakno nakon čega se vlakno uvlači i desorbira direktnim stavljanjem u GC ili GC-MS injektor. U GC injektoru se SPME vlakno re-kondicionira zagrijavanjem tijekom 5-15 min.^[22]



Slika 5. Koraci ekstrakcije i desorpcije kod mikroekstrakcije na krutoj fazi: A - bušenje septe na bočici, B - izlaganje SPME vlakna za ekstrakciju analita, C - povlačenje vlakna u iglu, D - bušenje septe na GC injektoru za uvođenje igle u injektor, E - izlaganje vlakna desorpciji analita, F - povlačenje vlakna u iglu^[23]

Prednosti mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi su brza i laka uporaba aparature, nema korištenja otapala te je tehnika dobra za brzu usporedbu uzoraka ili identifikaciju nepoželjnih mirisa.

Nedostatci ove tehnike su da su neka vlakna diskriminirajuća za polarne spojeve te se najbolji rezultati dobivaju uporabom istog vlakna na svim uzorcima. Također, aromatični profil isparljivih spojeva koji se izolira ovom tehnikom ovisi o vrsti, debljini i dužini korištenog vlakna te temperaturi i vremenu uzorkovanja.^[21]

1.4. Metode analize hlapljivih spojeva

Najčešće korištena metoda analize hlapljivih spojeva je vezani sustav plinska kromatografija – spektrometrija masa (GC-MS). Analiza hlapljivih spojeva najčešće predstavlja identifikaciju pojedinih sastojaka u smjesi tj. kvalitativnu analizu. Analizom hlapljivih spojeva također se određuju i udjeli identificiranih sastojaka u smjesi tj. semi-kvantitativna analiza.

1.4.1. Kromatografija

Kromatografija je po definiciji metoda odvajanja sastojaka iz smjese na temelju različite raspodjele komponenata uzorka između dvije faze, stacionarne i mobilne. Pod utjecajem mobilne faze komponente uzorka se kreću različitim brzinama kroz stacionarnu fazu te tako dolazi do njihova razdvajanja. Stacionarna (nepokretna) faza može biti čvrsta ili tekuća dok mobilna (pokretna) faza može biti tekuća ili plinska. Kromatografiju, obzirom na vrstu faze, dijelimo na tekućinsku i plinsku kromatografiju.^[24]

1.4.2. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography*, GC) je instrumentalna tehnika koja se koristi za razdvajanje i određivanje hlapljivih organskih spojeva te anorganskih plinova iz smjese na koloni. Već prije više od 60 godina su zabilježene prve primjene plinske kromatografije. Ova tehnika često je korištena za kvalitativnu i kvantitativnu analizu tvari prisutnih u jako malim količinama, izolaciju komponenata u smjesi, detektiranje onečišćenja iz okoliša te utvrđivanje čistoće tvari. Uzorci koji se koriste za ovu analizu moraju biti hlapljivi i stabilni pri temperaturi na koju se zagrijava kromatografska kolona.

Ova instrumentalna tehnika je zbog jednostavnosti, brzine, malih volumena uzoraka te osjetljivosti za razdvajanje pojedinih hlapljivih komponenti iz vrlo složenih smjesa danas široko rasprostranjena u modernoj kemijskoj analizi uzoraka.^[25] Osnovne vrste plinske kromatografije su adsorpcijska i razdjelna kromatografija. Kod adsorpcijske kromatografije plin predstavlja pokretnu fazu dok je nepokretna faza čvrsta. Razdjelna kromatografija za pokretnu fazu također koristi plin, ali je kod razdjelne kromatografije nehlapljiva tekućina nepokretna faza.^[26] Kao mobilna faza najčešće se koristi kemijski inertan plin (plin nosač) argon, helij, dušik ili ugljikov dioksid čiji je zadatak eluirati sastojke smjese koji se potom odjeljuju na koloni i detektiraju. Za stacionarnu fazu često su korišteni organski polimeri ili prethodno navedene nehlapljive tekućine koje se nanose na kruti nosač.^[27]

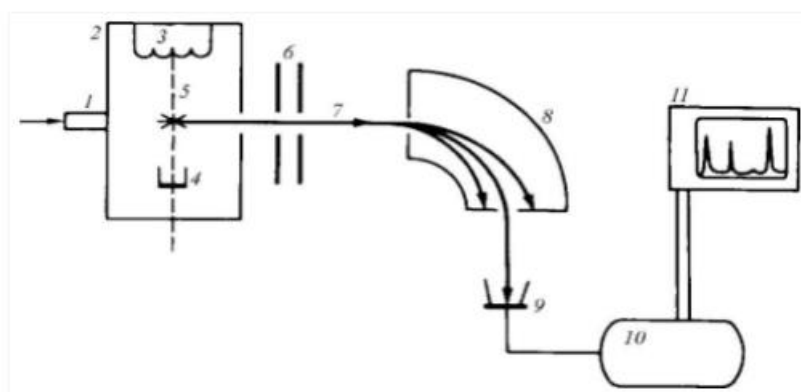
1.4.3. Spektrometrija masa (MS)

Spektrometrija masa (MS) je instrumentalna analitička tehnika pomoću koje se karakteriziraju pojedine tvari u uzorku. Ova tehnika se temelji na određivanju relativne mase i količine iona koji su nastali tokom ionizacije atoma i molekula te karakterističnim raspadom za ionizirane molekule pojedinog analita.

Četiri su osnovna dijela od kojih se sastoji maseni spektrometar:

- Sustav za unošenje ispitivanog uzorka
- Ionski izvor koji stvara ione pogodne za ispitivani uzorak te ih ubrzava u električnom polju
- Analizator koji savija putanje pojedinih iona te ih razdvaja ovisno o njihovom omjeru mase i naboja (m/z)
- Detektor gdje se pojedini ioni skupljaju i karakteriziraju.

Spektrometrija masa koristi se u mnoge svrhe kao što su vrlo precizna određivanja relativnih atomskih i molekulskih masa, kemijskih spojeva, struktura molekula, elementarnog sastava ispitivanih uzoraka i dr.^[28]



Slika 6. Shematski prikaz masenog spektrometra: 1- sustav za unošenje uzorka, 2- ionski izvor, 3- katoda, 4- anoda, 5- elektronski snop, 6- električno polje, 7- ionski snop, 8- magnetsko polje, 9- detektor, 10- elektronička obradba signala, 11- zapis spektra^[29]

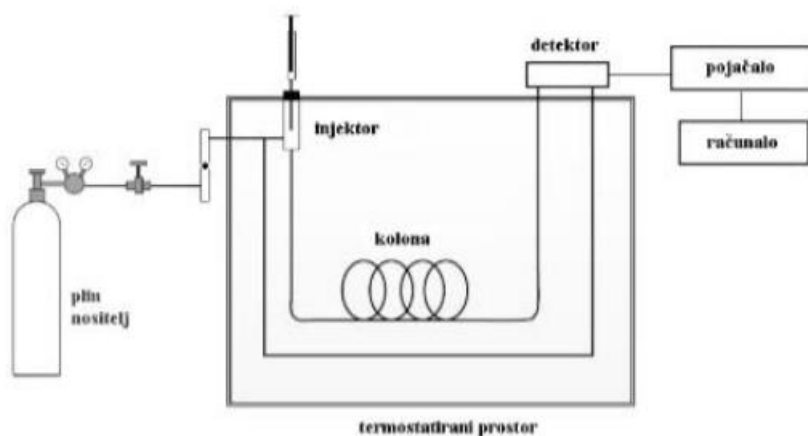
1.4.4. Vezani sustav plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC- MS)

Analiza složenih smjesa pokazala je odlične rezultate vezanim sustavom plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC- MS) u kojem se spojevi unutar smjese prvotno razdvajaju, a potom se mjere i analiziraju.^[28]

U vezanom sustavu GC- MS za razdvajanje i određivanje pojedinih komponenti u ispitivanom uzorku koristi se instrument plinski kromatograf (engl. *Gas Chromatograph*, GC).

Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su^[30]:

- Izvor plina s manometrom za kontrolu protoka plina
- Injektor tj. mjesto za unošenje ispitivanog uzorka
- Kolona kroz koju struji plinovita faza
- Termostat
- Detektor za registriranje pojedinih komponenata uzorka na izlazu iz kolone
- Jedinica za obradu podataka
- Pisač.



Slika 7. Shematski prikaz plinskog kromatografa^[31]

Maseni spektrometar se najčešće koristi u kombinaciji s plinskim kromatografom jer pruža iscrpne informacije potrebne za identifikaciju spojeva te određivanje struktura složenih organskih molekula. GC- MS sustav pruža vrlo preciznu i brzu analizu složenih smjesa uzorka, a potrebne su i vrlo male količine uzorka za identifikaciju nepoznatih spojeva. Ovaj vezani sustav danas se koristi u brojnim analitičkim laboratorijima poput prehrambenih, farmaceutskih, ekoloških i dr.^[32]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Kemikalije

- Dietil- eter, Baker Analyzed, J.T. Baker, Fisher Scientific
- Pentan, VWR chemicals, Pennsylvania, U.S.A.
- Bezvodni natrijev sulfat, Kemika, Hrvatska
- Diklorometan, Kemika, Hrvatska
- Destilirana voda

2.2. Uređaji

- Tehnička vaga KERN Sohn GmbH, D- 72336 (Balingen, Njemačka)
- Aparatura za vodenu destilaciju po Clevengeru
- Uređaj za uparavanje uzorka EC- 1V- 130 (VLM, Njemačka)
- SPME DVB/C-WR/PDMS vlakno (Restek, PA, SAD)
- Kolona HP- 5MS (30 m × 0,25 mm, 0,25 μm debljina nepokretne faze, Agilent, CA, SAD)
- GC- MS: 8890 GC System, 7000D GC/TQ (Agilent, CA, SAD)

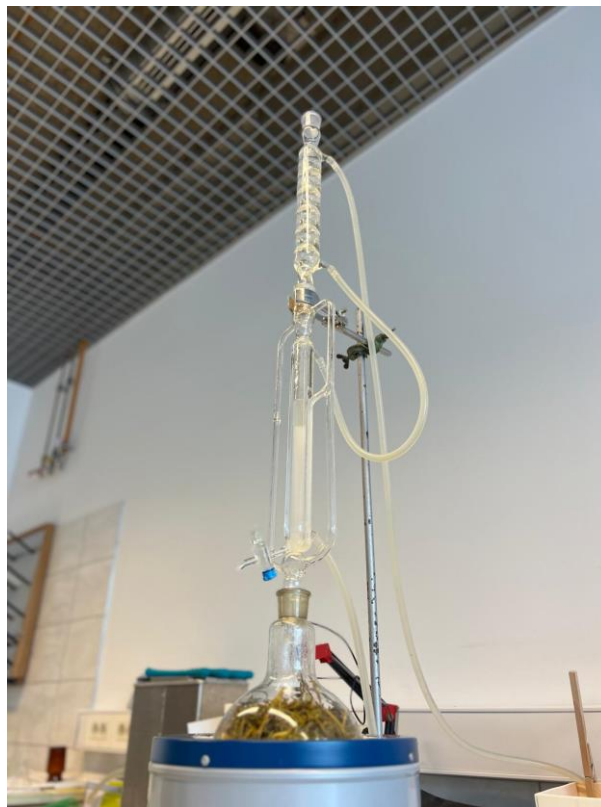
2.3. Biljni materijal

- Motar (*Crithmum maritimum* L.)

Eterično ulje motra (*Crithmum maritimum* L.) izolirano je iz biljnog materijala prikupljenog na području Žaborića u Hrvatskoj te na području Bresta u Francuskoj. Identifikacija biljnih materijala izvršena je uz pomoć lokalnih botaničara, a uzorci biljnih materijala su herbarizirani i pohranjeni. Biljni materijal je nadalje stavljen na sušenje na sobnu temperaturu na prikladnom suho i hladno mjesto.

2.4. Postupak izolacije eteričnog ulja i hidrolata

Biljni materijal motra je nakon sušenja lagano usitnjen te izvagan. Biljni materijal motra iz Žabarića (172,19 g) i biljni materijal motra iz Bresta (140,68 g) su nakon vaganja preneseni u zasebne tikvice od 1000 mL te prelivevi vodom. Tikvice su zatim spojene na aparaturu za vodenu destilaciju po Clevengeru. Nakon sastavljanja aparature tikvice s biljnim materijalom zagrijavale su se uz pomoć kalota do vrenja. Prilikom vrenja došlo je do izdvajanja hlapljivih komponenata u struji vodene pare koje su se nakon hlađenja kondenzirale te prešle u tekuće stanje kapajući prema dolje u središnji dio aparature. U središnji dio aparature je stavljen takozvani „trap“ odnosno smjesa dietil-etera i pentana u omjeru 1:1 gdje se iznad vodenog stupca nakupljalo eterično ulje uzorka. Voda iz stupca se neprestano vraćala natrag u tikvicu i proces destilacije se nastavljao. Postupak vodene destilacije započeo je kondenzacijom prve kapljice, a sam postupak izolacije je trajao oko 3 h. Dobivena eterična ulja su nakon destilacije odvojena od vodenog stupca (hidrolata) uz pomoć duge kapaljke u prethodno izvagane bočice. Preostali tragovi vode u eteričnim uljima su uklonjeni dodatkom bezvodnog natrij sulfata te su potom eterična ulja i hidrolati čuvani u hladnjaku do trenutka analize.



Slika 8. Aparatura po Clevengeru

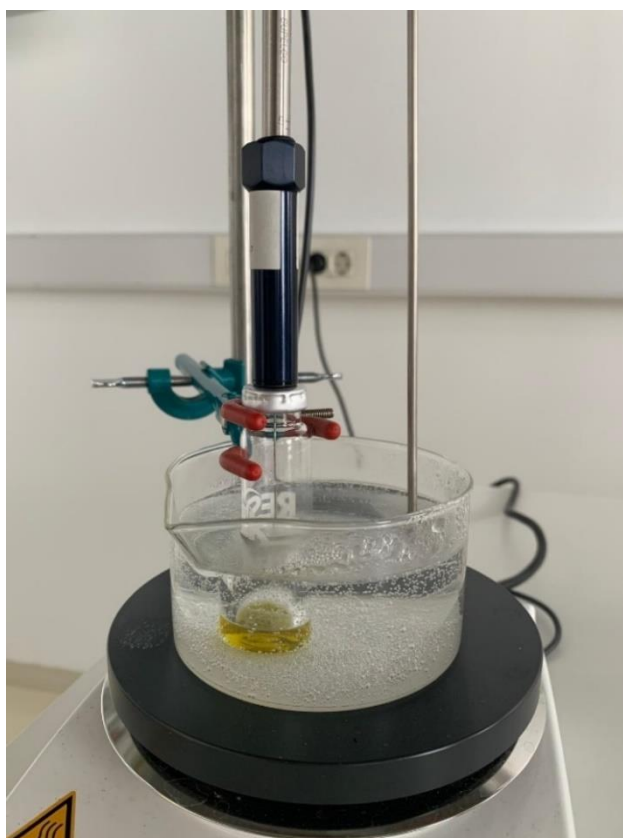


Slika 9. Prikupljanje eteričnog ulja motra u „trapu“, iznad vodenog stupca

2.5. Priprema uzorka za SPME analizu

Hlapljivi spojevi hidrolata motra iz Žaborića i Bresta su pripremljeni za analizu putem mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS- SPME).

Vlakno za mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME) prije primjene kondicioniralo se tijekom 60 min pri 250 °C u injekcijskog jedinici plinskog kromatografa. Uzorci hidrolata stavljeni su u staklene bočice (20 mL) te su termostatirani oko 30 min na 40 °C. Tijekom termostatiranja u staklene bočice s hidrolatom pažljivo je uneseno DVB/C-WR/PDMS SPME vlakno neposredno iznad uzorka. Zagrijavanjem se oslobađaju hlapljivi spojevi (vršne pare) uzorka hidrolata, ispunjavaju prazan prostor bočice nad hidrolatom te se adsorbiraju na DVB/C-WR/PDMS vlakno. Nakon mikroekstrakcije vršnih para DVB/C-WR/PDMS vlakno sa adsorbiranim hlapljivim spojevima uzorka uz pomoć nosača stavljeno je u otvor za injektiranje gdje je desorpcija uzorka trajala 3 min. Nakon navedenog postupka provedena je GC- MS analiza adsorbiranih hlapljivih spojeva uzorka hidrolata.



Slika 10. Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (SPME)

2.6. Priprema uzorka uz dodatak diklormetana

Za analizu hlapljivih spojeva hidrolata motra iz Žabarića i Bresta uzorci hidrolata također su ekstrahirani korištenjem diklormetana. U hidrolate je dodano po 5 mL diklormetana nakon čega se uzorak ekstrahirao te se donji sloj (diklormetanski) odvojio i osušio natrijevim sulfatom. Nakon navedenog postupka uzorak se filtrirao te upario.



Slika 11. Uređaj za uparavanje uzoraka EC- 1V- 130 (VLM, Njemačka)

2.7. GC- MS analiza

Za identifikaciju kemijskih spojeva uzorka eteričnih ulja i hidrolata korišten je vezani sustav plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC- MS). Instrument GC- MS koji je korišten u ovom istraživanju sastoji se od plinskog kromatografa model 8890 GC opremljenim automatskim injektorom model 7693A i masenog spektrometra (MS) model 7000D GC/TQ s trostrukim kvadropolom (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, SAD).

Za kromatografsko odjeljivanje spojeva uzorka korištena je nepolarna kolona HP-5MS (30 m × 0,25 mm, 0,25 μm debljina nepokretne faze, Agilent, CA, SAD). Helij je korišten kao plin nositelj pri brzini protoka od 1,0 mL/ min, a volumen ubrizganog uzorka iznosi 1 μL. Analiza uzorka je odrađena pomoću MS *full scan* modela (33-350 m/z) pri temperaturi izvora iona 200 °C, temperaturi sučelja 250 °C i ionskim naponom 70 eV. Pri analizi eteričnih ulja korišten je temperaturni program od 3 minute na 60 °C, a zatim na 246

°C (3 °C/ min) održavano izotermno 25 minuta. Početna temperatura pećnice, pri kemijskoj analizi hidrolata, bila je u izotermnim uvjetima pri 40 °C na 3 minute, a zatim je uslijedilo povećanje temperature do 80 °C brzinom od 3 °C/ min. Potom je uslijedilo povećanje temperature brzinom od 10 °C/ min sve do 220 °C te je ova vrijednost održavana 5 minuta.

Spojevi su identificirani uspoređivanjem retencijskih indeksa s onima za niz *n*-ugljikovodika (C₇ – C₃₀, Supelco Inc., Sigma Aldrich) analiziranih pod jednakim uvjetima kao što su analizirani uzorci eteričnih ulja i hidrolata. Identifikacija komponenti eteričnih ulja i hidrolata se temeljila na softverskoj usporedbi spektara masa sa spektrima masa komercijalnih baza podataka Wiley 7 MS knjižnica (Wiley, NY, SAD) i NIST02 (Gaithersburg, MD, SAD).



Slika 12. Sustav plinska kromatografija- spektrometrija masa

3. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu kemijski sastav eteričnih ulja i hidrolata biljke motar s područja Žaborića (Šibenik, Hrvatska) i područja Bresta (Francuska) određen je vezanom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC- MS). U tablicama su prikazani kemijski sastavi eteričnih ulja i hidrolata te su prikazani kromatogrami ukupne ionske struje i maseni spektri za najzastupljenije spojeve eteričnih ulja i hidrolata.

3.1. Profili identificiranih spojeva eteričnih ulja

U tablici 1. prikazani su rezultati GC- MS analize eteričnih ulja motra prikupljenog na području Bresta (Francuska) i području Žaborića (Hrvatska). Oba eterična ulja dobivena su procesom vodene destilacije po Clevengeru. Identificirani spojevi poredani su prema rastućim retencijskim indeksima (RI) koji pokazuju vrijeme potrebno da spoj prođe kroz GC kolonu, a zastupljenost spojeva u uzorcima eteričnih ulja prikazani su u masenim udjelima. U oba uzorka eteričnih ulja identificirano je ukupno 13 spojeva.

Najzastupljeniji spojevi u uzorku eteričnog ulja motra prikupljenog na području Bresta (Francuska) su dilapiol (62,10%), timil metil eter (18,00%) i γ -terpinene (9,88%). Važno je napomenuti da dilapiol i timil metil eter, koji su u uzorku iz Bresta prisutni u značajnim količinama, nisu detektirani u uzorku eteričnog ulja motra s područja Žaborića. Dilapiol je organski kemijski spoj s metoksi skupinom pozicioniranom na benzenskom prstenu. U određenoj količini se smatra otrovnim, ali sama biljka, ukoliko se konzumira kao povrće nije toksična već može pokazati samo blago izraženo diuretičko djelovanje.^[33] U uzorku eteričnog ulja motra iz Žaborića najzastupljeniji spoj je limonen (62,85%), dok su sabinen (13,14%) i α -pinen (3,51%) prisutni u manjim udjelima. Uzorak iz Žaborića karakteriziran je visokim udjelom nepolarnih monoterpenskih spojeva limonena i sabinena od kojih limonen nije detektiran u uzorku eteričnog ulja motra s područja Bresta. Ovi rezultati ukazuju na značajne razlike u kemijskom profilu eteričnih ulja između dvaju analiziranih uzoraka. Uzorak iz Bresta sadrži visok udio dilapiola i timil metil etera, dok je u uzorku iz Žaborića dominantan limonen. Ove razlike u sastavu eteričnog ulja s dva različita područja mogu se povezati s različitim geografskim, a samim tim klimatskim i pedološkim uvjetima na područjima Bresta i

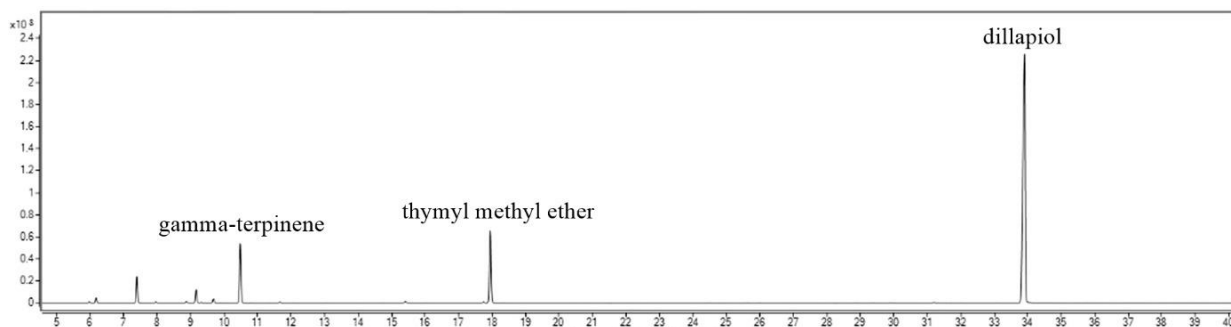
Žaborića s kojih su uzorci sakupljeni. Treba spomenuti i mogući genetski utjecaj, koji je još u potpunosti neispitan.

Tablica 1. GC- MS profili eteričnih ulja motra (*Crithmum maritimum* L.) prikupljenih na području Bresta (Francuska) i području Žaborića (Hrvatska)

Identificirani spojevi motra		RI	EU_FRA	EU_HR
			%	%
1	α -tujen	921	0,15	-
2	α -pinen	934	0,84	3,51
3	sabinen	970	4,24	13,14
4	β -pinen	992	0,17	0,53
5	α -terpinen	1012	0,20	0,89
6	<i>p</i> -cimen	1020	2,97	0,40
7	limonen	1032	-	62,85
8	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1039	0,80	7,06
9	γ -terpinen	1056	9,88	2,48
10	terpinolen	1086	0,12	0,43
11	terpinen-4-ol	1176	0,25	-
12	timil metil eter	1232	18,00	-
13	dilapiol	1620	62,10	-
Ukupna identificirana površina kromatograma (%)			99,72	91,29

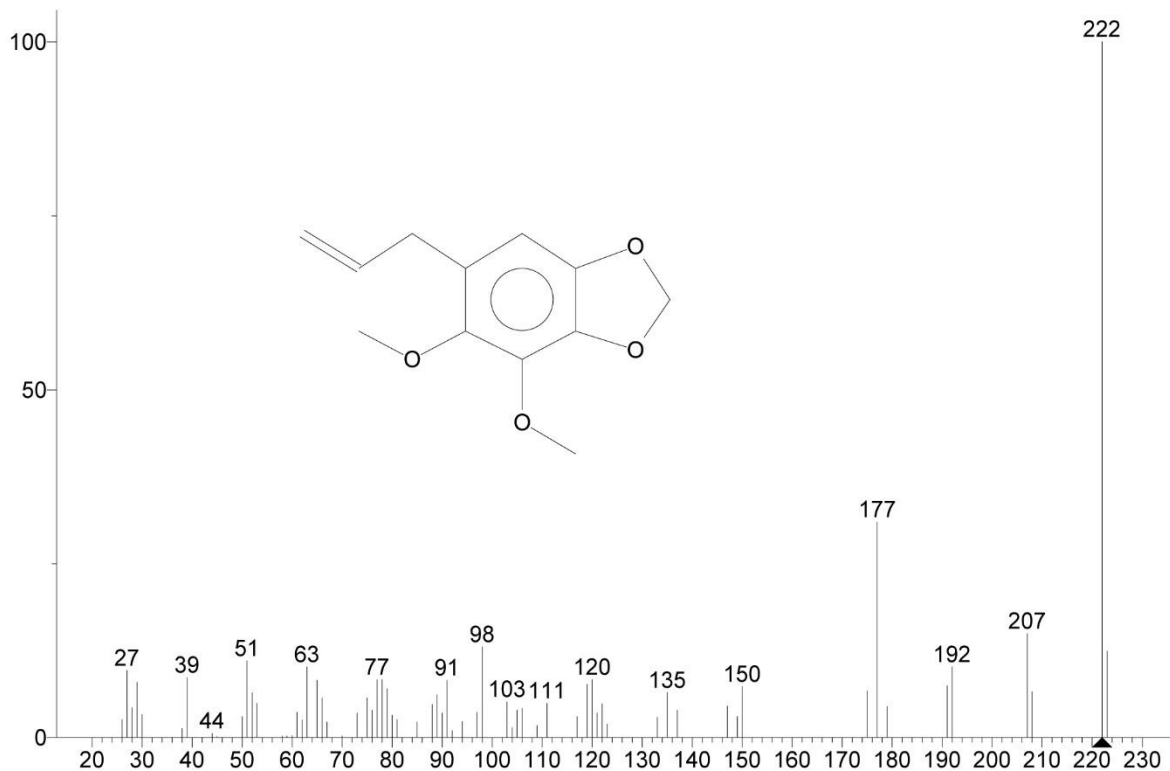
RI = retencijski indeks, - = spoj nije identificiran u uzorku

Na slici 13. prikazan je kromatogram eteričnog ulja motra prikupljenog s područja Bresta (Francuska). Spojevi koji su prisutni u eteričnom ulju hlape na različitim temperaturama te se razdvajaju na koloni plinskog kromatografa u jedinici vremena. Na kromatogramu možemo vidjeti razdvojene spojeve u vidu pikova. Pojedini pikovi prikazuju spojeve koji se nalaze u uzorku eteričnog ulja, a tek nakon identifikacije korištenjem spektrometra masa možemo znati o kojim je spojevima riječ. Na prikazanom kromatogramu istaknuta su tri najzastupljenija spoja u uzorku eteričnog ulja motra s područja Bresta.



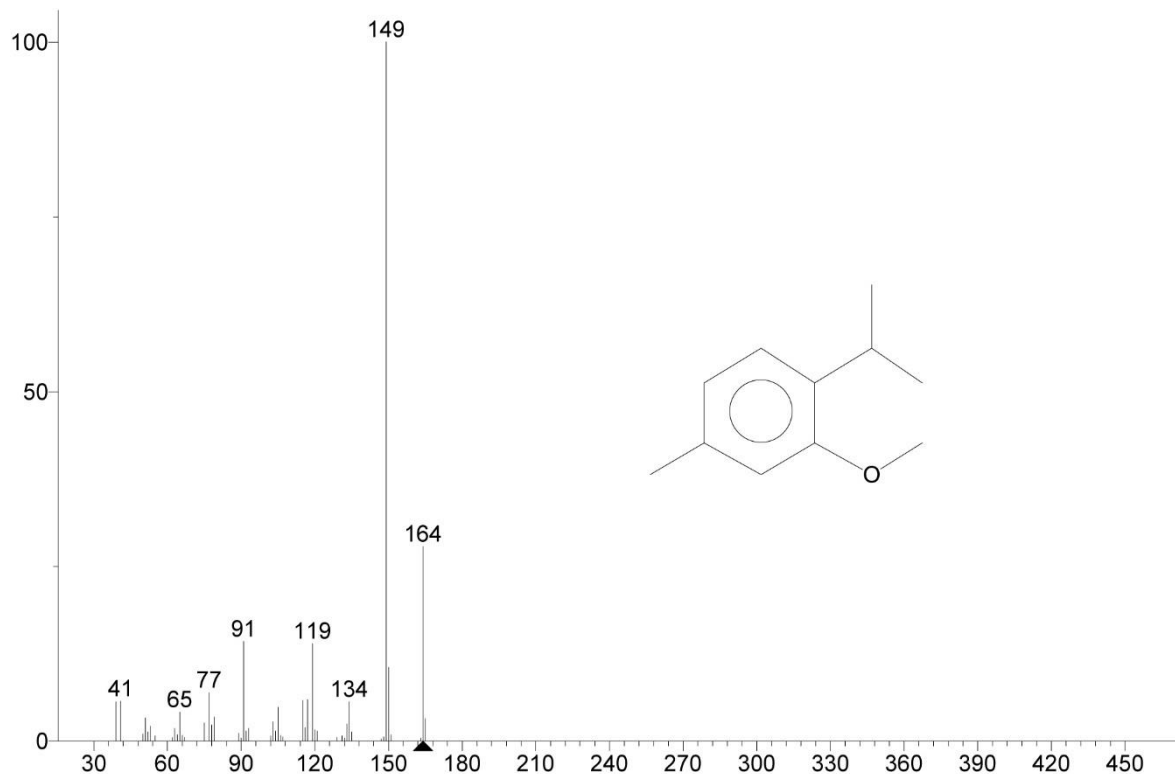
Slika 13. Kromatogram ukupne ionske struje eteričnog ulja motra s područja Bresta (Francuska)

Na slici 14. prikazan je maseni spektar dilapiola, benzodioksola, koji ima ulogu metabolita.^[34] Metabolit je bilo koji intermedijer ili proizvod metabolizma.^[35] Dilapiol posjeduje različita biološka svojstva, uključujući i protuupalno djelovanje.^[36] Spektrometar masa se sastoji od ionskog izvora u kojem se pojedini spoj bombardira snopom elektrona kako bismo ih mogli detektirati u ioniziranom obliku. Iz masenog spektra dilapiola uočavamo da osnovni i molekularni pik iznose 222 m/z. Osnovni pik je pik s najvećim intenzitetom u spektru masa, a molekularni pik je pik koji zaostane odnosno pozitivno nabijen ion s jednim nesparenim elektronom. U eteričnom ulju motra iz Bresta dilapiol je bio najviše zastupljen s udjelom od 62,10%.



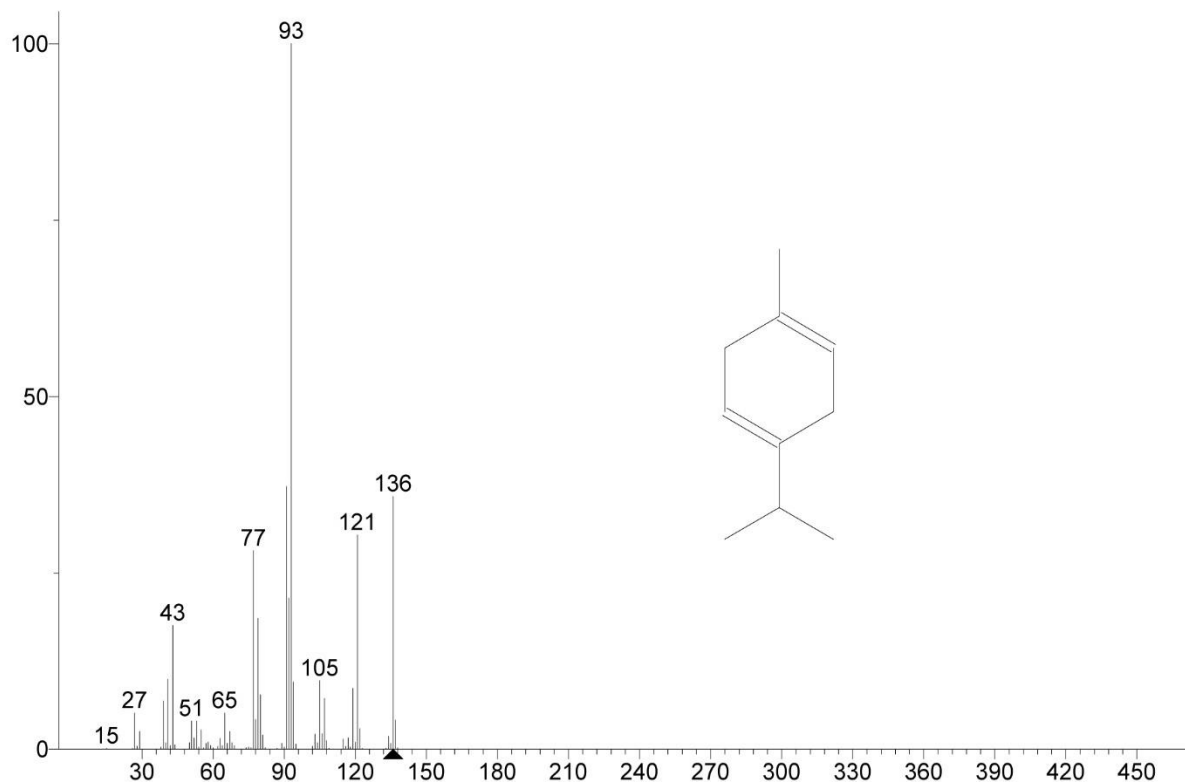
Slika 14. Maseni spektar dilapiola

Na slici 15. je prikazan maseni spektar timil metil etera. Ovaj spoj spada u klasu organskih spojeva poznatih kao aromatski monoterpenoidi odnosno monoterpenoidi koji sadrže barem jedan aromatski prsten.^[37] Iz masenog spektra timil metil etera uočavamo najintenzivniji pik tj. osnovni pik koji iznosi 149 m/z te molekulski pik koji iznosi 164 m/z. Timil metil eter je spoj zastupljen u eteričnom ulju motra prikupljenog s područja Bresta u visokom postotku od 18,00%.



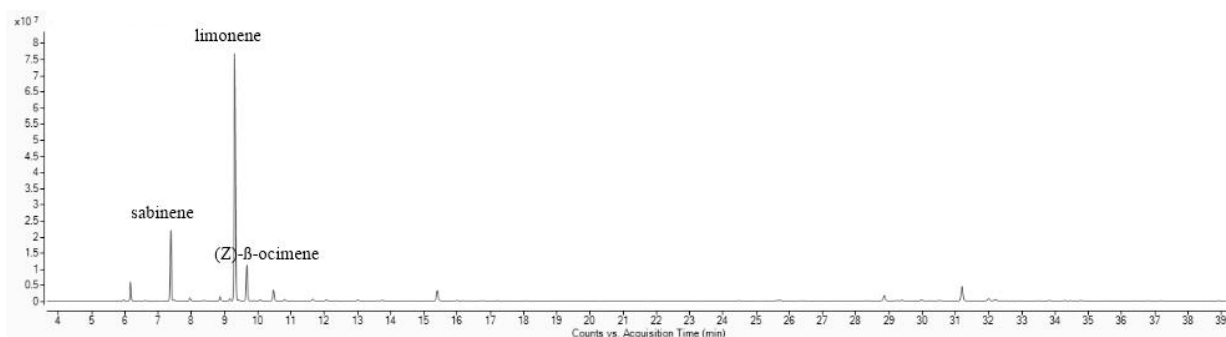
Slika 15. Maseni spektar timil metil etera

Na slici 16. je prikazan maseni spektar γ -terpinena, jedan od tri izomerna monoterpena koji se razlikuju po položaju dvije dvostruke veze. U γ -terpinenu dvostruke veze nalaze se na pozicijama 1 i 4 kostura *p*-mentana.^[38] γ -terpinen je monoterpen i cikloheksadien. Posljednjih godina otkriveno je nekoliko terapijskih prednosti ovog spoja, uključujući protuupalna i antiapoptička svojstva, a uočeno je i zaštitno djelovanje na ishemijsko oštećenje mozga u vidu smanjenja infarkta, edema, oksidativnog stresa i upale. Do ovih zaključaka je dovelo korištenje metoda za izazivanje cerebralne ishemije na mužjaku Wistar štakora.^[39] Na prikazanom masenom spektru γ -terpinena možemo očitati osnovni pik koji iznosi 93 m/z i molekulski pik koji iznosi 136 m/z. U uzorku eteričnog ulja motra iz Bresta ovaj spoj zastupljen je u udjelu od 9,88% dok je u uzorku eteričnog ulja motra iz Žaborića zastupljen u manjem, ali isto značajnom udjelu od 2,48%.



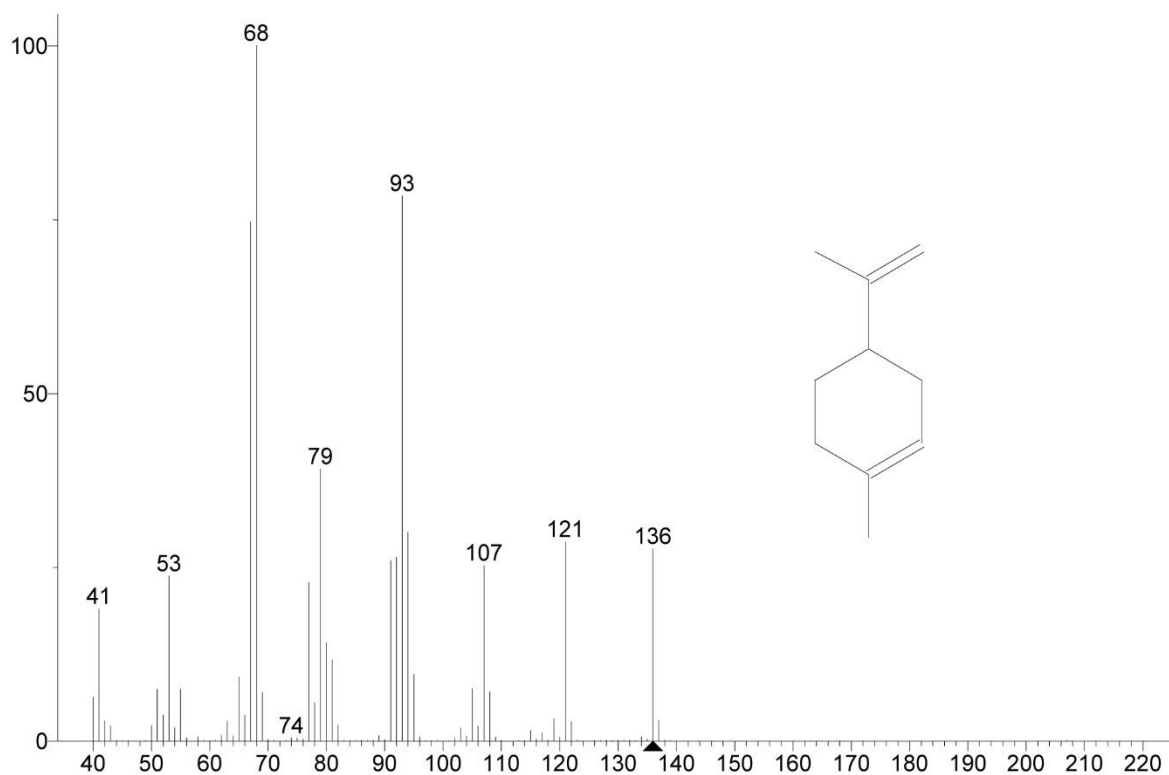
Slika 16. Maseni spektar γ -terpinena

Na slici 17. je prikazan ogledni kromatogram eteričnog ulja motra prikupljenog s područja Žaborića gdje uočavamo tri dominantna spoja (pika). Identifikacija spojeva provedena je usporedbama spektara masa i vremenima zadržavanja na koloni. Navedeni pikovi označavaju spojeve limonen, sabinen i (*Z*)- β -ocimen.



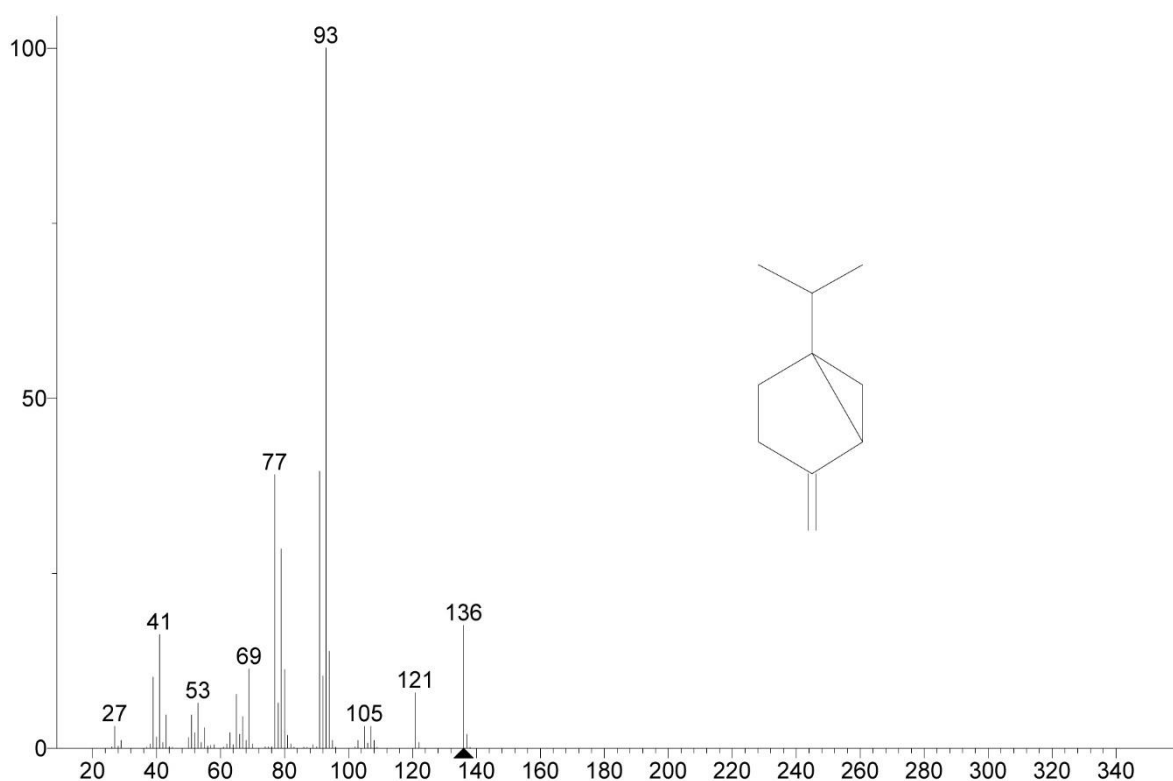
Slika 17. Kromatogram ukupne ionske struje eteričnog ulja motra s područja Žaborića

Na slici 18. prikazan je maseni spektar cikličkog monoterpena limonena. Iz masenog spektra limonena uočavamo osnovni pik koji iznosi 68 m/z i molekulski pik koji iznosi 136 m/z. Limonen je spoj koji se upotrebljava u proizvodnji brojnih proizvoda kao što su prehrambeni proizvodi, kozmetika, parfemi, sapuni i sl. Jedan je od najzastupljenijih terpena u citrusima. Najveće količine limonena možemo pronaći u limunu no zastupljen je i u mnogim drugim biljkama poput naranče, limete, ružmarina, mente te je jedan od najčešćih terpena u mnogim sortama kanabisa.^[40] U eteričnom ulju motra iz Žaborića limonen je prisutan u visokom udjelu od 62,85% dok u eteričnom ulju motra iz Bresta nije pronađen.



Slika 18. Maseni spektar limonena

Na slici 19. prikazan je maseni spektar sabinena, bicikličkog monoterpena. Sabinen je spoj koji je izoliran iz eteričnih ulja mnogih biljnih vrsta te se osim u motru može pronaći i u mažuranu, crnom kardamomu, stolisniku i smreci. Ima ulogu biljnog metabolita.^[41] Također, jedan je od najzastupljenijih spojeva u crnom papru.^[42] Iz masenog spektra sabinena najintenzivniji pik, ujedno i osnovni pik iznosi 93 m/z, a molekulski pik iznosi 136 m/z. U eteričnom ulju motra iz Žaborića sabinen se nalazi u udjelu od 13,14%, a u eteričnom ulju motra iz Bresta sabinen nalazimo u nižem udjelu od 4,24%.



Slika 19. Maseni spektar sabinena

Do danas je napravljen velik broj analiza kemijskog sastava eteričnog ulja motra s različitih područja. Prema radu Politeo i sur.^[43] u eteričnom ulju motra s područja Hrvatske identificirano je 12 spojeva, dok je u eteričnom ulju motra iz Francuske identificirano ukupno

13 spojeva. Eterično ulje iz Hrvatske obiluje spojevima sabinenom ($51,47 \pm 3,22\%$) i limonenom ($36,28 \pm 2,99\%$) što je slično kao i u ovom radu gdje su limonen i sabinen najzastupljeniji spojevi no limonen je u ovom eteričnom ulju motra iz Žaborića zastupljen u znatno većem postotku od sabinena. U radu Kulišić i sur.^[55] glavni spojevi eteričnog ulja motra su limonen (58,4%), sabinen (26,5%), γ -terpinen (2,8%) i terpinen-4-ol (5,6%). Zastupljeniji spojevi eteričnog ulja Francuske u radu Politeo i sur.^[42] su dilapiol ($62,10 \pm 1,83\%$), karvakril metil eter ($18,00 \pm 2,40\%$) i γ -terpinen ($9,88 \pm 1,10\%$). Isto kao i u ovom radu, dilapiol je najzastupljeniji spoj eteričnog ulja dok karvakril metil eter nije identificiran. Iz usporedbe dobivenih rezultata glavna razlika između uzoraka iz Hrvatske i Francuske je prisutnost ili odsutnost dilapiola. Temeljem prijašnjih istraživanja, rezultati su pokazali da je dilapiol prisutan u uzorcima eteričnog ulja motra s područja Francuske^[44,45,46], Turske^[47,48,49], Italije^[10], Tunisa^[50], Grčke^[51] i Portugala^[52,53,54], dok u uzorcima eteričnog ulja motra iz Hrvatske dilapiol nije nikada otkriven.^[55,56,57,58]

3.2. Profili identificiranih hlapljivih spojeva hidrolata

U tablici 2. prikazani su GC- MS profili hidrolata dobivenih mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) i profili hlapljivih spojeva hidrolata dobivenih ekstrakcijom diklormetanom (DCM) za uzorke iz Bresta (Francuska) i Žaborića (Hrvatska). U hidrolatu iz Bresta, dobivenom SPME metodom, dominiraju dilapiol (60,81%) i timil metil eter (14,84%), dok su u uzorku iz Žaborića najzastupljeniji spojevi terpinen-4-ol (47,46%) i (Z)- karveol (8,01%). Možemo uočiti da se korištenjem SPME metode kemijski sastav hidrolata eteričnog ulja motra iz Bresta značajno ne razlikuje od sastava eteričnog ulja, dok se kemijski sastav hidrolata eteričnog ulja motra iz Žaborića razlikuje od sastava eteričnog ulja. U hidrolatu eteričnog ulja motra iz Žaborića dominira monoterpenoid terpinen-4-ol dok je u uzorku eteričnog ulja dominirao limonen.

Kada se kao ekstrakcijsko sredstvo koristio diklormetan došlo je do znatnih promjena u profilu hlapljivih spojeva. U uzorku iz Bresta ponovno dominira spoj dilapiol (85,81%), dok je u hidrolatu uzorka iz Žaborića najzastupljeniji terpinen-4-ol (23,47%).

Ove razlike u kemijskom profilu eteričnih ulja i hidrolata između uzoraka sakupljenih na području Bresta i Žaborića ukazuju na utjecaj okolišnih faktora poput tla i klimatskih uvjeta, a moguć je i utjecaj genetskih faktora. Razlike u sastavu mogu imati važne implikacije za primjenu ovih biljaka u prehrambenoj industriji, parfumeriji ili medicini.

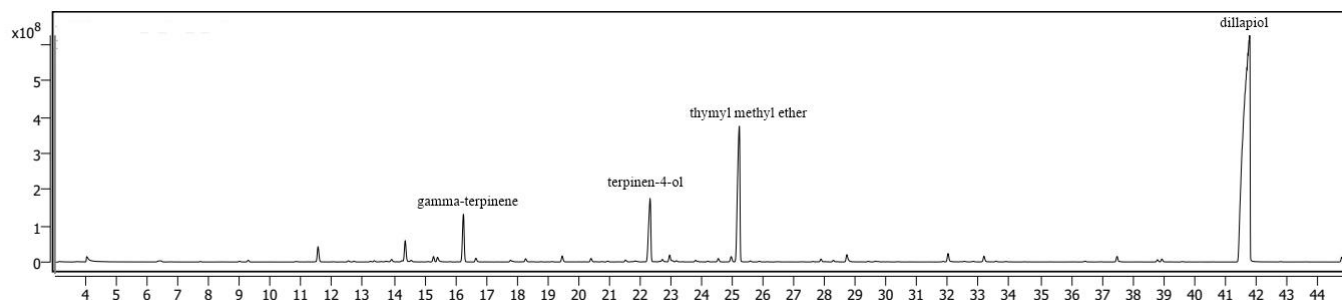
Tablica 2. GC- MS profili hidrolata motra (*Crithmum maritimum* L.) dobivenih mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) te ekstrakcijom s diklormetanom (DCM) prikupljenih s područja Bresta (Francuska) i Žaborića (Hrvatska)

	Identificirani spojevi motra	RI	H_SPME_FRA	H_DCM_FRA	H_SPME_HR	H_DCM_HR
			%	%	%	%
1	α -tujen	921	0,40	-	-	-
2	α -pinen	934	1,36	tr	-	-
3	sabinen	970	1,09	tr	-	-
4	2,3-dihidro-1,8-cineol	986	tr	-	-	-
5	β -mircen	989	0,61	-	-	-
6	β -pinen	992	-	tr	-	-
7	oktanal	998	tr	-	-	-
8	α -felandren	1001	tr	-	-	-
9	α -terpinen	1012	0,62	tr	-	-
10	<i>p</i> -cimen	1020	0,66	tr	-	-
11	β -felandren	1024	0,19	-	-	-
12	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1039	2,10	-	-	-
13	benzenacetaldehid	1041	0,77	tr	2,72	-
14	(<i>E</i>)- β -ocimen	1042	-	tr	0,00	-
15	γ -terpinen	1056	3,68	3,37	-	-
16	(<i>Z</i>)-sabinen hidrat	1065	tr	-	2,79	0,27
17	terpinolen	1086	0,35	tr	-	-
18	(<i>E</i>)-sabinen hidrat	1095	tr	-	5,13	2,10
19	linalool	1097	-	-	-	0,24
20	(<i>Z</i>)- <i>p</i> -ment-2-en-1-ol	1118	0,25	-	0,00	2,30
21	(<i>E</i>)- <i>p</i> -ment-2-en-1-ol	1138	tr	-	2,06	3,03
22	terpinen-4-ol	1176	6,47	tr	47,46	23,47
23	<i>p</i> -cimen-8-ol	1183	tr	tr	-	2,43
24	α -terpineol	1188	0,21	-	6,53	5,40

25	(Z)-pipertiol	1195	-	-	-	0,94
26	(E)-pipertiol	1205	-	-	2,78	2,04
27	(E)-karveol	1218	0,20	-	3,22	4,75
28	(Z)-carveol	1222	-	-	3,14	8,01
29	timil metil eter	1232	14,84	9,3	-	-
30	karvakrol metil eter	1242	0,28	-	-	-
31	timol	1293	0,32	-	-	2,59
32	karvakrol	1301	tr	-	-	2,11
33	<i>p</i> -vinilguaiakol	1312	0,76	tr	-	2,23
34	<i>p</i> -ment-1,4-dien-7-ol	1325	-	-	-	4,44
35	10-(acetilmetil)-3-karen	1390	-	tr	15,89	14,10
36	dihidrodehidro- β -ionon	1422	-	-	5,82	-
37	biciklogermakren	1498	0,23	-	-	-
38	miristicin	1521	0,48	1,52	-	-
39	elemicin	1557	tr	-	-	-
40	germakren B	1563	0,39	tr	-	0,76
41	spatulenol	1576	-	tr	-	0,86
42	dilapiol	1620	60,81	85,81	1,25	9,74
Ukupna identificirana površina kromatograma (%)			97,07	100,00	98,76	91,81

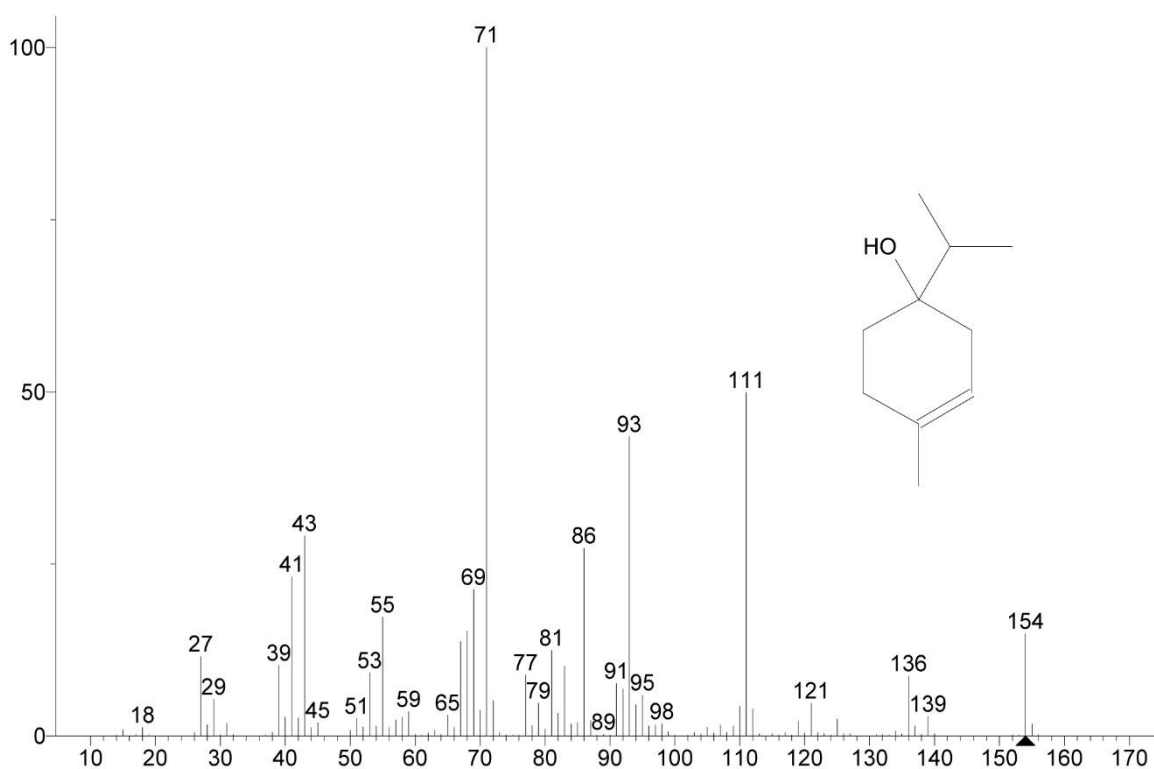
RI = retencijski indeks, - = spoj nije identificiran u uzorku, tr = u tragovima (<0,10%)

Na slici 20. je prikazan kromatogram ukupne ionske struje uzorka hidrolata motra iz Bresta koji je dobiven mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME). Identifikacijom spojeva pomoću spektra masa određeno je da najveći pikovi na kromatogramu prikazuju spojeve dilapiol, timil metil eter, terpinen-4-ol i γ -terpinen.



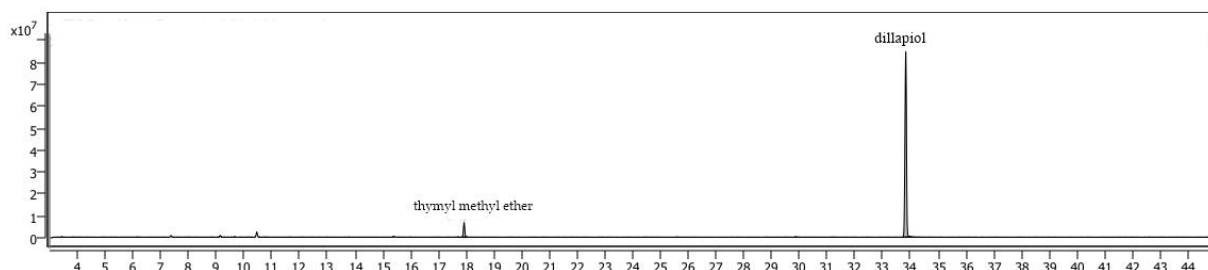
Slika 20. Kromatogram ukupne ionske struje uzorka hidrolata motra iz Bresta dobivenog mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME)

Na slici 21. prikazan je maseni spektar terpinen-4-ola (terpineol i tercijarni alkohol) molekulske formule $C_{10}H_{18}O$.^[59] Ima dobru antibiofilmsku aktivnost te antibakterijska svojstva.^[60] Iz prikazanog masenog spektra osnovni pik iznosi 71 m/z, a molekulski pik iznosi 154 m/z. Terpinen-4-ol možemo pronaći u svim uzorcima hidrolata. U uzorku hidrolata iz Bresta dobivenog SPME metodom terpinen-4-ol se nalazi u udjelu od 6,47%, dok se u uzorku hidrolata iz Bresta kod ekstrakcije s diklormetanom nalazi samo u tragovima. U uzorku hidrolata iz Žaborića dobivenog SPME metodom terpinen-4-ol se nalazi u dosta većem i značajnijem udjelu od 47,46%, a kod ekstrakcije s diklormetanom nalazi se u udjelu od 23,47%.



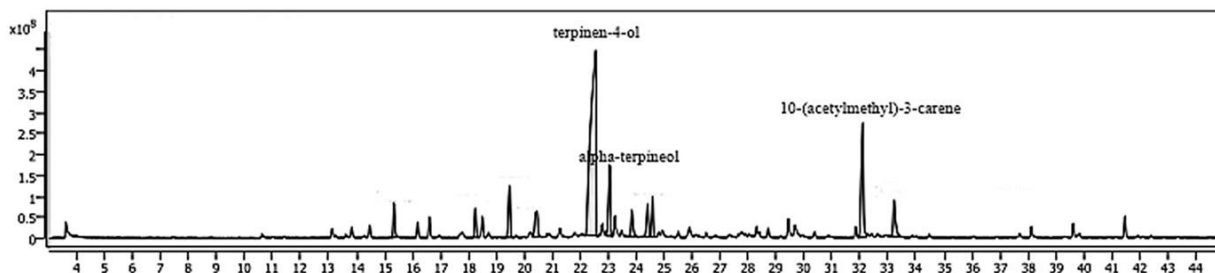
Slika 21. Maseni spektar terpinen-4-ola

Na slici 22. je prikazan ogledni kromatogram ukupne ionske struje hidrolata motra iz Bresta dobiven ekstrakcijom s diklormetanom na kojem su označena dva značajna spoja, dilapiol i timil metil eter.



Slika 22. Kromatogram ukupne ionske struje hidrolata motra iz Bresta dobiven ekstrakcijom s diklormetanom (DCM)

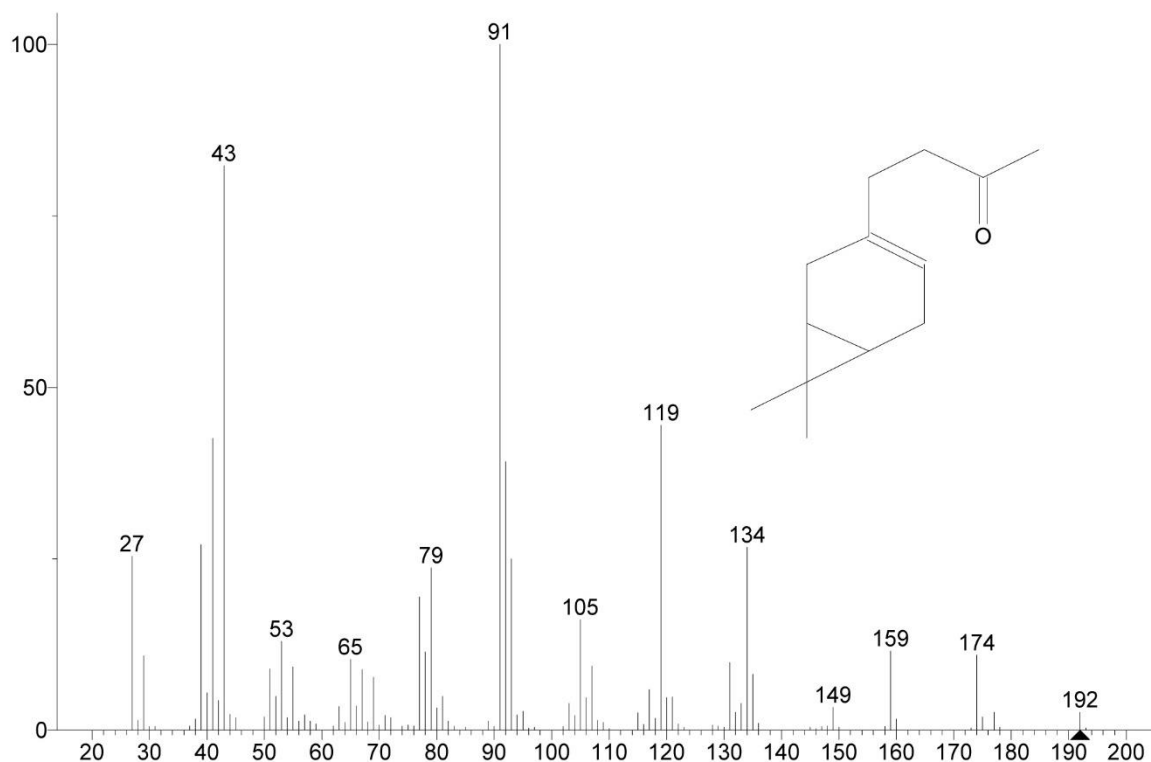
Na slici 23. je prikazan kromatogram ukupne ionske struje uzorka hidrolata iz Žabarića dobivenog SPME metodom s tri istaknuta spoja terpinen-4-ol, 10-(acetilmetil)-3-karen i α -terpineol.



Slika 23. Kromatogram ukupne ionske struje uzorka hidrolata motra iz Žabarića dobivenog mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME)

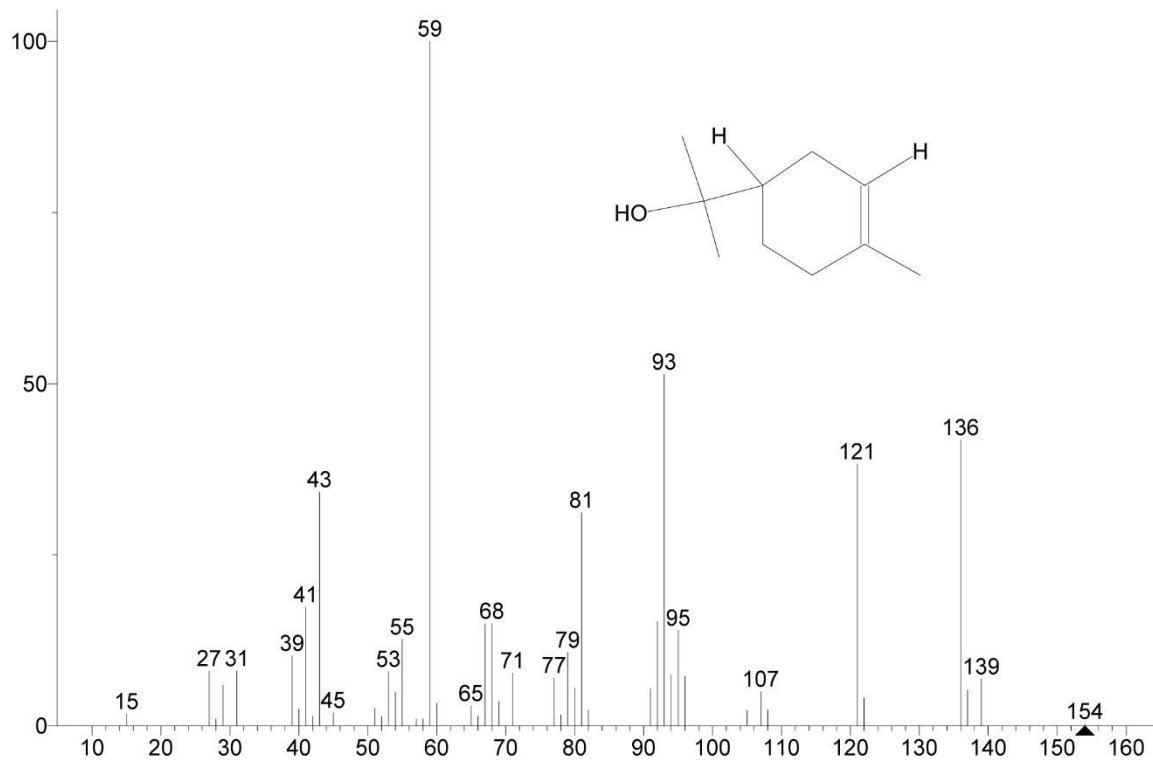
Maseni spektar 10-(acetilmetil)-3-karena prikazan je na slici 24. To je terpenški organski spoj molekulske formule $C_{13}H_{20}O$.^[61] Iz prikazanog masenog spektra uočavamo osnovni pik koji iznosi 91 m/z te molekulski pik koji iznosi 192 m/z. 10-(acetilmetil)-3-karen se nalazi u uzorku hidrolata iz Žabarića dobivenog SPME metodom u udjelu od 15,89%, u uzorku hidrolata iz Žabarića dobivenom ekstrakcijom s diklormetanom (DCM) nalazi se u

udjelu od 14,10%, dok se u uzorku hidrolata iz Bresta dobivenom ekstrakcijom s diklormetanom (DCM) nalazi samo u tragovima.



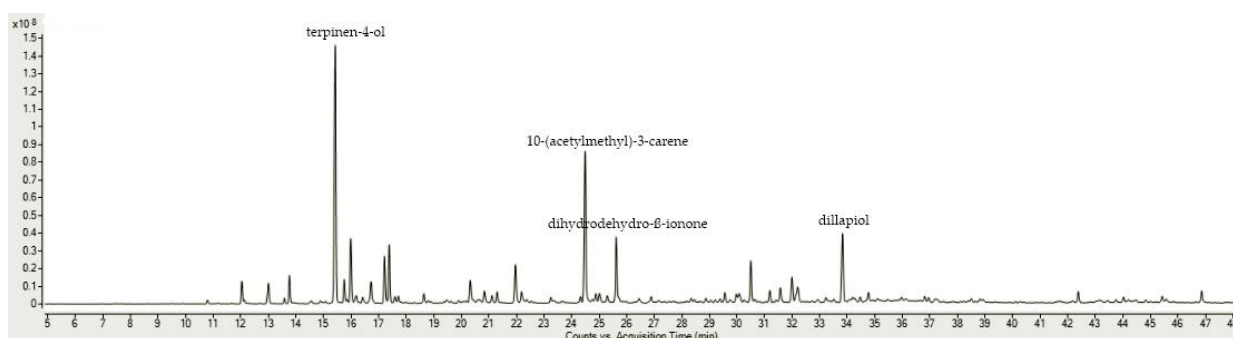
Slika 24. Maseni spektar 10-(acetilmetil)-3-karena

Na slici 25. je prikazan maseni spektar α -terpineola. α -terpineol je alkoholni monoterpen koji se prirodno nalazi aromatičnim biljkama kajaput drva (*Melaluca leucadendra*) i gorke naranče (*Citrus aurantium*). Ovaj monoterpen poznat je po svojim antioksidativnim, antiulkusnim, antikarcerogenim i analgetskim svojstvima. Navedena svojstva čine ga vrijednim sastojkom u parfemima, kozmetici i narodnoj medicini.^[62] Iz prikazanog masenog spektra osnovni pik iznosi 59 m/z, a molekularni pik iznosi 139 m/z.



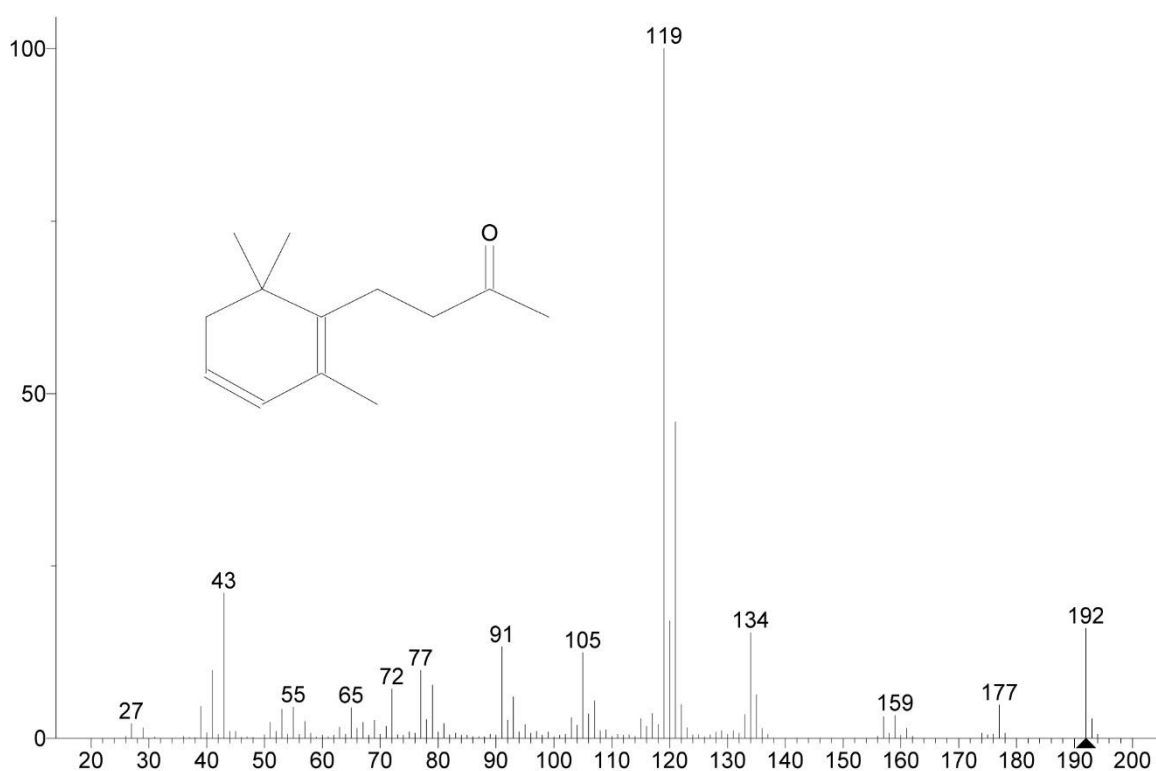
Slika 25. Maseni spektar α -terpineola

Na slici 26. je prikazan ogledni kromatogram ukupne ionske struje hidrolata motra iz Žaborića uz dodatak diklormetana (DCM). Najveći pikovi na kromatogramu predstavljaju spojeve terpinen-4-ol, 10-(acetilmetil)-3-karen, dihidrodehidro- β -ionon i dilapiol.



Slika 26. Kromatogram ukupne ionske struje hidrolata motra iz Žaborića dobiven ekstrakcijom s diklormetanom (DCM)

Na slici 27. je prikazan maseni spektar dihidrodehidro- β -ionona. β -ionon je široko rasprostranjen u cvijeću, voću i povrću. Posljednjih godina β -ionon je dobio veću pozornost biomedicinske zajednice zbog njegovih anti-tumorskih svojstava.^[63] Na prikazanom masenom spektru uočavamo osnovni pik koji iznosi 119 m/z i molekulski pik koji iznosi 192 m/z.



Slika 27. Maseni spektar dihidrodehidro- β -ionona

Politeo i sur.^[42] su analizom uzoraka hidrolata iz Hrvatske i Francuske identificirali 17 spojeva u uzorku iz Hrvatske te 32 spoja u francuskom uzorku. U hrvatskom uzorku prevladavaju spojevi terpinen-4-ol ($41,93 \pm 2,99\%$) i 10-(acetilmetil)-3-karen ($13,80 \pm 2,01\%$), dok su u francuskom uzorku hidrolata najzastupljeniji dilapiol ($36,66 \pm 5,66\%$), timil metil eter ($26,30 \pm 1,85\%$) i γ -terpinen ($9,34 \pm 0,24\%$). Ovi rezultati su slični rezultatima dobivenim u ovom radu gdje je terpinen-4-ol također najzastupljeniji spoj u hidrolatu motra s područja Žaborića (Hrvatska), a dilapiol prevladava u uzorku hidrolata motra s područja Bresta (Francuska).

Kemijski sastav eteričnih ulja razlikuje se od sastava hidrolata. U eteričnom ulju motra s područja Bresta i Žaborića identificirano je sveukupno 13 spojeva. Svih 13 spojeva pronađeno je i u eteričnom ulju motra iz Bresta, osim limonena koji nije uopće identificiran u ovom eteričnom ulju. U eteričnom ulju motra iz Žaborića limonen je najzastupljeniji spoj (62,85%) te nisu identificirani α -tujen, terpinen-4-ol, timil metil eter i dilapiol. U hidrolatima je sveukupno identificirano 42 spoja. Najviše spojeva, odnosno 32 spoja identificirana su u hidrolatu motra iz Bresta dobivenog mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (SPME).

4. ZAKLJUČAK

Broj istraživanja vezanih uz biljku motar kontinuirano raste kako zbog dobrobiti same biljke tako i zbog mogućnosti korištenja iste za razne primjene. Obzirom na različita staništa (Brest i Žaborić) odakle je biljka sakupljena, moguć je i utjecaj zemljopisnog položaja i klimatskih uvjeta na svojstva biljke te na razlike u ekotipovima eteričnih ulja i hidrolata. Ovo istraživanje potvrđuje značajne razlike u kemijskom profilu eteričnih ulja i pripadajućih hidrolata čiji su hlapljivi spojevi ekstrahirani postupcima mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (SPME) te ekstrakcijom s diklormetanom (DCM). Analizom eteričnog ulja motra iz Bresta identificirano je ukupno 13 spojeva, od kojih su najzastupljeniji dilapiol (62,10%), timil metil eter (18,00%) i γ -terpinen (9,88%). Ovi spojevi nisu detektirani u uzorku iz Žaborića, gdje je dominantan spoj limonen sa udjelom od 62,85%, dok su sabinen (13,14%) i α -pinen (3,51%) također prisutni. Ovi rezultati upućuju na to da uzorci iz Bresta sadrže više polarnih spojeva, dok uzorci iz Žaborića sadrže veći udio nepolarnih monoterpenskih spojeva poput limonena. Analiza hidrolata također je pokazala razlike u kemijskim profilima. U hidrolatu iz Bresta dobivenom metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (SPME), najzastupljeniji su spojevi dilapiol (60,81%) i timil metil eter (14,84%), dok su u uzorku iz Žaborića najzastupljeniji terpinen-4-ol (47,46%) i (Z)-karveol (8,01%). Prilikom analize uz dodatak diklormetana, u uzorku iz Bresta dominira dilapiol (85,81%), dok u uzorku iz Žaborića dominira terpinen-4-ol (23,47%). Ove razlike u kemijskom sastavu eteričnih ulja i hidrolata između uzoraka motra sakupljenih na području Bresta i Žaborića ukazuju na utjecaj okolišnih faktora kao što su sastav tla i klimatski uvjeti te moguć genetički utjecaj. Razlike u sastavu mogu značajno utjecati za njihovu primjenu u prehrambenoj industriji, parfumeriji ili medicini.

5. LITERATURA

1. A. Hameed, M. A. Khan: *Halophytes: Biology and Economic Potentials*, J. Sci. 39, **2011**, 40-44
2. B.Urlić: *Motar- nove komercijalne mogućnosti uzgoja ovog povrća na mediteranu*, **2024**, dostupno na: <https://gospodarski.hr/rubrike/povrcarstvo-rubrike/motar-nove-komercijalne-mogucnosti-uzgoja-ovog-povrca-na-mediteranu/>
3. URL: <https://www.maslinar.com/motar-je-ljekovit/> (28.02.2024.)
4. T. Nikolić, S. Kovačić, M. Ruščić, M. Milović, V. Stamenković, D. Mihelj, N. Jasprića, S. Bogdanović, J. Topić: *Flora jadranske obale i otoka – 250 najčešćih vrsta*, **2008**, Zagreb: Školska knjiga d.d.
5. K. Grigoriadou, E. Maloupa: *Micropropagation and salt tolerance of in vitro grown Crithmum maritimum L.* *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 94, **2008**, 209-217, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-008-9406-9>.
6. Lj. Grlić: *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*, Zagreb: August Cesarec, **1990**
7. M. Renna: *Reviewing the Prospects of Sea Fennel (Crithmum maritimum L.) as Emerging Vegetable Crop*, *Plants*. 7, **2018**, 92, <https://doi.org/10.3390/plants7040092>
8. M. Renna, M. Gonnella: *The use of the sea fennel as a new spice-colorant in culinary preparations*. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, **2013**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijgfs.2013.06.004>

9. URL:
[https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.24sata.hr%2Flifestyle%2F fanticka-hrana-bogova-motar-je-fantastican-prilog-ribi-i-salati-533155&psig=AOvVaw0c7A1OpqlOV98_hYGxQji3&ust=1726566189015000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCKjvl66Wx4gDFQAAAAAdAAAAABAE](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.24sata.hr%2F lifestyle%2F fanticka-hrana-bogova-motar-je-fantastican-prilog-ribi-i-salati-533155&psig=AOvVaw0c7A1OpqlOV98_hYGxQji3&ust=1726566189015000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCKjvl66Wx4gDFQAAAAAdAAAAABAE) (01.03.2024.)
10. R. Pavela, F. Maggi, G. Lupidi, K. Cianfaglione, X. Dauvergne, M. Bruno, G. Benelli: *Efficacy of sea fennel (Crithmum maritimum L., Apiaceae) essential oils against Culex quinquefasciatus Say and Spodoptera littoralis (Boisd.). Ind. Crops Prod.* **2017**, 109, 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.013>
11. M. Renna, M. Gonnella, S. Caretto, G. Mita, F. Serio: *Sea fennel (Crithmum maritimum L.): From underutilized crop to new dried product for food use. Genet. Resour. Crop Evol.* **2017**, 64, 205–216.
12. V. R. Preedy: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 1st Edition, Academic Press, London, **2016**
13. K. Hüsnü Can Başer, G. Buchbauer: *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*, 3rd Edition, CRC Press, Boca Raton, **2020**, p. 41; pp.161-170.
14. L. Salgueiro, A. Martins, H. Correia: *Raw materials: The importance of quality and safety, A review. Flavour Fragr. J.*, **2010**, 25:253–271. doi: 10.1002/ffj.1973.
15. M. Dobrilović: *Morfološke karakteristike biljnog materijala kao mjera za odabir biljnih vrsta u krajobrazu*, **2006**, *Agronomski glasnik*, 68 (3), 161-180. Preuzeto s <https://hrcak.srce.hr/26544>
16. R. Pavela: *Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. Ind. Crops Prod.* **2015**, 76:174–187. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.06.050

17. C. S. Sell: *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer*. Royal Society of Chemistry, London, UK, **2006**
18. URL:
<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ftestslab.ru%2Fanaliz-vozduha%2Ffizopren%2F&psig=AOvVaw1Vk4O-w1mm1lq6z4wzVOJR&ust=1726566434228000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCMjexaGXx4gDFQAAAAAdAAAAABAI>
(01.03.2024.)
19. I. Jerković: *Kemija i tehnologija aromatičnog bilja*, nerecenzirani nastavni materijali, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, **2011**
20. P. Ćurlin: *Fitokemijski profil eteričnih ulja i hidrolata biljaka lovor, ružmarin, primorski oman i motar*, **2023**, str. 12
21. N.C. Da Costa, S. Eri: *Identification of Aroma Chemicals*, in: D. J. Rowe (Ed.), *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances*, Blackwell Publishing, Oxford, **2005**, pp. 20-25.
22. M. Abdul Mottaleb, M.J. Mezziani, M.R. Islam: *Solid – Phase Microextraction (SPME) and Its Application to Natural Products*, **2014**, str. 105-106
23. I. Jerković: *Kemija aroma*, recenzirana skripta, Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Split, **2011**, pp.131-140.
24. O. Coskun: *Separation techniques: Chromatography*, **2016**
25. F. Rouessac, A. Rouessac: *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*, 2nd Edition, **2007**, str. 31

26. Nj. Radić, L. Kukoč Modun: *Uvod u analitičku kemiju*, Školska knjiga, **2016**, str. 654
27. I. Jerković, A. Radonić: *Praktikum iz organske kemije*, Split, **2009**, str. 60-62
28. *Masena spektrometrija*, Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, **2021**
29. URL: https://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE7_0286.jpg (30.04.2024.)
30. L. Vranković, I. Delaš, Z. Stojević, J. Aladrović: *Analiza metilnih estera masnih kiselina u materijalu biološkog porijekla metodom plinske kromatografije*, **2018**, str. 31-33
31. I. Jerković, A. Radonić: *Praktikum iz organske kemije*, Split, **2009**, str. 61
32. H.M. McNair, J.M. Miller: *Basic Gas Chromatography*, 2nd Edition, **2011**, str. 156
33. Lj. Grlić: *Samoniklo jestivo bilje*, August Cesarec, Zagreb, **1986**, 47, 109, 231, 334.
34. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dillapiol> (05.09.2024.)
35. V.V. Semenov, A.S. Kiselyov, I.Y. Titov, I.K. Sagamanova, N.N. Ikizalp, N.B. Chernysheva, D.V. Tsyganov, L.D. Konyushkin, S.I. Firgang, R.V. Semenov, I.B. Karmanova, M.M. Raihstat, M.N. Semenova: *Synthesis of antimetabolic polyalkoxyphenyl derivatives of combretastatin using plant allylpolyalkoxybenzenes*, **2010**, *Journal of natural products* 73, 1796-1802 doi: 10.1021/np1004278

36. R. Parise-Filho, M. Pastrello, C.E. Pereira Camerlingo, G.J. Silva, L.A. Agostinho, T. de Souza, F.M. Motter Magri, R.R. Ribeiro, C.A. Brandt, M.C. Polli: *The anti-inflammatory activity of dillapiole and some semisynthetic analogues. Pharm Biol.*, **2011**, Nov;49(11):1173-9. doi: 10.3109/13880209.2011.575793
37. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Isopropyl-5-methylanisole> (05.09.2024.)
38. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/gamma-Terpinene> (05.09.2024.)
39. S.M. Khoshnazar, M. Kazemi, B. Amirheidari: *Neuroprotective Effects of γ -Terpinene in Rats with Acute Cerebral Ischemia: Modulation of Inflammation, Apoptosis, and Oxidation. Neurochem Res.*, **2024**, 49, 1863–1878, <https://doi.org/10.1007/s11064-024-04143-7>
40. P. E. Kazyoba, A. Viljoen: *Limonene – a Review: Biosynthetic, Ecological and Pharmacological Relevance, Nat. Prod. Commun.* 3., **2008**, 1193-1202, doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X0800300728>.
41. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sabinene> (05.09.2024.)
42. N.S. Dosoky, P. Satyal, L.M. Barata, J.K.R. da Silva, W.N. Setzer: *Volatiles of Black Pepper Fruits (Piper nigrum L.). Molecules.*, **2019**, Nov 21;24(23):4244. doi: 10.3390/molecules24234244
43. O. Politeo, P. Ćurlin, P. Brzović, K. Auzende C. Magne, I. Generalić Mekinić: *Volatiles from French and Croatian Sea Fennel Ecotypes: Chemical Profiles and the Antioxidant, Antimicrobial and Antiageing Activity of Essential Oils and Hydrolates // Foods*, 13, **2024**, 5; 695, 15. doi: 10.3390/foods13050695
44. R. Pavela, F. Maggi, F. Lupidi, K. Cianfaglione, X. Dauvergne, M. Bruno, G. Benelli: *Efficacy of sea fennel (Crithmum maritimum L., Apiaceae) essential oils*

- against *Culex quinquefasciatus* Say and *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Ind. Crops Prod.* **2017**, *109*, 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.013>
45. L. Coiffard, M. Piron-Frenet, L. Amicel: *Geographical variations of the constituents of the essential oil of Crithmum maritimum L., Apiaceae.* *Int. J. Cosmet. Sci.* **1993**, *15*, 15–21. doi: 10.1111/j.1467-2494.1993.tb00064.x
46. R. Pavela, G. Benelli, L. Pavoni, G. Bonacucina, M. Cespi, K. Cianfaglione, I. Bajalan, M.R. Morshedloo, G. Lupidi, D. Romano et al.: *Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides?* *Ind. Crops Prod.* **2019**, *129*, 631–640 doi: 10.1016/j.indcrop.2018.11.073
47. F. Senatore, F. Napolitano, M. Özcan: *Composition and antibacterial activity of the essential oil from Crithmum maritimum L. (Apiaceae) growing wild in Turkey.* *Flavour Fragr. J.*, **2000**, *15*, 186–189. doi: 10.1002/1099-1026(200005/06)15:3<186::AID-FFJ889>3.0.CO;2-I
48. M. Özcan, A. Akgül, K.H.C. Başçr, T. Özck, N. Tabanca :*Essential oil composition of sea fennel (Crithmum maritimum) form Turkey.* *Nahrung/Food*, **2001**, *45*, 353–356., doi: 10.1002/1521-3803(20011001)45:5<353::AID-FOOD353>3.0.CO;2-4
49. M. Musa Özcan, L.G. Pedro, A. Cristina Figueiredo, J.G. Barroso: *Constituents of the essential oil of sea fennel (Crithmum maritimum L.) growing wild in Turkey.* *J. Med. Food*, **2006**, *9*, 128–130., doi: 10.1089/jmf.2006.9.128
50. I. Jallali, Y. Zaouali, I. Missaoui, M. Smeoui, C. Abdelly, R. Ksouri: *Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonc extracts of two edible halophytes: Crithmum maritimum L. and Inula crithmoïdes L.* *Food Chem.* **2014**, *145*, 1031–1038. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.034

51. V. Zafeiropoulou, E.M. Tomou, A. Douros, H. Skaltsa: *The Effect of Successive Harvesting on The Volatile Constituents of Two Essential Oils of Cultivated Populations of Sea Fennel (Crithmum maritimum L.) in Greece. J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2021**, *24*, 1–11. doi: 10.1080/0972060X.2021.1875054
52. S. Pedreiro, A. Figueirinha, C. Cavaleiro, O. Cardoso, M.M. Donato, L. Salgueiro, F. Ramos: *Exploiting the Crithmum maritimum L. Aqueous Extracts and Essential Oil as Potential Preservatives in Food, Feed, Pharmaceutical and Cosmetic Industries. Antioxidants*, **2023**, *12*, 252. doi: 10.3390/antiox12020252
53. J.M. Alves-Silva, I. Guerra, M.J. Gonçalves, C. Cavaleiro, M.T. Cruz, A. Figueirinha, L. Salgueiro: *Chemical composition of Crithmum maritimum L. essential oil and hydrodistillation residual water by GC-MS and HPLC-DAD-MS/MS, and their biological activities. Ind. Crops Prod.* **2020**, *149*, 112329. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112329
54. L. Pateira, T. Nogueira, A. Antunes, F. Venâncio, R. Tavares, J. Capelo: *Two chemotypes of Crithmum maritimum L. from Portugal. Flavour Fragr. J.* **1999**, *14*, 333–343.
55. T. Kulišić-Bilušić, I. Blažević, B. Dejanović, M. Miloš, G. Pifat: *Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (Capparis Spinosa) and sea fennel (Crithmum Maritimum) by different methods. J. Food Biochem.* **2010**, *34*, 286–302. doi: 10.1111/j.1745-4514.2009.00330.x
56. I. Generalić Mekinić, I. Blažević, I. Mudnić, F. Burčul, M. Grga, D. Skroza, I. Jerčić, I. Ljubenković, M. Boban, M. Miloš et al. : *Sea fennel (Crithmum maritimum L.): Phytochemical profile, antioxidative, cholinesterase inhibitory and*

vasodilatory activity. *J. Food Sci. Technol.* **2016**, *53*, 3104–3112. doi: 10.1007/s13197-016-2283-z

57. O. Politeo, M. Popović, M. Veršić Bratinčević, K. Kovačević, B. Urlić, I. Generalić Mekinić: *Chemical profiling of sea fennel (Crithmum maritimum L., Apiaceae) essential oils and their isolation residual waste-waters.* *Plants*, **2023**, *12*, 214. <https://doi.org/10.3390/plants12010214>
58. I. Generalić Mekinić, V. Šimat, I. Ljubenković, F. Burčul, M. Grga, M. Mihajlovski, R. Lončar, V. Katalinić, D. Skroza: *Influence of the vegetation period on sea fennel, Crithmum maritimum L. (Apiaceae), phenolic composition, antioxidant and anticholinesterase activities.* *Ind. Crop. Prod.* **2018**, *124*, 947–953. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.080>
59. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Terpineol> (09.09.2024.)
60. L. Cordeiro, P. Figueiredo, H. Souza, A. Sousa, F. Andrade-Júnior, D. Medeiros, J. Nóbrega, D. Silva, E. Martins, J. Barbosa-Filho, et al.: *Terpinen-4-ol as an Antibacterial and Antibiofilm Agent against Staphylococcus aureus.* *Int. J. Mol. Sci.*, **2020**, *21*, 4531. <https://doi.org/10.3390/ijms21124531>
61. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/561019> (09.09.2024.)
62. G. Mishra, P. Singh, M. Molla, Y. Shumet Yimer, A. Ewunetie, T. Yimer Tadesse, T. Mengie Ayele, B. Kefale: *Nutraceuticals: A source of benefaction for neuropathic pain and fibromyalgia*, October, **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105260>
63. A. Paparella, L. Shaltiel-Harpaza, M. Ibdah: *β -Ionone: Its Occurrence and Biological Function and Metabolic Engineering.* *Plants*, **2021**, *10*, 754. <https://doi.org/10.3390/plants10040754>