

Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnih ulja

Trtanj, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:167:654473>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJA
SMJER ORGANSKA KEMIJA I BIOKEMIJA

VRŠNE PARE SAPUNA S DODATKOM ETERIČNIH ULJA

DIPLOMSKI RAD

MIA TRTANJ

Matični broj: 136

Split, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJA
SMJER ORGANSKA KEMIJA I BIOKEMIJA

VRŠNE PARE SAPUNA S DODATKOM ETERIČNIH ULJA

DIPLOMSKI RAD

MIA TRTANJ

Matični broj: 136

Split, rujan 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATED STUDY OF CHEMISTRY
(ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY)

HEADSPACE OF SOAP WITH THE ADDITION OF
ESSENTIAL OILS

DIPLOMA THESIS

MIA TRTANJ

Parent number : 136

Split, September 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu

Kemijско-tehnološki fakultet

Diplomski studij Kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija
Tema rada: je prihvaćena na 6. elektroničkoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско – tehnološkog fakulteta u Splitu
Mentor: prof. dr. sc. Igor Jerković

VRŠNE PARE SAPUNA S DODATKOM ETERIČNIH ULJA

Mia Trtanj, 136

Sažetak:

Eterična ulja su iznimno cijenjene prirodne tvari poznate još od davnina. Tijekom godina i promjenom stila života ljudi su sve više napustili upotrebu ljekovitog bilja i zaboravili blagodati eteričnih ulja. Interes se ponovno pojavio u 19. stoljeću kada je otkrivena aromaterapija. Danas se ljudi sve više okreću prirodnim proizvodima poznatog porijekla i sastava, čime je porasla i zainteresiranost za kućne radionice izrade sapuna. U radu je opisan postupak kućne radionice izrade sapuna s bazom od maslinovog i kokosovog ulja, te uz dodatak tri vrste eteričnih ulja: eteričnog ulja lavande, eteričnog ulja ružmarina i eteričnog ulja naranče. Navedeni sapuni, kao i sama eterična ulja podvrgnuti su organskoj analizi na Kemijско-tehnološkom fakultetu u Splitu u cilju ispitivanja mirisne kvalitete samih proizvoda. Izolacija vršnih para sapuna provedena je metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), a sama analiza isparljivih spojeva provedena je vezanim sustavom plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC-MS). Analizirani su i uspoređivani kemijски sastavi vršnih para samih eteričnih ulja, baznog sapuna, te sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande, ružmarina i naranče.

Ključne riječi: eterična ulja, kućna izrada sapuna, HS-SPME, GC-MS

Rad sadrži: 57 stranica, 29 slika, 19 tablica, 50 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- | | |
|----------------------------------|-------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Ante Prkić | predsjednik |
| 2. doc dr. sc. Marina Zekić | član |
| 3. prof. dr. sc. Igor Jerković | član-mentor |

Datum obrane: 20. rujna 2021.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split

Faculty of Chemistry and Technology

Graduate study of Chemistry

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Thesis subject: was approved by the Faculty Council of the Faculty of Chemistry and Technology
Split, electronical session no. 6

Mentor: Dr Igor Jerković, full professor

HEADSPACE OF SOAP WITH THE ADDITION OF ESSENTIAL OILS

Mia Trtanj, 136

Abstract:

Essential oils are highly valued natural substances that are known since ancient times. Over the years and with the change of lifestyle, people have increasingly abandoned the use of medicinal herbs and forgotten the benefits of essential oils. Interest again appeared in the 19th century when aromatherapy was discovered. Today, people have been increasingly turning to the natural products of known origin and composition, which has increased the interest in home soap making workshops. Diploma thesis describes the procedure of a home workshop for making soap with a base made from olive and coconut oil, and with the addition of three types of essential oils: lavender essential oil, rosemary essential oil and orange essential oil. These soaps, as well as the essential oils themselves, were subjected to organic analysis at the Faculty of Chemistry and Technology Split in order to analyse the smell quality of the products. The isolation of soap headspace was performed by the headspace solid phase microextraction (HS-SPME), and the analysis of volatile compounds was performed by the coupled gas chromatography system with mass spectrometry (GC-MS). The headspace chemical composition of the essential oils themselves, base soap, and soaps with the addition of lavender, rosemary and orange essential oils were analyzed and compared.

Keywords: essential oils, home soap making workshops, HS-SPME, GC-MS

Thesis contains: 57 pages, 29 pictures, 19 tables, 50 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|----------------------------------|--------------|
| 1. | Dr. Ante Prkić, associate prof | chair person |
| 2. | Dr. Marina Zekić, assistant prof | member |
| 3. | Dr Igor Jerković, full prof | supervisor |

Defense date: 20. September 2021.

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

Diplomski rad izrađen je u Zavodu za organsku kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Igora Jerkovića u razdoblju od siječnja do svibnja 2021. godine.

Zahvala

Ovim putem želim se zahvaliti svojoj obitelji i malom, ali značajnom krugu bliskih prijatelja koji su vjerovali u mene i pružali mi podršku kroz sve godine obrazovanja, uz sve uspone i padove, te mi omogućili da ovo akademsko razdoblje bude najljepše razdoblje mog života.

Također se želim zahvaliti prof. dr. sc. Igoru Jerkoviću na odličnom mentorstvu, ukazanom povjerenju, savjetima i podijeljenom znanju kroz svih 5 godina mojega akademskog puta. Želim se zahvaliti što mi je omogućio da mi moj diplomski rad, završni korak fakultetskog puta, predstavlja iznimno zadovoljstvo i ispunjenje mojih želja.

SAŽETAK:

Eterična ulja su iznimno cijenjene prirodne tvari poznate još od davnina. Tijekom godina i promjenom stila života ljudi su sve više napustili upotrebu ljekovitog bilja i zaboravili blagodati eteričnih ulja. Interes se ponovno pojavio u 19. stoljeću kada je otkrivena aromaterapija. Danas se ljudi sve više okreću prirodnim proizvodima poznatog porijekla i sastava, čime je porasla i zainteresiranost za kućne radionice izrade sapuna. U radu je opisan postupak kućne radionice izrade sapuna s bazom od maslinovog i kokosovog ulja, te uz dodatak tri vrste eteričnih ulja: eteričnog ulja lavande, eteričnog ulja ružmarina i eteričnog ulja naranče. Navedeni sapuni, kao i sama eterična ulja podvrgnuti su organskoj analizi na Kemijsko-tehnološkom fakultetu u Splitu u cilju ispitivanja mirisne kvalitete samih proizvoda. Izolacija vršnih para sapuna provedena je metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), a sama analiza isparljivih spojeva provedena je vezanim sustavom plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC-MS). Analizirani su i uspoređivani kemijski sastavi vršnih para samih eteričnih ulja, baznog sapuna, te sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande, ružmarina i naranče.

Ključne riječi: eterična ulja, kućna izrada sapuna, HS-SPME, GC-MS

SUMMARY:

Essential oils are highly valued natural substances that are known since ancient times. Over the years and with the change of lifestyle, people have increasingly abandoned the use of medicinal herbs and forgotten the benefits of essential oils. Interest again appeared in the 19th century when aromatherapy was discovered. Today, people have been increasingly turning to the natural products of known origin and composition, which has increased the interest in home soap making workshops. Diploma thesis describes the procedure of a home workshop for making soap with a base made from olive and coconut oil, and with the addition of three types of essential oils: lavender essential oil, rosemary essential oil and orange essential oil. These soaps, as well as the essential oils themselves, were subjected to organic analysis at the Faculty of Chemistry and Technology Split in order to analyse the smell quality of the products. The isolation of soap headspace was performed by the headspace solid phase microextraction (HS-SPME), and the analysis of volatile compounds was performed by the coupled gas chromatography system with mass spectrometry (GC-MS). The headspace chemical composition of the essential oils themselves, base soap, and soaps with the addition of lavender, rosemary and orange essential oils were analyzed and compared.

Keywords: essential oils, home soap making workshops, HS-SPME, GC-MS

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Eterična ulja	2
1.1.1. Kemijski sastav eteričnih ulja	3
1.1.2. Metode ispitivanja kvalitete eteričnih ulja	8
1.2. Sapuni	9
1.2.1. Saponifikacija	9
1.3. Laboratorijske metode izolacije vršnih para	10
1.3.1. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)	11
1.4. Metode analize isparljivih spojeva	12
1.4.1. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa	13
2. MATERIJALI I METODE	14
2.1. Korištena eterična ulja i bazna ulja	15
2.1.1. Eterično ulje lavande	15
2.1.2. Eterično ulje ružmarina	17
2.1.3. Eterično ulje naranče	20
2.1.4. Maslinovo ulje	22
2.1.5. Kokosovo ulje	23
2.2. Priprema sapuna	24
2.3. Izolacija vršnih para sapuna mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) .28	
2.4. Analiza isparljivih spojeva plinskom kromatografijom sa spektrometrijom masa (GC-MS)	29
3. REZULTATI	31
4. RASPRAVA	41
4.1. Vršne pare baznog sapuna	42
4.2. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande i vršne pare ulja lavande	43
4.3. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina i vršne pare ulja ružmarina	45
4.4. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče i vršne pare ulja naranče	46
4.5. Usporedba kemijskog sastava vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja i baznog sapuna	48
5. ZAKLJUČAK	50
6. LITERATURA	52

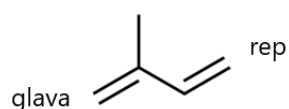
1. UVOD

1.1. Eterična ulja

Eterična ulja su smjese više ili manje isparljivih spojeva koji su izolirani iz raznih aromatičnih biljaka. Aromatične biljke iz kojih se izoliraju eterična ulja najčešće potječu iz porodica *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, *Piperaceae*, *Rutaceae* i *Zingiberaceae*. U većini biljnih organizama eterična ulja su slobodna, međutim kod nekih biljnih vrsta, kao što je sjeme gorkog badema, isparljivi spojevi su glikozidno vezani te se oslobađaju tek nakon hidrolize.¹ Eterična su ulja većinom u tekućem agregatnom stanju na sobnoj temperaturi, međutim postoje izuzeci poput eteričnog ulja ruže koje prelazi u kruto agregatno stanje na temperaturama ispod 20 °C, zbog prirodno prisutnih parafina. Većina eteričnih ulja je slabo viskozna, ali postoje ona poput ulja vetivera i pačulija koja su vrlo viskozna. Eterična ulja uglavnom imaju manju gustoću od vode i stoga plutaju na površini vode, a samo neka su gušća, kao što je eterično ulje klinčića. Svježe izolirana eterična ulja su potpuno isparljiva i to je uzrok mogućnosti njihove detekcije njuhom. Komponente eteričnih ulja su lipofilne molekule te nisu topljive u polarnom otapalu kao što je voda, ali se dobro otapaju u biljnim uljima i voskovima, dietil-eteru i sličnim otapalima. Spojevi eteričnih ulja su uglavnom molekule niske molekulske mase građene od 10-15 ugljikovih atoma. Visoka lipofilnost i niska molekulska masa daju im specifične biološke karakteristike, stoga se ona vrlo lako apsorbiraju kroz kožu, ali i općenito kroz stanične membrane što uključuje laganu apsorpciju u probavnom sustavu. Njihova isparljivost omogućuje laku inhalaciju, pa su stoljećima bili jedine ljekovite tvari koje su se na taj način mogle primjenjivati.² Još od srednjeg vijeka, eterična ulja su u širokoj primjeni zbog svojih raznih djelovanja kao što je baktericidno, fungicidno, antiparazitsko, insekticidno, te općenito ljekovito djelovanje. Danas je sve češća uporaba eteričnih ulja i u kozmetičke svrhe, te u farmaceutskoj, sanitarnoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji.³ Važno svojstvo eteričnih ulja je njihova hidrofobnost, što im omogućuje interakciju s lipidima bakterijskih membrana i mitohondrija, mijenjajući njihovu strukturu i permeabilnost. Eterična ulja s izrazitom antimikrobnom aktivnošću sadrže visok postotak fenolnih spojeva koji uzrokuju poremećaj citoplazmatske membrane, proton-motorne sile te koagulaciju sadržaja bakterijske stanice.⁴

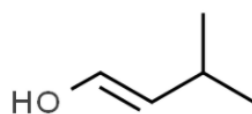
1.1.1. Kemijski sastav eteričnih ulja

Eterična ulja složene su smjese aromatičnih, alifatskih, cikličkih, acikličkih, zasićenih i nezasićenih prirodnih organskih spojeva. Prema građi ugljikovog kostura, komponente eteričnog ulja mogu se podijeliti u tri glavne skupine: terpeni, fenilpropanski derivati i ostali spojevi. **Terpeni** su glavni sastojci eteričnih ulja te su velika grupa prirodnih spojeva opće formule $(C_5H_8)_n$. Njihova osnovna struktura izgrađena je od 2-metilbutanske jedinice koja se često naziva i izoprenska jedinica. Građu pravilnih terpena predložio je Wallach 1881. godine. Takva pravilna građa (izoprensko pravilo) podrazumijeva povezivanje izoprenskih jedinica „glava na rep“, odnosno razgranati završetak jedne C_5 jedinice povezan na nerazgranati završetak druge C_5 jedinice.



Slika 1. Izoprenska jedinica.

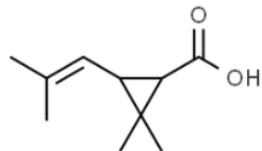
Prirodni terpeni se dijele na temelju broja izoprenskih jedinica na semiterpene, monoterpene, seskviterpene, diterpene, triterpene, tetraterpene i politerpene. Kemijski sastav eteričnih ulja uglavnom sadrži semiterpene, monoterpene i seskviterpene jer su dovoljno isparljivi ($t_v < 250\text{ }^\circ\text{C}$). Eterično ulje se može sastojati od velikog broja terpenskih spojeva, međutim obično jedan ili više spojeva prevladava i time uvjetuje opći karakter ulja, te mirisna i fizikalno-kemijska svojstva. **Semiterpeni** nisu česti terpeni i poznato je samo nekoliko prirodnih semiterpena. U eteričnim uljima u slobodnom obliku i u obliku estera javljaju se semiterpeni izopentanol, te 3,3-dimetilalil-alkohol.



Slika 2. Izopentanol.

Monoterpeni se mogu podijeliti na pravilne i nepravilne monoterpene. Nepravilni monoterpeni građeni su od izoprenskih jedinica povezanih „glava na glavu“ ili „glava na

sredinu“ ili na drugi način. U načelu nastaju preuređivanjem pravilnih monoterpena. Najpoznatiji predstavnici nepravilnih monoterpena su krizantemska kiselina i piretrinska kiselina.



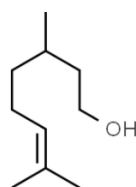
Slika 3. Krizantemska kiselina.

Pravilni monoterpeni građeni su od izoprenskih jedinica povezanih „glava na rep“ te se prema građi mogu podijeliti na:

- Acikličke monoterpe, kao što su npr. linalool ili citronelol

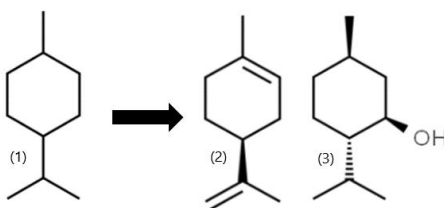


Slika 4. Linalool.



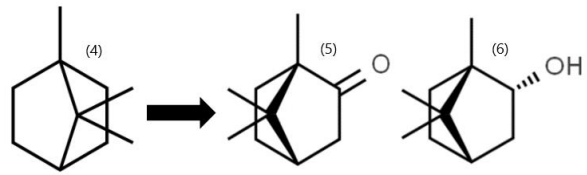
Slika 5. Citronelol.

- Monocikličke, bicikličke i tricikličke monoterpe koji se izvode iz: *p*-mentana (npr. limonen, α -terpinen ili mentol)



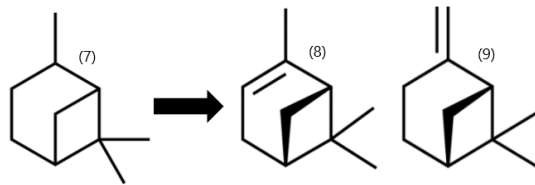
Slika 6. *p*-Mentan (1) iz kojeg se izvode npr. limonen (2) i mentol (3).

bornana (npr. kamfor ili borneol)



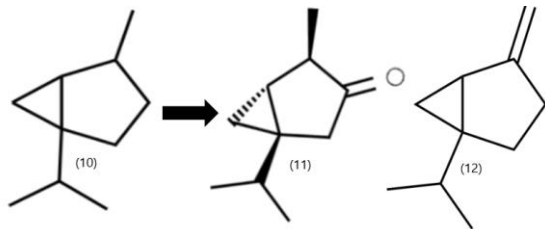
Slika 7. Bornan (4) iz kojeg se izvode npr. kamfor (5) i borneol (6).

pinana (npr. mirtenol, α -pinen ili β -pinen)



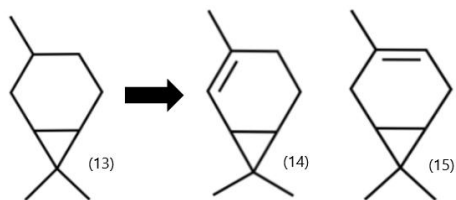
Slika 8. Pinan (7) iz kojeg se izvode npr. α -pinen (8) i β -pinen (9).

tujana (npr. tujon, sabinen ili α -tujen)



Slika 9. Tujan (10) iz kojeg se izvode npr. tujon (11) i sabinen (12).

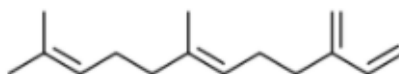
karana (npr. kar-2-en, kar-3-en ili kar-3-en-2-on)



Slika 10. Karan (13) iz kojeg se izvode npr. kar-2-en (14) i kar-3-en (15).

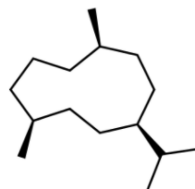
Seskviterpeni sadrže 15 ugljikovih atoma, a dolaze u višim frakcijama eteričnih ulja te su manje isparljivi od monoterpena.⁵ Dijelev se u četiri glavne skupine:

- Aciklički seskviterpeni, npr. farnezen i farnezol



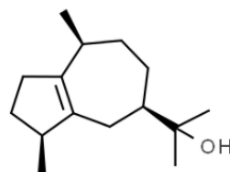
Slika 11. Farnezol.

- Monociklički seskviterpeni, npr. germakran i bisabolen



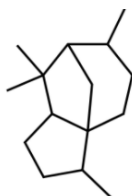
Slika 12. Germakran.

- Biciklički seskviterpeni npr. gvajol i kadinan



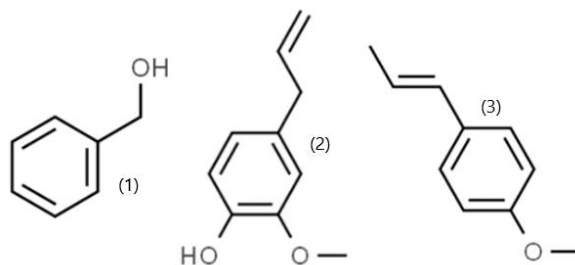
Slika 13. Gvajol.

- Triciklički seskviterpeni, npr. kopean, cedran i aromadendran



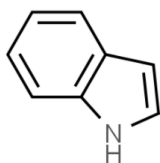
Slika 14. Cedran.

Fenilpropanski derivati su prirodni organski spojevi koji su građeni od fenilnog prstena s jednim bočnim propanskim lancem koji može biti skraćen ili eliminiran. Mogu biti aldehidi, fenoli, te fenileteri koji se izводе iz cimetne kiseline. Najčešći primjeri su benzil-alkohol, eugenol, benzaldehid, anetol i cimetni aldehid.

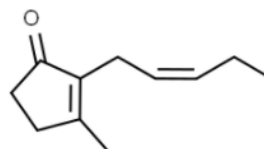


Slika 15. Benzil-alkohol (1), eugenol (2) i anetol (3).

Ostali spojevi koji ulaze u sastav eteričnih ulja su lančani ugljikovodici (npr. *n*-heptan) i njihovi derivati, te spojevi s dušikom i sumporom kao što su npr. derivati antranilne kiseline te indol u ulju cvijeta naranče i jasmina.



Slika 16. Indol.



Slika 17. *cis*-Jasmon.

1.1.2. Metode ispitivanja kvalitete eteričnih ulja

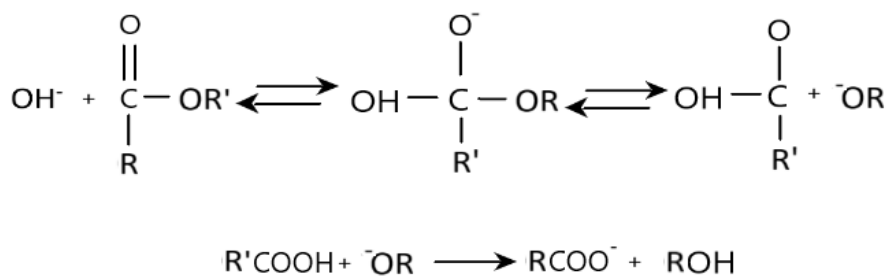
Kvaliteta eteričnog ulja ovisi o više čimbenika, u praksi to podrazumijeva izbor ispravne biljne vrste, način obrade biljnog materijala te izbor odgovarajućeg načina izolacije i pravilnu izvedbu izolacije. Kvaliteta također uvelike ovisi o adekvatnom skladištenju i očuvanju od nečistoća. Sva eterična ulja određene su kvalitete koju pripisuje niz normi. Glavni izvori tih normi su Europska farmakopeja i AFNOR (*Association Francaise de Normalisation*)/ISO (*International Organization for Standardization*) norme. **Europska farmakopeja** sastoji se od monografije pojedinih eteričnih ulja te monografije za ispitivanje kvalitete i zahtjeva za kakvoću. Prema normi Europska farmakopeja (*Aetherolea* 01/2008:2098), eterično ulje je mirisni proizvod dobiven iz botanički definiranog biljnog materijala destilacijom vodenom parom, suhom destilacijom ili mehaničkim postupcima bez zagrijavanja kod citrusa. Osim čistih ulja koja su nastala navedenim postupcima, eterično ulje može biti i deterpenirano (eterično ulje kojem su uklonjeni monoterpeni ugljikovodici), deterpenirano i deseskviterpenirano (uz monoterpenne, uklonjeni i seskviterpeni ugljikovodici), rektificirano (eterično ulje podvrgnuto frakcijskoj destilaciji u cilju obogaćenja ili osiromašenja određenim spojem) te x-free (ulje u kojem je uklonjena jedna određena komponenta). Europska farmakopeja također navodi potrebna ispitivanja koja je obavezno provesti za eterično ulje, koja su grupirana u opće testove (relativna gustoća, indeks loma svjetla, optička rotacija i količina masnih kiselina) i dodatne testove (točka smrzavanja, kiselinski broj, peroksidni broj, strani esteri, ostatak nakon sušenja, voda, otapanje u alkoholu i patvorenje). **AFNOR** i **ISO** dva su udruženja koja usklađuju podatke i osiguravaju smjernice za laboratorijske analize, postupke u procesu te kontrolu kvalitete i zahtjeve kvalitete. Norme su također grupirane u dvije grupe, a to su opće norme (obilježavanje, uzorkovanje i pojedinačne metode) te pojedinačne norme (zahtjevi za kvalitetu).⁶ U Hrvatskoj se kontrola kakvoće i zdravstvene ispravnosti provodi sukladno Zakonu o hrani (N. N. 117/03.) i Zakonu o zdravstvenoj ispravnosti i zdravstvenom nadzoru nad namirnicama i predmetima opće uporabe – pročišćeni tekst (N. N. 1/97.). Odredbama tih zakona, prihvaćaju se norme postavljene u Europskoj farmakopeji i AFNOR i ISO standardima.⁷

1.2. Sapuni

Sapuni su anionske površinski aktivne tvari. Po sastavu to su soli viših masnih kiselina. Naziv sapun dobiven je po planini Sapo u Rimu. Babilonci, Egipćani i Mezopotamci koristili su tvari slične današnjim sapunima još oko 2800 godina prije Krista. Grci i Rimljani sapune proizvedene od urina i životinjske masti nisu koristili za osobnu higijenu nego za pranje raznih pribora i tekstila. U 8. stoljeću u Italiji i Španjolskoj započinje veća proizvodnja sapuna od kozje masti i pepela bukve, dok su u to vrijeme u Francuskoj za izradu sapuna počeli koristiti maslinovo ulje i dodavati prirodne arome. Komercijalni, industrijski, sapun u prodavaonice je dospio tek početkom 19. stoljeća.⁸

1.2.1. Saponifikacija

Sapuni nastaju procesom saponifikacije u kojem reagiraju masti ili ulja s alkalijama (hidroksidi i oksidi alkalijskih metala) pri čemu nastaju sapun i glicerol. U prisustvu vode masti se hidroliziraju, odnosno cijepaju na slobodne masne kiseline i glicerol. Takva reakcija odvija se vrlo sporo ako nije katalizirana uz pomoć kiseline, baze, enzima, povišene temperature ili pritiska vodene pare. Kod hidrolize organskih estera takva reakcija naziva se saponifikacija. Saponifikacija je reverzibilna reakcija koja je katalizirana hidroksilnim i hidronijevim ionima. Povoljnija je saponifikacija uz dodatak baze zato što baza povećava brzinu i omogućava odvijanje reakcije do kraja zbog neutralizacije slobodne kiseline. Mehanizam saponifikacije bazom:



Slika 18. Mehanizam saponifikacije bazom – izvor: (9).

Za saponifikaciju se najčešće upotrebljavaju natrijev hidroksid i natrijev karbonat. Ukoliko je sapun mek, odnosno tekuć, koristi se KOH. Kao sirovine se upotrebljavaju slobodne masne kiseline ili prirodna ulja i masti lošije kakvoće.⁹ Sapuni dobiveni iz viših masnih kiselina poput stearinske kiseline vrlo su pogodni za pranje, ali topljivi su samo do određene granice, dok su sapuni dobiveni iz nižih masnih kiselina poput laurinske kiseline lako topljivi, ali imaju nepostojanu pjenu. Potrebno je odabrati sirovine koje omogućavaju proizvodnju sapuna koji dobro čisti, te služi kao omekšivač vode, mora imati velik volumen pjene, dobru topljivost, sposobnost emulgiranja i smanjenja površinske napetosti.¹⁰

1.3. Laboratorijske metode izolacije vršnih para

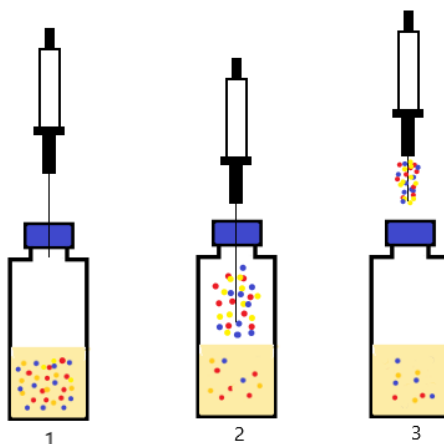
Vršne pare su najisparljiviji spojevi koji se nalaze u ravnoteži s uzorkom. Metoda izolacije vršnih para (engl. *headspace*) osobito je pogodna za uzorke s intenzivnim mirisima, te je najjednostavniji način izolacije aromatičnih spojeva. Tehnike izolacije vršnih para dijele se na statičke i dinamičke. **Statička** izolacija vršnih para (engl. *static headspace*) podrazumijeva postavljanje uzorka u zatvorenu posudu, zagrijavanje na određenu temperaturu kako bi se uravnotežile vršne pare iznad uzorka u posudi. Zatim se atmosfera iznad uzorka uzorkuje tankom iglom i odmah injektira u određeni sustav. Moguće je primijeniti i drugu tehniku koja koristi sustav uravnoteženja tlakova. U tom slučaju se injektiranje vršnih para odvija direktno iz posude u plin nositelj bez dodatnih pokretnih dijelova. Glavni nedostatak statičke izolacije vršnih para je diskriminacija spojeva na osnovu isparljivosti. Također, zbog ograničenog prostora iznad uzorka u kojem se sakupljaju isparljivi spojevi, navedena tehnika nije mnogo osjetljiva. **Dinamička** izolacija vršnih para (engl. *dynamic headspace*) podrazumijeva kontinuirano odnošenje isparljivih spojeva plinom nositeljem, obično dušikom ili helijem u trapove, odnosno najčešće staklene ili pocinčane cijevi koje sadrže porozne polimere. Moguće je primijeniti vakuum pumpu koja izvlači zrak iznad uzorka u trap. Dok se isparljivi spojevi adsorbiraju, plin nositelj ili zrak prolaze kroz trap. Prednost u odnosu na statičku izolaciju vršnih para je ta, što se kod dinamičke izolacije vršnih para isparljivi spojevi koncentriraju u trapu, što povećava osjetljivost. Ovu tehniku moguće je primijeniti i za tekuće uzorke pri čemu se plin nositelj uvodi u uzorak i istiskuje

(engl. *purge*) isparljive spojeve u vršne pare i trapove. Zbog toga se često koristi termin „purge and trap“ umjesto „dynamic headspace“. ¹¹

1.3.1. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)

Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *headspace solid phase microextraction*, HS-SPME) sorpcijska je tehnika koja omogućava brzu ekstrakciju bez korištenja otapala i predkoncentracije isparljivih spojeva. Za tehniku se koristi silikonsko vlakno prekriveno polimernim filmom. Vlakno se nalazi u sastavu igle koja je postavljena na SPME držač za uzorkovanje i desorpciju. U SPME posudi se postavlja uzorak i zatvara septom. Kroz iglu se vlakno uvodi u vršne pare iznad uzorka. Nakon određenog vremena potrebnog da se isparljivi spojevi adsorbiraju, vlakno se uvlači. Slijedi desorpcija direktnim umetanjem u GC-FID ili GC-MS injektor, te analiza. Navedena tehnika vrlo je brza i jednostavna za uporabu. Potreban je malen volumen uzorka, te je cijena po analizi prihvatljiva. Ne koristi se otapalo, a profil sakupljenih isparljivih spojeva ovisan je o vrsti, debljini i dužini korištenog vlakna. Temperatura i vrijeme uzorkovanja također uvelike utječu na kemijski profil sakupljenih isparljivih spojeva. Mikroekstrakciju moguće je poboljšati miješanjem, dodavanjem soli, promjenom pH i porastom temperature.¹² Shema (slika 19.) prikazuje mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi podijeljenu na 3 koraka prilikom izvođenja ekstrakcije:

1. Bušenje septe na SPME posudi
2. Izlaganje SPME vlakna vršnim parama
3. Povlačenje vlakna u iglu



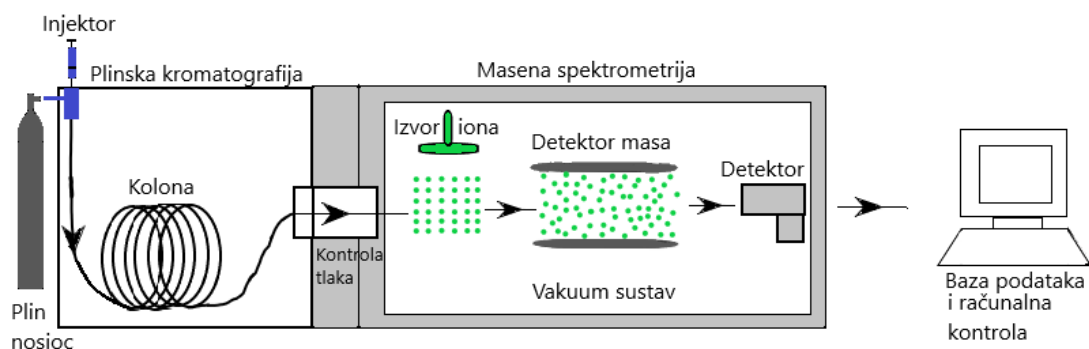
Slika 19. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME).

1.4. Metode analize isparljivih spojeva

Eterična ulja su složene smjese i sadrže velik broj spojeva sa sličnim fizikalno-kemijskim i kromatografskim svojstvima. Odjeljivanje, identifikacija i kvantizacija spojeva eteričnih ulja nije jednostavan proces zato što mnogi spojevi imaju slične molekulske formule te je moguća prisutnost raznih konstitutivnih izomera, diastereomera i enantiomera. Osnovna analiza uključuje određivanje osnovnih fizičkih vrijednosti ulja, kao što su specifična težina, optička aktivnost, indeks refrakcije, te točka skrutnjavanja i temperatura vrenja. Potrebno je također analizirati kemijske vrijednosti ulja, a to su elementarna analiza, ekstrakcija vodenom otopinom lužine, ekstrakcija s vodenom otopinom $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ili NH_2OH , te bromni, esterski, kiselinski i peroksidni broj. Daljnja analiza podrazumijeva instrumentalne tehnike od kojih je najvažniji vezani sustav plinska kromatografija – spektrometrija mase (engl. *gas chromatography-mass spectrometry*, GC-MS).

1.4.1. Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa

Analiza eteričnih ulja uvelike se razvila i poboljšala povezivanjem plinskog kromatografa sa spektrometrom masa kao detektorom. Navedene metode su komplementarne te se njihovom kombinacijom može postići osjetljivost tehnike u redu 10^{-12} g i 10^{-15} g količine tvari. Spektrometar masa je pod visokim vakuumom od 10^{-7} do 10^{-8} tora. Postoje dvije najčešće mogućnosti ionizacije uzorka. U slučaju **elektron-ionizacije** (engl. *electron ionisation*, EI) uzorak u plinskoj fazi ulazi u ionizator gdje se bombardira elektronima energije 50 - 70 eV uslijed čega se molekula uzorka ionizira i nastaje pozitivni ion M^+ , molekulski kation. Molekulski kation se razlaže u čitav niz fragmenata (iona) čime se u ionizatoru stvara velik broj ionskih vrsta, odnosno ionski snop. Drugi način ionizacije podrazumijeva kemijsku ionizaciju (engl. *chemical ionisation*, CI) pri čemu dolazi do kemijske reakcije iona reagensa, odnosno plina nositelja, i uzorka. Plin nositelj se ionizira (EI) na primarne ione koji s viškom plina nositelja daju sekundarne ione koji reagiraju s uzorkom i stvaraju ionski snop uzorka. Ionski se snop fokusira kroz leće te dolazi do kvadruopolnog filtra masa kroz koji mogu proći samo ioni koji postižu stabilnu putanju, a ostali se filtriraju i uklanjaju. Na dvije skupine povezanih elektroda filtra priključuje se električni potencijal i fazno pomaknut radiofrekvencijski napon što uzrokuje da elektrode oblikuju putanju elektrona izmjeničnim privlačenjem i odvlačenjem. Ioni osciliraju te amplituda oscilacije ostaje malena samo za ione određenog omjera m/z što uzrokuje da samo ti ioni prolaze do detektora spektrometra masa. Iz spektrometra masa može se očitati spektar masa s odnosom intenziteta i omjera mase i naboja (m/z) nastalih fragmenata. Snimljeni spektri uspoređuju se s bazom podataka, te računalo određuje postotak slaganja spektara pika i onog iz baze podataka.¹³



Slika 20. Shematizacija vezanog sustava GC-MS.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Korištena eterična ulja i bazna ulja

Eterična ulja korištena u ovom diplomskom radu su 100% prirodna eterična ulja tvrtke Aromara. Aromara proizvodi ne sadrže sastojke životinjskog podrijetla, konzervanse, punila, bojila, te niti jedan sintetički sastojak.¹⁴ Korištena su sljedeća eterična ulja: eterično ulje lavande, eterično ulje ružmarina, te eterično ulje naranče. Kao bazno ulje korišteno je kokosovo ulje i maslinovo ulje.

2.1.1. Eterično ulje lavande

Korišteno eterično ulje lavande dobiveno je destilacijom vodenom parom cvijeta, a zemlja porijekla je Francuska. Biljni materijal je reda Lamiales, porodica Lamiaceae, roda *Lavandula* L., te vrste *Lavandula angustifolia* Mill. Navedeno eterično ulje lavande pokazuje mnoga pogodna djelovanja, kao što je npr. antiseptičko djelovanje, te se koristi za dezinfekciju i brže zacjeljivanje ranica, opekline, osipa i uboda insekata. Također potiče iskašljavanje i izlučivanje sluzi iz dišnog sustava, opušta i smanjuje začepljenost i popratnu nadraženost te konvulzije. Koristi se i u pripravcima za njegu vlasišta sklonog peruti, te djeluje umirujuće¹⁵. U sljedećim tablicama navedeni su određeni parametri i sastavnice eteričnog ulja lavande, preuzeti sa službenog certifikata proizvoda, odobrenog od strane voditeljice kontrole Anje Sima Cota, dobivenog od tvrtke Aromara d.o.o.

Tablica 1. Parametri eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o.

Parametar	Zahtjev	Rezultat
izgled i boja	žuta do narančasta tekućina	odgovara
miris	cvjetni	odgovara

Tablica 2. Sastavnice eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o.

Redni broj	Sastavnica	Udio(%)	Alergen
1.	linalil-acetat	25,7	NE
2.	linalool	19,6	DA
3.	terpinen-4-ol	9,1	NE
4.	(<i>Z</i>)- β -ocimen	7,3	NE
5.	lavandulil-acetat	6,7	NE
6.	(<i>E</i>)- β -ocimen	6,1	NE
7.	(<i>E</i>)- β -farnezen	4,2	NE
8.	<i>trans</i> - β -kariofilen	3,8	NE
9.	β -felandren	2,2	NE
10.	okt-1-en-3-il-acetat	1,6	NE
11.	α -terpineol	1,5	NE
12.	borneol	1,4	NE
13.	1,8-cineol	1,1	NE
14.	β -mircen	1,0	NE
15.	heksil-acetat	1,0	NE
16.	α -pinen	0,6	NE
17.	oktan-3-on	0,6	NE
18.	γ -terpinen	0,5	NE
19.	<i>p</i> -cimen	0,4	NE
20.	kripton	0,4	NE
21.	germakren D	0,4	NE
22.	okt-1-en-3-ol	0,3	NE
23.	α -terpinolen	0,3	NE
24.	kariofilen oksid	0,3	NE
25.	kamfor	0,2	NE
26.	kamfen	0,2	NE
27.	β -pinen	0,2	NE
28.	heksan-1-ol	0,1	NE

29.	sabinen	0,1	NE
30.	felandren	0,1	NE
31.	α -terpinen	0,1	NE
32.	bornil-acetat	0,1	NE
33.	α -humulen	0,1	NE



Slika 21. Korišteno eterično ulje lavande.

2.1.2. Eterično ulje ružmarina

Korišteno eterično ulje ružmarina dobiveno je destilacijom vodenom parom nadzemnog dijela u cvatu, a zemlja porijekla je Maroko. Biljni materijal je reda Lamiales, porodica Lamiaceae, rod *Rosmarinus* L., vrsta *Rosmarinus officinalis* L. Navedeno eterično ulje ružmarina pokazuje mnoga pogodna svojstva kao što je npr. analgetičko, djeluje kao analgetik širokog spektra – primjenjuje se kod velikog broja tegoba u svrhu smanjenja simptoma, osjećaja boli i snaženja imunološkog sustava. Tonizira i opušta ukočene i bolne mišiće. Tradicionalno se koristi za tretiranje peruti i poticanje rasta kose.¹⁶ U sljedećim tablicama navedeni su određeni parametri i sastavnice eteričnog ulja ružmarina, preuzeti sa službenog certifikata proizvoda, odobrenog od strane voditeljice kontrole Anje Sima Cota, dobivenog od tvrtke Aromara d.o.o.

Tablica 3. Parametri eteričnog ulja ružmarina tvrtke Aromara d.o.o.

Parametar	Zahtjev	Rezultat
izgled i boja	bistra, bezbojna do svijetlo žuto-zelena tekućina	odgovara
miris	karakterističan	odgovara

Tablica 4. Parametri eteričnog ulja ružmarina tvrtke Aromara d.o.o.

Parametar	Zahtjev	Rezultat
relativna gustoća (20 °C)	0.907 – 0.920	0,910
indeks loma svjetlosti (20 °C)	1,4640 – 1,4740	1,4673
optička rotacija (20 °C)	-2° do +6°	+3,45°

Tablica 5. Sastavnice eteričnog ulja ružmarina tvrtke Aromara d.o.o.

Redni broj	Sastavnica	Udio (%)	Alergen
1.	1,8-cineol	43,01	DA
2.	kamfor	12,10	NE
3.	α -pinen + α -tujen	11,77	NE
4.	β -pinen	5,50	NE
5.	(<i>E</i>)-kariofilen	4,71	NE
6.	limonen + β -felandren	4,31	NE
7.	kamfen	3,64	NE
8.	borneol	2,41	NE
9.	<i>p</i> -cimen	1,66	NE
10.	α -terpineol	1,74	NE
11.	mircen	1,69	NE
12.	linalool	0,95	DA
13.	γ -terpinen	0,86	NE
14.	bornil-acetat	0,78	NE

15.	terpinen-4-ol	0,72	NE
16.	α -fenhen	0,70	NE
17.	α -terpinen	0,64	NE
18.	terpinolen	0,39	NE
19.	α -felandren	0,35	NE
20.	α -humulen	0,33	NE
21.	sabinen	0,14	NE
22.	verbenon	0,12	NE
23.	kariofilen oksid	0,05	NE
24.	oktan-3-on	0,03	NE
25.	(Z)- β -ocimen	0,03	NE
26.	α -kopaen	0,02	NE
27.	triciklen	0,02	NE
28.	<i>cis</i> -pinokamfon	0,01	NE



Slika 22. Korišteno eterično ulje ružmarina.

2.1.3. Eterično ulje naranče

Korišteno eterično ulje naranče dobiveno je hladnim tiještenjem usplođa, a zemlja porijekla je Brazil. Biljni materijal je reda Sapindales, porodica Rutaveae, rod *Citrus* L., vrsta *Citrus x sinensis* (L.). Navedeno eterično ulje naranče pokazuje mnoga pogodna svojstva kao što je npr. podržavanje lipolize – sagorijevanja zaliha masnog tkiva. Potiče izbacivanje viška tekućine iz tijela, stoga je čest sastojak anticelulitnih pripravaka. Olakšava simptome kroničnog umora, opušta i doprinosi smanjenju stresa i napetosti. Također potiče izbacivanje toksina i drugih štetnih tvari iz tijela.¹⁷ U sljedećim tablicama navedeni su određeni parametri i sastavnice eteričnog ulja naranče, preuzeti sa službenog certifikata proizvoda, odobrenog od strane voditeljice kontrole Anje Sima Cota, dobivenog od tvrtke Aromara d.o.o.

Tablica 6. Parametri eteričnog ulja naranče tvrtke Aromara d.o.o.

Parametar	Zahtjev	Rezultat
izgled i boja	bistra, narančasta tekućina	odgovara
miris	karakterističan	odgovara

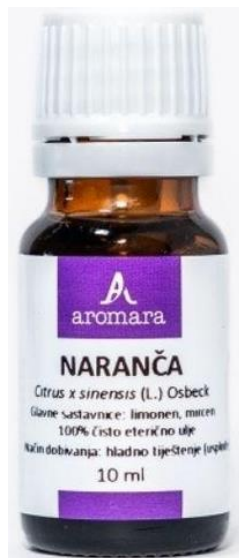
Tablica 7. Parametri eteričnog ulja naranče tvrtke Aromara d.o.o.

Parametar	Zahtjev	Rezultat
relativna gustoća (20 °C)	0,8422 – 0,850	0,846
indeks loma svjetlosti (20 °C)	1,4700 – 1,4760	1,4736
optička rotacija (20 °C)	+94° do +99°	+95,75°

Tablica 8. Sastavnice eteričnog ulja naranče tvrtke Aromara d.o.o.

Redni broj	Sastavnica	Udio(%)	Alergen
1.	limonen	95,12	DA
2.	mircen	1,83	NE
3.	α-pinen	0,50	NE
4.	sabinen	0,45	NE

5.	β -felandren	0,26	NE
6.	<i>n</i> -dekanal	0,23	NE
7.	linalool	0,23	DA
8.	valencen	0,15	NE
9.	α -terpineol	0,13	NE
10.	δ -3-karen	0,12	NE
11.	<i>n</i> -oktanal	0,11	NE
12.	β -pinen	0,10	NE
13.	geranial	0,06	NE
14.	(<i>E</i>)- β -ocimen	0,04	NE
15.	α -felandren	0,03	NE
16.	citronelal	0,03	NE
17.	neral	0,03	NE



Slika 23. Korišteno eterično ulje naranče.

2.1.4. Maslinovo ulje

Maslinovo ulje korišteno je kao bazno ulje pri izradi ispitivanih sapuna. Korišteno je maslinovo ulje marke Coppini. Zemlja podrijetla je Italija. Sastav različitih ulja varira ovisno o regiji Italije u kojoj je izvršena berba maslina za određenu vrstu ulja. Ekstra djevičansko maslinovo ulje, koje je korišteno kao bazno ulje u pripremi sapuna, dobiveno je od maslina uzgojenih u Umbriji, regiji u središnjoj Italiji, u dolini rijeke Tiber. Berba je izvršena kada je maslina počela mijenjati boju i tada daje voćni okus i ima najmanju kiselost (početak mjeseca studenog). Maslina se šalje u uljaru odmah nakon branja kako bi zadržala svježinu i cjelovitost. Razina kiselosti manja je od 0,8%. Ulje se odlikuje nježnim okusom dobivenim od maslina ubranih u pravo vrijeme.¹⁸



Slika 24. Korišteno maslinovo ulje

2.1.5. Kokosovo ulje

Kokosovo ulje korišteno je kao bazno ulje pri izradi ispitivanih sapuna. Korišteno je kokosovo ulje marke Nutrigold. Zemlja podrijetla i proizvođač je Indonezija / Nizozemska. Ulje je u krutom stanju te pri temperaturama višim od 25 °C prelazi u tekuće stanje. Kokosovo ulje je bez mirisa, te se dobiva iz kokosovog oraha, čije se meso suši i prerađuje. Prerada traje sve dok se ne dođe do čistog, visoko kvalitetnog kokosovog ulja. Nutrigold certificirano organsko kokosovo ulje dobiveno je iz prehrambene sirovine koja nije tretirana pesticidima i ostalim kemikalijama kojima se smanjuje broj nametnika te povećavaju prinosi. Ulje je prirodno, bez glutena i pogodno za vegetarijance i vegane. Glavna prednost ovog ulja je iznimno stabilna struktura, koja se niti uslijed višestrukog zagrijavanja ne mijenja, što omogućuje višekratno korištenje za kuhanje i pečenje.¹⁹ Nutritivne vrijednosti na 100 grama proizvoda navedene su u sljedećoj tablici:

Tablica 9. Nutritivne vrijednosti korištenog kokosovog ulja na 100 grama.

Energetska vrijednost	3760 kJ / 900 kcal
Ugljikohidrati	0 g
od kojih šećeri	0 g
Masti	100
od kojih zasićene masne kiseline	91
od kojih jednostruke nezasićene masne kiseline	7 g
od kojih višestruko nezasićene masne kiseline	2 g
Bjelančevine	0 g
Vlakna	0 g
Soli	0 g



Slika 25. Korišteno kokosovo ulje.

Organsko kokosovo ulje bez mirisa može se primjenjivati u domaćinstvu za kuhanje, pohanje, prženje i druge oblike pripremanja hrane. Koristiti se može i pri izradi sapuna, krema i ostale prirodne kozmetike te za masažu i njegu kože i kose.

2.2. Priprema sapuna

Sapuni su pripremljeni u kućnoj radionici, uz držanje svih propisanih zaštitnih mjera. Tijekom cijelog postupka pripreme korištene su zaštitne rukavice, kuta i zaštitne naočale. Natrijev hidroksid je otrovna i nagrizajuća lužina, izaziva opekotine, ozljede i trajne ožiljke, nadražuje pluća i oči. Zato je vrlo bitno tijekom cijelog postupka izrade sapuna koristiti svu zaštitnu opremu. Prilikom pripreme, poželjno je uza sebe imati bijeli ocat, u slučaju da natrijev hidroksid kapne prilikom rada, kako bi se s octom neutraliziralo. U svrhu diplomskog rada izrađene su četiri vrste sapuna. Prvi od sapuna je čisti sapun, bez dodatka eteričnih ulja, pripremljen samo od baznih ulja, natrijevog hidroksida i vode. Ostala tri sapuna napravljena

su svaki s dodatkom jednog od eteričnih ulja lavande, ružmarina ili naranče. Pri izradi sapuna korištene su sljedeće kemikalije i pribor:

Tablica 10. Kemikalije i pribor korišten pri pripremi sapuna.

Kemikalije	Pribor
kruti natrijev hidroksid (NaOH)	vaga
destilirana voda	vatrostalna posuda
maslinovo ulje	drvena kuhača
kokosovo ulje	štapni mikser
eterično ulje lavande	plastična posuda
eterično ulje ružmarina	posuda od nehrđajućeg čelika
eterično ulje naranče	termometar
bijeli ocat	silikonski kalupi
	prozirna folija

Prije početka postupka potrebno je izračunati masu potrebnih sastojaka. Omjeri baznih ulja uzimaju se ovisno o željenom učinku sapuna. Postoje istraženi i određeni omjeri koji ukazuju na razne karakteristike željenog sapuna. Da bi se postigle optimalne vrijednosti, potrebno je naći omjer koji zadovoljava sve parametre, te se nalazi unutar granica navedenih u sljedećoj tablici:

Tablica 11. Parametri kvalitete sapuna.²⁰

Parametri	Granice
Tvrdoća (HRC)	29 - 54
Jodni broj	41 - 70
INS	136 - 165

Jodni broj predstavlja količinu joda koji se adira na dvostruke veze u molekulama masnih kiselina.

INS (engl. *Iodine Number Saponification*) predstavlja provjeru radi identificiranja mješavina koje se lako saponificiraju i čine tvrdi sapun pogodan za obradu i određeno skladištenje, a računa se kao razlika vrijednosti saponifikacijskog broja i jodnog broja.

Odabrane su gramaže maslinovog ulja i kokosovog ulja čijom kombinacijom su postignute optimalne vrijednosti svih parametara kvalitete sapuna. Tako je odabrano da se smjesa od 400 grama baznih ulja sastoji od 280 grama maslinovog ulja, te 120 grama kokosovog ulja, odnosno omjer od 70% maslinovog ulja i 30% kokosovog ulja. Na temelju početne mase baznih ulja, potrebno je izračunati masu natrijevog hidroksida i destilirane vode. Potrebno je poznavati također pojam „superfatting level“ koji označava postotak ulja u konačnom proizvodu koji se nije pretvorio u sapun. Za tvrde sapune taj postotak je najčešće 5% te je taj postotak korišten u ovom radu. On može biti i veći, međutim nije povoljan iznad 10% jer je u tom slučaju krajnji proizvod prekrhak i manje trajan zbog prevelikog udjela ulja.²¹ Uzimajući u obzir taj postotak, moguće je izračunati potreban omjer lužine i vode. Taj omjer dobiven je preko kalkulatora namijenjenog za računanje gramaže potrebnih sastojaka za pripravu tvrdog sapuna.²² Na 400 grama baznih ulja, potrebno je pripremiti 55,94 grama natrijevog hidroksida i 125,08 grama destilirane vode. Količina eteričnog ulja koja se dodaje u tri od četiri sapuna vrlo je bitna za kvalitetu krajnjeg proizvoda. Ukoliko se u sapunu nalazi prevelika količina eteričnog ulja, to eterično ulje će zbog svojih raznih sastojaka prevladati i ugroziti kvalitetu sapuna. Preporučena gornja granica postotka eteričnog ulja koje se dodaje u sapun, u odnosu na gramažu ulja, je 3%. Prilikom ove pripreme korišteno je 2% u odnosu na 400 grama baznih ulja, odnosno 8 grama eteričnog ulja. Nakon što su precizno izvagani i pripremljeni svi sastojci, slijedi sam postupak pripreme sapuna. Prvi korak podrazumijeva otapanje krutog natrijevog hidroksida u destiliranoj vodi. Ovaj korak potrebno je izvoditi uz velik oprez i u okruženju s mnogo kisika i prozračnosti, po mogućnosti, na otvorenom. Prilikom otapanja, uvijek je bitno sipati lužinu u vodu, a nikako obrnuto. Vrlo je bitno biti oprezan i ne prilaziti preblizu otopini koja se priprema te pripaziti na zaštićenost kože, očiju i dišnih puteva. U vatrostalnoj posudi ulije se izmjerena količina destilirane vode, te se polagano, uz konstantno miješanje dodaje natrijev hidroksid. Granule se otapaju u vodi i pritom se oslobađa velika količina topline i otrovni plinovi. Kada je sav hidroksid otopljen u vodi, potrebno je ostaviti otopinu da se ohladi na približno 40 °C, što se provjerava termometrom. Potrebno je posudu prekriti, kako ne bi došlo do onečišćenja. U međuvremenu,

dok se otopina hladi na prozračnom mjestu, potrebno je pripremiti smjesu baznih ulja. U posudu od nehrđajućeg čelika ulije se izvagana količina maslinovog ulja te se doda kruto kokosovo ulje i na laganoj vatri zagrijava i miješa drvenom kuhačom, do trenutka kada se kokosovo ulje rastopilo, a postignuta temperatura je također oko 40 °C. Kada je postignuta željena temperatura, smjesa se skida sa vatre i prebacuje u plastičnu posudu te se smjesi ulja dodaje otopina hidroksida i vode. Dodavanje se odvija polako i postepeno uz konstantno lagano miješanje štapnim mikserom, ali bez paljenja miksera. Kada je cijela otopina dodana smjesi baznih ulja, tada se štapni mikser može upaliti i lagano miješati smjesu, uz neprestano gašenje miksera kako bi se osiguralo lagano povezivanje te kako ne bi došlo do onečišćenja okolne površine. Na ovaj način smjesa se miješa do trenutka kada postane gustoće slične pudingu, takozvana „trag faza“. Vrlo je bitno doći do navedene faze u kojoj se primijeti da daljnjim miješanjem ostaje trag samog miješanja i nakon prestanka miješanja jer će se u protivnom masa razdvajati. U tom se trenutku dodaje pripremljena količina eteričnog ulja te se nastavlja lagano miješati da se homogenizira. Nakon što su svi sastojci dodani i postignuta je željena gustoća, smjesa se, još topla, ulijeva u silikonske kalupe. Površina sapuna se poravna, kalupi se zamotaju u prozirnu foliju te pokriju željenim pokrivalom kako bi se u narednih 24 sata osigurala toplina, koja je neizbježna za pravilan završetak procesa saponifikacije. Nakon 24 sata, sapuni se vade iz kalupa i ostavljaju sušiti tijekom 4 - 5 tjedana, uz svakodnevno okretanje sapuna na suprotnu stranu, kako bi se osiguralo pravilno i ravnomjerno sušenje.



Slika 26. Završni proizvod prilikom procesa pripreme sapuna.

2.3. Izolacija vršnih para sapuna mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)

Nakon pet tjedana, sapuni su podvrgnuti izolaciji vršnih para postupkom mikroekstrakcije na krutoj fazi (engl. *headspace solid-phase microextraction*, HS-SPME). Korišten je automatizirani PAL RSI SPME držač, opremljen vlaknom prekrivenim s polimerom CARB/PDMS (Carboxene/Polydimethylsiloxane). Korištena vlakna nabavljena su od tvrtke Supelco Co. (Bellefonte, PA, SAD). Vlakno se nalazi u sastavu igle postavljene na SPME držač. Prvi korak podrazumijeva pravilnu pripremu uzorka koji se ispituje. Svaki je sapun izrezan i fino nariban, te su pripremljeni uzorci od 2 grama. Nakon pripreme uzorka, slijedi postavljanje u prozirnu SPME staklenu posudu od 20 mL. Posuda je hermetički zatvorena zatvaračem koji sadrži PTFE/silikonsku septu. Automatizirani PAL RSI postupak sastojao se od 5 koraka. Prvi korak sastoji se od kondicioniranja SPME vlakna prema uputama tvrtke Supelco Co. U drugom koraku uzorak u posudi se miješa brzinom od 250 okretaja u minuti. Nakon toga slijedi uspostavljanje ravnoteže 30 minuta na 40 °C. Nakon što se uspostavila ravnoteža, slijedi ekstrakcija isparljivih spojeva u vremenu od 40 minuta bez miješanja. Iгла, odnosno vlakno, buši rupu u septi i automatski se postavlja iznad krutog uzorka. Vlakno adsorbira isparljive spojeve iz vršnih para sapuna. Nakon toga, vlakno se uvlači i slijedi desorpcija u GC injektoru u trajanju od 7 minuta.



Slika 27. Automatski sustav za HS-SPME.

2.4. Analiza isparljivih spojeva plinskom kromatografijom sa spektrometrijom masa (GC-MS)

Za analizu isparljivih spojeva izoliranih HS-SPME metodom, korišten je vezani sustav plinska kromatografija – spektrometrija masa (engl. *gas chromatography – mass spectrometry*, GC-MS). Analiza je provedena pomoću plinskog kromatografa Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA) modela 7820A vezanog s masenim selektivnim detektorom (engl. *mass selective detector*, MSD) model 5977E. Također je korišten PAL RSI 85 automatski sustav za uzorkovanje (CTC Analytics AG, Zwingen, Švicarska). Kromatografsko razdvajanje provedeno je na HP-5MS (5% - fenil-metilpolisiloksan, Agilent J & W GC kolona) kapilarnoj koloni dužine 30 metara, unutarnjeg promjera od 0,25 mm i debljinom prevlake od 0,25 μm . Eksperimentalni uvjeti rada plinskog kromatografa navedeni su u sljedećoj tablici:

Tablica 12. Uvjeti rada plinskog kromatografa.

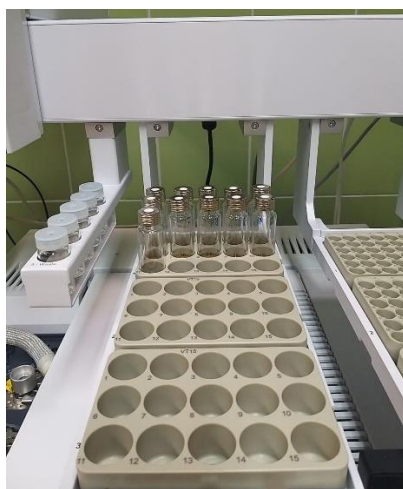
omjer podjele	1:50
početna temperatura pećnice	70 °C
vrijeme održavanja početne temperature	2 minute
povećanje temperature	3 °C / min
ciljna temperatura	200 °C
vrijeme održavanja ciljne temperature	15 min
temperatura injektora	250 °C
temperatura detektora	300 °C
plin nositelj	Helij

MSD (EI način rada) podešen je na 70 eV, a raspon snimanja masa iznosio je 30-300 prosječnih jedinica mase (amu). Identifikacija isparljivih sastojaka temeljila se na usporedbi njihovih indeksa zadržavanja (RI) utvrđenih u odnosu na vrijeme zadržavanja *n*-alkana (C₉-C₂₅) s onima iz literature (NIST, 2018) i njihovim masenim spektrima uspoređenim sa spektrima iz biblioteke masenih spektara Wiley 9 (Wiley, New York, NY, USA) i NIST 17

(D-Gaithersburg). Postoci sastava uzoraka izračunati su iz GC vršnih područja korištenjem normalizacijske metode.



Slika 28. Vezani sustav GC-MS.



Slika 29. Zatvorene posude s uzorcima.

3. REZULTATI

3.1. Kemijski sastav vršnih para baznog sapuna

U tablici su navedeni rezultati analize vršnih para sapuna napravljenog samo od baznih ulja, kokosovog i maslinovog, bez dodataka eteričnih ulja koje su provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 13. Kemijski sastav vršnih para baznog sapuna.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	heksanal	0,04
2.	α -tujen	0,05
3.	α -pinen	0,72
4.	kamfen	0,06
5.	propan-1,2,3-triol (glicerin)	2,93
6.	sabinen	0,57
7.	β -pinen	0,39
8.	6-metilhept-2-en-2-on	0,20
9.	β -mircen	2,23
10.	oktanal	0,31
11.	δ -3-karen	0,13
12.	α -terpinen	0,10
13.	<i>p</i> -cimen	0,39
14.	limonen	79,24
15.	(<i>E</i>)- β -ocimen	0,09
16.	γ -terpinen	0,16
17.	1-metil-2-(2-propenil)benzen	0,12
18.	linalool	1,38
19.	nonanal	0,33
20.	metil-oktanoat	0,12
21.	kamfor	0,41

22.	citronelal	0,13
23.	terpinen-4-ol	0,21
24.	<i>cis</i> -dihidrokarvon	0,15
25.	dekanal	1,08
26.	(<i>Z</i>)-citral	0,21
27.	karvon	1,40
28.	(<i>E</i>)-citral	0,15
29.	metil-dekanoat	0,12
30.	α -kopaen	0,12
31.	<i>trans</i> -kariofilen	0,40
32.	valencen	1,09
33.	metil-dodekanoat	0,43

3.2. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande i vršnih para ulja lavande

U tablici su navedeni rezultati analize vršnih para sapuna napravljenog od baznih sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 14. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	octena kiselina	0,32
2.	α -pinen	0,20
3.	kamfen	0,08
4.	propan-1,2,3-triol (glicerin)	2,66
5.	okt-1-en-3-ol	0,70
6.	β -mircen	2,54
7.	oktan-3-ol	0,29

8.	α -felandren	0,18
9.	α -terpinen	0,35
10.	<i>p</i> -cimen	0,35
11.	limonen	1,92
12.	1,8-cineol	3,24
13.	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1,01
14.	(<i>E</i>)- β -ocimen	1,59
15.	γ -terpinen	0,26
16.	α -terpinolen	0,75
17.	linalool	36,40
18.	kamfor	1,27
19.	terpinen-4-ol	7,22
20.	kripton	0,37
21.	linalil-acetat	15,40
22.	lavandulil-acetat	2,81
23.	heksil-heksanoat	0,15
24.	<i>trans</i> -kariofilen	5,05
25.	α -humulen	0,14
26.	<i>trans</i> - β -farnezen	2,63

U sljedećoj tablici navedeni su rezultati analize vršnih para eteričnog ulja lavande koja je provedena u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 15. Kemijski sastav vršnih para eteričnog ulja lavande.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	octena kiselina	0,09
2.	2-metilbut-3-en-2-ol	0,08
3.	3-metilbutan-1-ol	0,01
4.	3-metilbut-2-enal	0,03
5.	<i>n</i> -butil-acetat	0,03

6.	(Z)-heks-3-en-1-ol	0,05
7.	heksan-1-ol	0,09
8.	triciklen	0,06
9.	α -tujen	0,42
10.	α -pinen	0,80
11.	kamfen	0,58
12.	benzaldehyd	0,01
13.	sabinen	0,12
14.	β -pinen	0,69
15.	oktan-3-on	1,32
16.	β -mircen	1,22
17.	butil-butanoat	0,49
18.	α -felandren	0,11
19.	δ -3-karen	0,83
20.	α -terpinen	0,14
21.	<i>p</i> -cimen	1,24
22.	limonen	1,15
23.	1,8-cineol	1,80
24.	(Z)- β -ocimen	5,34
25.	(E)- β -ocimen	4,64
26.	γ -terpinen	0,50
27.	α -terpinolen	0,68
28.	linalool	31,92
29.	okt-1-en-3-il-acetat	1,06
30.	kamfor	0,68
31.	borneol	4,43
32.	terpinen-4-ol	8,36
33.	kripton	0,49
34.	bornil-acetat	0,40
35.	α -kopaen	0,03

36.	<i>trans</i> -kariofilen	7,61
37.	α -humulen	0,16
38.	<i>trans</i> - β -farnezen	1,43
39.	germakren D	0,18
40.	β -bisabolen	0,03
41.	γ -kadinen	0,46
42.	kariofilen oksid	0,27

3.3. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina i vršnih para ulja ružmarina

U tablici su navedeni rezultati analize vršnih para sapuna napravljenog od baznih sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina koje su provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 16. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	heksanal	0,04
2.	α -tujen	0,06
3.	α -pinen	8,67
4.	kamfen	2,91
5.	propan-1,2,3-triol (glicerol)	1,39
6.	sabinen	0,18
7.	β -pinen	3,97
8.	oktan-3-on	0,70
9.	β -mircen	2,54
10.	oktan-3-ol	0,10
11.	α -felandren	0,38

12.	δ -3-karen	0,08
13.	α -terpinen	0,43
14.	<i>p</i> -cimen	5,26
15.	limonen	5,10
16.	1,8-cineol	39,43
17.	(<i>E</i>)- β -ocimen	0,07
18.	γ -terpinen	1,03
19.	α -terpinolen	0,40
20.	linalool	1,47
21.	nonanal	0,17
22.	α -kamfolen aldehyd	0,23
23.	metil-oktanoat	0,11
24.	kamfor	10,44
25.	borneol	0,57
26.	terpinen-4-ol	1,20
27.	α -terpineol	1,89
28.	karvon	0,05
29.	bornil-acetat	0,95
30.	metil-dekanoat	0,08
31.	<i>trans</i> -kariofilen	7,19
32.	α -humulen	0,62
33.	metil-dodekanoat	0,29

U sljedećoj tablici navedeni su rezultati analize vršnih para eteričnog ulja ružmarina koje su provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 17. Kemijski sastav vršnih para eteričnog ulja ružmarina.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	octena kiselina	0,01
2.	3-metil-butan-1-ol	0,01
3.	(Z)-heks-3-en-1-ol	0,01
4.	triciklen	0,09
5.	α -tujen	0,19
6.	α -pinen	11,37
7.	kamfen	6,30
8.	β -pinen	5,47
9.	oktan-3-on	0,38
10.	β -mircen	1,98
11.	α -terpinen	0,52
12.	<i>p</i> -cimen	0,90
13.	1,8-cineol	37,77
14.	α -terpinolen	1,06
15.	kamfor	13,85
16.	borneol	3,80
17.	terpinen-4-ol	1,44
18.	α -terpineol	2,71
19.	bornil-acetat	1,75
20.	α -kopaen	0,05
21.	<i>trans</i> -kariofilen	5,15
22.	α -humulen	0,41
23.	kariofilen oksid	0,18

3.4. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče i vršnih para ulja naranče

U tablici su navedeni rezultati analize vršnih para sapuna napravljenog od baznih sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče koje su provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 18. Kemijski sastav vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	heksanal	0,63
2.	α -pinen	0,93
3.	kamfen	0,25
4.	propan-1,2,3-triol(glicerol)	23,70
5.	β -pinen	1,69
6.	6-metilhept-2-en-2-on	1,29
7.	β -mircen	1,95
8.	<i>p</i> -cimen	1,61
9.	limonen	33,20
10.	1,8-cineol	8,27
11.	(<i>Z</i>)- β -ocimen	0,93
12.	(<i>E</i>)- β -ocimen	0,77
13.	γ -terpinen	0,32
14.	nonanal	4,18
15.	metil-oktanoat	1,65
16.	kamfor	1,93
17.	terpinen-4-ol	0,73
18.	metil-dekanoat	0,92
19.	<i>trans</i> -kariofilen	1,45
20.	metil-dodekanoat	1,43

U sljedećoj tablici navedeni su rezultati analize vršnih para eteričnog ulja naranče koje su provedene u laboratoriju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu.

Tablica 19. Kemijski sastav vršnih para eteričnog ulja naranče.

Redni broj	Spoj	Udio (%)
1.	octena kiselina	0,11
2.	heksan-1-ol	0,02
3.	α -tujen	0,05
4.	α -pinen	1,83
5.	kamfen	0,04
6.	sabinen	1,41
7.	β -pinen	0,38
8.	β -mircen	3,97
9.	oktanal	0,23
10.	α -felandren	0,10
11.	δ -3-karen	0,45
12.	limonen	85,22
13.	kamfor	0,08
14.	nonan-1-ol	0,04
15.	terpinen-4-ol	0,09
16.	α -terpineol	0,38
17.	dekanal	0,31
18.	(<i>E</i>)-citral (neral)	0,10
19.	α -kopaen	0,04
20.	<i>trans</i> -kariofilen	0,06
21.	gerkmakren D	0,04
22.	valencen	0,29

4. RASPRAVA

4.1. Vršne pare baznog sapuna

Glavni spoj koji uvelike dominira u sastavu vršnih para čistog sapuna, bez dodataka eteričnih ulja, je limonen s udjelom od 79,24%. Limonen većim dijelom potječe iz kokosa, odnosno kokosovog ulja. Limonen je monociklički terpen koji se izvodi iz *p*-mentana. Posjeduje kiralni centar i kao takav može biti u svom *R* obliku, ili *S* obliku (enantiomeri). *R*-limonen daje karakterističan miris koji podsjeća na naranču, dok *S*-limonen posjeduje miris limuna. Važno je naglasiti da oksidacijski produkti limonena mogu biti potencijalni kožni iritansi.²³ Sljedeći spoj s najvećim udjelom je propan-1,2,3-triol, ali njegov udio je znatno manji nego što je udio limonena, tek 2,93%. Propan-1,2,3-triol je jednostavan i najpoznatiji trovalentni alkohol. Nalazi se u svim prirodnim uljima i mastima kao ester masnih kiselina i igra važnu ulogu u brojnim metaboličkim procesima. Poznatiiji kao glicerol, bitan je nusprodukt u proizvodnji biodizela, te jedan od glavnih spojeva za proizvodnju sintetskog plina.²⁴ β -Mircen primijećen je u sličnom, ali nešto manjem udjelu od 2,23%. To je aciklički monoterpen koji je često korišten u kozmetici, sapunima i deterdžentima te kao aromatični dodatak hrani i pićima. Zanimljivo je da se eterična ulja koja sadrže β -mircen koriste kao međuprodukti u proizvodnji terpenskih alkohola kao što su geraniol, nerol i linalool, koji pak služe kao međuprodukti u proizvodnji arome i okusa.²⁵ Linalool je prisutan s postotkom od 1,38%. Linalool je također aciklički monoterpen koji daje notu cvjetnog i začinskog mirisa. Također se pojavljuje u dva kiralna oblika, *R*- i *S*-, od kojih je *R*- mirisno aktivniji oblik te više pridonosi aromi.²⁶ Karvon je monoterpen koji je zamijećen u postotku od 1,40%. Karvon se također pojavljuje u dva kiralna oblika. *R*-karvon daje slatkast miris, dok *S*-karvon daje začinjenu, jaču notu.²⁷ U nešto značajnijem udjelu od 1,08%, primijećen je i jedan aldehid, dekanal. Dekanal je aromatični spoj koji se većinom nalazi u agrumima. Otkriveno je da dekanal pospješuje proizvodnju kolagena, te povećava unutar-staničnu razinu cAMP-a, molekule koja djeluje kao sekundarni glasnik u važnim biološkim procesima koji se događaju u stanicama.^{28,29}

4.2. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande i vršne pare ulja lavande

Glavni spoj koji dominira u sastavu vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande je linalool s udjelom od 36,40%. U certifikatima eteričnog ulja tvrtke Aromara d.o.o. također se može primijetiti velik udio navedenog spoja. Linalool je aciklički monoterpen koji je i najpoznatiji kao sastavni dio lavande, te najviše pridonosi specifičnoj aromi lavande. Uobičajeni je spoj u više od 200 vrsta različitih aromatičnih biljaka. Linalool posjeduje kiralni centar i kao takav može biti u *R* obliku ili *S* obliku (enenatiomeri). *R*-linalool daje karakterističan miris koji podsjeća na lavandu, a *S*-linalool se smatra cvjetnim i slatkim mirisom.³⁰ Njegova antimikrobna svojstva zaštitna su za samu biljku i predstavljaju potencijalnu terapijsku uporabu. Linalool se koristi u tradicionalnoj medicini zbog svojih sedativnih i antiepileptičkih svojstava. U mozgu, linalool blokira receptore za glavnu kemijsku pobudnu kemikaliju – glutamat. U našem mozgu glutamat djeluje poput neurotransmitera koji omogućuje prijenos informacija od jedne živčane stanice do druge. Međutim, ukoliko se u mozgu nalazi prevelika količina glutamata, tada dolazi do smrti živčanih stanica zbog njihove pretjerane stimulacije. Linalool također ima sposobnost pojačavanja učinka drugih sedativa, poput pentobarbitala. Također utječe na ublažavanje boli kroz dodatne prepoznatljive mehanizme, kao što je smanjenje signalne snage acetilkolina, moždane kemikalije potrebne za kontrakciju i kretanje mišića.³¹ Linalil-acetat je spoj s velikim udjelom u sastavu samog eteričnog ulja lavande, tako da je očekivano da je njegov udio velik i u vršnim parama sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande. Prisutan je u postotku od 15,40%. Linalil-acetat je acetatni ester linaloola te se ta dva spoja često javljaju zajedno. Prirodna je fitokemikalija koja se nalazi u mnogim cvjetovima i začinskim biljkama. Potvrđeno je da ima terapijske učinke kod ishemijskog moždanog udara modulirajući unutar-staničnu koncentraciju Ca^{2+} iona te da ima antioksidacijska svojstva.³² 1,8-Cineol je akiralna aromatična komponenta mnogih aromatičnih biljaka, te je primijećen u vršnim parama sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande s udjelom od 3,24%. To je monoterpenški ciklički eter. Farmakološki učinci 1,8-cineola su pomno i kvalitetno istraženi i dokumentirani; koristi se u liječenju bolesti respiratornog trakta zbog svojih antimikrobnih, bronholitičkih i protuupalnih svojstava.³³ Terpinen-4-ol je monoterpen koji se javlja u prirodi kao glavna bioaktivna komponenta ulja čajevca te je nađen u mnogim drugim uljima.

Molekularni mehanizam njegovog djelovanja uključuje indukciju stanične smrti, čineći spoj potencijalnim lijekom protiv raka te u kombinaciji s drugim lijekovima u liječenju brojnih malignih bolesti.³⁴ U sastavu vršnih para eteričnog ulja, osim navedenih spojeva, identificirani su i (*Z*)- β -ocimen, s udjelom od 5,34% te (*E*)- β -ocimen, s udjelom od 4,64%. Ocimen je terpen koji se nalazi u mnogim vrstama voća i aromatičnog bilja. Poznat je po svojoj slatkastoj, zeljastoj i drvenastoj aromi. Vjeruje se da ocimen ima niz ljekovitih karakteristika. Razne studije otkrile su da ocimen djeluje protuupalno te da ima snažna protugljivična svojstva. Kao sastojak mnogih eteričnih ulja, otkriveno je da ocimen ima i snažna antivirusna svojstva.³⁵ Borneol je biciklički monoterpen primijećen u vršnim parama eteričnog ulja lavande s udjelom od 4,43%. Borneol posjeduje mogućnost promjene lipidnih struktura staničnih membrana i modulacije višestrukih transportera odgovornih za vezanje ATP-a, glavnog unutar-staničnog skladišta energije. Upravo ovi mehanizmi koji omogućuju borneolu da mijenja svojstva membrane, odgovorni su za poboljšanje isporuke i kroz ostale fiziološke barijere.³⁶ U sastavu eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o. kao glavni spoj naveden je linalil-acetat, dok u vršnim parama eteričnog ulja lavande navedeni spoj nije identificiran vjerojatno zbog selektivnosti korištenog vlakna za HS-SPME. Linalool prevladava u vršnim parama, te je on prisutan u velikom udjelu i kod sastava eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o. Terpinen-4-ol je naveden u značajnijem udjelu u obje analize, ali u nešto većem postotku kod sastava samog ulja koji je izdala tvrtka, odnosno 9,1%, u odnosu na 8,36% u vršnim parama. Sljedeći spojevi koji se nalaze u približno sličnim udjelima u obje analize su (*Z*)- β -ocimen te (*E*)- β -ocimen, međutim kod sastava eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o. veći udio pripada lavandulil-acetatu nego (*E*)- β -ocimenu. Lavandulil-acetat prisutan je u postotku od 6,7% u eteričnom ulju, dok kod analize vršnih para eteričnog ulja lavande, navedeni spoj nije pronađen. Za razliku od lavandulil-acetata, kod vršnih para u značajnije većem postotku identificiran je borneol, s udjelom od 4,43%, dok je kod sastava ulja tvrtke Aromara d.o.o. borneol prisutan s udjelom od 1,4%. *trans*-Kariofilen prisutan je u vršnim parama u udjelu od 7,61%, dok je u sastavu eteričnog ulja lavande tvrtke Aromara d.o.o. navedeni spoj prisutan u manjem udjelu od 3,8%. Postoje i spojevi koji su dobiveni analizom vršnih para eteričnog ulja lavande, međutim nisu navedeni u samom sastavu eteričnog ulja, kao što su npr. limonen (1,15%), octena kiselina (0,09%), 2-metilbut-3-en-2-ol (0,08%), α -tujen (0,42%) i butil-butanoat (0,49%).

4.3. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina i vršne pare ulja ružmarina

Glavni spoj koji dominira u sastavu vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina je 1,8-cineol s udjelom od 39,43%. Navedeni spoj je glavna komponenta i samog eteričnog ulja ružmarina, pa je bio očekivan u velikom postotku i u vršnim parama sapuna s dodatkom ovog eteričnog ulja. To je monoterpen, bezbojna tekućina, odnosno biciklički eter. Poznat je po svom osvježavajućem i mentolnom mirisu i okusu. Poznatiji je pod imenom eukaliptol jer sačinjava 90% sastava eukaliptusovog ulja. Često je korišten kao aditiv, kod pripreme hrane, te u kozmetici.³⁷ Istraženo je i potvrđeno da 1,8-cineol suzbija proliferaciju raka debelog crijeva induciranjem same apoptoze. Na temelju tih studija, 1,8-cineol mogao bi biti učinkovit za liječenje raka debelog crijeva.³⁸ Sljedeći spoj koji se nalazi u sastavu vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina s udjelom od 8,67% je α -pinen. α -Pinen je monoterpen najpoznatiji po svom mirisu sličnom borovim iglicama. Najčešći je monoterpen u prirodi. Pinen ima protuupalno i antimikrobno djelovanje, te pokazuje aktivnost kao inhibitor acetilkolinesteraze, pri čemu pomaže kod pamćenja. Također je poznato da djeluje na mjesto vezivanja benzodiazepina, skupine lijekova koji se koriste kod liječenja anksioznosti, nesanicе i sličnih stanja povezanih sa živčanom napetošću.³⁹ Kamfor je monoterpen koji je primijećen s udjelom od 10,44%, te se često koristi u kremama, mastima i losionima. Pogodan je za lokalno korištenje kod ublažavanja boli, iritacije i svrbeža. Ima jak miris i okus te se lako apsorbira kroz kožu. Kamfor nije preporučen za konzumaciju u velikim dozama jer pokazuje potencijalne nuspojave kao što je toksičnost ukoliko je nanesen na oštećenu kožu.⁴⁰ *trans*-Kariofilen je seskviterpen prisutan u vršnim parama s udjelom od 7,19%, a nađen je u mnogim eteričnim uljima ljekovitih aromatičnih biljaka. Potvrđeno je da *trans*-kariofilen značajno umanjuje akutnu i kroničnu bol, te je odličan za ublažavanje boli kod zatvorenih povreda.⁴¹ Osim navedenih spojeva, u vršnim parama samog eteričnog ulja ružmarina, u značajnijem udjelu, primijećeni su još i kamfen, s udjelom od 6,30%, i β -pinen s udjelom od 5,47%. Kamfen je monoterpen koji je specifičan po svom mošusnom, zemljanom mirisu s borovim podtonom. Kamfen se često proizvodi industrijski katalitičkom izomerizacijom pinena. Pretpostavlja se da pokazuje učinak u smanjenju kolesterola i triglicerida, međutim točna medicinska upotreba spoja još nije dovoljno istražena, a studije su u vrlo ranoj fazi.⁴² β -Pinen je monoterpen. Dokazano je da β -pinen pokazuje antivirusno

djelovanje u ranoj fazi razmnožavanja virusa te da bi se mogao koristiti kao potencijalno antivirusno sredstvo.⁴³ U sastavu eteričnog ulja ružmarina tvrtke Aromara d.o.o. kao glavni spoj dominira 1,8-cineol s udjelom od 43,01%, a što se slaže s rezultatima dobivenim analizom vršnih para eteričnog ulja ružmarina, ali je bio prisutan u nešto manjem udjelu od 37,77%. Spoj koji također dominira u obje analize, ali u značajnije manjem udjelu je kamfor, s postotkom od 12,10% kod ulja Aromara d.o.o, u odnosu na 13,85% u vršnim parama ulja. U vrlo sličnim udjelima u obje analize primijećen je β -pinen: 5,50% kod ulja Aromara d.o.o., te 5,47% u vršnim parama ulja. Kariofilen je još jedan spoj zamijećen u obje analize u sličnim postocima od 4,71%, te 5,1%. U sastavu eteričnog ulja ružmarina tvrtke Aromara d.o.o. u značajnijem udjelu primijećeni su limonen+ β -felandren, s udjelom od 4,31%, dok u vršnim parama nisu identificirani. Također, linalool se nalazi u samom sastavu s udjelom od 0,95%, dok kod analize vršnih para navedeni spoj nije primijećen. Ostali spojevi, kao što su npr. mircen, terpineol, borneol, humulen i bornil-acetat zamijećeni su u obje analize u vrlo sličnim postocima.

4.4. Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče i vršne pare ulja naranče

Spoj koji prevladava u vršnim parama sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče s udjelom od 33,20%, te u samim vršnim parama eteričnog ulja naranče s 85,22% je limonen. Limonen pripada skupini terpena, bezbojna je tvar te postoji kao dva mirisno aktivna izomera. Razlikuje se L-limonen koji ima miris limuna, te D-limonen koji ima miris naranče.⁴⁴ Njegova je koncentracija visoka u samoj kori agruma kao što je naranča, a u soku s pulpom moguć je udio i od 90%. Limonen je jedan od najčešćih terpena u prirodi i pokazuje mnogo zdravstvenih koristi, kao što je protuupalno, antioksidacijsko i antistresno djelovanje. Koristi se kao aditiv u hrani, kozmetici, proizvodima za čišćenje i prirodnim sredstvima za zaštitu od insekata. Limonen se smatra sigurnim za ljude s malim rizikom od nuspojava, kao što je, u slučaju izravnog nanošenja na kožu, moguća iritacija.⁴⁵ Vršne pare sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče imaju znatno manje spojeva u odnosu na ostale analize. Jedini spoj, uz limonen, koji se pojavljuje u većem udjelu je glicerol s 23,70%. To je jednostavan i najpoznatiji trovalentni alkohol uključen u sva prirodna ulja i masti kao ester masnih kiselina.

Ima važnu ulogu u brojnim metaboličkim procesima. Na sobnoj temperaturi, glicerin je bezbojna, viskozna i higroskopna tekućina slatkastog okusa. Ima široku primjenu, između ostalog i kao dio hidratantnih krema, mazivo te omekšivač.⁴⁶ Također se koristi pri proizvodnji plastike, pasta za zube, kod lijekova za liječenje cerebralnog edema ili u obliku čepića, kao osmotski laksativ u rektumu. Pod kraticom E422, propan-1,2,3-triol često se koristi kao dodatak hrani. Na primjer kao zaslađivač, antifriz ili sredstvo protiv zamagljivanja. Poznat je i kao komponenta za njegu kože i lakova za cipele jer održava kožu glatkom zahvaljujući svojim hidratantnim svojstvima.⁴⁷ Kod analize eteričnog ulja ružmarina već je spomenut 1,8-cineol koji je također primijećen i kod analize vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče s udjelom od 8,27%. U vršnim parama sapuna također je primijećen i nonanal s udjelom od 4,18%. Nonanal je aldehid, bezbojna tekućina često povezan s cvjetnim i citrusnim mirisima. Istraženo je da nonanal uzrokuje narušavanje integriteta stanične membrane gljivica, što dovodi do propuštanja staničnih sastojaka i kalijevih iona uzrokujući povećanje ukupnog sadržaja lipida, izvanstaničnog pH i povećanje propusnosti membrane. U tom smislu, zaključeno je da je nonanal odličan biološki fungicid.⁴⁸ Većina ostalih spojeva prisutna je u udjelu ne većem od 1,5%. Kod vršnih para samog eteričnog ulja naranče također dominira limonen s udjelom od 85,22%. Sljedeći spoj s udjelom od 3,97% je β -mircen, monoterpen čest u eteričnim uljima mnogih biljaka kao što su hmelj, kanabis i lovor. Poznato je da ima protuupalna, antibakterijska i analgetska svojstva za ublažavanje boli, te da djeluje sedativno, umirujuće i opuštajuće.⁴⁹ U sastavu eteričnog ulja naranče tvrtke Aromara d.o.o uvelike dominira limonen s udjelom od 95,12% te također navedeni spoj dominira i u vršnim parama s nešto nižim udjelom od 85,22%. U obje analize sljedeći spoj po postotku je mircen, međutim kod vršnih para njegov udio je 3,97%, odnosno nešto je veći od udjela u ulju koji je 1,83%. α -Pinen je spoj koji se primjećuje u obje analize, međutim kod samog sastava ulja prisutan je u udjelu od 0,5%, dok je kod analize vršnih para eteričnog ulja naranče primijećen u udjelu od 1,83%. Kod analize vršnih para u malim postocima primijećeni su određeni spojevi koji nisu navedeni u samom sastavu eteričnog ulja naranče tvrtke Aromara d.o.o., a to su kamfor, heksan-1-ol, nonan-1-ol, terpinen-4-ol i kopaen. Kopaen je triciklički seskviterpen prisutan u eteričnim uljima mnogih biljaka, a poznat je po svom učinkovitom antioksidativnom svojstvu.⁵⁰

4.5. Usporedba kemijskog sastava vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja i baznog sapuna

Kod vršnih para čistog sapuna, bez dodatka eteričnih ulja, primijećen je velik udio limonena u vršnim parama. Limonen potječe od kokosovog ulja kao čest spoj u kokosu, pa tako i u pripravcima dobivenim od kokosa. Limonen je također neizostavan spoj u svim citrusnim plodovima, pa je primijećen i u velikom udjelu kod vršnih para eteričnog ulja naranče. Iz tog razloga dodatak eteričnog ulja naranče baznom sapunu nije uzrokovao značajnu promjenu u kemijskom sastavu vršnih para sapuna, s obzirom na to da je limonen u velikom udjelu već bio prisutan u baznom ulju iz kokosa. Međutim, dodatak eteričnog ulja naranče rezultirao je znatnim povećanjem udjela glicerina koji je u vršnim parama baznog sapuna bio prisutan s udjelom od samo 2,93%, dok je nakon dodatka eteričnog ulja naranče, taj postotak u vršnim parama znatno porastao na 23,70% što nije izravno vezano sa sastavom eteričnog ulja, već sa raspodjelom spojeva u vršnim parama sapuna nakon dodatka eteričnog ulja. Također, uočeno je da u vršnim parama čistog sapuna spoj 1,8-cineol nije bio prisutan, dok je nakon dodatka eteričnog ulja naranče njegov udio porastao na 8,27%, a poznato je da ovaj spoj pomaže kod problema s respiratornim traktom. Za razliku od sapuna s dodatkom eteričnog ulja naranče, kod kojeg limonen nije pokazivao značajnu razliku u udjelu, dodatak eteričnog ulja lavande utječe značajno na sastav vršnih para sapuna jer udio limonena opada, a do izražaja dolaze ostali spojevi prisutni u eteričnom ulju lavande, kao što su linalool ili 1,8-cineol. Prisustvo linaloola u vršnim parama sapuna vrlo je pozitivna stavka budući je karakteriziran mnogim pozitivnim djelovanjima kao što je blokiranje receptora za glutamat, ublažavanje boli te sedativno i antiepileptičko djelovanje. Do izražaja također dolazi i linalil-acetat koji kod vršnih para baznog sapuna nije prisutan, dok je kod vršnih para sapuna s dodatkom eteričnog ulja lavande njegov postotak čak 15,40% (poznato je da linalil-acetat pokazuje antioksidacijska svojstva). Terpinen-4-ol je porastao u vršnim parama sapuna nakon dodatka eteričnog ulja lavande te se njegov postotak povećao sa 0,21% na 7,22%. S obzirom na to da sam terpinen-4-ol ima potencijalna antikancerogena svojstva, sapun s dodatkom eteričnog ulja lavande je zanimljiv. Dodatak eteričnog ulja ružmarina također smanjuje udio limonena u vršnim parama sapuna i do izražaja dolaze ostali spojevi kao što su 1,8-cineol i α -pinen. 1,8-Cineol daje značajnu karakteristiku sapunu s dodatkom eteričnog

ulja ružmarina gdje je u vršnim parama sapuna prisutan u velikom postotku od 39,43% te je odgovoran za sam karakteristični miris sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina. Poznat je i po svom biološkom djelovanju. α -Pinen je također izražen u vršnim parama sapuna s dodatkom eteričnog ulja ružmarina (udio raste s 0,72% na 8,67%). α -Pinen pokazuje antimikrobna svojstva, te pomaže kod liječenja nesаницe i ostalih stanja povezanih sa živčanom napetošću. Kamfor također dolazi do puno većeg izražaja u vršnim parama sapuna nakon dodatka eteričnog ulja ružmarina, a njegov udio raste sa 0,41% na 10,44%. Kamfor čini sapun pogodnim za korištenje kod ublažavanja boli, iritacije i svrbeža, međutim kamfor nije preporučen za konzumaciju u velikim dozama jer ima potencijalne negativne nuspojave kao što je toksičnost ako se nanosi na oštećenu kožu.

5. ZAKLJUČAK

Izrada sapuna u kućnoj radionici koristeći maslinovo ulje, kokosovo ulje te primjenjujući određene omjere ostalih kemikalija i pridržavajući se opisanog postupka rada, provedena je uspješno. Analiza dobivenog proizvoda provedena je izolacijom vršnih para sapuna mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi, te analizom isparljivih spojeva plinskom kromatografijom sa spektrometrijom masa. Kod dodatka eteričnog ulja lavande baznom sapunu, primijećene su najveće razlike u udjelima određenih spojeva, ali i samog kemijskog sastava vršnih para sapuna. Nakon dodatka eteričnog ulja lavande, udjeli mnogih korisnih spojeva došli su do puno većeg izražaja u vršnim parama sapuna, kao što su npr. 1,8-cineol, linalool, kamfor, terpinen-4-ol, linalil-acetat i lavandulil-acetat. Svi navedeni spojevi dokazano imaju pogodan utjecaj na čovjeka, te nakon dodatka eteričnog ulja lavande, obogaćuju bazni sapun. Dodatak eteričnog ulja ružmarina baznom sapunu, također uzrokuje razliku u sastavu vršnih para baznog sapuna i utječe na udjele određenih spojeva u vršnim parama, međutim znatno manje nego dodatak eteričnog ulja lavande. Kod dodatka eteričnog ulja ružmarina primjećuje se veliko povećanje udjela 1,8-cineola u vršnim parama sapuna. Do izražaja u vršnim parama sapuna također uvelike dolaze i α -pinen, β -pinen, kamfen kamfor i *trans*-kariofilen. Naposljetku, dodatak eteričnog ulja naranče najmanje utječe na udio i sastav vršnih para baznog sapuna jer ne dolazi do značajnih promjena. Limonen ostaje i dalje značajno dominantan spoj u vršnim parama kao što je bio i u samom baznom sapunu bez dodatka eteričnog ulja. U sva tri slučaja dodatak eteričnog ulja imao je pozitivan učinak na sam sapun, osobito u smislu poželjnih mirisnih svojstava te obogaćivanja sapuna sa biološki aktivnim spojevima iz dodanih eteričnih ulja.

6. LITERATURA

1. D. Kuštrak, *Farmakognozija fitofarmacija*. Golden Marketing – Tehnička knjiga (2005.)
2. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/etericna-ulja/>, pristupljeno: 23.3.2021.
3. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, *Biological effects of essential oils – A review*, *Food Chemical Toxicology* **46**(2) (2008.) str. 446-475
4. E. Breitmaier, *Terpenes – Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*, *Applied Organometallic Chemistry* **21**(5) (2007.) str. 377-378
5. B.A. McAndrew, *Sesquiterpenoids: The lost Dimension of Perfumery*, *Perfumer & Flavorist* **17**(4) (1992.) str. 1-17
6. Directorate for the Quality of Medicines and Health Care of the Council of Europe, *European Pharmacopoeia 8th ed.*, Council of Europe (2013.)
7. *Hrvatska farmakopeja* (2007.)
8. J. C. Valsa, *Economics of toilet soap production in Kerala*, LAP LAMBERT Academic Publishing (2013.)
9. I. Klarić, *Tehnološki procesi organske industrije*, Interna skripta Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Zavod za organsku tehnologiju (2006.)
10. D. Swern, *Industrijski proizvodi ulja i masti po Baileyju*, Znanje, Zagreb (1972.)
11. I. Jerković, *Kemija aroma – Interna skripta Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu* (2011.)
12. I. Jerković, Z. Marijanović, *A short review of headspace extraction and ultrasonic solvent extraction for honey volatiles fingerprinting*, *Croatian Journal of Food Science and Technology* **1**(2) (2009.) str. 35-41
13. P. J. Marriott, S. Shellie, C. Cornwell, *Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils*, *Journal of Chromatography A* **1**(2) (2001.) str. 1-22
14. <https://www.aromara.hr/page/o-nama> , pristupljeno: 27.3.2021.
15. <https://www.aromara.hr/shop/lavanda-etericno-ulje-10-ml-10462?search=lavanda#attr=> , pristupljeno: 27.3.2021.
16. <https://www.aromara.hr/shop/ruzmarin-18-cineol-etericno-ulje-10-ml-10450?search=ru%C5%BEmarin#attr=> , pristupljeno: 27.3.2021.
17. <https://www.aromara.hr/shop/naranca-etericno-ulje-10-ml-10454?search=naran%C4%8Da#attr=> , pristupljeno: 27.3.2021.

18. <http://www.coppini.com/product/eu-extra-virgin-olive-oil-coldoro-1-l/?lang=en>, pristupljeno: 8.4.2021.
19. <https://www.tvornicazdravehrane.com/kokosovo-ulje-bez-mirisa-organsko-500ml-staklenka-nutrigold-proizvod-14293/>, pristupljeno: 8.4.2021.
20. <http://www.soapcalc.net/calc/soapcalcwp.asp>, pristupljeno: 28.3.2021.
21. A. L. Watson, *Smart Soapmaking*; Book 1., Shepard Publications (2016.)
22. <https://www.brambleberry.com/calculator?calcType=lye>, pristupljeno: 28.3.2021.
23. R. Ciriminna, M. Lomeli-Rodriguez, P. D. Cara, A. J. Lopez-Sanchez, M. Pagliaro, *Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy*, Chemical Communications **50**(97) (2014.) str. 15288-15296
24. E. Barker, C. Cavallotti, A. Cuoci, T. Faravelli, E. Ranzi, *A Detailed kinetic study of pyrolysis and oxidation of glycerol (Propane-1.2.3-triol)*, Combustion Science and Technology **184**(7-8) (2012.) str. 1164-1178
25. P. C. Chan, M. F. Cesta, R. C. Sills, J. B. Bishop, D. W. Bristol, J. R. Bucher, R. S. Chhabra, P. M. Foster, R. A. Herbert, M. J. Hooth, A. P. King-Herbert, G. E. Kissling, D. E. Malarkey, J. H. Roycroft, J. M. Sanders, C. S. Smith, G. S. Travlos, N. J. Walker, K. L. Witt, *NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of β -Myrcene (CAS No. 123-35-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage studies)*, National Toxicology Program **557**(1) (2010.) str. 1-163
26. A. Bernreuther, P. Schreier, *Multidimensional gas chromatography/mass spectrometry : A powerful tool for the direct chiral evaluation of aroma compounds in plant tissues. II. Linalool in essential oils and fruits*, Phytochemical Analysis **2**(4) (1991.) str. 167-170
27. T. J. Leitereg, D. G. Guadagni, J. Harris, T. R. Mon, R. Teranishi, *Evidence for the difference between the odours of the optical isomers (+)- and (-)-carvone*, Nature **230**(5294) (1971.) str. 455-456
28. W. Kang, D. Choi, T. Park, *Decanal protects against UVB-induced photoaging in human dermal fibroblasts via the cAMP pathway*, Nutrients **12**(5) (2020.) str. 1214-1215

29. T. J. Stelzner, J. V. Weil, R. F. O'Brien, *Role of cyclic adenosine monophosphate in the induction of endothelial barrier properties*, *Journal of Cellular Physiology* **139**(1) (1989.) str. 157-166
30. T. Umezu, K. Nagano, H. Ito, K. Kosakao, M. Sakaniwa, M. Morita, *Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents*, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **85**(4) (2006.) str. 713-721
31. <https://www.leafly.com/news/science-tech/linalool-cannabis-terpene-benefits>, pristupljeno: 12.4.2021.
32. Y. S. Hsieh, S. Kwon, H. S. Lee, G. H. Seol, *Linalyl acetate prevents hypertension-related ischemic injury*, *PLoS ONE* **13**(5) (2018.) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198082>
33. H. W. Liu, L. Mander, *Comprehensive Natural Products II*, *Chemistry and Biology* **1**(1) (2010) str. 614-618
34. S. Shapira, S. Pleban, D. Kazanov, P. Tirosh, N. Arber, *Terpinen-4-ol: A Novel and Promising Therapeutic Agent for Human Gastrointestinal Cancers*, *PLoS ONE* **11**(6) (2016.) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156540>
35. G. Farre-Armengol, I. Filella, J. Lluja, J. Penuelas, *β -Ocimene, a Key Floral and Foliar Volatile Involved in Multiple Interactions between Plants and Other Organisms*, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* **22**(7) (2017.) str. 4-9
36. M. Kulkarni, N. Sawant, A. Kolapkar, A. Huprikar, N. Desai, *Borneol: a promising monoterpenoid in enhancing drug delivery across various physiological barriers*, *AAPS PharmSciTech* **22**(145) (2021.) str. 2-17
37. G. Jalilzadeh-Amin, M. Maham, *The application of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in medicinal plants, inhibits castor oil-induced diarrhea in rats*, *Pharmaceutical Biology* **53**(4) (2014.) str. 1-6
38. S. Murata, R. Shiragami, C. Kosugi, T. Tezuka, M. Yamazaki, A. Hirano, Y. Yoshimura, M. Suzuki, K. Shuto, N. Ohkohchi, K. Koda, *Antitumor effect of 1,8-cineole against colon cancer*, *Oncology Reports* **30**(6) (2013.) str. 2647-2652
39. G.-Y. Lee, C. Lee, G. H. Park, J.-H. Jang, *Amelioration of scopolamine-induced learning and memory impairment by α -pinene in C57BL/6 mice*, *Evidence-Based*

- Complementary and Alternative Medicine **2017**(4926815) (2017.)
<https://doi.org/10.1155/2017/4926815>
40. W. P. Bishop, K. D. Sanders, *Camphor hepatotoxicity*, Southern Medical Journal **93**(6) (2000.) str. 596-598
 41. L. I. G. Paula-Freire, M. L. Andersen, V. S. Gamma, G. T. Molska, E. L. A. Carlini, *The oral administration of trans-caryophyllene attenuates acute and chronic pain in mice*, Phytomedicine **21**(3) (2014.) str. 356-362
 42. I. Vallianou, N. Peroulis, P. Pantazis, M. Hadzopulou-Cladaras, *Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-CoA reductase activity*, PLoS One **6**(11) (2011.)
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020516>
 43. A. Astani, P. Schnitzler, *Antiviral activity of monoterpenes β -pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro*, Iranian Journal of Microbiology **6**(3) (2014.) str 149-155
 44. M. D. Ibanez, N. M. Sanchez-Ballester, M. A. Blazquez, *Encapsulated Limonene: A pleasant lemon-like aroma with promising application in the agri-food industry. A review*, Molecules **25**(11) (2020.) str. 2598
<https://doi.org/10.3390/molecules25112598>
 45. A. J. Vieira, F. P. Beserra, M. C. Souza, B. M. Totti, A. L. Rozza, *Limonene: Aroma of innovation in health and disease*, Chemo-Biological Interactions **283**(97-106) (2017.) str. 97-106
 46. C. L. Becker, F. W. Bergfeld, V. D. Belsito, R. Hill, D. C. Klaassen, C. D. Liebler, G. J. Marks, C. R. Shank, T. Slaga, P. Snyder, J. L. Gill, B. Heldreth, *Safety assessment of glycerin as used in cosmetics*, International Journal of Toxicology **38**(1) (2019.) str. 6-22
 47. A. Beatriz, Y. Araujo, D. de Lima, *Glycerol: a brief history and their application in stereoselective synthesis*, Quimica Nova **34**(2) (2010.) str. 306-319
 48. J. Zhang, H.-L. Sun, S.-Y. Chen, L. Zeng, T.-T. Wang, *Anti-fungal activity, mechanism studies an α -phellandrene and nonanal against penicillium cyclopium*, Botanical Studies **58**(13) (2017.) <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0168-8>

49. A. Behr, L. Johnen, *Myrcene as a natural base chemical in sustainable chemistry: A critical review*, ChemSusChem **2**(12) (2009.) str. 1072-1095
50. H. Turkez, K. Celik, B. Togar, *Effects of copaene, a tricyclic sesquiterpene, on human lymphocytes cells in vitro*, Cytotechnology **66**(4) (2014.) str 597-603