

Kemijski sastav eteričnog ulja sjemenki Cannabis sativa L.

Bakarić, Andrea

Undergraduate thesis / Završni 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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:481547>

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

KEMIJSKI SASTAV ETERIČNOG ULJA
SJEMENKI *CANNABIS SATIVA* L.

ZAVRŠNI RAD

Andrea Bakarić

Matični broj: 386

Split, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

KEMIJSKI SASTAV ETERIČNOG ULJA
SJEMENKI *CANNABIS SATIVA* L.

ZAVRŠNI RAD

Andrea Bakarić

Matični broj: 386

Split, rujan 2021.

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

**CHEMICAL COMPOSITION OF *CANNABIS*
SATIVA L. SEEDS ESSENTIAL OIL**

BACHELOR THESIS

Andrea Bakarić

Parent number: 386

Split, September 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij Kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Tema rada je prihvaćena na 6. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta

Mentor: Doc. dr. sc. Franko Burčul

KEMIJSKI SASTAV ETERIČNOG ULJA SJEMENKI *CANNABIS SATIVA* L.

Andrea Bakarić, 386

Sažetak:

Sjemenke konoplje (*Cannabis sativa* L.) se u današnje vrijeme sve više koriste u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Osim što su sjemenke konoplje izvor esencijalnih masnih kiselina i imaju velik udio proteina također su bogate mineralima i vitaminima. U kozmetičkoj industriji mogu se pronaći gelovi i razna ulja koja sadrže ulje sjemenki konoplje upravo zato što ima mogućnost umiriti kožu lica, vidljivo smanjiti crvenilo kože te ojačati zaštitnu barijeru.

Eterična ulja su smjese hlapljivih spojeva koja sadrže na stotine kemijskih spojeva te njihovo djelovanje na ljudski organizam još uvijek nije u potpunosti istraženo. Imaju mogućnost djelovanja na hormonski i živčani sustav čovjeka te intenzivnim mirisom mogu djelovati na raspoloženje i emocije.

Prilikom analize eteričnih ulja, jedna od najčešće korištenih tehnika je plinska kromatografija s masenim spektrometrom kao detektorom. Navedena tehnika omogućuje identifikaciju mnogih spojeva u složenim smjesama koji su prisutni i u vrlo malim količinama.

U ovom radu prikazana je analiza izoliranog eteričnog ulja sjemenki *C. sativa* i analiza komercijalnog ulja za lice za problematičnu kožu, marke Kiehl's, čiji je jedan od glavnih sastojaka ulje sjemenki konoplje. Navedene analize provedene su pomoću plinske kromatografije s masenim spektrometrom.

Usporedbom rezultata analize dvaju ulja može se potvrditi da je ulje *C. sativa* zaista jedan od sastojaka kozmetičkog ulja za lice Kiehl's.

Ključne riječi: sjemenke konoplje (*Cannabis sativa* L.), eterična ulja, plinska kromatografija, maseni spektrometar, Kiehl's ulje za lice

Rad sadrži: 24 stranica, 17 slika, 2 tablice, 29 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović	predsjednik
2. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	član
3. Doc. dr. sc. Franko Burčul	član - mentor

Datum obrane:

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study in chemistry

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

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

Mentor: Assistant Professor Franko Burčul, PhD

CHEMICAL COMPOSITION OF *CANNABIS SATIVA* L. SEEDS ESSENTIAL OIL

Andrea Bakarić, 386

Abstract:

Hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) are increasingly used in the food and cosmetics industry today. In addition to being a source of essential fatty acids and having a high protein content, hemp seeds are also rich in minerals and vitamins. Gels and various oils containing hemp seed oil can be found in the cosmetics industry precisely because it has the ability to soothe the facial skin, visibly reduce skin redness and strengthen the protective barrier.

Essential oils are mixtures containing hundreds of volatile chemical compounds and their effects on the human body have not yet been fully investigated. They have the ability to act on the human hormonal and nervous system, and with their intense scent can affect mood and emotions.

Gas chromatography with mass spectrometer as a detector is one of the most commonly used techniques when analysing essential oils. This technique makes it possible to identify many compounds in complex mixtures that are present even in very small quantities.

This thesis presents analysis of the *C. sativa* seed essential oil and the analysis of Kiehl's commercial facial oil for problematic skin. One of the main ingredients of this facial oil is hemp seed essential oil. These analyses were performed by gas chromatography with a mass spectrometer.

By comparing the results of the analyses of the two oils – it was confirmed that *C. sativa* oil is indeed one of the ingredients of Kiehl's cosmetic face oil.

Keywords: hemp seeds (*Cannabis sativa* L.), essential oils, gas chromatography, mass spectrometer, Kiehl's face oil

Thesis contains: 24 pages, 17 figures, 2 tables, 29 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. Assistant Professor Zvonimir Marijanović, PhD | chair person |
| 2. Assistant Professor Mario Nikola Mužek, PhD | member |
| 3. Assistant Professor Franko Burčul, PhD | supervisor |

Defence date:

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

Završni rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Franka Burčula, u razdoblju od lipnja do rujna 2021. godine.

Od srca se zahvaljujem svom mentoru doc. dr. sc. Franku Burčulu na ukazanom strpljenju i velikoj pomoći pri cjelokupnoj izradi ovog završnog rada.

Zahvaljujem se i kolegi doc. dr. sc. Zvonimiru Marijanoviću na pomoći i savjetima kod korištenja SPME tehnike.

Zahvaljujem se mojim kolegama i prijateljima što su mi napravili studentske dane ljepšima.

Najviše se zahvaljujem mojoj obitelji koji su mi bili najveća podrška i vjetar u leđa u teškim trenucima te koji su mi omogućili školovanje.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Izolirati eterično ulje sjemenki *Cannabis sativa* L. iz oljuštenih sjemenki konoplje aparaturom po Clevengeru.
- Analizirati dobiveno eterično ulje sjemenki *Cannabis sativa* L. pomoću plinske kromatografije s masenim spektrometrom te identificirati njegov sastav.
- Analizirati ulje za lice za problematičnu kožu, marke Kiehl's, koje sadrži ulje sjemenki konoplje.

SAŽETAK

Sjemenke konoplje (*Cannabis sativa* L.) se u današnje vrijeme sve više koriste u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Osim što su sjemenke konoplje izvor esencijalnih masnih kiselina i imaju velik udio proteina također su bogate mineralima i vitaminima. U kozmetičkoj industriji mogu se pronaći gelovi i razna ulja koja sadrže ulje sjemenki konoplje upravo zato što ima mogućnost umiriti kožu lica, vidljivo smanjiti crvenilo kože te ojačati zaštitnu barijeru.

Eterična ulja su smjese hlapljivih spojeva koja sadrže na stotine kemijskih spojeva te njihovo djelovanje na ljudski organizam još uvijek nije u potpunosti istraženo. Imaju mogućnost djelovanja na hormonski i živčani sustav čovjeka te intenzivnim mirisom mogu djelovati na raspoloženje i emocije.

Prilikom analize eteričnih ulja, jedna od najčešće korištenih tehnika je plinska kromatografija s masenim spektrometrom kao detektorom. Navedena tehnika omogućuje identifikaciju mnogih spojeva u složenim smjesama koji su prisutni i u vrlo malim količinama.

U ovom radu prikazana je analiza izoliranog eteričnog ulja sjemenki *C. sativa* i analiza komercijalnog ulja za lice za problematičnu kožu, marke Kiehl's, čiji je jedan od glavnih sastojaka ulje sjemenki konoplje. Navedene analize provedene su pomoću plinske kromatografije s masenim spektrometrom.

Usporedbom rezultata analize dvaju ulja može se potvrditi da je ulje *C. sativa* zaista jedan od sastojaka kozmetičkog ulja za lice Kiehl's.

Ključne riječi: sjemenke konoplje (*Cannabis sativa* L.), eterična ulja, plinska kromatografija, maseni spektrometar, Kiehl's ulje za lice

SUMMARY

Hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) are increasingly used in the food and cosmetics industry today. In addition to being a source of essential fatty acids and having a high protein content, hemp seeds are also rich in minerals and vitamins. Gels and various oils containing hemp seed oil can be found in the cosmetics industry precisely because it has the ability to soothe the facial skin, visibly reduce skin redness and strengthen the protective barrier.

Essential oils are mixtures containing hundreds of volatile chemical compounds and their effects on the human body have not yet been fully investigated. They have the ability to act on the human hormonal and nervous system, and with their intense scent can affect mood and emotions.

Gas chromatography with mass spectrometer as a detector is one of the most commonly used techniques when analysing essential oils. This technique makes it possible to identify many compounds in complex mixtures that are present even in very small quantities.

This thesis presents analysis of the *C. sativa* seed essential oil and the analysis of Kiehl's commercial facial oil for problematic skin. One of the main ingredients of this facial oil is hemp seed essential oil. These analyses were performed by gas chromatography with a mass spectrometer.

By comparing the results of the analyses of the two oils it was confirmed that *C. sativa* oil is indeed one of the ingredients of Kiehl's cosmetic face oil.

Keywords: hemp seeds (*Cannabis sativa* L.), essential oils, gas chromatography, mass spectrometer, Kiehl's face oil

SADRŽAJ:

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. Sjemenke konoplje.....	2
1.1.1. Kemijski sastav sjemenki konoplje	2
1.2. Eterična ulja	3
1.2.1. Kemijski sastav eteričnih ulja	4
1.2.2. Metode dobivanja eteričnih ulja	4
1.3. Kromatografija	5
1.3.1. Tankoslojna kromatografija (engl. <i>Thin Layer Chromatography</i> , TLC).....	5
1.4. Plinska kromatografija (GC).....	6
1.4.1. Instrument za plinsku kromatografiju	7
1.5. Masena spektrometrija (MS).....	9
1.6. Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi - SPME.....	10
2. EKSPERIMENTALNI DIO	12
2.1. Uređaji.....	12
2.2. Biljni materijal.....	12
2.3. Postupak izolacije eteričnog ulja.....	13
2.4. Analiza eteričnog ulja.....	15
2.5. Priprema uzorka za analizu SPME-om.....	16
3. REZULTATI I RASPRAVA	18
4. ZAKLJUČAK	22
5. LITERATURA.....	23

UVOD

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je vrsta biljke koja pripada istoimenoj porodici konoplji (*Cannabaceae*). Biljka se sastoji od stabljike i listova. Stabljika je prekrivena dlačicama, uspravna i nerazgranata te može narasti do 150 cm u visinu. Listovi su smješteni na dugim peteljkaama te su u donjem dijelu stabljike nasuprotni, a u gornjem dijelu stabljike naizmjenični. Rubovi listova konoplje su nazubljeni i na obje strane dlakavi. Dvodomna biljka dijeli se na ženske i muške biljke, a cvjetovi biljaka su jednospolni. Ženske cvjetove čini tučak s nadraslom plodnicom koja ima jedan sjemeni zametak te se nalaze u pazušcima pricvjetnih listova. Muški cvjetovi su skupljeni u metličaste cvatove i nalaze se na vrhovima stabljike. Sastavljeni su od svijetlo zelenih listića i imaju pet prašnika. Prašnice su smještene na dugim prašničkim nitima i vire iz cvijeta. ^[1]

Konoplja se uzgaja kao prehrambena ili industrijska biljka koja se razmnožava sjemenom. Za razliku od sestrinske biljke, indijske konoplje (*Cannabis indica* Lam.), industrijska konoplja sadrži tetrahidrokanabinol (THC) u tragovima zbog čega se sa sigurnošću može govoriti da nema psihoaktivno djelovanje. Danas se konoplja može koristiti u mnogim oblicima kao što su hladno prešana ulja, eterična ulja, prah ili sjemenke. Eterična ulja se najčešće dobivaju destilacijom dok se sastav eteričnog ulja identificira plinskom kromatografijom s plameno ionizacijskim detektorom ili plinskom kromatografijom uz maseni spektrometar. ^[1, 2]

1. OPĆI DIO

1.1. Sjemenke konoplje

Sjemenke konoplje potječu od industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) i osim što su izvor esencijalnih masnih kiselina, imaju mnoge zdravstvene dobrobiti. Imaju sposobnost regulacije krvnog tlaka, smanjuju loš kolesterol, poboljšavaju imunitet, povećavaju energiju te reguliraju optimalnu kontrolu šećera. Esencijalno ulje sjemenki konoplje se u zadnjih nekoliko godina počelo sve više koristiti u kozmetici zbog dobrog učinka na suhu kožu te tretmanu protiv bora. Ljekovitost ulja leži u α -linolenskoj (omega-3) i γ -linolenskoj kiselini. [3]

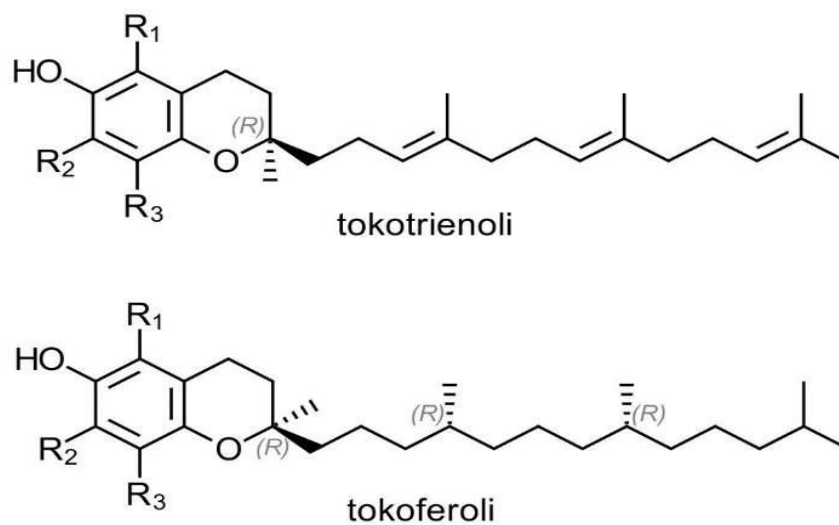


Slika 1. Sjemenke konoplje [4]

1.1.1. Kemijski sastav sjemenki konoplje

Konopljine sjemenke jako su bogate dvjema esencijalnim kiselinama, a to su omega-3 (α -linolenska) i omega-6 (linolna) masne kiseline. Također sadrže i udio γ -linolenske kiseline. Udio proteina u sjemenkama konoplje veći je od 25 %. [2, 5] Sjemenke konoplje također sadrže i esencijalne aminokiseline arginin, metionin i cistein koje naše tijelo ne

može samo proizvesti te su proteini konoplje izvor glutaminske kiseline. Odličan su izvor minerala kao što su kalij, natrij, magnezij, fosfor, sumpor, kalcij, željezo i cink. Značajan su izvor vitamina E čije je osnovno svojstvo da u tijelu djeluje kao antioksidans, te sadrže i udio vitamina A, B1, B2, B3, B6, C i D. ^[6, 7] Vitamin E se koristi kao naziv za sve tokoferole i njihove derivate koji pokazuju biološku aktivnost. Tokoferoli i tokotrienoli imaju istu osnovnu kemijsku strukturu. Karakterizira ih dugi lanac koji je pričvršćen na drugom položaju kromnog prstena te se razlikuju po broju i poziciji metilnih skupina. ^[8, 9]



Slika 2. Struktura tokoferola i tokotrienola ^[10]

1.2. Eterična ulja

Eterična ulja su lako hlapljive uljne tekućine. Dobivaju se iz biljnog materijala različitim fizikalnim postupcima. Karakterizira ih intenzivan miris. Vrlo teško se otapaju u vodi, a topljiva su u alkoholu. Pretežno se sastoje od derivata spojeva terpena i manjem udjelu fenilpropanoida. Poznati su po medicinskoj uporabi jer djeluju antibakterijski i antivirusno te imaju antioksidacijska svojstva. ^[11]

1.2.1. Kemijski sastav eteričnih ulja

Eterična ulja su smjese velikog broja kemijskih spojeva koji sadrže različite funkcijske skupine. U sastav eteričnih ulja spadaju brojni ugljikovodici, alkoholi, aldehidi, ketoni, fenoli, kiseline, esteri i eteri. Spojevi ugljika, vodika i kisika su zastupljeni u najvećem broju, dok su spojevi koji sadrže dušik i sumpor zastupljeni u znatno manjoj mjeri. Prema grupama kemijskih spojeva koji su u uljima pretežno zastupljeni, eterična ulja se dijele na ugljikovodična, alkoholna, fenolna, aldehydna, ketonska, esterska, seskviterpenska ulja, ulja sa sumporovim spojevima i ostala eterična ulja. Ovi spojevi pojedinoj grupi eteričnih ulja daju važna svojstva tj. svojstva karakteristična za određenu grupu eteričnih ulja po kojima se razlikuju od drugih. ^[11]

1.2.2. Metode dobivanja eteričnih ulja

Postoji nekoliko metoda dobivanja eteričnih ulja iz biljnih materijala. Među njih se ubrajaju postupci destilacije, postupci hladnog prešanja i postupci ekstrakcije. Pod metode destilacije ubrajaju se destilacija s vodom, destilacija s vodenom parom i vodeno parna destilacija. Destilacija s vodom je postupak dobivanja eteričnih ulja pri kojem se sirovina kuha u vodi te pare koje izlaze se ukapljaju u hladilu, a destilat se nakuplja u dijelu gdje se voda i ulje odvajaju. Danas se destilacija s vodom koristi za preradu materijala koji bubri i postaje kašast. Drugi postupak destilacije je destilacija vodenom parom. Ovo je ujedno i najraširenija metoda proizvodnje eteričnih ulja. Kroz materijal se propušta vodena para te se smjesa vodene pare i eteričnog ulja, pri izlasku iz destilacijske tikvice s materijalom, ukapluje i razdvaja kao i pri destilaciji vodom. Iz materijala kao što su kora naranče ili limuna, eterična ulja se dobivaju postupkom hladnog prešanja. Pri postupku prešanja kora materijala se struže pri čemu se oslobađa eterično ulje. Dobivena kaša se miješa s vodom i preša ručno ili uz pomoć strojeva te se filtriranjem odvaja tekuća heterogena smjesa ulja i vode od isprešanog ostatka. Smjesa se potom razdvoji na ulje i vodu. Postupci ekstrakcije dijele se na ekstrakciju s lakohlapljivim otapalima i ekstrakciju uz pomoć masti. Za dobivanje eteričnih ulja iz lišća, plodova, mahovina i dr. koristi se ekstrakcija lakohlapljivim otapalima. Otapala su najčešće benzen, petroleter, alkohol, aceton ili smjese otapala. Iz cvijeća se eterična ulja ekstrahiraju uz pomoć masti u postupcima zvanim anfleriranje i maceracija. ^[11]

1.3. Kromatografija

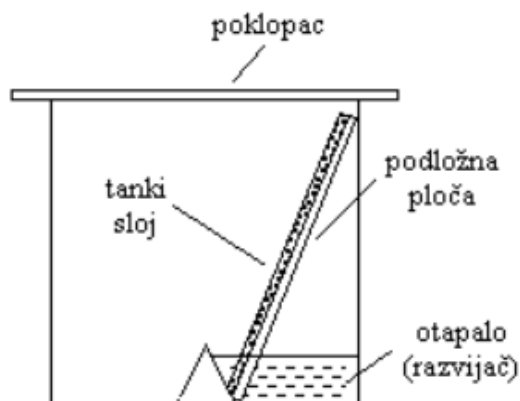
Kromatografija je metoda odvajanja na temelju različite raspodjele komponenata uzorka između dvije faze. Komponente uzorka se različitom brzinom kreću kroz nepokretnu fazu pod utjecajem pokretne faze i tako se razdvajaju. Jedna faza je nepokretna (stacionarna), dok je druga faza pokretna (mobilna). Stacionarna faza može biti čvrsta ili tekuća, a mobilna faza može biti tekuća ili plinska. S obzirom na vrstu faze razlikuju se tekućinska i plinska kromatografija. ^[12]

Dvije osnovne vrste tekućinske kromatografije su tankoslojna kromatografija i kromatografija na stupcu. Tankoslojna kromatografija kao stacionarnu fazu koristi tanak sloj na aluminijskoj ili staklenoj podlozi, dok se mobilna faza kreće kroz stacionarnu djelovanjem kapilarnih sila. Pločica s uzorkom se jednim dijelom uroni u mobilnu fazu koja se naziva eluens. Kod kromatografije na stupcu stacionarna faza se nalazi u kromatografskoj koloni kroz koju teče tekuća (mobilna) faza. Za brze analize smjesa češće se koristi tankoslojna kromatografija, a za pročišćavanje raznih spojeva u uporabi je češće kromatografija na stupcu. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti je tip kromatografije kod koje se koriste posebne kolone koje sadrže prethodno ubačenu stacionarnu fazu. Mobilna faza se provodi kroz kolone pod povišenim tlakom te se time skraćuje vrijeme analize i povećava se moć razdvajanja pojedinih komponenata. Kod plinske kromatografije stacionarna faza su organski polimeri ili tekućine s visokim vrelištima, a mobilne faze su najčešće dušik, helij ili vodik. ^[13]

1.3.1. Tankoslojna kromatografija (engl. *Thin Layer Chromatography*, TLC)

Tankoslojna kromatografija se temelji na adsorpciji, razdjeljenju, ionskoj izmjeni, isključenju po veličini ili kombinaciji ovih mehanizama odjeljivanja. Ova kromatografija se često primjenjuje u preliminarnim ispitivanjima u industrijskim, kemijskim, farmaceutskim i raznim drugim laboratorijima. Stacionarna faza je tanki sloj dispergiranih čestica koji je nanesen na staklenu ili plastičnu pločicu. Uz tanki sloj stacionarne faze se kreće mobilna faza (otapalo) uz pomoć kapilarnih sila ili silom gravitacije. Za nepokretnu fazu se najčešće koristi silika gel. Uzorak se u vrlo maloj količini nanese na 1-2 cm udaljenosti od ruba pločice iznad razine otapala. Pločica se zatim stavi u zatvorenu posudu koja je zasićena parama otapala. Otapalo se tijekom

određenog vremena diže uz pomoć kapilarnih sila i kreće se uzduž pločice. Razvijanje je završeno kada je otapalo prešlo otprilike 2/3 pločice te se pločica izvadi iz komore. ^[14] Kromatogram tankoslojne kromatografije naziva se plošni kromatogram te se kao vrijednost zadržavanja koristi faktor zaostajanja, R_f . Faktor zaostajanja predstavlja omjer puta analita (uzorka) i puta mobilne faze (otapala). ^[15]



Slika 3. Shema tankoslojne kromatografije ^[16]

1.4. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography*, GC) je instrumentalna tehnika za razdvajanje i određivanje hlapljivih organskih spojeva i anorganskih plinova iz smjese na koloni. Ova tehnika se upotrebljava za kvalitativnu i kvantitativnu analizu tvari koje su prisutne u malim količinama, za detekciju onečišćenja u okolišu, izolaciju komponenata u smjesi i utvrđivanje čistoće tvari. Uzorci za ovu analizu moraju biti hlapljivi i stabilni na temperaturi pri kojoj se zagrijava kromatografska kolona.

Metoda je danas široko rasprostranjena u modernoj kemijskoj analizi zbog svoje jednostavnosti, brzine, vrlo malenih volumena uzoraka i osjetljivosti za razdvajanje pojedinih hlapljivih sastojaka iz vrlo složene smjese. Prve primjene ove tehnike zabilježene su prije više od 60 godina. ^[17] Za analizu je potrebno samo nekoliko minuta zbog toga što se plin kao mobilna faza kreće velikom brzinom kroz kromatografsku kolonu. Dvije su osnovne vrste plinske kromatografije, a to su adsorpcijska i razdjelna.

Razlika je u tome što je kod adsorpcijske kromatografije pokretna faza plin te je nepokretna faza čvrsta, a kod razdjelne kromatografije pokretna faza je plin, dok je nepokretna faza nehlapljiva tekućina. ^[18]

1.4.1. Instrument za plinsku kromatografiju

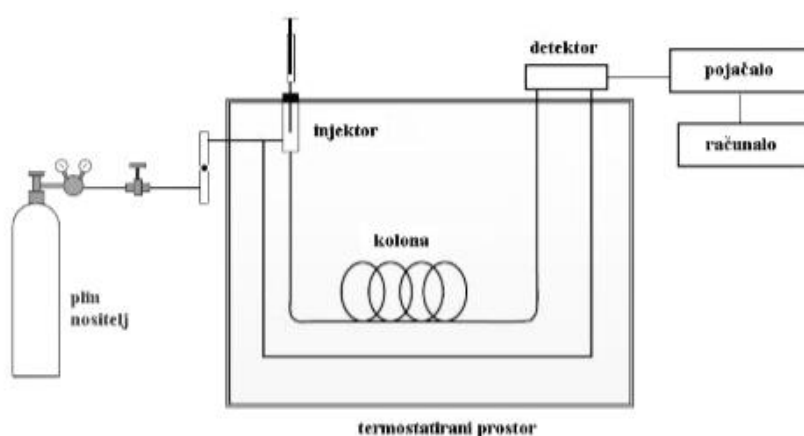
Instrument za određivanje pojedinih komponenata u uzorku ovom metodom zove se plinski kromatograf (engl. *Gas Chromatograph*, GC). Plinski kromatograf se sastoji od izvora plina s manometrom za kontrolu protoka plina, mjesta za unošenje uzorka (injektor), kolone kroz koju struji plinovita faza, termostata koji održava temperaturu kolone, detektora za registriranje izlaza pojedinih komponenata iz kolone, jedinice za obradu podataka i pisaa. ^[19] Instrument se sastoji od mobilne (pokretne) i stacionarne (nepokretne) faze. Mobilna faza (plin nosač) je kemijski inertan plin odnosno argon, helij, ugljikov dioksid ili dušik koji eluira sastojke smjese koji se zatim odjeljuju na koloni i odlaze do detektora. Kao stacionarna faza rabe se organski polimeri ili nehlapljive tekućine koje su nanosene na kruti nosač. Stacionarna faza je u obliku tankog sloja nanosena na unutarnju stijenku dugih, uskih kapilara (kapilarne kolone). ^[20]

Danas su u uporabi kapilarne kolone velikih duljina (25 - 120 m) i malih promjera (0,25 - 0,5 mm) koje su s unutrašnje strane presvučene aktivnom komponentom visokog vrelišta. Velika duljina kolone pridonosi boljem razdvajanju i visokoj osjetljivosti ove tehnike. ^[19] Uzorak se injektira kroz gumenu pregradu u kolonu. Kolona se nalazi u termostatiranom prostoru te temperatura kolone nije konstantna tijekom analize zbog boljeg razlučivanja smjese. Mjesto za injektiranje uzorka i detektor su zagrijani više od kromatografske kolone da bi se osiguralo brzo uplinjavanje uzorka pri injektiranju te spriječila kondenzacija dolaskom na detektor. Volumeni uzoraka u tekućem stanju iznose 0,1 do 1 mikrolitra, a volumeni uzoraka u plinovitom stanju iznose 1 do 10 mililitara pri injektiranju. Odjeljivanje na koloni se odvija raspodjelom komponenata u plinovitom stanju između pokretne i nepokretne faze. Komponente uzorka se nakon eluiranja iz kolone određuju na detektoru. ^[18]

Detektor je uređaj koji na temelju fizikalnih ili kemijskih promjena ima mogućnost registriranja prisutnosti eluirane komponente. Od velike je važnosti pravilno odabrati detektor za analizu. Oni mogu biti:

- Plamenoionizacijski detektor (engl. *Flame Ionization Detector*, FID)
- Plamenofotometrijski detektor (engl. *Flame Photometric Detector*, FPD)
- Detektor toplinske vodljivosti (engl. *Thermal Conductivity Detector*, TCD)
- Detektor apsorpcije elektrona (engl. *Electron Capture Detector*, ECD)
- Fotoionizacijski detektor (engl. *Photo-Ionization detector*, PID)
- Maseni spektrometar (engl. *Mass Spectrometer*, MS).

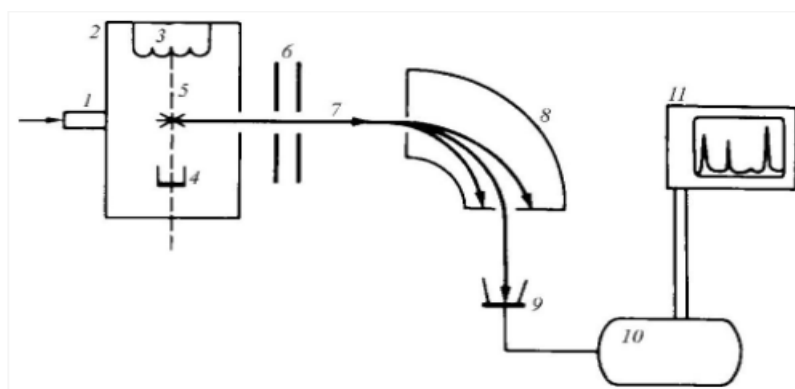
Maseni spektrometar omogućuje najveći broj podataka koji su potrebni za identifikaciju i određivanje strukture složenih organskih molekula te se najčešće koristi u kombinaciji s plinskim kromatografom. Ova kombinirana tehnika plinska kromatografija - spektrometrija masa (GC-MS) pruža analitičarima vrlo točnu i brzu analizu pojedinih složenih uzoraka. ^[20] Danas je GC-MS sustav prisutan u gotovo svim prehrambenim, ekološkim, petrokemijskim, farmaceutskim i raznim drugim analitičkim laboratorijima. GC-MS sustav zahtijeva samo male količine uzorka da bi identificirao nepoznate spojeve i odredio njihovu strukturu. ^[21] Moguće je kvalitativno određivanje spojeva mjerenjem vremena zadržavanja u usporedbi s vremenom zadržavanja standarda čistih standarda. Površina ispod kromatografske krivulje je proporcionalna koncentraciji određene komponente i kvantitativan je signal.



Slika 4. Shematski prikaz plinskog kromatografa ^[22]

1.5. Masena spektrometrija (MS)

Masena spektrometrija (MS) je instrumentalna analitička tehnika koja karakterizira pojedine tvari u nekom uzorku. Temelji se na određivanju relativne mase i određivanju količine iona koji su nastali ionizacijom atoma i molekula te karakterističnim raspadom ioniziranih molekula pojedinog uzorka. Maseni spektrometar se sastoji od četiri osnovna dijela: sustava za unošenje uzorka, ionskog izvora koji stvara ione pogodne za ispitivani uzorak te ih u električnom polju ubrzava, analizatora koji savija putanje ionima i na taj način ih razdvaja ovisno o njihovom omjeru mase i naboja (m/z), i detektora u kojem se skupljaju razdvojeni ioni i karakteriziraju. Maseni spektar za određeni kemijski spoj nastaje mijenjanjem jakosti magnetskog polja prilikom čega se redom registriraju ioni različitih masa. MS tehnika se primjenjuje za vrlo točno određivanje relativnih atomskih i molekulskih masa, elementarnog sastava uzorka, kemijskih spojeva, izotopnog sastava, strukture pojedinih molekula i dr. Pri analizi složenih smjesa maseni spektrometar se povezuje s plinskim ili tekućinskim kromatografom u kojem se sastojci smjese prvo razdvajaju, a zatim mjere i analiziraju. [23]



MASENA SPEKTROMETRIJA, maseni spektrometar s magnetskim analizatorom - 1. sustav za unošenje uzorka; 2. ionski izvor; 3. katoda; 4. anoda; 5. elektronski snop; 6. električno polje; 7. ionski snop; 8. magnetsko polje; 9. detektor; 10. elektronička obradba signala; 11. zapis spektra

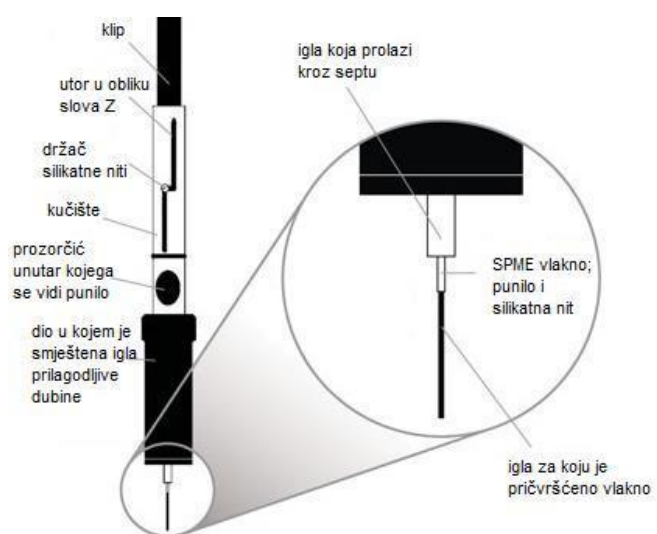
Slika 5. Shematski prikaz masenog spektrometra [24]

1.6. Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi - SPME

Priprema uzorka je važan korak u razdvajanju komponenata. Danas se mogu ispitati brojne vrste složenih smjesa uzoraka, uključujući hlapljive, poluhlapljive i nehlapljive spojeve, koristeći prikladne analitičke i separacijske metode. Istraživanja pokazuju da se 80% vremena analize provodi na uzorkovanju i pripremi samog uzorka. Kvalitetna priprema pojedinog uzorka rezultira uspješnijim rezultatima analitičke metode. Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (engl. *Solid-Phase Microextraction*, SPME) je jednostavna, vrlo brza i učinkovita tehnika pripreme uzorka bez korištenja otapala. Tehnika se sastoji od tri glavna koraka: adsorpcija otopljene tvari iz uzorka na sloj kemijski modificiranog silicija ili srodnog adsorpcijskog materijala, postizanje ravnoteže adsorbiranih otopljenih tvari i vlakana te prijenos analita u kromatografski sustav. Ova učinkovita tehnika omogućuje pripremu uzorka bez korištenja otapala ili aparata za koncentriranje hlapljivih, poluhlapljivih i nehlapljivih spojeva, prirodnih proizvoda te kemijskih i bioloških makromolekula u uzorcima.

Pripremljeni uzorci pomoću SPME spremni su za daljnju analizu putem plinske kromatografije s detekcijom pomoću masene spektrometrije. Shematski prikaz SPME uređaja za injektiranje uzorka je prikazan na slici 6. Vlakno, dugačko 1-2 cm, od taljenog silicijevog dioksida je obloženo polimerom te je spojeno na utor od nehrđajućeg čelika ugrađen u držač. Analitičar uvlači vlakno u iglu, prolazi iglom kroz čep koji zatvara bočicu s uzorkom te pritisne klip kako bi vlakno izložio uzorku. Organski analiti se zatim adsorbiraju na prevlaku na vlaknu. Nakon postizanja adsorpcijske ravnoteže, 2-30 min, vlakno se uvlači u iglu koja se izvlači iz bočice s uzorkom i uvodi u GC injektor. Adsorbirani analiti se termički desorbiraju i nastavlja se mjerenje u plinskom kromatografu. ^[25]

U upotrebi se koriste brojne vrste vlakana. Pri izboru vlakana bitno je obratiti pozornost o vrsti uzorka, molekulskoj masi, strukturi i polarnosti molekula analita te polarnosti vlakna. ^[26] Najpoznatija vlakna danas u uporabi su plavo i sivo vlakno. Plavo vlakno sadrži divinilbenzen i polidimetilsiloksan, dok sivo vlakno sadržava oba spoja uključujući još i karboksen. ^[27]



Slika 6. Shematski prikaz SPME uređaja za injektiranje uzorka [28]

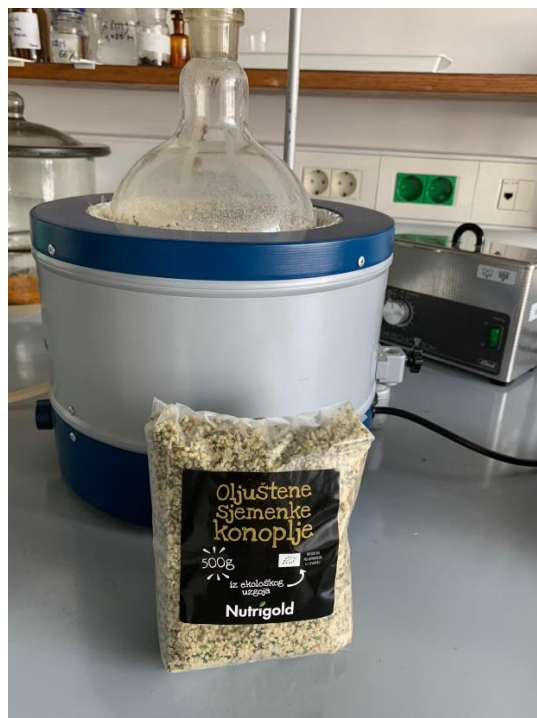
2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Uređaji

- Analitička vaga AT261 DR (Mettler Toledo, Švicarska)
- Aparatura za vodenu destilaciju po Clevenger
- Uređaj za uparavanje uzorka EC-1V-130 (VLM, Njemačka)
- SPME sivo vlakno (Restek, PA, SAD)
- GC-MS: 8890 GC System, 7000D GC/TQ (Agilent, CA, SAD)
- Kolona HP-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μ m debljina nepokretne faze, Agilent, CA, SAD)

2.2. Biljni materijal

Eterično ulje je izolirano iz oljuštenih sjemenki konoplje Nutrigold kupljenih u Splitu u Tvornici zdrave hrane. Za analizu komercijalnog ulja za lice koji sadrži ulje sjemenki konoplje korišteno je Kiehl's ulje za lice za problematičnu kožu.



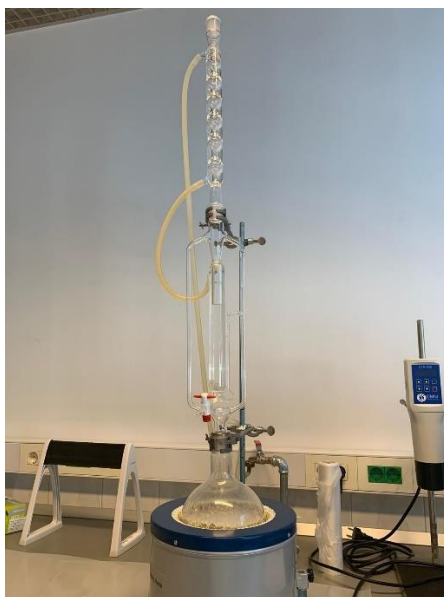
Slika 7. Oljuštene sjemenke konoplje, Nutrigold



Slika 8. Ulje za lice za problematičnu kožu, Kiehl's

2.3. Postupak izolacije eteričnog ulja

Odvagane oljuštene sjemenke konoplje (100,03 g) prenesu se u tikvicu u koju se ulije voda te se spoji na aparaturu po Clevengeru za vodenu destilaciju (slika 9.). Pare se prilikom vrenja penju prema gore te se u hladilu hlade, kondenziraju i prelaze u tekuće stanje nakon čega kapaju prema dolje. U dijelu dietil-etera i pentana zadržava se nepolarno eterično ulje, dok ostatak (voda) kapa natrag. Uzorak se destilira 2,5 - 3 h od početka destilacije (prva kap u hladilu). Dobiveno ulje oljuštenih sjemenki konoplje se odvoji pomoću duge kapaljke u prethodno odvagano bočicu (11,1703 g). Preostali tragovi vode u ulju uklonjeni su pomoću natrij sulfata. Ulje se zatim upari skoro do suha (slika 10.), bočica se odvaži (11,1729 g) te analizira plinskim kromatografom s masenim spektrometrom. Iskorištenje iznosi 0,0026 %.



Slika 9. Aparatura za vodenu destilaciju po Clevengeru



Slika 10. Uređaj za uparavanje uzoraka EC-1V-130 (VLM, Njemačka)

2.4. Analiza eteričnog ulja

Dobiveno eterično ulje oljuštenih sjemenki konoplje je analizirano na GC-MS-u.



Slika 11. GC-MS uređaj

GC-MS instrument korišten pri ovoj analizi sastoji se od plinskog kromatografa model 8890 GC i trostrukog kvadropolnog spektrometra masa 7000D (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, SAD). Za odjeljivanje spojeva korištena je nepolarna kolona HP-5MS (30m x 0,25mm, 0,25 μ m debljina nepokretne faze, Agilent, CA, SAD).

Radni uvjeti plinskog kromatografa:

- Plin nosioc: He
- Protok plina nosioca: 1 mL/min
- Volumen injektiranog uzorka: 1 μ L
- Temperatura injektora (mjesto ubacivanja uzorka u kromatograf): 250 °C
- Omjer raspodjele (engl. *split mode*): 1:10
- Početna temperatura: 60 °C, izotermno zadržana 2 min, nakon čega slijedi povećanje temperature brzinom 3 °C/min do 246 °C i izotermno se održava 25 min
- Temperatura „transfer line“: 280 °C
- Ukupno trajanje mjerenja: 89 min

Radni uvjeti spektrometra masa:

- Temperatura ionskog izvora: 230 °C
- Ionizacijski potencijal: 70 eV
- Raspon masa: 40-450 m/z

Pikovi dobiveni na kromatogramu su određeni usporedbom njihovih vremena zadržavanja s vremenima zadržavanja standardne serije n-alkana C₈-C₃₁ za korištenu kolonu, te usporedbom vremena zadržavanja spojeva iz „kućne“ baze podataka i literature. ^[31] Pojedini pikovi i njihovi spektri masa su također uspoređivani i s komercijalnim bazama podataka: NIST 17 (Gaithersburg, MD, SAD) i Wiley 9 MS (Wiley, New York, SAD) te literaturom. ^[29] „Kućna“ baza podataka napravljena je koristeći komercijalne standarde čistih spojeva te sadržava glavne spojeve mnogih eteričnih ulja iz dosadašnjih istraživanja.

2.5. Priprema uzorka za analizu SPME-om

Mala količina Kiehl's ulja za lice koje sadrži ulje sjemenki konoplje zagrijavana je u bočici do 60 °C u trajanju od 15 min. Pri mikroekstrakciji vršnih para na čvrstoj fazi, vršne pare uzorka se dižu u bočicu (slika 12.) te se nakon zagrijavanja adsorbiraju na sivo vlakno. Postupak adsorpcije na sivo vlakno (slika 13.) traje 40 min te se vlakno (zajedno s uzorkom) odnosi na mjerenje GC-MS-om gdje desorpcija uzorka traje 7 min.



Slika 12. Zagrijavanje uzorka



Slika 13. Aparatura za adsorpciju uzorka na sivo vlakno

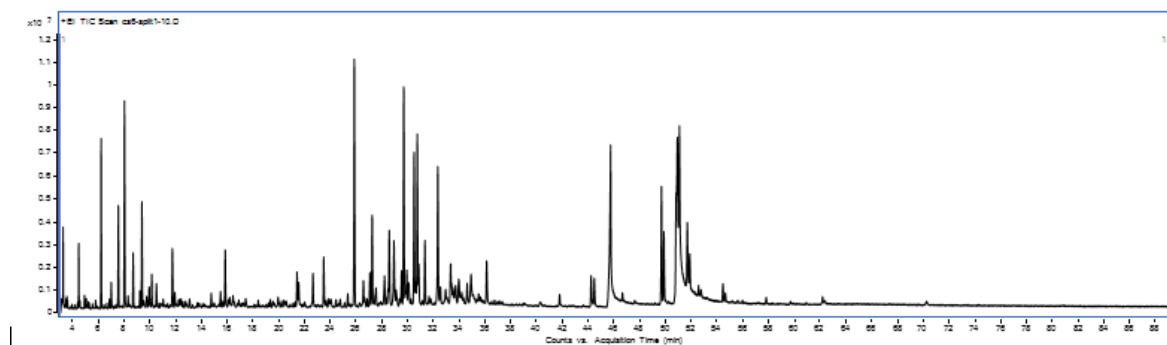
3. REZULTATI I RASPRAVA

Na slici 14. je prikazano dobiveno eterično ulje oljuštenih sjemenki konoplje. Dobiveno ulje je bezbojno i vrlo intenzivnog mirisa.



Slika 14. Eterično ulje sjemenki *Cannabis sativa* L.

Prije same analize 1 μ L dobivenog ulja je razrijeđeno s 1 mL heksana te je takvo stavljeno na analizu GC-MS nakon čega su dobiveni rezultati. Urađena je i analiza Kiehl's ulja za lice koje sadrži ulje sjemenki konoplje, za usporedbu s analizom dobivenog ulja. Kromatogram eteričnog ulja oljuštenih sjemenki konoplje prikazan je na slici 15.



Slika 15. Kromatogram GC-MS analize eteričnog ulja sjemenki *Cannabis sativa* L.

Rezultati GC-MS analize očitani iz kromatograma sa slike su prikazani u tablici 1.

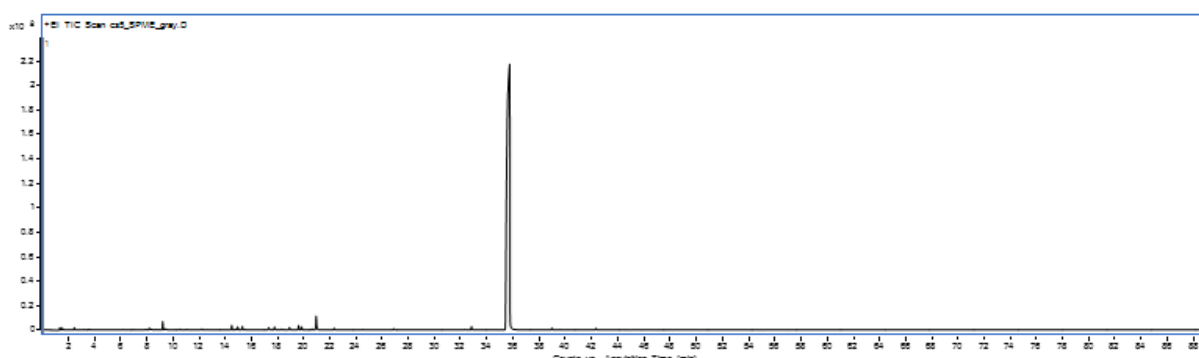
Tablica 1. Rezultati GC-MS analize eteričnog ulja sjemenki *Cannabis Sativa L.*

R.br.	Ime spoja	HP-5 MS	%	NI
1	heksanal	-	1,0	MS
2	1-heksanol	866	0,9	MS,KI
3	α -pinen	937	2,8	MS,KI,St
4	benzaldehyd	962	0,5	MS,KI
5	β -pinen	979	2,0	MS,KI,St
6	2-pentil-furan	992	4,3	MS,KI
7	δ -3-karen	1011	1,0	MS,KI,St
8	<i>p</i> -cimen	1027	0,3	MS,KI,St
9	limonen	1031	2,2	MS,KI,St
10	benzenacetaldehyd	1046	0,5	MS,KI
11	trans- β -ocimen	1051	0,7	MS,KI
12	α -terpinolen	1086	1,5	MS,KI
13	<i>p</i> -cimen-8-ol	1186	1,3	MS,KI
14	dihidro-5-pentil-2(3H)-furanon	1363	1,2	MS,KI
15	trans-kariofilen	1419	6,6	MS,KI,St
16	aristolene	1444	0,2	MS, KI
17	α -humulen	1454	2,5	MS,KI
18	alloaromadendren	1461	0,7	MS,KI
19	γ -muurolen	1477	1,0	MS,KI
20	β -selinen	1485	2,3	MS,KI
21	α -selinen	1494	2,1	MS,KI
22	β -bisabolen	1509	1,0	MS,KI
23	BHT	1514	5,8	MS,KI*
24	γ -kadinen	1520	1,0	MS,KI
25	δ -kadinen	1524	0,8	MS,KI
26	γ -selinen	1535	4,1	MS,KI
27	α -kadinen	1538	0,6	MS,KI
28	selina-3,7(11)-diene	1541	4,7	MS,KI
29	trans- α -bisabolen	1544	1,1	MS,KI
30	germacren B	1557	1,7	MS,KI
31	kariofilen oksid	1582	3,8	MS,KI,St
32	alloaromadendren oksid	1608	1,3	MS,KI
33	α -bisabolol	1684	1,4	MS,KI
34	α -tetradekalakton	1919	1,0	MS,KI
35	metilni ester heksadekanske kiseline	1927	0,8	MS,KI
36	heksadekanska kiselina	1967	6,7	MS,KI
37	(Z,Z)-metilester-9,12-oktadekadienska kiselina	2094	3,1	MS,KI
38	(Z,Z,Z)-metilester-9,12,15-oktadekatrienska kiselina	2099	1,9	MS,KI
39	(Z,Z)-9,12-oktadekadienska kiselina	2136	8,4	MS,KI
40	(Z,Z,Z)-9,12,15-oktadekatrienska kiselina	2142	5,7	MS,KI
41	(Z,Z)-etilester-9,12-oktadekadienska kiselina	2162	1,8	MS,KI
42	(Z,Z,Z)-etilester-9,12,15-oktadekatrienska kiselina	2169	1,0	MS,KI
		Ukupno:	93,3	

HP5 MS - Kovatsevi indeksi za kolonu HP-5 MS, NI - način identifikacije: MS - baze podataka, KI - Kovatsev indeks, St – standard. *BHT se ne nalazi kao sastavni dio ulja sjemenki *C. sativa* - već kao stabilizator pentana korištenog prilikom izolacije ulja.

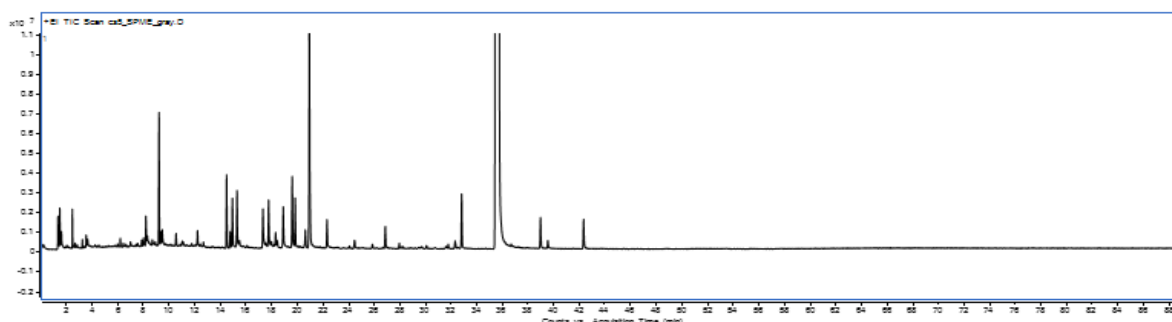
Prema dobivenim podatcima može se zaključiti da ulje oljuštenih sjemenki konoplje sadrži velik broj spojeva od kojih je uspješno identificirano 42 spoja. Od identificiranih spojeva najzastupljeniji u ulju su (Z,Z)-9,12-oktadekadienska kiselina udio 8,4 %, heksadekanska kiselina udio 6,7 % te *trans*-kariofilen udio 6,6%. U znatno manjim udjelima javljaju se aristolen udio 0,2 %, *p*-cimen 0,3%, benzenacetaldehid udio 0,5 % i benzaldehid udio 0,5 %.

Na slici 16. je prikazan kromatogram Kiehl's ulja za lice koji je dobiven analizom putem plinske kromatografije s masenim spektrometrom te prethodnom mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi uz korištenje sivog vlakna.



Slika 16. Kromatogram GC-MS analize Kiehl's ulja za lice

Prema dobivenim rezultatima analize komercijalnog ulja na kromatogramu je vidljivo da je jedan pik izražajno veći od ostalih. Radi se o znatnoj količini dikaprilih etera u ulju kojeg označuje najveći pik. Postotak dikaprilih etera iznosi 94,26 %. Uvećanjem kromatograma (slika 17.) vidljivi su ostali pikovi čija je analiza prikazana u tablici 2.



Slika 17. Uvećani prikaz kromatograma GC-MS analize Kiehl's ulja za lice

Tablica 2. Rezultati GC-MS analize Kiehl's ulja za lice

R.br.	Ime spoja	HP-5 MS	%	NI
1	CO2	-	0,10	MS,KI
2	1,2-propandiol	-	0,10	MS,KI
3	2,4-heptadienal	996	0,11	MS,KI,St
4	<i>p</i> -cimen	1026	0,57	MS,KI
5	menton	1156	0,36	MS,KI,St
6	<i>iso</i> -menton	1166	0,26	MS,KI,St
7	mentol	1174	0,30	MS,KI,St
8	2-fenoksi-etanol	1219	0,23	MS,KI
9	citronelol	1230	0,25	MS,KI
10	geraniol	1257	0,26	MS,KI
11	geranial	1272	0,37	MS,KI
12	citronelil format	1277	0,24	MS,KI
13	mentol acetat	1294	0,11	MS,KI,St
14	karvakrol	1301	1,29	MS,KI
15	aristolen	1444	0,14	MS,KI
16	dicaprilil ether	1673	94,26	MS,KI
		Ukupno:	98,95	

HP5 MS - Kovatsevi indeksi za kolonu HP-5 MS, NI - način identifikacije: MS - baze podataka, KI - Kovatsev indeks, St – standard

Uspješno je identificirano 16 spojeva. Dobiveni rezultati analize Kiehl's ulja ukazuju na prisutnost nekoliko spojeva koji se podudaraju s onima iz ulja oljuštenih sjemenki konoplje. Spojevi nađeni u oba analizirana ulja su *p*-cimen udio u komercijalnom ulju 0,57 % i aristolen udio 0,14 %.

4. ZAKLJUČAK

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti da se eterično ulje oljuštenih sjemenki konoplje sastoji ponajviše od raznih spojeva derivata terpena te brojnih masnih kiselina. Od ukupno 42 identificirana spoja u eteričnom ulju *C. sativa* u najvećem postotku nalaze se (Z,Z)-9,12-oktadekadienska kiselina (8,4 %) i heksadekanska kiselina (palmitinska kiselina, 6,7 %).

Identifikacijom spojeva Kiehl's ulja identificirani su spojevi *p*-cimen i aristolen kao kod ulja sjemenki konoplje što ukazuje na prisutnost ulja sjemenki konoplje u ovom komercijalnom ulju. *p*-Cimen je aromatski ugljikovodik koji je često prisutan u sastavu eteričnih ulja, dok je seskviterpen aristolen manje rasprostranjen.

Velika koncentracija dikaprilil etera u komercijalnom ulju (94,26 %) otežala je identifikaciju preostalih sastavnica prisutnih u iznimno niskim koncentracijama. Ovaj spoj se u velikoj mjeri koristi kao otapalo u kozmetičkim proizvodima zbog olakšavanja razmazivanja brojnih sastojaka koji se teže razmazuju.

5. LITERATURA

1. F. Šimić, Naše medonosno bilje, Zagreb, Znanje, **1980**.
2. URL: <https://www.krenizdravo.hr/prehrana/sjemenke-i-orasasti-plodovi/sjemenke-konoplje-zasto-su-dobre-za-zdravlje> (17.08.2021.)
3. URL: <https://www.plantagea.hr/prirodna-kozmetika/konoplja/> (17.08.2021.)
4. URL: <https://www.krenizdravo.hr/wp-content/uploads/2015/03/sjemenke-konoplje-2.jpg?x18533> (07.09.2021.)
5. M. Petrović, M. Katalenić, M. Medić Šarić, Z. Kalodera, I. Žuntar, M. Pospišil, I. Brčić Karačonji, Znanstveno mišljenje o utjecaju na zdravlje različitih vrsta hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje, **2015**.
6. URL: <https://vitamini.hr/blog/vitaminoteka/zasto-biste-prehranu-trebali-uvrstiti-sjemenke-konopljeg-13864/> (07.09.2021.)
7. URL: <https://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/konoplja> (18.08.2021.)
8. C.K. Sen, S. Khanna, S. Roy, Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols, **2006**.
9. M.L. Colombo, An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol – Perspectives, **2010**. str. 2104-2105
10. URL: <https://www.plantagea.hr/wp-content/uploads/2019/04/tokoferoli-i-tokotrienoli.jpg> (31.08.2021.)
11. Eteri – eterična ulja, Tehnička enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, str. 356
12. O. Coskun, Separation techniques: Chromatography, **2016**.
13. URL: <http://eskola.chem.pmf.hr/odgovori/odgovor.php3?sif=16601> (30.08.2021.)
14. URL: http://free-zg.htnet.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/09132.htm (30.08.2021.)
15. E. Generalić, „Kromatografija.“ Englesko – hrvatski kemijski rječnik & glosar. 20 Oct. **2018**. KTF – Split. 27 Aug. **2021**.
16. URL: http://free-zg.htnet.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/09132.htm (30.08.2021.)
17. F. Rouessac, A. Rouessac, Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques, 2nd Edition, **2007**. str. 31
18. Nj. Radić, L. Kukoč Modun, Uvod u analitičku kemiju, Školska knjiga, **2016**. str. 654

19. L. Vranković, I. Delaš, Z. Stojević, J. Aladrović, Analiza metilnih estera masnih kiselina u materijalu biološkog porijekla metodom plinske kromatografije, str. 31-33
20. I. Jerković, A. Radonić, Praktikum iz organske kemije, Split, **2009.** str. 60-62
21. H.M. McNair, J.M. Miller, Basic Gas Chromatography, 2nd Edition, **2011.** str. 156
22. Slika 4. Shematski prikaz plinskog kromatografa, I. Jerković, A. Radonić, Praktikum iz organske kemije, Split, **2009.** str. 61
23. Masena spektrometrija, Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, **2021.** (25.08.2021.)
24. URL: https://www.enciklopedija.hr/Ilustracije/HE7_0286.jpg (31.08.2021.)
25. M. Abdul Mottaleb, M.J. Meziani, M.R. Islam, Solid – Phase Microextraction (SPME) and Its Application to Natural Products, **2014.** str. 105-106
26. R. Đurović, Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME) u određivanju ostataka pesticida u uzorcima zemljišta, Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, **2011.** str. 178-179
27. URL: https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/products/analytical-chemistry/analytical-sample-preparation/spme-fibers-and-accessories?utm_source=redirect&utm_medium=promotional&utm_campaign=SPME#smart-spme-fibers (31.08.2021.)
28. Slika 6. Shematski prikaz SPME uređaja za injektiranje uzorka, dostupno na: <https://docplayer.rs/docs-images/114/212621991/images/29-0.jpg> (07.09.2021.)
29. Adams R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry, 4th ed. Carol Stream, **2007.**