GC-MS analiza hlapljivih spojeva odabranih vrsta roda Veronica

Katavić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:977003

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Ivana Katavić

GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA ODABRANIH VRSTA RODA *Veronica*

Diplomski rad

Akademska godina: 2018./2019.

Mentor: prof. dr. sc. Valerija Dunkić

Split, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Ivana Katavić

GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA ODABRANIH VRSTA RODA *Veronica*

Diplomski rad

Akademska godina: 2018./2019.

Mentor: prof. dr. sc. Valerija Dunkić

Split, rujan 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje:	Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje:	Farmacija
Nastavni predmet:	Farmakognozija/Botanika
Tema rada:	je prihvaćena na LX. sjednici vijeća studija Farmacija te potvrđena na LX. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i LX. sjednici Fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor:	prof. dr. sc. Valerija Dunkić
Pomoć pri izradi:	Marija Nazlić, asistent, mag. educ. biol. et chem.

GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA ODABRANIH VRSTA RODA *Veronica*

Ivana Katavić, broj indeksa 150

Sažetak: Eterična ulja su smjese hlapljivih, lipofilnih tvari izoliranih iz cijelih biljaka ili njihovih dijelova. Lako su pokretljive tekućine koje lome svjetlo, bezbojne su ili svijetložute boje i najčešće su intenzivnog mirisa koji ovisi o kemijskom sastavu ulja. Koriste se zbog antibakterijskog, antivirusnog, antimikotičkog, antiparazitskog, spazmolitičkog, protuupalnog i antikancerogenog djelovanja, pogotovo u farmaceutskoj, kozmetičkoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji. Hidrolati su vodene otopine zasićene sastavnicama eteričnog ulja koje mogu nastati kao nusprodukt destilacije hlapljivih ulja ili destilacije biljnog materijala koji ne sadrži hlapljiva ulja. Blagi su, neiritativni i neškodljivi u usporedbi s eteričnim uljima. Upotrebljavaju se u kozmetici kao tonici za kožu te vodene faze krema i maski, a u terapiji u obliku obloga, kapi za nos, za oralnu upotrebu i primjenu na sluznice te u nekim zemljama kao pića, arome ili u fitomedicini. Određena količina sakupljenog suhog biljnog materijala se koristila za vodenu destilaciju uz pomoć aparature po Clevengeru da bi se izolirala eterična ulja i hidrolati. Zatim je odrađena GC-MS i GC-FID analiza da bi se dobio točan sastav eteričnih ulja i hidrolata. Iz tih rezultata se može vidjeti da su eterična ulja izrazito nepolarna i lipofilna, za razliku od hidrolata koji su polarniji, tako da se i njihov međusobni sastav razlikovao, iako smo našli zajedničke spojeve u visokim udjelima (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton, fitol i heptakosan).

Ključne riječi: *Veronica urticifolia* Jacq., *Veronica officinalis* L., eterična ulja, hidrolati
Rad sadrži: 54 stranice, 11 slika, 4 tablice, 8 priloga, 50 literaturnih referenci
Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Olivera Politeo – predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Mirko Ruščić – član
3. prof. dr. sc. Valerija Dunkić – član – mentor

Datum obrane: 30. rujna 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35 i Knjižnici Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia

Scientific area:	Biomedical sciences
Scientific field:	Pharmacy
Course title:	Pharmacognosy/Botany
Thesis subject:	was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. LX. as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. LX. and Faculty Council of School of Medicine, session no. LX.
Mentor:	full prof. Valerija Dunkić, Ph. D.
Technical assistance:	Marija Nazlić, research assistant, mag. educ. biol. et chem.

GC-MS ANALYSIS OF VOLATILE COMPOUNDS OF SELECTED SPECIES OF GENUS *Veronica*

Ivana Katavić, index number 150

Summary: Essential oils are mixtures of volatile, lipophilic substances isolated from whole plants or their parts. They are easily moving liquids that refract light, are colorless or light yellow in color and are most often of intense odor, which depends on the chemical composition of the oil. They have been used for antibacterial, antiviral, antimycotic, antiparasitic, antispasmodic, anti-inflammatory and anticancer activities, especially in the pharmaceutical, cosmetic, agricultural and food industries. Hydrosols are aqueous solutions saturated with constituents of essential oil that can be produced as a by-product of the distillation of volatile oils or the distillation of a plant material that does not contain volatile oils. They are mild, non-irritating and harmless compared to the essential oils. They are used in cosmetics as skin tonics and the aqueous phases of creams and masks, and in therapy in the form of dressings, nasal drops, oral and mucosal applications, and in some countries as beverages, flavors or in phytomedicine. A certain amount of dried plant material was used for aqueous distillation using a Clevenger apparatus to isolate essential oils and hydrosols. Then, GC-MS and GC-FID analysis were performed to obtain the correct composition of essential oils and hydrosols. From these results it can be seen that the essential oils are highly non-polar and lipophilic, unlike the more hydrosols, which are more polar, so that their mutual composition differed, although we found common compounds in high proportions (hexadecanoic acid, hexahydrofarnasyl acetone, phytol and heptacosane).

Keywords: *Veronica urticifolia* Jacq., *Veronica officinalis* L., essential oils, hydrosols
Thesis consists of: 54 pages, 11 figures, 4 tables, 8 supplements, 50 references
Original in: Croatian

Defense committee:

1. associate prof. dr. sc. Olivera Politeo – chair person
2. associate prof. dr. sc. Mirko Ruščić – member
3. full prof. dr. sc. Valerija Dunkić – supervisor

Defense date: September 30th 2019

Printed and electronic (pdf format) version of the thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, Split, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Porodica Plantaginaceae 2
1.2. Rod *Veronica* 3
1.2.1. Botanička pripadnost vrste *Veronica urticifolia* Jacq. 4
1.2.2. Ekološka i morfološka svojstva vrste *Veronica urticifolia* Jacq. 5
1.2.3. Botanička pripadnost vrste *Veronica officinalis* L. 8
1.2.4. Ekološka i morfološka svojstva vrste *Veronica officinalis* L. 9
1.3. Primjena eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Veronica* 11
1.4. Primjena hidrolata biljnih vrsta roda *Veronica* 13
2. CILJ ISTRAŽIVANJA 14
3. MATERIJALI I METODE 16
3.1. Sakupljanje materijala 17
3.2. Izolacija eteričnih ulja vrsta *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L. 18
3.2.1. GC-MS i GC-FID analiza eteričnih ulja 19
3.2.2. GC-MS i GC-FID analiza hidrolata 20
4. REZULTATI 21
4.1. Sastav eteričnih ulja 22
4.1.1. Sastav eteričnog ulja vrste *Veronica urticifolia* Jacq. 22
4.1.2. Sastav eteričnog ulja vrste *Veronica officinalis* L. 23
4.2. Sastav hidrolata 24
4.2.1. Sastav hidrolata vrste *Veronica urticifolia* Jacq. 24
4.2.2. Sastav hidrolata vrste *Veronica officinalis* L. 25
5. RASPRAVA 27
6. ZAKLJUČAK 32
7. POPIS CITIRANE LITERATURE 35
8. SAŽETAK 40
9. SUMMARY 42
10. ŽIVOTOPIS 44
11. PRILOZI 46

Zahvala

Želim se zahvaliti svojoj obitelji, prijateljima i dečku na neizmjernoj potpori za vrijeme studiranja.
Veliko hvala mojoj mentorici prof. dr. sc. Valeriji Dunkić i asistentici Mariji Nazlić na velikoj pomoći i uloženom trudu u realiziranju ovog diplomskog rada.

1. UVOD

1.1. Porodica Plantaginaceae

Porodica trpučevke, lat. Plantaginaceae nekada je spadala u red Scrophulariales, a reorganizacijom je postala dio reda Lamiales (1). Radi se o porodici jednogodišnjih ili trajnih zeljastih biljaka koje imaju nerazdijeljene listove u prizemnoj rozeti i pravilne dvospolne cvjetove, a također se rabi i naziv trpuci (2). Ovoj porodici pripada 110 rodova, među kojima, i u ovom radu istraživana, *Veronica* (3).

1.2. Rod *Veronica*

Rod *Veronica* je najbrojniji rod unutar porodice Plantaginaceae (4). Pripada mu oko 500 vrsta zeljastih jednogodišnjih biljaka ili trajnica, od kojih je u Hrvatskoj opisano 40 vrsta (Slika 1). Stabljike su najčešće polegnute, listovi nasuprotni i uglavnom smješteni pri dnu stabljike u obliku rozete, dok su cvjetovi pojedinačni ili skupljeni, a plod je tobolac. Rod je najvjerojatnije dobio ime po svetici sv. Veronici (5,6). Vanjski dijelovi biljaka roda *Veronica* nekada su se koristili u rumunjskoj tradicionalnoj medicini za liječenje bubrežnih bolesti, kašlja, a također su poznata i njihova ljekovita svojstva u zacjeljivanju rana (7). Također, u Turskoj su se neke vrste roda *Veronica* koristile kao diuretici i u zacjeljivanju rana (8). U Hrvatskoj su biljne vrste roda *Veronica* rasprostranjene na raznim staništima: od vodenih, močvarnih, šumskih, karbonatnih podloga, planinskih pašnjaka i vapnenačkih špilja do stijena i pukotina u stijenama, polja i ruderalnih staništa (9).



Slika 1. Rasprostranjenost roda *Veronica* u Hrvatskoj. Nikolić T. ur. (2015): Flora Croatica baza podataka (http://hirc.botanic.hr/fcd). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu (datum pristupa: 06.09.2019.)

1.2.1. Botanička pripadnost vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Odjeljak: Spermatophyta (sjemenjače)
Pododjeljak: Magnoliophytina (kritosjemenjače)
Razred: Magnoliatae (dvosupnice)
Podrazred: Asteridae
Nadred: Lamianae
Red: Lamiales (medićolike)
Porodica: Plantaginaceae (trpučevke)
Rod: *Veronica* (čestoslavica)
Vrsta: *Veronica urticifolia* Jacq. (širokolisna čestoslavica)

Objavljeno: Fl. Austr. 1: 37 (1773)

Autor svojte: Nicolaus (Nicolaas) Joseph von Jacquin

Sinonimi: *Veronica latifolia* auct. non L. (10)

Narodna imena: koprivolistna čestoslavica (10)

1.2.2. Ekološka i morfološka svojstva vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Veronica urticifolia Jacq. ima jednostavnu stabljiku koja može doseći visinu i do 60 cm. Može biti uspravna ili uzdižuća, s dlakama ili bez njih. Podanak biljke je puzajuć i razgranat. Listovi se nalaze jedan nasuprot drugog, ovalnog su oblika, izduženi u obliku srca i nazubljeni te pokriveni dlačicama s obje strane (Slika 2). Cvjetovi su dvospolni, čak do 25 cvjetova skupljeno je u obliku cvata koji ulazi u pazušce lista. Vjenčić je svijetloružičaste ili pak rjeđe bijele boje. *Veronica urticifolia* Jacq. cvate za ljetnih mjeseci, od lipnja do kolovoza. Plod je čahura koja je otprilike duga oko 4 mm te sadrži žućkaste sjemenke (10).



Slika 2. Širokolisna čestoslavica, lat. *Veronica urticifolia* Jacq. [Internet]. Plantea. 2016 [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/sirokolisna-cestoslavica/

Širokolisna čestoslavica rasprostire se po srednjoj i južnoj Europi (Slika 3). Raste u listopadnim šumama, u pukotinama stijena te na vapnenačkom tlu.



Slika 3. Rasprostranjenost vrste *Veronica urticifolia* Jacq. u Hrvatskoj. Nikolić T. ur. (2015): Flora Croatica baza podataka (http://hirc.botanic.hr/fcd). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu (datum pristupa: 15.09.2019.)

Ime ove vrste pokazuje sličnost s listovima koprive (*Urtica dioica*) (Slika 4) (10).



Slika 4. Listovi biljke *Veronica urticifolia* Jacq. koji izgledom podsjećaju na listove koprive (*Urtica dioica*). [Internet]. Plantea. 2016 [citirano 7. rujan 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/sirokolisna-cestoslavica/

1.2.3. Botanička pripadnost vrste *Veronica officinalis* L.

Odjeljak: Spermatophyta (sjemenjače)
Pododjeljak: Magnoliophytina (kritosjemenjače)
Razred: Magnoliatae (dvosupnice)
Podrazred: Asteridae
Nadred: Lamianae
Red: Lamiales (medićolike)
Porodica: Plantaginaceae (trpučevke)
Rod: *Veronica* (čestoslavica)
Vrsta: *Veronica officinalis* L. (ljekovita čestoslavica)

Objavljeno: Sp. Pl. 11 (1753)

Autor svojte: Carl von Linnaeus, Linné

Sinonimi: *Cardia officinalis* (L.) Dulac (11)

Narodna imena: puzava čestoslavica, razgon (11)

1.2.4. Ekološka i morfološka svojstva vrste *Veronica officinalis* L.

Veronica officinalis L. je zeljasta biljka trajnica koja ima poleglu ili puzavu stabljiku (Slika 5). Stabljika je najčešće četverobridna, puna stršećih dlaka i s uspravnim cvatovima, a najčešće dosegne 20 cm visine. Listovi izgledaju poput elipse, lagano šiljasti i obrasli gustim dlakama, s gornje strane zeleni, a s donje ljubičasti. Kao i kod širokolisne čestoslavice, listovi se nalaze jedan nasuprot drugoga. Cvjetovi su također dvospolni i skupljeni su u cvatove u obliku grozda. Vjenčić je svijetloplave ili pak rjeđe bijele boje te ima 2 prašnika. Također cvate za ljetnih mjeseci, od lipnja do kolovoza. Plod je čahura velika otprilike 4 mm s eliptičnim žuto-smeđim sjemenkama (11).



Slika 5. Ljekovita čestoslavica, lat. *Veronica officinalis* L. [Internet]. Plantea. 2016 [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/ljekovita-cestoslavica/

Ljekovita čestoslavica rasprostire se po Europi i zapadnoj Aziji te je unešena čak i u Sjevernu Ameriku (Slika 6). Raste u listopadnim šumama na kiselim suhim tlima. Ime je dobila zbog svojih ljekovitih svojstava.

Veronica officinalis L. najznačajnija je vrsta unutar svog roda pa se često koristi u travarstvu za probleme s plućnim ili kožnim bolestima. Mladi listovi su jestivi pa se koriste u salatama ili se pak dodaju juhama (11).



Slika 6. Rasprostranjenost vrste *Veronica officinalis* L. u Hrvatskoj. Nikolić T. ur. (2015): Flora Croatica baza podataka (http://hirc.botanic.hr/fcd). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu (datum pristupa: 15.09.2019.)

1.3. Primjena eteričnih ulja biljnih vrsta roda *Veronica*

Eterična ulja su smjese od otprilike 20 do 200 hlapljivih, lipofilnih tvari koje su izolirane iz cijelih biljaka ili pak njihovih dijelova. To su zapravo tekućine koje su lako pokretljive, lome svjetlo, većinom su bezbojne ili svijetložute boje i najčešće su ugodnog intenzivnog mirisa koji ovisi o kemijskom sastavu ulja. Za farmaciju su važne one biljke iz kojih se destilacijom može izdvojiti količina od 0,01 do 10% (12).

Aromaterapija je dio fitoterapije, medicinske discipline koja se bavi liječenjem i prevencijom bolesti, a to postiže korištenjem biljaka i njihovih dijelova te produkata i ekstrakata, tj. eteričnih ulja. Činjenica da su eterična ulja smjese tvari različitih mehanizama djelovanja dovela je do toga da bakterije nisu uspjele razviti rezistenciju na njih (13).

Još od srednjeg vijeka eterična ulja su se koristila zbog antibakterijskog, antivirusnog, antimikotičkog, antiparazitskog, spazmolitičkog, insekticidnog, protuupalnog i antikancerogenog djelovanja, osobito u farmaceutskoj, sanitarnoj, kozmetičkoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji (14–16). Neka istraživanja pokazuju da su nađeni blagotvorni učinci eteričnih ulja jednim dijelom posljedica prooksidacijskih učinaka na staničnoj razini (14). Međutim, nedostatak istraživanja na ljudima ograničava potencijal eteričnih ulja kao djelotvornih i sigurnih sredstava u fitoterapiji (15). Također, jako malo se zna o interakcijama koje mogu dovesti do aditivnih, sinergističkih ili pak antagonističkih učinaka (17).

Primjerice, glavne tvari eteričnih ulja origana i timijana dokazano inhibiraju djelovanje bakterije *E. coli* (18).

Izolacija eteričnog ulja ovisi o vrsti i količini ulja te o dijelu biljke iz kojeg se izolira. Najčešće se to provodi destilacijom, a ona koju smo koristili za dobivanje rezultata u ovom diplomskom radu je vodena destilacija. To je najstariji i najskuplji oblik destilacije te se danas koristi samo za dobivanje terpentinskog ulja (12).

U farmaciji se eterična ulja koriste za oralnu i lokalnu upotrebu, njihova izrazita lipofilnost dovodi do brze probavne i perkutane resorpcije te inhalacije. S obzirom na farmakoterapijski učinak, mogu se koristiti kao diuretici, rubefacijensi, antiflogistici, antiseptici

i dezinficijensi, ekspektoransi, itd. Također, pretjerana upotreba može izazvati nepoželjne učinke koji mogu biti čak i toksični (12).

Neke od vrsta koristile su se u narodnoj medicini za liječenje gripe, bolesti respiratornog sustava, hemoptize, laringofaringitisa, kašlja, hernije, karcinoma, kao diuretici i u liječenju rana (19). Jedno istraživanje je predložilo da eterično ulje vrste *Veronica persica* Poir. može biti od pomoći u zaraznim, upalnim te neurodegenerativnim poremećajima (20). U drugom istraživanju potvrđena je insekticidna aktivnost esencijalnog ulja vrste *Veronica officinalis* L. na kupusnu lisnu uš povećavajući njenu stopu smrtnosti (21). Također, istraživano je antibakterijsko, antimutageno te antikancerogeno djelovanje vrste *Veronica urticifolia* Jacq. te se smatra da ta vrsta zaslužuje daljnja istraživanja u svrhu otkrivanja potencijalnih učinaka u kemoprevenciji (22).

1.4. Primjena hidrolata biljnih vrsta roda *Veronica*

Hidrolati su zapravo destilirane vodice, odnosno produkt su destilacije i mogu se smatrati kao pravi dio ekstrakta biljnog materijala iz kojeg su dobiveni (23). To su vodene otopine koje su zasićene sastavnicama eteričnog ulja (13). Mogu nastati i kao nusprodukt destilacije hlapljivih ulja ili pak destilacije biljnog materijala koji ne sadrži hlapljiva ulja.

Hidrolati su vrlo blagi, neiritativni i neškodljivi u usporedbi s eteričnim uljima i ekstraktima biljaka (23). U njima se otapaju poglavito hidrofilnije tvari pa tako oni ne sadrže iste omjere tvari kao i eterično ulje: hidrolati sadrže više kiselina, alkohola i aldehida, a manje terpena i seskviterpena koji su hidrofobni (13).

Upotrebljavaju se u kozmetici kao tonici za kožu te vodene faze krema i maski. U terapiji se koriste u obliku obloga, kapi za nos, za oralnu upotrebu i primjenu na sluznice, itd. Kod hidrolata, kao i kod eteričnih ulja vrlo važna je kvaliteta. Hidrolat koji se koristi u navedene svrhe ne smije biti patvoren niti sadržavati konzervans i alkohol, odnosno treba biti prirodan. Jedini i najveći problem kod hidrolata je nestabilnost, jer nemaju konzervansa. Zato ih proizvođači filtriraju kroz mikrofiltere i na taj način osiguravaju stabilnost i čistoću od mikroorganizama (23).

Biljni destilati već se duže vrijeme u mnogim zemljama koriste kao pića, arome ili u fitomedicini (24). Perzijska kultura ima dugu povijest korištenja hidrolata kao funkcionalnih pića te u terapiji gdje se razrjeđuju i koriste kao napitak. Neka istraživanja su pokazala da se u mnogim slučajevima sastojci hidrolata razlikuju od sastojaka čistog eteričnog ulja. Samim time eterična ulja i hidrolati imaju različitu biološku aktivnost. Istraživanjem se pokazalo da su glavni sastojci u većini ispitivanih hidrolata bili neki od sljedećih spojeva: timol, karvakrol, eugenol, kamfor, linalool, α-terpineol, mentol, itd. Iako su svi ispitivani hidrolati bili izolirani iz biljaka koje pripadaju različitim rodovima i porodicama, iz ovoga se moglo zaključiti da postoji vrlo očita sličnost njihovih kemijskih sastojaka (25).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja ovog diplomskog rada su biljne vrste roda *Veronica*, *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L. sakupljene na različitim lokacijama u Republici Hrvatskoj 2015. i 2018. godine. Ove vrste pripadaju porodici Plantaginaceae (trpučevke).

Već duže vrijeme na Odjelu za biologiju, točnije u Laboratoriju za botaniku na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Splitu istražuju se neke vrste roda *Veronica* i iz njih se izoliraju eterična ulja i hidrolati te se gleda njihov sastav, količina određenih sastavnica unutar vrste i usporedba između različitih vrsta, itd.

Određena količina sakupljenog suhog biljnog materijala se koristila za vodenu destilaciju uz pomoć aparature po Clevengeru da bi se izolirala eterična ulja i hidrolati. Zatim je odrađena GC-MS i GC-FID analiza da bi se dobio točan sastav eteričnih ulja i hidrolata. Iz tih rezultata se može vidjeti da su eterična ulja izrazito nepolarna i lipofilna, za razliku od hidrolata koji su polarniji, tako da se i njihov međusobni sastav razlikovao.

Dobiveni rezultati istraživanja su doprinos identifikaciji većeg broja sekundarnih, odnosno specijalnih metabolita roda *Veronica*, koji su važni zbog ekoloških, bioloških i farmakoloških faktora.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Sakupljanje materijala

a) **Vrsta:** *Veronica urticifolia* Jacq.
Lokalitet 1
Datum sakupljanja: lipanj 2018.
Mjesto sakupljanja: Mala Kapela

b) **Vrsta:** *Veronica urticifolia* Jacq.
Lokalitet 2
Datum sakupljanja: 27.05.2018.
Mjesto sakupljanja: Zelin Crnoluški

c) **Vrsta:** *Veronica officinalis* L.
Lokalitet 1
Datum sakupljanja: 27.05.2018.
Mjesto sakupljanja: Lokve – Mali raj

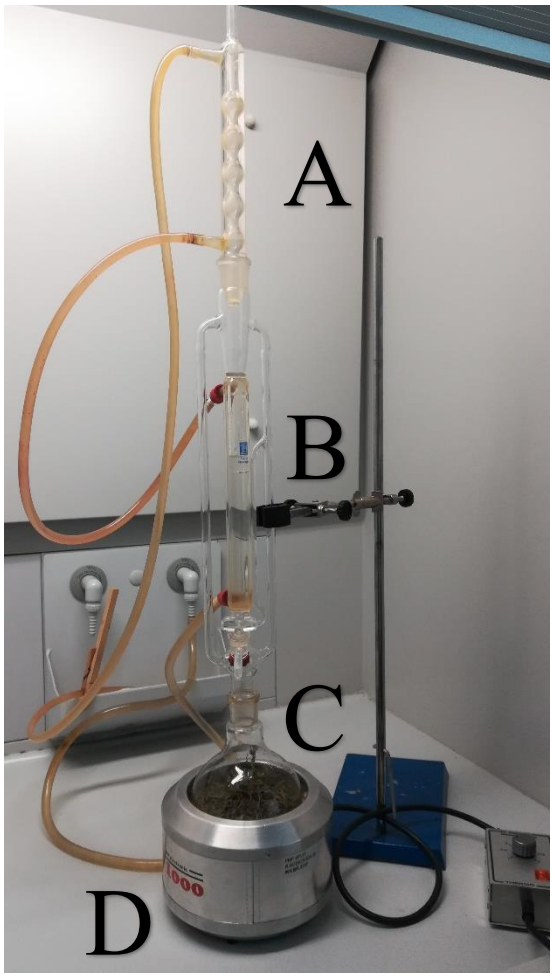
d) **Vrsta:** *Veronica officinalis* L.
Lokalitet 2
Datum sakupljanja: svibanj 2015.
Mjesto sakupljanja: Zagreb

3.2. Izolacija eteričnih ulja vrsta *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L.

Eterično ulje smo izolirali iz biljnog materijala vodenom destilacijom u trajanju od 3 sata uz pomoć aparature po Clevengeru (Slika 7).

Aparatura po Clevengeru se sastoji od: kalote, okrugle tikvice s okruglim dnom od 1000 mL, graduirane cijevi te hladila.

Za destilaciju se koristilo oko 12 g suhog materijala (više ili manje, ovisno o tome koliko materijala nam je bilo dostupno) u 500 mL vode. Dodano je 5 mL pentana (C_5H_{12}; M=72,15 g/mol) i 2 mL dietil-etera u unutarnji dio graduirane cijevi zbog mogućeg gubitka otopljenih, hlapljivih spojeva. Nakon 3 sata kada je destilacija završena, eterično ulje koje se ekstrahiralo u pentanu odijeljeno je od vodenog sloja. Ulje je nakon toga odvagano te mu je izračunat maseni udio u biljnom materijalu iz razlike masa pune i prazne bočice. Zatim se uzorak eteričnog ulja do GC-MS analize čuva u staklenoj i tamnoj hermetički zatvorenoj bočici u hladnjaku.



Slika 7. Aparatura po Clevengeru.

A – hladilo; B – graduirana cijev; C – okrugla tikvica s okruglim dnom; D – kalota

3.2.1. GC-MS i GC-FID analiza eteričnih ulja

GC-FID analiza rađena je na plinskom kromatografu Varian 3900 s plameno-ionizacijskim detektorom FID i kapilarnom kolonom VF-5ms (30 m x 0,25 mm; debljina sloja adsorbensa 0,25 μm) sa stacionarnom fazom 5%-fenil-95%-dimetilpoliksilanom. Plin nositelj je vodik protoka 1,2 mL/min, injekcijski volumen je 1 μL, omjer cijepanja 1:10, a temperatura injekcijskog bloka 250 °C.

GC-MS analiza rađena je na sustavu Varian Saturn 2100T na kapilarnoj koloni VF-5ms s istim temperaturnim programom kao i GC. Plin nositelj je helij s linearnim vektorom 3,5 cm/s, omjerom cijepanja 1:60, ionizacijskom energijom 70 eV, temperaturom 280 °C i jedinicama mase 40 – 600 m/z (Slika 8).

Identifikacija je provedena usporedbom masenih spektara nepoznatih tvari s masenim spektrima iz komercijalne biblioteke masenih spektara (NIST/02 MS library) (26).

Za svaki analizirani uzorak eteričnog ulja dobili smo:

- kromatogram ukupne ionske struje,
- vrijeme zadržavanja svake komponente koja je predstavljena pikom,
- udio pojedine komponente izražen u postotcima, tj. udio površine pika u ukupnoj površini,
- naziv spoja/spojeva čiji spektar je najsličniji spektru nepoznate komponente, sličnosti spektara koji su uspoređivani izraženi su u postotcima.



Slika 8. Aparatura za GC-MS i GC-FID analizu

3.2.2. GC-MS i GC-FID analiza hidrolata

GC-FID analiza rađena je na plinskom kromatografu Varian 3900 s plameno-ionizacijskim detektorom FID i kapilarnom kolonom VF-5ms (30 m x 0,25 mm; debljina sloja adsorbensa 0,25 μm) sa stacionarnom fazom 5%-fenil-95%-dimetilpoliksilanom. Plin nositelj je vodik protoka 1,2 mL/min, injekcijski volumen je 1 μL, bez cijepanja, a temperatura injekcijskog bloka 250 °C.

GC-MS analiza rađena je na sustavu Varian Saturn 2100T na kapilarnoj koloni VF-5ms s istim temperaturnim programom kao i GC. Plin nositelj je helij s linearnim vektorom 3,5 cm/s, omjerom cijepanja 1:60, ionizacijskom energijom 70 eV, temperaturom 280 °C i jedinicama mase 40 – 600 m/z (Slika 8).

Identifikacija je provedena usporedbom masenih spektara nepoznatih tvari s masenim spektrima iz komercijalne biblioteke masenih spektara (NIST/02 MS library) (26).

Za svaki analizirani uzorak hidrolata dobili smo:

- kromatogram ukupne ionske struje,
- vrijeme zadržavanja svake komponente koja je predstavljena pikom,
- udio pojedine komponente izražen u postotcima, tj. udio površine pika u ukupnoj površini,
- naziv spoja/spojeva čiji spektar je najsličniji spektru nepoznate komponente, sličnosti spektara koji su uspoređivani izraženi su u postotcima.

4. REZULTATI

4.1. Sastav eteričnih ulja

4.1.1. Sastav eteričnog ulja vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Uz pomoć GC-MS analize koja je korištena u ovom radu kod vrste *Veronica urticifolia* Jacq. s Lokaliteta 1 identificirano je 10 spojeva koji predstavljaju 85.9 % cjelokupnog ulja s postotkom ulja u 12 g suhog biljnog materijala od 0.75 %, a s Lokaliteta 2 identificirano je 10 spojeva koji predstavljaju 89.9 % cjelokupnog ulja s postotkom ulja u 12 g suhog biljnog materijala od 1.0 %.

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju s Lokaliteta 1 su: heksadekanska kiselina (28.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (20.2 %), heptakosan (17.9 %) te fitol (15.4 %).

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju s Lokaliteta 2 su: heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (20.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) te heptakosan (17.2 %) (Tablica 1 i Prilozi – Graf 1 i Graf 2).

Tablica 1. Fitokemijski sastav (%) eteričnog ulja vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Komponente	RI VF-5MS	*Lokalitet1*	*Lokalitet 2*	*Identifikacija*
Heksahidrofarnezil aceton (fiton)	1856	20.2	18.5	RI, MS
Fitol	1881	15.4	20.3	RI, MS
Heksadekanska kiselina	1959	28.3	30.3	RI, MS
Dokosan	2200	0.6	0.6	RI, MS, Co-GC
Trikosan	2300	0.5	0.4	RI, MS, Co-GC
Tetrakosan	2400	0.6	0.6	RI, MS, Co-GC
Pentakosan	2500	0.8	0.6	RI, MS, Co-GC
Heksakosan	2600	0.3	0.8	RI, MS, Co-GC
Heptakosan	2700	17.9	17.2	RI, MS, Co-GC
Dotriakontan	3200	1.3	0.6	
Ukupna identifikacija (%)		**85.9**	**89.9**	
Iskorištenje (%)		**0.75**	**1.0**	

RI - identifikacija spojeva uspoređena s Adamsom; MS - identifikacija s NIST02 i Wiley 9 bazom podataka; Co-GC - identifikacija potvrđena s referentnim komponentama; - = neidentificirano.

4.1.2. Sastav eteričnog ulja vrste *Veronica officinalis* L.

Uz pomoć GC-MS analize koja je korištena u ovom radu kod vrste *Veronica officinalis* L. s Lokaliteta 1 identificirano je 9 spojeva koji predstavljaju 82.8 % cjelokupnog ulja s postotkom ulja u 15 g suhog biljnog materijala od 0.8 %, a s Lokaliteta 2 identificirano je 10 spojeva koji predstavljaju 94.1 % cjelokupnog ulja s postotkom ulja u 2,5 g suhog biljnog materijala od 0.8 %.

Najzastupljeniji spoj u eteričnom ulju s Lokaliteta 1 je heksadekanska kiselina (49.5 %).

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju s Lokaliteta 2 su: heptakosan (25.1 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (21.8 %) te fitol (17.1 %) (Tablica 2 i Prilozi – Graf 3 i Graf 4).

Tablica 2. Fitokemijski sastav (%) eteričnog ulja vrste *Veronica officinalis* L.

Komponente	RI VF-5MS	*Lokalitet1*	*Lokalitet 2*	*Identifikacija*
β-Ionon	1489	0.1	-	RI, MS
Heksahidrofarnezil aceton (fiton)	1856	8.1	21.8	RI, MS
Fitol	1881	6.7	17.1	RI, MS
Heksadekanska kiselina	1959	49.5	2.3	RI, MS
Dokosan	2200	3.8	6.2	RI, MS, Co-GC
Trikosan	2300	1.6	4.1	RI, MS, Co-GC
Tetrakosan	2400	-	2.2	RI, MS, Co-GC
Pentakosan	2500	2.3	0.6	RI, MS, Co-GC
Heksakosan	2600	0.9	2.9	RI, MS, Co-GC
Heptakosan	2700	9.8	25.1	RI, MS, Co-GC
Dotriakontan	3200	-	11.4	
Ukupna identifikacija (%)		**82.8**	**94.1**	
Iskorištenje (%)		**0.8**	**0.8**	

RI - identifikacija spojeva uspoređena s Adamsom; MS - identifikacija s NIST02 i Wiley 9 bazom podataka; Co-GC - identifikacija potvrđena s referentnim komponentama; - = neidentificirano.

4.2. Sastav hidrolata

4.2.1. Sastav hidrolata vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Uz pomoć GC-MS analize koja je korištena u ovom radu kod vrste *Veronica urticifolia* Jacq. s Lokaliteta 1 identificirano je 12 spojeva koji predstavljaju 86.2 % cjelokupnog hidrolata, a s Lokaliteta 2 identificirano je 9 spojeva koji predstavljaju 91.6 % cjelokupnog hidrolata.

Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu s Lokaliteta 1 su: heksahidrofarnezil aceton (fiton) (35.9 %), heksadekanska kiselina (22.9 %) te fitol (17.4 %).

Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu s Lokaliteta 2 su: heksahidrofarnezil aceton (fiton) (40.3 %), fitol (21.1 %) te heksadekanska kiselina (20.2 %) (Tablica 3 i Prilozi – Graf 5 i Graf 6).

Tablica 3. Fitokemijski sastav (%) hidrolata vrste *Veronica urticifolia* Jacq.

Komponente	RI VF-5MS	*Lokalitet1*	*Lokalitet 2*	*Identifikacija*
Hexyl 2-methyl butanoate	1233	2.1	-	RI, MS
β-Ionon	1489	1.7	-	
γ-Eudesmol	1632	2.7	6.3	RI, MS
Heksahidrofarnezil aceton (fiton)	1856	35.9	40.3	RI, MS
Fitol	1881	17.4	21.1	RI, MS
Heksadekanska kiselina	1959	22.9	20.2	RI, MS
Dokosan	2200	0.1	1.1	RI, MS, Co-GC
Trikosan	2300	0.6	0.4	RI, MS, Co-GC
Tetrakosan	2400	0.7	0.5	RI, MS, Co-GC
Pentakosan	2500	0.8	0.6	RI, MS, Co-GC
Heksakosan	2600	0.5	-	RI, MS, Co-GC
Heptakosan	2700	0.8	1.2	RI, MS, Co-GC
Ukupna identifikacija (%)		**86.2**	**91.6**	

RI - identifikacija spojeva uspoređena s Adamsom; MS - identifikacija s NIST02 i Wiley 9 bazom podataka; Co-GC - identifikacija potvrđena s referentnim komponentama; - = neidentificirano.

4.2.2. Sastav hidrolata vrste *Veronica officinalis* L.

Uz pomoć GC-MS analize koja je korištena u ovom radu kod vrste *Veronica urticifolia* Jacq. s Lokaliteta 1 identificirano je 13 spojeva koji predstavljaju 84.5 % cjelokupnog hidrolata, a s Lokaliteta 2 identificirano je 13 spojeva koji predstavljaju 91.8 % cjelokupnog hidrolata.

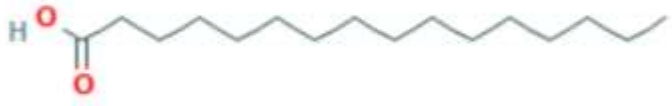
Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu s Lokaliteta 1 su: heksadekanska kiselina (34.1 %), fitol (17.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (14.5 %).

Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu s Lokaliteta 2 su: heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (23.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) (Tablica 4 i Prilozi – Graf 7 i Graf 8).

Tablica 4. Fitokemijski sastav (%) hidrolata vrste *Veronica officinalis* L.

Komponente	RI VF-5MS	*Lokalitet1*	*Lokalitet 2*	*Identifikacija*
Etil-butanoat	802	3.4	3.8	
n-Nonanal	1100	1.6	0.7	
trans-1(7),8-p-Mentadien-2-ol	1187	1.3	0.5	
Heksil 2-metil butanoat	1233	-	0.4	
Metil eugenol	1403	1.4	2.3	
β-Ionon	1489	1.5	0.5	RI, MS
γ-Eudesmol	1632	0.7	-	RI, MS
Heksahidrofarnezil aceton (fiton)	1856	14.5	18.5	RI, MS
Fitol	1881	17.3	23.3	RI, MS
Heksadekanska kiselina	1959	34.1	30.3	RI, MS
Dokosan	2200	1.9	2.5	RI, MS, Co-GC
Trikosan	2300	0.7	-	RI, MS, Co-GC
Tetrakosan	2400	0.8	0.4	RI, MS, Co-GC
Pentakosan	2500	-	0.8	RI, MS, Co-GC
Heksakosan	2600	5.3	7.8	RI, MS, Co-GC
Ukupna identifikacija (%)		**84.5**	**91.8**	

RI - identifikacija spojeva uspoređena s Adamsom; MS - identifikacija s NIST02 i Wiley 9 bazom podataka; Co-GC - identifikacija potvrđena s referentnim komponentama; - = neidentificirano.



Slika 9. Heksadekanska kiselina. PubChem. Palmitic acid [Internet]. [citirano 21. rujan 2019.]. Dostupno na: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/985



Slika 10. Heksahidrofarnezil aceton (fiton). PubChem. 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one [Internet]. [citirano 21. rujan 2019.]. Dostupno na: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10408



Slika 11. Fitol. PubChem. Phytol [Internet]. [citirano 21. rujan 2019.]. Dostupno na: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280435

5. RASPRAVA

Vrste roda *Veronica* predstavljaju vrijedan izvor biološki aktivnih sekundarnih metabolita, uključujući iridoidne glikozide i fenolne spojeve, osobito flavone i terpenoide. Upravo zbog toga pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti, uključujući antimikrobno i antioksidativno djelovanje (27).

Eterična ulja imaju izražena antimikrobna svojstva i svojstva konzervansa hrane jer se sastoje od raznih aktivnih sastojaka (npr. terpena, terpenoida, karotenoida, kumarina, kurkumina) koji imaju veliki značaj u prehrambenoj industriji (28).

Za naše analize koristili smo vodenu destilaciju uz pomoć aparature po Clevengeru (Slika 7) te GC-MS i GC-FID metode, tj. plinsku kromatografiju (GC) s dva različita tipa detekcije (masena spektrometrija – MS i plameno-ionizacijski detektor – FID). Plinska kromatografija (GC) omogućava identifikaciju pojedinih tvari u jednoj analizi, određuje njihov sadržaj te stupanj čistoće analiziranog eteričnog ulja. Može odrediti i sadržaj tvari koje se pojavljuju u tragovima (12). Masena spektrometrija (MS) je analitička tehnika koja ionizira kemijske spojeve i razvrstava ione na temelju njihovog omjera mase i naboja, tj. maseni spektar mjeri masu unutar uzorka. Koristi se u mnogim različitim područjima i primjenjuje se na čiste uzorke, kao i složene smjese (29). Plameno-ionizacijski detektor (FID) mjeri električnu struju koja nastaje pirolizom organskih spojeva (30).

Kako uzorak prolazi kroz kolonu, molekule smjese se razdvajaju zbog različitih kemijskih svojstava, točnije afiniteta prema stacionarnoj fazi. Molekulama je potrebno različito retencijsko vrijeme (vrijeme zadržavanja) da bi izašle iz plinskog kromatografa, a to masenom spektrometru omogućuje da ionizirane molekule detektira pojedinačno. Detektor na kraju mjeri signal razdvojenih tvari na kraju kolone. Na osi apscisa na dobivenom kromatogramu nalazi se vrijeme koje je potrebno nekom spoju da prođe kroz kolonu, a na osi ordinata signal u obliku vrška koji je proporcionalan koncentraciji određene tvari (31).

Prvi proučavani uzorak bila je *Veronica urticifolia* Jacq. sakupljena u lipnju 2018. g. u Maloj Kapeli (Lokalitet 1). Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju bili su heksadekanska kiselina (28.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (20.2 %), heptakosan (17.9 %) te fitol (15.4 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksahidrofarnezil aceton (fiton) (35.9 %), heksadekanska kiselina (22.9 %) te fitol (17.4 %) (Tablica 1 i Tablica 3).

Drugi proučavani uzorak bila je *Veronica urticifolia* Jacq. sakupljena u svibnju 2018. g. u Zelinu Crnoluškom (Lokalitet 2). Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju bili su heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (20.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) te heptakosan (17.2 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksahidrofarnezil aceton (fiton) (40.3 %), fitol (21.1 %) te heksadekanska kiselina (20.2 %) (Tablica 1 i Tablica 3).

Treći proučavani uzorak bila je *Veronica officinalis* L. sakupljena u svibnju 2018. g. u mjestu Lokve – Mali raj (Lokalitet 1). Najzastupljeniji spoj u eteričnom ulju bio je heksadekanska kiselina (49.5 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksadekanska kiselina (34.1 %), fitol (17.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (14.5 %) (Tablica 2 i Tablica 4).

Četvrti proučavani uzorak bila je *Veronica officinalis* L. sakupljena u svibnju 2015. g. u Zagrebu (Lokalitet 2). Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju bili su heptakosan (25.1 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (21.8 %) te fitol (17.1 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (23.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) (Tablica 2 i Tablica 4).

Heksadekanska kiselina (Slika 9), poznatija pod nazivom palmitinska kiselina, je zasićena ravnolančana monokarboksilna kiselina izvedena iz heksadekana (32). Palmitinska kiselina dosta dugo povezivana je s negativnim učincima na zdravlje koji mogu biti povezani s povećanim rizikom od koronarne bolesti srca i nekih tumora, ali se u novijim istraživanjima zaključilo da ne postoje uvjerljivi dokazi za takve tvrdnje (33). Međutim, 24 sata nakon primjene ova kiselina inducira anksiozno ponašanje kod miševa (34). Također, jedno istraživanje pokazalo je da dodatak palmitinske kiseline u mikrosfere koje sadrže rotigotin, lijek za liječenje Parkinsonove bolesti, značajno utječe na profil otpuštanja lijeka (35,36).

Heksahidrofarnezil aceton (fiton) (Slika 10) jedan je od najzastupljenijih spojeva koji su izolirani iz eteričnih ulja i hidrolata biljnih vrsta *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L. koje su istraživane za potrebe ovog diplomskog rada. On je po svojoj strukturi izoprenoidni keton koji pokazuje snažnu antimikrobnu aktivnost protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, inhibira široki spektar različitih sojeva gljivica te pokazuje alopatski i potencijal suzbijanja štetočina (37).

Fitol (Slika 11) je nezasićeni biljni alkohol (diterpen) i sastavni je dio molekule klorofila, a upotrebljava se za sintezu vitamina E i K (38). On se u značajnom postotku pojavljuje u sastavu eteričnih ulja i hidrolata istraživanih vrsta. U jednom istraživanju pokazano je antiproliferativno djelovanje fitola i njegov mehanizam djelovanja kojim inducira staničnu smrt jedne stanične linije adenokarcinoma pluća. Također, nije bilo štetnog toksičnog učinka u normalnim ljudskim stanicama pluća, a pokazana je i inhibicija rasta krvožilnog sustava, što govori o njegovom anti-angiogenom potencijalu (39). Jedno istraživanje pokazalo je antibakterijsko, pa čak i baktericidno djelovanje fitola na bakteriju *Staphylococcus aureus* u određenoj koncentraciji (40).

Istraživanja sastava eteričnog ulja i hidrolata roda *Veronica* tek su u začecima, do sada su se intenzivno istraživali iridoidni glikozidi. Iridoidi su jednostavni spojevi koji predstavljaju veliku skupinu monoterpenoida te su široko rasprostranjeni u prirodi, nalaze se u mnogim ljekovitim i jestivim biljnim vrstama kojima pripada i istraživana *Veronica officinalis* L. (ljekovita čestoslavica) iz porodice Plantaginaceae (41,42). Jedno istraživanje potvrdilo je da iridoidi pokazuju obećavajuće protuupalno djelovanje koje može biti korisno u liječenju upale. Pokazuju širok spektar farmakoloških aktivnosti kao što su kardiovaskularna, hepatoprotektivna, hipoglikemijska, spazmolitička, antimutagena, antitumorska, antivirusna te imunomodulacijska svojstva (43). Oni u biljci imaju zaštitnu ulogu te ih njihova gorčina štiti od biljojeda, a djeluju i na dispepsiju, potiču rad želuca, žuči i gušterače. Iridoidi porodici Plantaginaceae vjerojatno služe za zaštitu od mikroorganizama nakon ozljede pa su zato ljudi od davnina stavljali trputac na manje ozljede kože, ali i zbog protuupalnog djelovanja. Čestoslavica je poznata kao biljka koja može smiriti kašalj pa se zbog toga i danas koristi kod simptomatskog liječenja kašlja (41). Najrašireniji iridoidni glikozidi u rodu *Veronica* su aukubin i katalpol. Aukubin je aktivna komponenta koja je dobro pokazala već navedene farmakološke aktivnosti, uključujući i antioksidativno djelovanje, anti-aging, djelovanje protiv osteoporoze te je treba dalje istraživati i koristiti u terapiji (44).

U ovom diplomskom radu istraživane vrste *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L. usporedili smo s drugim istraživanim vrstama roda *Veronica*. Eterično ulje vrste *Veronica hederifolia* L. također u svom sastavu ima najveći udio heksahidrofarnezil acetona (30.5 %), fitola (10.8 %) i heksadekanske kiseline (9.6 %), ali ima i jako visok postotak seskviterpena β-kariofilena (25.8 %) koji pozitivno utječe na oksidativni stres i dovodi do smanjenja upaljenih limfnih čvorova, a kojeg mi uopće nismo detektirali kod naših vrsta (45).

Eterično ulje vrste *Veronica persica* Poir. u svom sastavu ima najveći postotak heksahidrofarnezil acetona (48.2 %) koji nadmašuje sve ostale komponente zajedno (46). Eterično ulje vrste *Veronica saturejoides* Vis. ssp. *saturejoides* u svom sastavu također ima najveći postotak heksahidrofarnezil acetona (65.9 %) (47). Eterično ulje vrste *Veronica arvensis* L. u najvećim postotcima sadržava fitol (38.1 %) i heksadekansku kiselinu (26.3 %) (48). Eterično ulje vrste *Veronica chamaedrys* L. sastoji se najviše od oksigeniranih seskviterpena od kojih je najzastupljeniji kariofilen oksid (27.3 %) kojeg uopće ne nalazimo u sastavu naših istraživanih vrsta. Glavni sastojak eteričnog ulja vrste *Veronica jacquinii* Baumg. je ugljikovodik heksadekanska kiselina koja je također prisutna u visokom postotku u našim istraživanim vrstama (49). Analiza eteričnog ulja vrste *Veronica spicata* L. pokazala je da je najzastupljeniji spoj diterpen fitol (35.1 %) (50).

Usporedbom sastava eteričnih ulja među različitim vrstama roda *Veronica* utvrđeno je da kod dosta istraživanih vrsta većina najzastupljenijih spojeva je ista (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton i fitol), ali ipak postoje određene vrste u čijem sastavu dominiraju neki drugi spojevi koji im pak daju njihove osobnosti. Nažalost, hidrolati nisu baš istraženi, iako je usporedbom sastava eteričnih ulja i hidrolata istraživanih vrsta u ovom radu primijećeno da određene iste sastavnice (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton, fitol i heptakosan) dominiraju kod obje vrste izolata pa možemo zaključiti da se hidrolate nakon izolacije eteričnih ulja ne treba odbaciti jer i oni mogu imati određena pozitivna djelovanja kao i eterična ulja, samo je potrebno još više istraživanja na njima.

6. ZAKLJUČAK

Za potrebe ovog diplomskog rada izolirana su eterična ulja i hidrolati vodenom destilacijom suhog biljnog materijala vrsta *Veronica urticifolia* Jacq. i *Veronica officinalis* L. Ove biljne vrste sakupljene su na različitim područjima na teritoriju Republike Hrvatske 2015. i 2018. godine. Potom je GC-MS i GC-FID analizom izoliranih eteričnih ulja i hidrolata određen fitokemijski sastav te je istraženo djelovanje onih spojeva koji su se nalazili u najvećim postotcima.

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju vrste *Veronica urticifolia* Jacq. sakupljene u lipnju 2018. g. u Maloj Kapeli (Lokalitet 1) bili su heksadekanska kiselina (28.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (20.2 %), heptakosan (17.9 %) te fitol (15.4 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksahidrofarnezil aceton (fiton) (35.9 %), heksadekanska kiselina (22.9 %) te fitol (17.4 %) (Tablica 1 i Tablica 3).

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju vrste *Veronica urticifolia* Jacq. sakupljene u svibnju 2018. g. u Zelinu Crnoluškom (Lokalitet 2) bili su heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (20.3 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) te heptakosan (17.2 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksahidrofarnezil aceton (fiton) (40.3 %), fitol (21.1 %) te heksadekanska kiselina (20.2 %) (Tablica 1 i Tablica 3).

Najzastupljeniji spoj u eteričnom ulju vrste *Veronica officinalis* L. sakupljene u svibnju 2018. g. u mjestu Lokve – Mali raj (Lokalitet 1) bio je heksadekanska kiselina (49.5 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksadekanska kiselina (34.1 %), fitol (17.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (14.5 %) (Tablica 2 i Tablica 4).

Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju vrste *Veronica officinalis* L. sakupljene u svibnju 2015. g. u Zagrebu (Lokalitet 2) bili su heptakosan (25.1 %), heksahidrofarnezil aceton (fiton) (21.8 %) te fitol (17.1 %). Najzastupljeniji spojevi u hidrolatu bili su heksadekanska kiselina (30.3 %), fitol (23.3 %) te heksahidrofarnezil aceton (fiton) (18.5 %) (Tablica 2 i Tablica 4).

Može se zaključiti da u većini vrsta roda *Veronica* prevladavaju isti spojevi u najvećim postotcima (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton i fitol), iako postoje i određene vrste u čijem sastavu dominiraju neki drugi spojevi koji im pak daju njihove osobnosti. Također, usporedbom sastava eteričnih ulja i hidrolata istraživanih vrsta u ovom radu primijećeno je da određene iste sastavnice (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton, fitol i heptakosan)

dominiraju kod obje vrste izolata pa možemo zaključiti da i hidrolati mogu imati svoju primjenu, samo im se treba početi pridavati malo više pažnje.

Bitno je naglasiti da je za istraživanje roda *Veronica* važno izolirati i identificirati što više specijalnih metabolita, čime bi se dobila bolja mogućnost uporabe roda, bilo u farmaceutske ili druge svrhe.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Lamiales - Main families [Internet]. Encyclopedia Britannica. [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.britannica.com/plant/Lamiales

2. flip.hr. trpuci | Struna | Hrvatsko strukovno nazivlje [Internet]. [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: http://struna.ihjj.hr/naziv/trpuci/33779/

3. Plantaginaceae — The Plant List [Internet]. [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: http://www.theplantlist.org/browse/A/Plantaginaceae/

4. speedwells (Genus Veronica) [Internet]. iNaturalist.org. [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.inaturalist.org/taxa/51611-Veronica

5. Nazlić M, Bezić N, Kremer D, Randić M, Dunkić V. Volatile Compounds of Hemicryptophytes - Veronica montana L. 3rd Int Conf Plant Biol 22nd SPPS Meet. 17. srpanj 2018.;127.

6. Čestoslavica (Veronica) [Internet]. Plantea. 2014 [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/cestoslavica/

7. Mocan A, Vodnar DC, Vlase L, Crișan O, Gheldiu A-M, Crișan G. Phytochemical Characterization of Veronica officinalis L., V. teucrium L. and V. orchidea Crantz from Romania and Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. Int J Mol Sci. 03. rujan 2015.;16(9):21109–27.

8. Ertas A, Boga M, Kizil M, Ceken B, Goren AC, Hasimi N, i ostali. Chemical profile and biological activities of Veronica thymoides subsp. pseudocinerea. Pharm Biol. ožujak 2015.;53(3):334–9.

9. Nazlić M, Kremer D, Ruščić M, Bezić N, Dunkić V. Veronica cymbalaria Bodard – When the GC-MS Peaks of Volatile Compounds Appear. 10th CMAPSEEC BOOK Abstr. 29. svibanj 2018.;214.

10. Širokolisna čestoslavica (Veronica urticifolia) [Internet]. Plantea. 2016 [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/sirokolisna-cestoslavica/

11. Ljekovita čestoslavica (Veronica officinalis) [Internet]. Plantea. 2016 [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.plantea.com.hr/ljekovita-cestoslavica/

12. Kuštrak D. Farmakognozija: fitofarmacija. Zagreb: Golden marketing-Tehnička knjiga; 2005.

13. Marković S. Fitoaromaterapija. Zagreb: Centar Cedrus; 2005.

14. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc. veljača 2008.;46(2):446–75.

15. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, i ostali. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. Mol Basel Switz. 01. siječanj 2017.;22(1).

16. Moon S-E, Kim H-Y, Cha J-D. Synergistic effect between clove oil and its major compounds and antibiotics against oral bacteria. Arch Oral Biol. rujan 2011.;56(9):907–16.

17. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. Medicines [Internet]. 08. kolovoz 2017. [citirano 10. rujan 2019.];4(3). Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622393/

18. Burt SA, Vlielander R, Haagsman HP, Veldhuizen EJA. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against Escherichia coli O157:H7 by addition of food stabilizers. J Food Prot. svibanj 2005.;68(5):919–26.

19. Dunkić V, Kosalec I, Kosir IJ, Potocnik T, Cerenak A, Koncic MZ, i ostali. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Veronica spicata L. (Plantaginaceae). Curr Drug Targets. 2015.;16(14):1660–70.

20. Sharifi-Rad J, Tayeboon GS, Niknam F, Sharifi-Rad M, Mohajeri M, Salehi B, i ostali. Veronica persica Poir. extract – antibacterial, antifungal and scolicidal activities, and inhibitory potential on acetylcholinesterase, tyrosinase, lipoxygenase and xanthine oxidase. Cell Mol Biol. 25. lipanj 2018.;64(8):50–6.

21. Görür G, Ibrahim abdullah M, Işik M. Insecticidal activity of the Thymus, Veronica and Agrimonia's essential oils against the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae. Acta Phytopathol Entomol Hung. 01. lipanj 2008.;43:201–8.

22. Živković J, Barreira JCM, Stojković D, Ćebović T, Santos-Buelga C, Maksimović Z, i ostali. Phenolic profile, antibacterial, antimutagenic and antitumour evaluation of Veronica urticifolia Jacq. J Funct Foods. 01. srpanj 2014.;9:192–201.

23. Hidrolati - blagi aromaterapeutski potencijal / Kemig [Internet]. [citirano 19. kolovoz 2019.]. Dostupno na: https://www.kemig.hr/kozmetika/brandovi/florame/hidrolati-blagi-aromaterapeutski-potencijal

24. Shirani K, Hassani FV, Azar-Khiavi KR, Moghaddam ZS, Karimi G. Determination of methanol in Iranian herbal distillates. J Complement Integr Med. 01. lipanj 2016.;13(2):123–7.

25. Hamedi A, Pasdaran A, Zebarjad Z, Moein M. A Survey on Chemical Constituents and Indications of Aromatic Waters Soft Drinks (Hydrosols) Used in Persian Nutrition Culture and Folk Medicine for Neurological Disorders and Mental Health. J Evid-Based Complement Altern Med. 2017.;22(4):744–52.

26. P R, Adams D. Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Edition. Carol Stream, Ill: Allured Pub Corp; 2007.

27. Salehi B, Shivaprasad Shetty M, V. Anil Kumar N, Živković J, Calina D, Oana Docea A, i ostali. Veronica Plants—Drifting from Farm to Traditional Healing, Food Application, and Phytopharmacology. Molecules [Internet]. 04. srpanj 2019. [citirano 19. rujan 2019.];24(13). Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651156/

28. Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. Front Microbiol [Internet]. 16. siječanj 2017. [citirano 21. rujan 2019.];7. Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5238431/

29. Masena spektrometrija (MS) [Internet]. Kobis. [citirano 21. rujan 2019.]. Dostupno na: https://www.kobis.hr/prodajni-program/spektrometrija/masena-spektrometrija/

30. flip.hr. plameno-ionizacijski detektor | Struna | Hrvatsko strukovno nazivlje [Internet]. [citirano 21. rujan 2019.]. Dostupno na: http://struna.ihjj.hr/naziv/plameno-ionizacijski-detektor/41748/

31. Božić V. IZOLACIJA I USPOREDBA SASTAVA ETERIČNIH ULJA IZ HRVATSKIH BILJNIH VRSTA RODA Salvia. Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet, Farmacija; 2019.

32. flip.hr. heksadekanska kiselina | Struna | Hrvatsko strukovno nazivlje [Internet]. [citirano 19. rujan 2019.]. Dostupno na: http://struna.ihjj.hr/naziv/heksadekanska-kiselina/39794/

33. Fattore E, Fanelli R. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. Int J Food Sci Nutr. kolovoz 2013.;64(5):648–59.

34. Moon ML, Joesting JJ, Lawson MA, Chiu GS, Blevins NA, Kwakwa KA, i ostali. The saturated fatty acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. Metabolism. rujan 2014.;63(9):1131–40.

35. Wang A, Liang R, Liu W, Sha C, Li Y, Sun K. Effect of palmitic acid on the characteristics and release profiles of rotigotine-loaded microspheres. Pharm Dev Technol. 2016.;21(1):3–7.

36. d.o.o MJ. Neupro 6 mg/24 h transdermalni flaster — Mediately Baza Lijekova [Internet]. [citirano 20. rujan 2019.]. Dostupno na: https://mediately.co/hr/drugs/9YUM3sYHJXRFOcH1KeFBA6E4NhI/neupro-6-mg-24-h-transdermalni-flaster

37. Hexahydrofarnesyl Acetone-Rich Extractives from Hildegardia barteri: Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants: Vol 23, No 4 [Internet]. [citirano 20. rujan 2019.]. Dostupno na: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10496475.2017.1350614

38. fitol | Proleksis enciklopedija [Internet]. [citirano 20. rujan 2019.]. Dostupno na: http://proleksis.lzmk.hr/21494/

39. Sakthivel R, Malar DS, Devi KP. Phytol shows anti-angiogenic activity and induces apoptosis in A549 cells by depolarizing the mitochondrial membrane potential. Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother. rujan 2018.;105:742–52.

40. Inoue Y, Hada T, Shiraishi A, Hirose K, Hamashima H, Kobayashi S. Biphasic Effects of Geranylgeraniol, Teprenone, and Phytol on the Growth of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. svibanj 2005.;49(5):1770–4.

41. Iridoidi | PLANTAGEA [Internet]. 2019 [citirano 19. rujan 2019.]. Dostupno na: https://www.plantagea.hr/zbirka-tekstova/iridoidi/

42. Tundis R, Loizzo MR, Menichini F, Statti GA, Menichini F. Biological and pharmacological activities of iridoids: recent developments. Mini Rev Med Chem. travanj 2008.;8(4):399–420.

43. Viljoen A, Mncwangi N, Vermaak I. Anti-Inflammatory Iridoids of Botanical Origin. Curr Med Chem. svibanj 2012.;19(14):2104–27.

44. Cri G, Vlase L, Balica G. LC /MS ANALYSIS OF AUCUBIN AND CATALPOL OF SOME VERONICA SPECIES. 2010.;6.

45. Tomašek I. SEKUNDARNI METABOLITI RODA Veronica S OSVRTOM NA VRSTU Veronica hederifolia L. Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2018.

46. Barišić M. Terofiti roda Veronica s osvrtom na vrstu Veronica persica Poir. Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2018.

47. Oguić L. HEMIKRIPTOFITI RODA Veronica S OSVRTOM NA ENDEMIČNU VRSTU Veronica saturejoides Vis. ssp. saturejoides. Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2018.

48. Mandić M. Anatomska građa trihoma lista i sastav eteričnog ulja vrste Veronica arvensis L. Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2018.

49. Mornar A. ANATOMSKA GRAĐA LISTA I SASTAV ETERIČNOG ULJA VRSTA Veronica chamaedrys L. i Veronica jacquinii Baumg. Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2014.

50. Plazonić I. Vrste trihoma lista i eterično ulje klasaste čestoslavice (Veronica spicata L.). Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2019.

8. SAŽETAK

Eterična ulja su smjese hlapljivih, lipofilnih tvari izoliranih iz cijelih biljaka ili njihovih dijelova. Lako su pokretljive tekućine koje lome svjetlo, bezbojne su ili svijetložute boje i najčešće su intenzivnog mirisa koji ovisi o kemijskom sastavu ulja. Koriste se zbog antibakterijskog, antivirusnog, antimikotičkog, antiparazitskog, spazmolitičkog, protuupalnog i antikancerogenog djelovanja, pogotovo u farmaceutskoj, kozmetičkoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji.

Hidrolati su vodene otopine zasićene sastavnicama eteričnog ulja koje mogu nastati kao nusprodukt destilacije hlapljivih ulja ili destilacije biljnog materijala koji ne sadrži hlapljiva ulja. Blagi su, neiritativni i neškodljivi u usporedbi s eteričnim uljima. Upotrebljavaju se u kozmetici kao tonici za kožu te vodene faze krema i maski, a u terapiji u obliku obloga, kapi za nos, za oralnu upotrebu i primjenu na sluznice te u nekim zemljama kao pića, arome ili u fitomedicini.

Određena količina sakupljenog suhog biljnog materijala se koristila za vodenu destilaciju uz pomoć aparature po Clevengeru da bi se izolirala eterična ulja i hidrolati. Zatim je odrađena GC-MS i GC-FID analiza da bi se dobio točan sastav eteričnih ulja i hidrolata. Iz tih rezultata se može vidjeti da su eterična ulja izrazito nepolarna i lipofilna, za razliku od hidrolata koji su polarniji, tako da se i njihov međusobni sastav razlikovao, iako smo našli zajedničke spojeve u visokim udjelima (heksadekanska kiselina, heksahidrofarnezil aceton, fitol i heptakosan).

9. SUMMARY

Essential oils are mixtures of volatile, lipophilic substances isolated from whole plants or their parts. They are easily moving liquids that refract light, are colorless or light yellow in color and are most often of intense odor, which depends on the chemical composition of the oil. They have been used for antibacterial, antiviral, antimycotic, antiparasitic, antispasmodic, anti-inflammatory and anticancer activities, especially in the pharmaceutical, cosmetic, agricultural and food industries.

Hydrosols are aqueous solutions saturated with constituents of essential oil that can be produced as a by-product of the distillation of volatile oils or the distillation of a plant material that does not contain volatile oils. They are mild, non-irritating and harmless compared to the essential oils. They are used in cosmetics as skin tonics and the aqueous phases of creams and masks, and in therapy in the form of dressings, nasal drops, oral and mucosal applications, and in some countries as beverages, flavors or in phytomedicine.

A certain amount of dried plant material was used for aqueous distillation using a Clevenger apparatus to isolate essential oils and hydrosols. Then, GC-MS and GC-FID analysis were performed to obtain the correct composition of essential oils and hydrosols. From these results it can be seen that the essential oils are highly non-polar and lipophilic, unlike the more hydrosols, which are more polar, so that their mutual composition differed, although we found common compounds in high proportions (hexadecanoic acid, hexahydrofarnasyl acetone, phytol and heptacosane).

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI:

Ime i prezime: Ivana Katavić

Datum rođenja: 20. lipnja 1994.

Mjesto rođenja: Split

Državljanstvo: hrvatsko

e-mail: ive.katavic@gmail.com

Adresa stanovanja: Kralja Zvonimira 57, Podstrana

OBRAZOVANJE:

Osnovna škola: OŠ Strožanac, Podstrana (2001.-2009.)

Srednja škola: Prirodoslovna tehnička škola Split, smjer: Prirodoslovna gimnazija (2009.-2013.)

Fakultet: Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer: Biologija i kemija (2013.-2014.)

Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer: integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija (2014.-2019.)

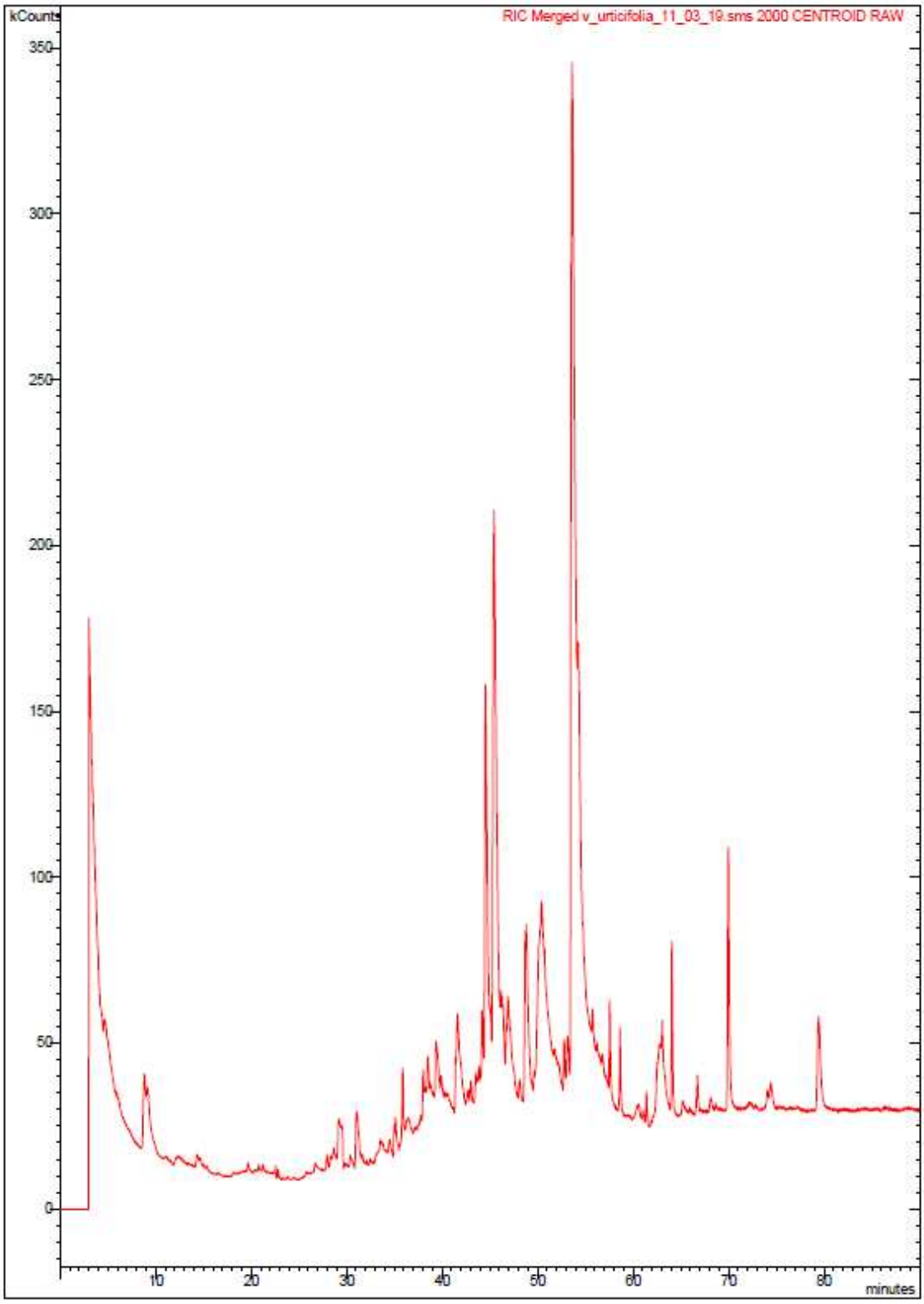
STRUČNO OSPOSOBLJAVANJE:

Ljekarne Splitsko-dalmatinske županije; ljekarnička jedinica Blatine (25. veljače – 30. kolovoza 2019.)

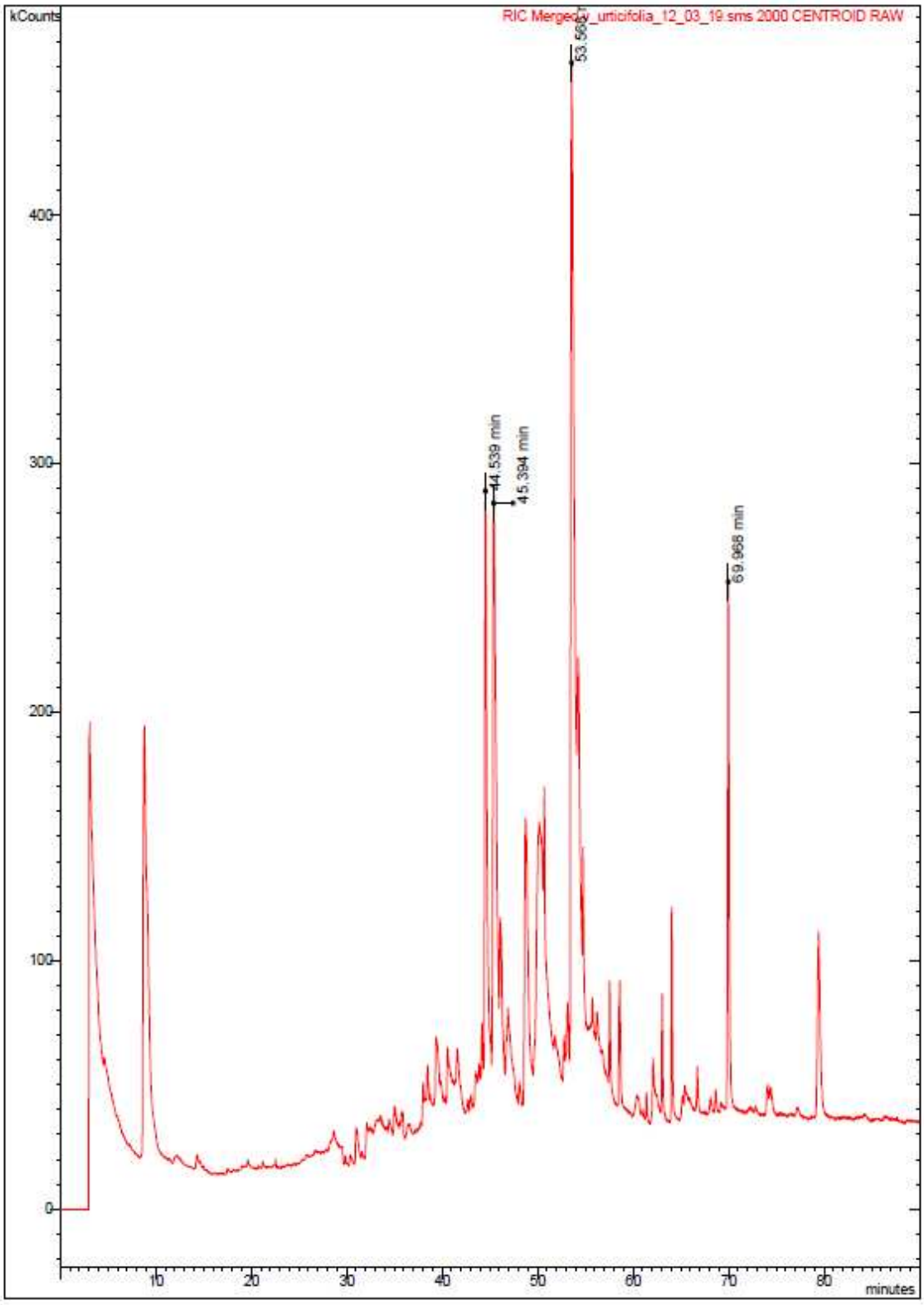
DRUGE AKTIVNOSTI:

- Aktivan član Udruge studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske (CPSA)
- Božićna fritulijada – Split 2016. – 2018. g.
- Praktična znanja za studente – Split 2017. g.
- Summer University – Covilhã, Portugal 2017. g.
- Praktična znanja za studente – Split 2018. g.
- Simpozij studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS) 2018. g.
- 5. Kongres Udruge studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske 2018. g.
- Humanitarna muffinijada, Split – Riva 2019. g.
- 6. Kongres Udruge studenata farmacije i medicinske biokemije Hrvatske 2019. g.
- Simpozij studenata farmacije i medicinske biokemije (FARMEBS) 2019. g.
- Summer University – Portorož, Slovenija 2019. g.

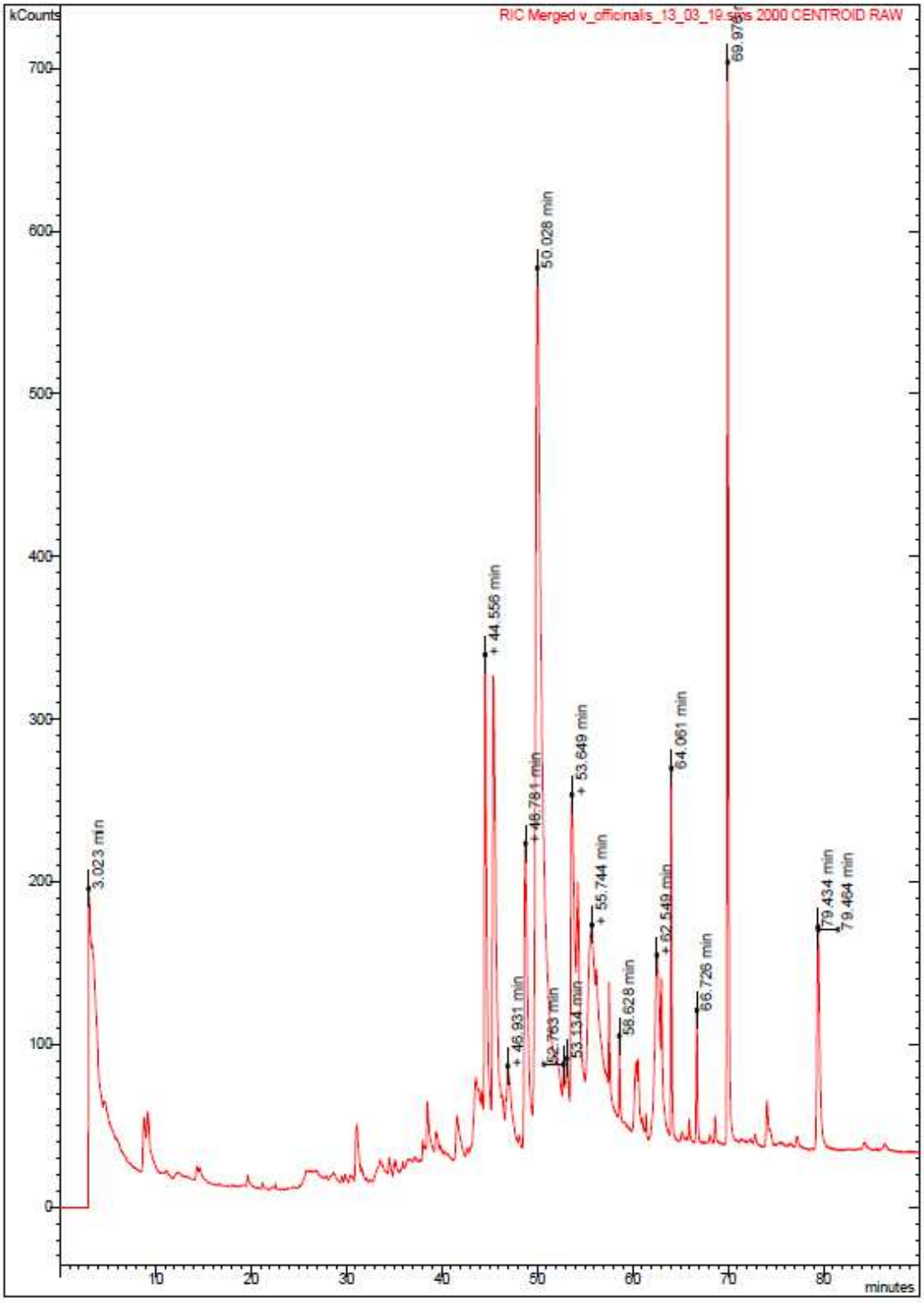
11. PRILOZI



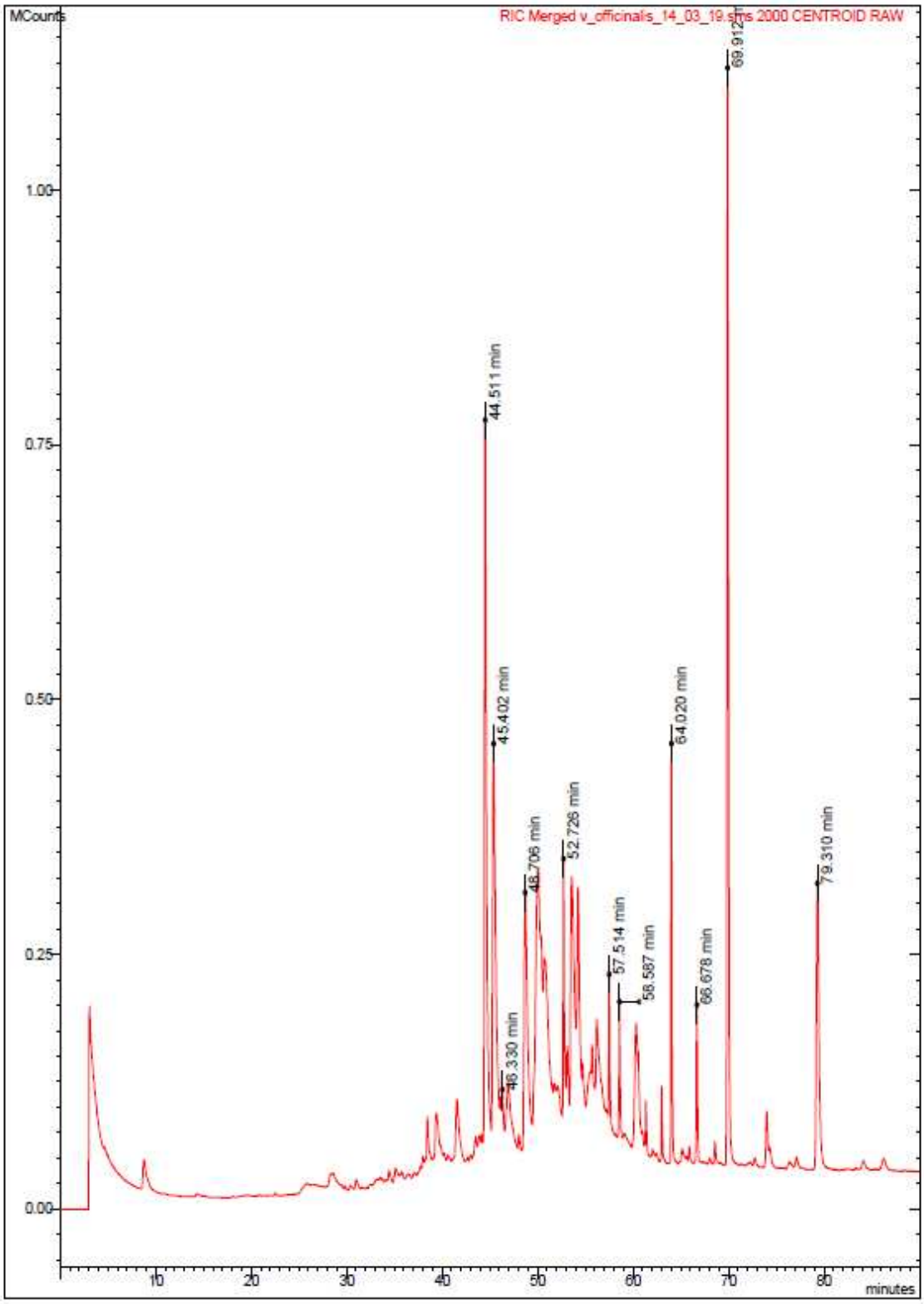
Graf 1. Kromatogram ukupne ionske struje za eterično ulje vrste *Veronica urticifolia* Jacq. (Lokalitet 1) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksadekanska kiselina.



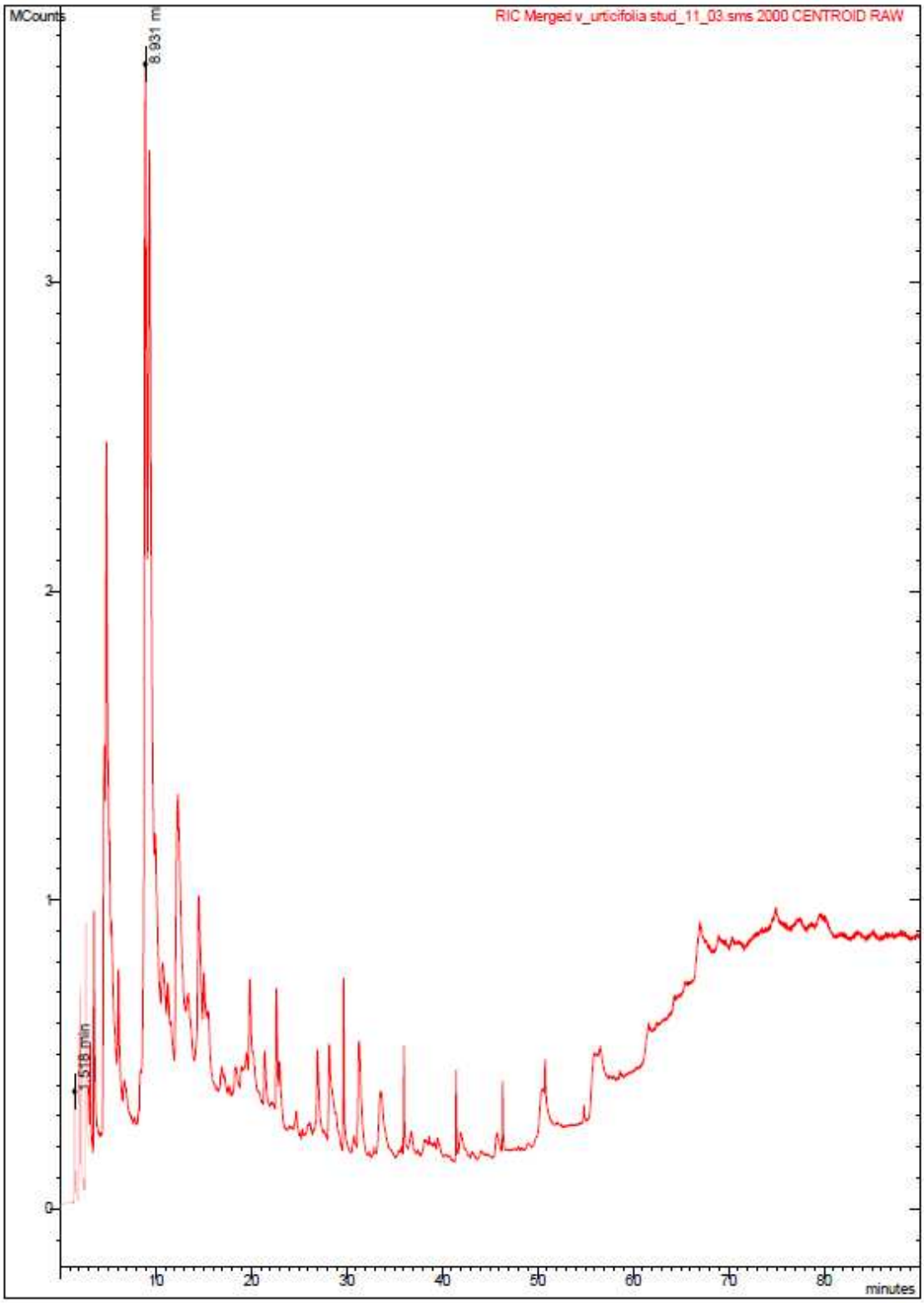
Graf 2. Kromatogram ukupne ionske struje za eterično ulje vrste *Veronica urticifolia* Jacq. (Lokalitet 2) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksadekanska kiselina.



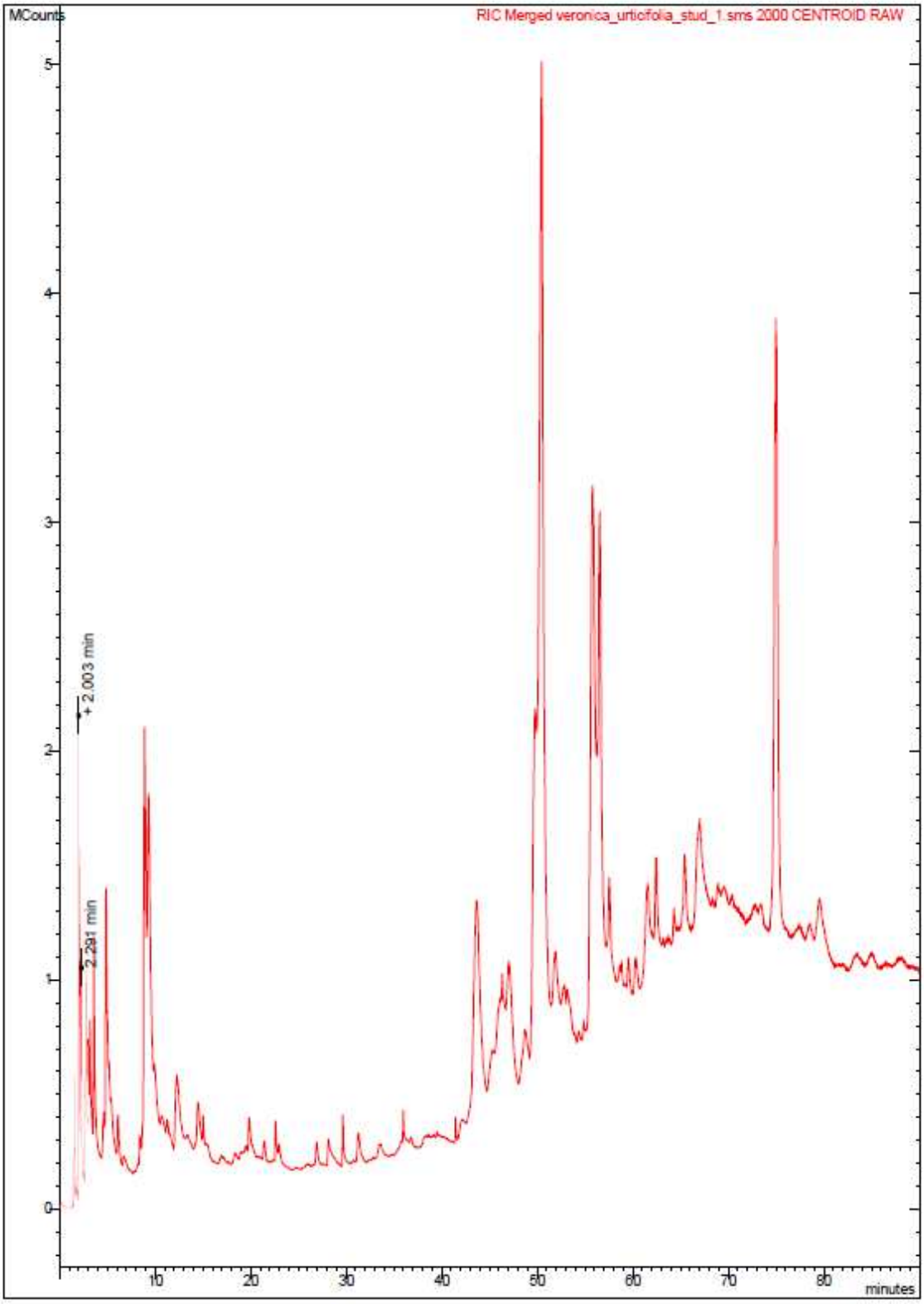
Graf 3. Kromatogram ukupne ionske struje za eterično ulje vrste *Veronica officinalis* L. (Lokalitet 1) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksadekanska kiselina.



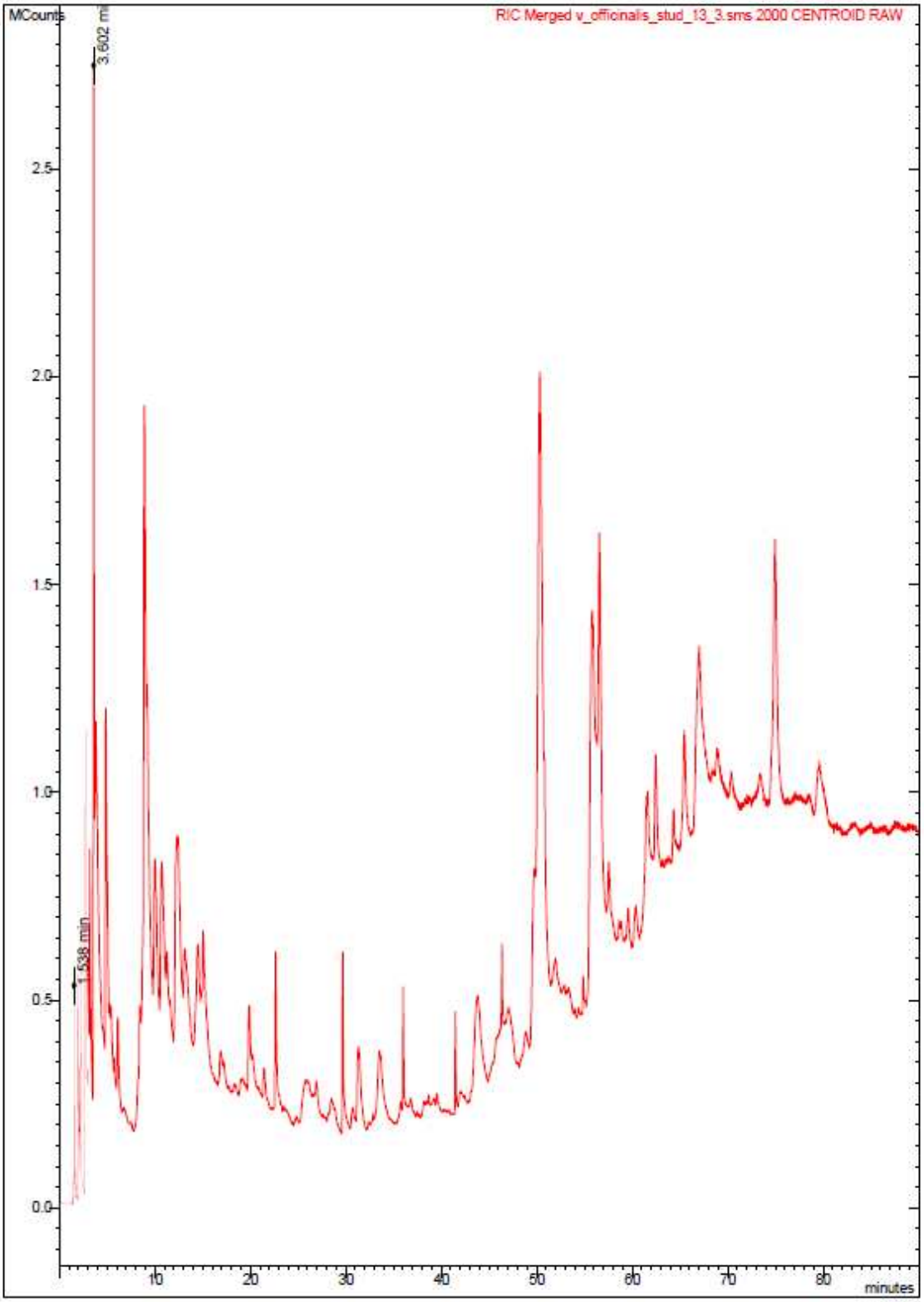
Graf 4. Kromatogram ukupne ionske struje za eterično ulje vrste *Veronica officinalis* L. (Lokalitet 2) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heptakosan.



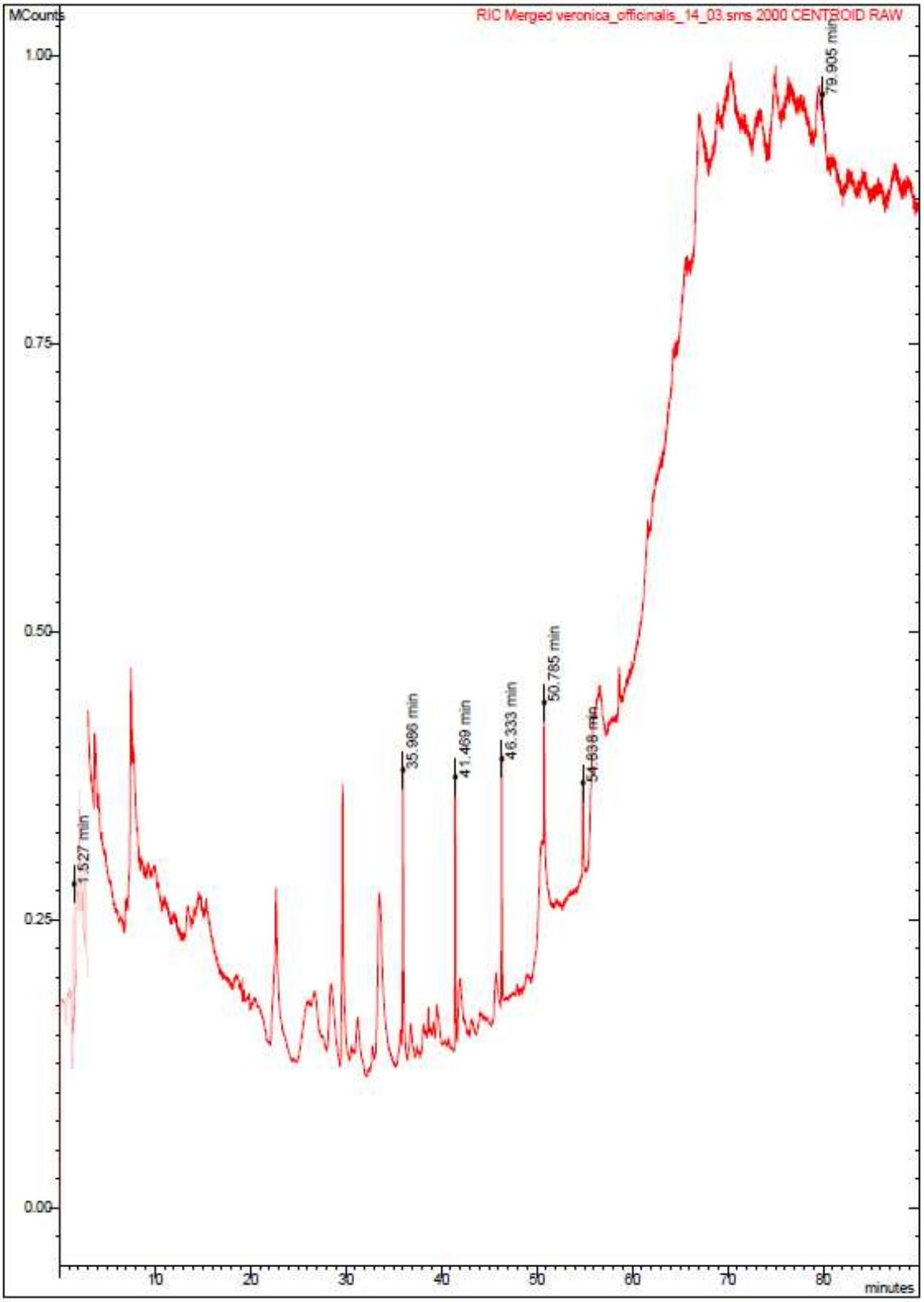
Graf 5. Kromatogram ukupne ionske struje za hidrolat vrste *Veronica urticifolia* Jacq. (Lokalitet 1) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksahidrofarnezil aceton.



Graf 6. Kromatogram ukupne ionske struje za hidrolat vrste *Veronica urticifolia* Jacq. (Lokalitet 2) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksahidrofarnezil aceton.



Graf 7. Kromatogram ukupne ionske struje za hidrolat vrste *Veronica officinalis* L. (Lokalitet 1) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksadekanska kiselina.



Graf 8. Kromatogram ukupne ionske struje za hidrolat vrste *Veronica officinalis* L. (Lokalitet 2) na koloni VF-5 MS. Najzastupljeniji spoj je heksadekanska kiselina.