

Utjecaj različitih metoda ekstrakcije na udio ulja i sastav masnih kiselina sjemenki komorača

Parać, Mia

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:184240>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Mia Parać

7285/PT

**UTJECAJ RAZLIČITIH METODA EKSTRAKCIJE NA UDIO ULJA I SASTAV MASNIH
KISELINA SJEMENKI KOMORAČA**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Izolacija i enkapsulacija bioaktivnih molekula samonikle i kultivirane koprive i komorača i učinci na fiziologiju organizma (HRZZ PlantBioPower, IP-01-2018-4924)

Mentor: Doc. dr. sc. Marko Obranović

Zagreb, 2019.



Ovo istraživanje financirano je sredstvima znanstvenog projekta Hrvatske zaklade za znanost – HRZZ (2018.-2022.), „ Izolacija i enkapsulacija bioaktivnih molekula samonikle i kultivirane koprive i komorača i učinci na fiziologiju organizma (HRZZ PlantBioPower, IP-01-2018).

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj različitih metoda ekstrakcije na udio ulja i sastav masnih kiselina sjemenki komorača

Mia Parać, 0058208733

Sažetak: Komorač (*Foeniculum vulgare Miller*) je ljekovita biljka koja pripada obitelji štitarki (*Apiaceae*). Cilj ovog rada bio je odrediti udio ulja i sastav masnih kiselina sjemena gorkog i slatkog komorača s obzirom na različite metode i uvjete ekstrakcije. Za ekstrakciju ulja korišten je heksan u metodama po Soxhletu, hladnoj ekstrakciji i ubrzanoj ekstrakciji otapalima pri povišenom tlaku. Rezultati udjela ulja su u rasponu 6,3 do 15,1%. Dominantna masna kiselina u ulju komorača je petroselinska i javlja se u udjelu od 30,7 do 79,6%. Dobiveni rezultati kod pojedinih uzoraka su pokazali znatno manje udjele petroselinske masne kiseline od literarnih navoda i povećane udjele njenih oksidacijskih produkata - laurinske i kapronske masne kiseline. S obzirom na dobivene rezultate ne može se sa sigurnošću potvrditi da li je proces oksidacije započeo u sjemenu ili je dodatno potaknut procesima ekstrakcije. Daljnja istraživanja su potrebna.

Ključne riječi: masne kiseline, petroselinska masna kiselina, ubrzana ekstrakcija otapalima, ulje komorača

Rad sadrži: 24 stranice, 6 slika, 6 tablica, 21 literarnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Datum obrane: 2. rujna 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food technology Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnology Sciences
Scientific field: Food Technology

Impact of different methods of extraction on the share of oil and composition of fatty acids of fennel seeds

Mia Parać, 0058208733

Abstract: Fennel, Latin name *Foeniculum vulgare Miller*, is a medicinal plant belonging to the *Apiaceae* family. The aim of this study was to determine the oil content and fatty acid composition of bitter and sweet fennel seeds given different extraction methods and conditions. Hexane was used for oil extraction in Soxhlet method, cold extraction and accelerated solvent extraction at elevated pressure. Oil content results range from 6.3 to 15.1%. The predominant fatty acid in fennel oil is petroselinic and occurs in the proportion of 30.7 to 79.6%. The results obtained in some of the samples showed significantly lower levels of petroselinic fatty acid than the literature and increased proportions of its oxidation products - lauric and capric fatty acids. Given the results obtained, it cannot be confirmed with certainty whether the oxidation process started in the seed or was it additionally triggered by the extraction processes. Further research is needed.

Keywords: accelerated solvent extraction, fatty acids, fennel seed oil, petroselinic fatty acid,

Thesis contains: 24 pages, 6 figures, 6 tables, 21 references

Original in: Croatian

Thesis is printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Marko Obranović, PhD, Assistant professor

Defence date: September 2nd 2019

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Gorki komorač	2
2.2. Slatki komorač	3
2.3. Udio vode i ulja	4
2.4. Sastav masnih kiselina	5
2.5. Ubrzana ekstrakcija otapalima pri povišenom tlaku	5
3. EKSPERIMENTALNI DIO	8
3.1. Materijali	8
3.2. Metode rada	9
3.2.1. Analiza sjemena	9
3.2.1.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama komorača	9
3.2.1.2. Određivanje udjela vode u sjemenkama komorača	10
3.2.2. Izdvajanje ulja	11
3.2.2.1. Ubrzana ekstrakcija otapalima pri povišenom tlaku (ASE).....	11
3.2.2.2. Hladna ekstrakcija – ekstrakcija nepolarnih komponenti.....	12
3.2.3. Analiza ulja	12
3.2.3.1. Određivanje sastava masnih kiselina	12
4. REZULTATI	13
5. RASPRAVA	18
6. ZAKLJUČAK.....	22
7. LITERATURA	23

1. UVOD

Komorač (*Foeniculum vulgare Mill.*) je ljekovita biljka koja pripada obitelji štitarki (*Apiaceae*). Poznat je zbog njegovog okusa te se koristi još od davnina. Biljka se kultivirala u gotovo svakoj zemlji Mediterana (Badgubar i sur., 2014).

Potječe iz područja Sredozemnog mora, odakle se proširio na kontinentalni dio Europe. U Hrvatskom primorju raste kao divlja biljka, ali se uzgaja i u vrtovima kako u Hrvatskoj, tako i u drugim zemljama. Od najdavnijih vremena upotrebljavali su ga Indijci, Egipćani, a stari Rimljani su ga uživali kao povrće i začim (Komes i sur., 1996).

Niz studija pokazao je da komorač uspješno kontrolira brojne bakterijske, gljivične, virusne te mikrobiološke infekcije. Ima antioksidacijsku, antitumorsku, kemopreventivnu, citoprotektivnu, hepatoprotektivnu, hipoglikemijsku i estrogensku aktivnost. Neki članci navode da komorač ima učinak na povećanje pamćenja i može smanjiti stres (Badgubar i sur., 2014).

Biljka se može koristiti za liječenje kožnih bolesti i konjunktivitisa. Također se preporučuje za liječenje dijabetesa, bronhitisa, kroničnog kašlja te bubrežnih kamenaca (Das i sur., 2013).

Pokusima je potvrđeno da kontinuirana konzumacija komorača nije štetna. Može se konzumirati na dnevnoj bazi, u sirovom obliku kao salata ili pirjano, kuhano ili pečeno na žaru. Dijeta sa željenom količinom komorača može imati povoljan učinak na zdravlje, zahvaljujući prisutnosti esencijalnih masnih kiselina (Badgubar i sur., 2014).

Cilj ovog rada bio je odrediti udio ulja u sjemenkama slatkog i gorkog komorača putem različitih metoda ekstrakcije heksanom - metodama po Soxhletu, hladnoj ekstrakciji i ubrzanoj ekstrakciji otapalima pri povišenom tlaku; te sastav masnih kiselina.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Gorki komorač

Gorki komorač (*Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare*) je višegodišnja biljka. Sjeme koromača sadrži 1-4% eteričnog ulja i 20% masnog ulja. Glavni sastojci eteričnog ulja su trans-anetol i fenhon (Coşge i sur., 2008). Različiti okus slatkog i gorkog koromača posljedica je različite količine trans-anetola ($C_{10}H_{12}O$) i fenhona ($C_{10}H_{16}O$) u eteričnom ulju (Duke, 1988).



Slika 1. Sjemenke komorača (Anonymous 1, 2006)

Od 20% masnog ulja u sjemenci komorača, oko 80% je petroselinska masna kiselina. Petroselinska masna kiselina je karakteristična masna kiselina iz porodice *Apiaceae*, a osobito za ulje komorača. Zabilježena je razina petroselinske kiseline od 70 do 80% (Charvet, Commeau, & Gaydon, 1991). Pokazalo se da masna kiselina pokazuje neka privlačna svojstva kao što su anti-aging, antimikrobno i protuupalno djelovanje te se koristi u kozmetičkoj, medicinskoj i parfemskoj industriji (Reiter, Lechner, & Lorbeer, 1998). Nadalje, petroselinska kiselina pokazuje značajan potencijal za kemijsku industriju.

Oksidativno cijepanje dovodi do industrijski zanimljivih spojeva, laurinske (C12:0) i kapronske masne kiseline (C6:0).

Budući da je ovaj položaj dvostruke veze prilično rijetka osobina među oktadekanskim kiselinama, derivatizacija može rezultirati sintezom nekih jedinstvenih i potencijalno zanimljivih oleokemikalija (Uitterhaegen, 2016). Laurinska se kiselina koristi kao sirovina za omekšivače, deterdžente i sapune (Reiter, Lechner, & Lorbeer, 1998). Petroselinska i oleinska masna kiselina se uvijek dobivaju zajedno u ulju iz biljke iz obitelji *Apiaceae* (Coşge i sur., 2008).

Baird i Preskett opisuju obradu sjemenki *Apiaceae* kako bi se dobila kruta komponenta bogata petroselinskom kiselinom putem ekstrakcije i kristalizacije (Uitterhaegen, 2016).

Coşge i sur. (2008) proveli su istraživanje, čiji je cilj bio utvrditi i usporediti sadržaj i sastav masnih kiselina i eteričnog ulja iz plodova slatkog i gorkog komorača u Turskoj i identificirati glavne komponente i masnih kiselina i eteričnog ulja. Sadržaj ulja dobiven u gorkom komoraču bio je 14,41%.

U proučavanim uljima sjemena komorača u prosjeku bilo je ukupno 93% nezasićenih masnih kiselina. C18:1_{c6}, C18:2, C18:1_{c9} i C16:0 masne su kiseline koje su sačinjavale približno 97% ukupnog ulja, dok su C18:0, C14:0, C18:3 i C20:0 bile u manje od 2% sastava za oba analizirana uzorka komorača. Sadržaj petroselinske kiseline (C18:1_{c6}) bio je 72,07% u gorkom komoraču. Zabilježen je veći udio petroselinske masne kiseline u slatkom komoraču, a većina ostalih masnih kiselina bile su sličnog udjela u oba uzorka.

Što se tiče eteričnih ulja, otkriveno je da su trans-anetol, estragol i fenhon glavni sastojci u slatkom i gorkom komoraču (Coşge i sur., 2008).

2.2. Slatki komorač

Slatki komorač (*Foeniculum vulgare Miller var. Dulce*) je jednogodišnja ili dvogodišnja biljka s malim plodovima, slatkog okusa. Eterično ulje iz plodova slatkog komorača sadrži manji udio fenhona i veći postotak trans-anetola od gorkih plodova komorača. Upravo je zbog toga miris plodova slatkog komorača slađi i osjetljiviji. Voćni ekstrakti *var. Dulce* imaju ljekovita svojstva, posebno se koriste kao sredstvo protiv nadimanja (Duke, 1988).

Prilikom provođenja ranije spomenutog istraživanja, udio ulja dobiven iz sjemenki slatkog komorača bio je 12,22%. Od ukupne količine ulja petroselinjska masna kiselina činila je 75,18%, što je za oko 3% više nego u ulju dobivenom iz sjemenki gorkog komorača. (Coşge i sur., 2008).

2.3. Udio vode i ulja

Za procjenu kakvoće sjemena uljarica važni podaci su udjel ulja, vode i nečistoća. Na osnovu ovih pokazatelja određuje se vrijednost pojedine uljarske sirovine prema pravilniku o uvjetima kakvoće.

Voda u sjemenu može biti slobodna i vezana. Slobodna (gruba) voda se drži površine i lakše se odstranjuje od vezane vode. Udjel vode u sjemenu ovisi o stupnju zrelosti sjemena, vremenskim prilikama tijekom sazrijevanja i žetve, a kod uskladištenog sjemena i o relativnoj vlažnosti zraka. Suho sjeme može navući vodu iz zraka ako je parcijalni tlak vode u zraku veći od tlaka para na njegovoj površini. Ravnoteža između vode u sjemenu i relativne vlažnosti zraka ovisi o temperaturi i za svako je sjeme drukčija.

Povećana vlažnost sjemena izaziva biokemijske promjene u sjemenu pa dolazi do razgradnje, klijanja, razvoja plijesni i drugih mikroorganizama. Time se umanjuje kakvoća sjemena i povećavaju troškovi, jer je takvo sjeme potrebno prije skladištenja i prerade sušiti. Granični udjel vode koji uzrokuje prijelaz sjemena iz stanja anabioze u stanje intenzivne razgradnje zove se kritična vlažnost i ona je za svako sjeme drukčija. Sjeme s udjelom vode ispod njegove kritične vlažnosti može se uskladištiti bez opasnosti kvarenja (Rade i sur. 2001.).

Udjel ulja u sjemenu uljarica jedan je od osnovnih parametara za procjenu njegove kakvoće. Za određivanja udjela ulja koriste se metode propisane nacionalnim ili međunarodnim normama, kao i različite konvencionalne metode za brzo i orijentacijsko određivanje. Metode propisane normama su ekstrakcija ulja po Soxhletu ili Twisselmannu, a kao otapalo se koristi heksan ili petroleter.

Za brzo određivanje koristi se za ekstrakciju aparat Soxteck, metoda sa NMR, metoda s oleometrom, refraktometrijska metoda s alfa brom naftalenom ili trikrezilfosfatom, ekstrakcija s nadkritičnim ugljik (IV) oksidom i druge (Rade i sur. 2001.).

2.4. Sastav masnih kiselina

Plinska kromatografija je metoda kromatografskog odjeljivanja supstancija između dvije faze koje se ne miješaju. Pokretna je faza plin nosilac, koji prolazi kroz nepokretnu fazu ili kraj nepokretne faze koja se nalazi u koloni. Primjenjuje se za tvori, ili njihove derivate, koje su hlapljive pri primijenjenoj temperaturi. Plinska je kromatografija osobito prikladna metoda za analizu eteričnih ulja, za identifikaciju pojedinih sastavnica ulja te određivanje njihovih sadržaja. Plinskom se kromatografijom mogu odjeljivati supstancije koje se međusobno malo razlikuju s obzirom na kemijsku strukturu i kojima su fizikalno-kemijska svojstva vrlo slična (Kuštrak, 2014).

2.5. Ubrzana ekstrakcija otapalima pri povišenom tlaku

Ubrzana ekstrakcija otapalom (eng. Accelerated Solvent Extraction, ASE) je potpuno automatizirana brza tehnika ekstrakcije organskih spojeva iz krutih i polukrutih materija. Predstavljena je od strane kompanije Dionex Corporation 1995. godine. Ova tehnika koristi uobičajena otapala pri povišenim temperaturama i tlakovima čime se povećava učinkovitost ekstrakcije. Uređaj radi na temperaturama iznad normalne točke vrenja većine otapala prilikom čega se zbog utjecaja tlaka osigurava ostajanje otapala u tekućem agregatnom stanju tijekom procesa ekstrakcije. Ekstrakcija se završava za 15-25 minuta, a utrošak otapala je samo 15-45 mL (Mottaleb i Sarker, 2012).



Slika 2. Sustav za ubrzanu ekstrakciju otapalima pri povišenom tlaku (Kobis d.o.o.)

Ovaj uređaj omogućava provođenje statičkog i dinamičkog načina rada u isto vrijeme. To je omogućeno sposobnosti uređaja da uvodi svježe otapalo tijekom procesa ekstrakcije. Prilikom statičkog načina rada proces ekstrakcije sastoji se od jednog ili više ciklusa ekstrakcije uz zamjenu otapala između ciklusa (Mustafa i Turner, 2011). Svrha statičkog ciklusa je uvođenje svježeg otapala tijekom postupka ekstrakcije koje pomaže u održavanju povoljne ravnoteže ekstrakcije. To je korisno za uzorke s visokom koncentracijom analita ili uzoraka koji teško prodiru kroz matricu (Mottaleb i Sarker, 2012). Kod dinamičkog načina rada protok otapala je postavljen prilikom statičkog vremena, a pumpa dostavlja otapalo stalnim protokom (Mustafa i Turner, 2011).

Upotreba povišene temperature povećava kapacitet otapala za otapanje analita, tj. topljivost bilo koje otopljene tvari se povećava s povećanjem temperature otapala. Povećanje temperature također dovodi do brzih brzina difuzije. To znači da se analiti brže kreću iz graničnog sloja do površine matrice iz koje difundiraju u otapalo pri višim temperaturama. Povećanjem temperature se smanjuje viskoznost, što znači da otapalo lakše prodire u pore matrice. Konačno, visoka temperatura uzrokuje olakšano pucanje veza kojim su povezane otopljene tvari s matricom (Van der Waalsove sile, vodikove veze i dipolne interakcije) čime se otopljena tvar izdvaja iz matrice. Iako se većina ekstrakcija izvodi pri 75-125 °C, najčešće se primjenjuje temperatura od 100 °C (Mottaleb i Sarker, 2012).

Glavna prednost korištenja povišenog pritiska tijekom postupka ekstrakcije jest mogućnost primjene temperature više od temperature vrelišta otapala, a da samo otapalo ostane u tekućem agregatnom stanju (Mustafa i Turner, 2011). Tlakovi koji se koriste tijekom procesa ekstrakcije mogu biti od 6,3 do 13,8 MPa (Španić, 2016).

Bolja efikasnost ekstrakcije zahtjeva što manju veličinu čestica (manju od 1 mm), stoga je priprema uzoraka važan korak za svaku ekstrakciju. Priprema uzoraka za ubranu ekstrakciju otapalima pri povišenom tlaku uključuje mljevenje ili usitnjavanje analita i homogenizaciju. Kako bi se spriječilo stvaranje aglomeriranih nakupina materijala, koji umanjuju efikasnost ekstrakcije jer mogu dovesti do zagušenja ekstrakcijske ćelije, uzorak je potrebno pomiješati sa Ottawa pijeskom ili 16 dijatomejskom zemljom koja apsorbira vlagu (Obradović, 2016). Uzorak se potom stavlja u ekstrakcijske ćelije različitog volumena (1, 5, 10, 22, 34, 66, i 100 mL) od nehrđajućeg čelika koje podnose visoke temperature (Španić, 2016).

Nakon postavljanja ekstrakcijskih ćelija i podešavanja ekstrakcijskih parametara (tip otapala, statičko vrijeme ekstrakcije, broj ciklusa ekstrakcije, temperatura ekstrakcije), proces je u potpunosti automatiziran.

Ćelija se zagrijava u peći, puni otapalom za ekstrakciju i tlači programirano zadano vrijeme (statičko vrijeme ekstrakcije). Otapalo koje se koristi za ekstrakciju može biti različitih polarnosti, ali odabir prvenstveno ovisi o analitu koji se ekstrahira. Po provedenom režimu ekstrakcije, ekstrakcijska ćelija ispiri se sa strujom dušika (30-90 s) kako bi se posve osušila, a dobiveni ekstrakt je profiltriran te sakupljen u staklene prihvatne boce. Svježe otapalo uvodi se zadani broj puta (broj ciklusa) s ciljem otapanja preostale količine neekstrahiranog željenog spoja (Obradović, 2016).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za eksperimentalni dio ovog rada korištene su različite vrste sjemenki komorača (*Foeniculum vulgare Miller*). Određivao se udjel ulja i vode te sastav masnih kiselina u ulju sjemenki slatkog i različitih vrsta sjemenki gorkog komorača. U Tablici 1. nalazi se opis uzoraka.

Tablica 1. Opis uzoraka

Uzorak	Metoda	Vrsta	Uzorak	Metoda	Vrsta
1	Ubrzana ekstrakcija heksanom pri povišenom tlaku	Komorač gorki	14	Soxhlet	Komorač gorki
2		Komorač gorki	15	Ubrzana ekstrakcija heksanom pri povišenom tlaku	Komorač gorki, 25°C, 3 ciklusa
3		Komorač gorki	16		Komorač gorki, 100°C, 3 ciklusa
4		Komorač gorki	17		Komorač gorki, 100°C, 2 ciklusa, 150%
5		Komorač gorki	18		Komorač gorki, 100°C, 2 ciklusa, 50%
6		Komorač gorki	19		Komorač gorki, 25°C, 3 ciklusa, 150%
7		Komorač gorki	20		Komorač gorki, 25°C, 2 ciklusa, 150%
8		Komorač gorki	21	Hladna ekstrakcija	Komorač slatki
9		Komorač gorki	22	Soxhlet	Komorač slatki
10		Komorač gorki	23	Hladna ekstrakcija	Komorač samonikli
11		Komorač gorki	24	Ubrzana ekstrakcija heksanom pri povišenom tlaku	Komorač gorki Turska, 25°C
12		Komorač gorki	25		Komorač gorki Turska, 100°C
13	Hladna ekstrakcija	Komorač gorki			

3.2. Metode rada

3.2.1. Analiza sjemena

3.2.1.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama komorača

Prilikom eksperimentalnog određivanja udjela ulja u sjemenkama komorača korištena je standardna metoda (HR EN ISO 659:2010) ekstrakcije ulja po Soxhletu gdje se kao otapalo koristio heksan. Sjemenke komorača je potrebno prethodno pripremiti, tj. samljeti u mlincu.

Postupak:

U tuljcu (čahuri) za ekstrakciju izvaže se 10 g samljevenog sjemena (s točnošću 0,001 g), a mljevenje se može izvesti različitim mlinovima. U većini slučajeva zadovoljava i običan električni mlin za kavu, samo treba voditi računa da ne dođe do zagrijavanja uzorka, istiskivanja ulja tijekom mljevenja i da ni jedno sjeme ne ostane nesamljeveno. Izvagani uzorak u tuljcu se zatvori vatom i stavi u aparat za ekstrakciju. Doda se potrebni volumen heksana, a ekstrakt se skuplja u izvaganu tikvicu u koju su stavljene 1-2 staklene kuglice za vrenje. Ekstrahira se 6 sati u aparatu po Soxhletu. Nakon završene prve ekstrakcije, otpari se otapalo, a ostatak suši 20 minuta pri $103 \pm 2^\circ\text{C}$, ohladi u eksikatoru na sobnu temperaturu te važe. Sušenje se nastavlja po 10 minuta do konstantne mase.

Maseni udjel ulja (u postocima) izračuna se prema formuli:

$$\text{ulje(\%)} = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad [1]$$

gdje je:

m_0 = masa uzorka sjemena (g)

m_1 = ukupna masa ekstrahiranog ulja (g)

Rezultat se izražava kao srednja vrijednost dva paralelna određivanja, a izražava se jednom decimalom.

3.2.1.2. Određivanje udjela vode u sjemenkama komorača

Za određivanje udjela vode u sjemenkama komorača koristila se standardna metoda (ISO 665:2004) sušenja do konstantne mase u sušioniku pri temperaturi od 103 ± 2 °C. Sjeme komorača se analiziralo bez prethodnog mljevenja.

Postupak:

U osušenu i izvaganu posudicu izvaže se 5 g s točnošću 0,001 g cijelog sjemena. Posudica se s podignutim poklopcem stavi u sušionik, koji je prethodno zagrijan na 103 ± 2 °C. Nakon 2 sata se posudica u sušioniku zatvori poklopcem te stavi hladiti u eksikator. Kad se ohladi do sobne temperature se izvaže i ponovno stavi u sušionik s podignutim poklopcem na 1 sat. Nakon toga se ponovno hladi i važe, a sušenje se nastavlja po 1 sat dok razlika između dva uzastopna mjerenja ne bude najviše 0,005 g. Za svaki se uzorak naprave dva paralelna određivanja, među kojima razlika ne smije biti veća od 0,5%.

Udjel vode izražava se (u postotcima) prema formuli:

$$\% \text{ vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad [2]$$

gdje je :

m_0 = masa prazne posudice (g)

m_1 = masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m_2 = masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

Kao rezultat uzima se srednja vrijednost dva paralelna određivanja.

3.2.2. Izdvajanje ulja

3.2.2.1. Ubrzana ekstrakcija otapalima pri povišenom tlaku (ASE)

Ubrzana ekstrakcija ulja heksanom pri povišenom tlaku se provodila za uzorke sjemenki gorkog komorača pri različitim uvjetima.

Postupak:

Na analitičkoj vagi se izvaže 8 g uzorka samljevenog sjemena gorkog komorača ($\pm 0,1$ g). U ćeliju od nehrđajućeg čelika se najprije stavi celulozni filter, potom stavi mjerica dijatomejske zemlje (= ~ 1.5 g) na koju se stavlja uzorak i potom se sve dobro promiješa štapićem. Na uzorak se ponovno dodaje dijatomejska zemlja do vrha ćelije (5 mm ispod gornjeg ruba), nakon čega se ćelija ručno zatvara i postavlja u uređaj. Ekstrakcija je provedena na uređaju ASE Dionex 350 ®. Otapalo koje je korišteno je heksan, a ekstrakcija je provedena tako da je variran broj ciklusa (1, 2 ili 3), vrijeme trajanja ciklusa (5 ili 10 minuta), temperatura (75 ili 100 °C).

Nakon završene ekstrakcije smjesa ulja i otapala heksana (miscela) se skladišti u staklenim bocama na -18 °C do provođenja analize.

Ekstrakcija se provodila pri tlaku od 10 MPa, u ćeliji od 34 mL.

Tablica 2. Eksperimentalni plan pokusa ekstrakcije ulja komorača ubrzanom ekstrakcijom otapalima uz povišeni tlak iz sjemenki komorača (uzorci 1-12)

Otapalo	Statičko vrijeme ekstrakcije (min)	Temperatura (°C)	Broj ciklusa ekstrakcije
Heksan	5	75	1
			2
			3
		100	1
			2
			3
	10	75	1
			2
			3
		100	1
			2
			3

3.2.2.2. Hladna ekstrakcija – ekstrakcija nepolarnih komponenti

Hladna ekstrakcija (izmućkavanje) provodila se za uzorke sjemena slatkog i samoniklog komorača.

Postupak:

Ekstrakcija nepolarnih komponenti provedena je prema modificiranoj metodi objavljenoj u radu Kraljić i sur. (2013). Odvažuje se 4 g uzorka u plastične kivete od 50 mL i doda 40 mL heksana. Kivete s uzorcima polegnu se u posudu i stave se na vorteksiranje (IKA MS 3 basic, IKA-Works, Staufen im Breisgau, Njemačka) u trajanju od 30 min. Slijedi centrifugiranje na 10 min i 5000 min⁻¹ (Rotina 35, Hettich, GmbH & Co.KG, Tuttlingen). Supernatant se profiltrira pomoću Bücherovog lijevka, sakuplja u tikvicu i otpari na vakuumskom otparivaču (Heidolph, Schwabach, Njemačka) pri 60 °C. Postupak ekstrakcije nepolarnih komponenti ponavlja se 3 puta. Dobivene masne frakcije koristile su se za određivanje udjela ulja i sastava masnih kiselina.

3.2.3. Analiza ulja

3.2.3.1. Određivanje sastava masnih kiselina

Za određivanje sastava masnih kiselina u uzorcima ulja plinskom kromatografijom potrebno je prevesti masne kiseline u njihove metilne estere. Metilni esteri pripremaju se transmetilacijom prema standardnoj metodi HRN EN ISO 12966-2:2017.

Postupak:

Odvažuje se 0,1 g uzorka ulja i otopi u 2 mL izooktana u epruveti volumena 10 mL s čepom. Zatim se u epruvetu doda 100 µ metanolne otopine KOH (c=2mL/L) i snažno protrese 1 minutu. Ostavi se na sobnoj temperaturi da reagira. Nakon 2 minute u reakcijsku smjesu se doda 2 mL otopine NaCl (40 g NaCl-a u 100 mL vode) te kratko protrese. Odvoji se izooktanski sloj i u njega se doda 1 g natrijeva hidrogensulfata (bezvodnog) kako bi se uklonili mogući ostaci vode te se smjesa protrese. Bistra otopina se prebaci u vijalicu.

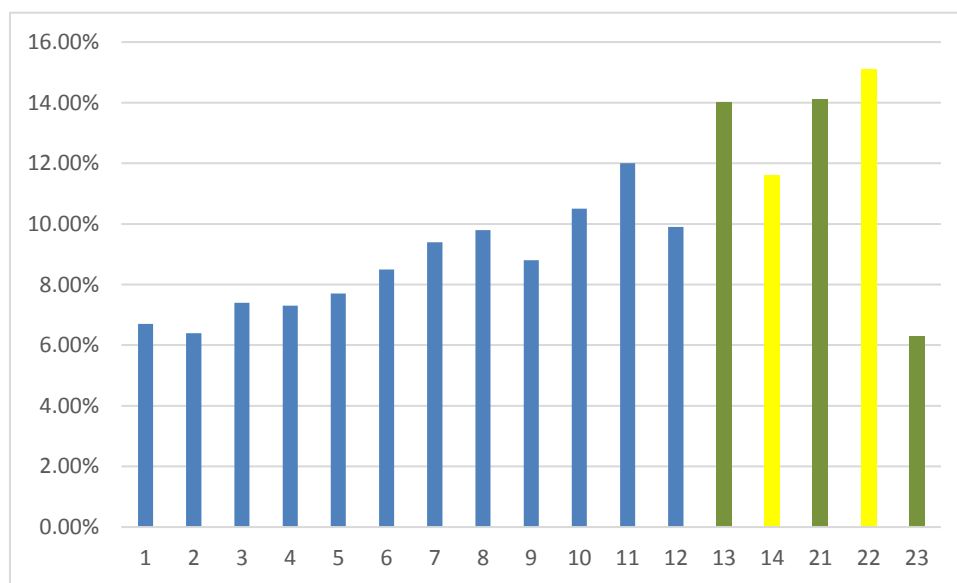
Vijalica s prethodno pripremljenim uzorcima ulja se stavi u plinsku kromatografiju te proces obrade traje 40 minuta. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablicama 4-6.

4. REZULTATI

Ovim istraživanjem su provedene analize udjela ulja i vode u uzorcima sjemena gorkog i slatkog komorača te sastav masnih kiselina u ulju slatkog i različitih vrsta gorkog komorača plinskom kromatografijom. Analize se provedene u laboratoriju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu. Rezultati su prikazani u tablicama.

Tablica 3. Udio ulja i vode u uzorcima sjemena slatkog i gorkog komorača

	Gorki komorač	Slatki komorač
Udio ulja (po Soxhletu)	11,6%	15,1%
Udio vode	6,06%	5,25%



Slika 3. Udio ulja u uzorcima gorkog i slatkog komorača – različite metode ekstrakcije – ASE, Soxhlet i hladna ekstrakcija

Tablica 4. Sastav masnih kiselina gorkog komorača

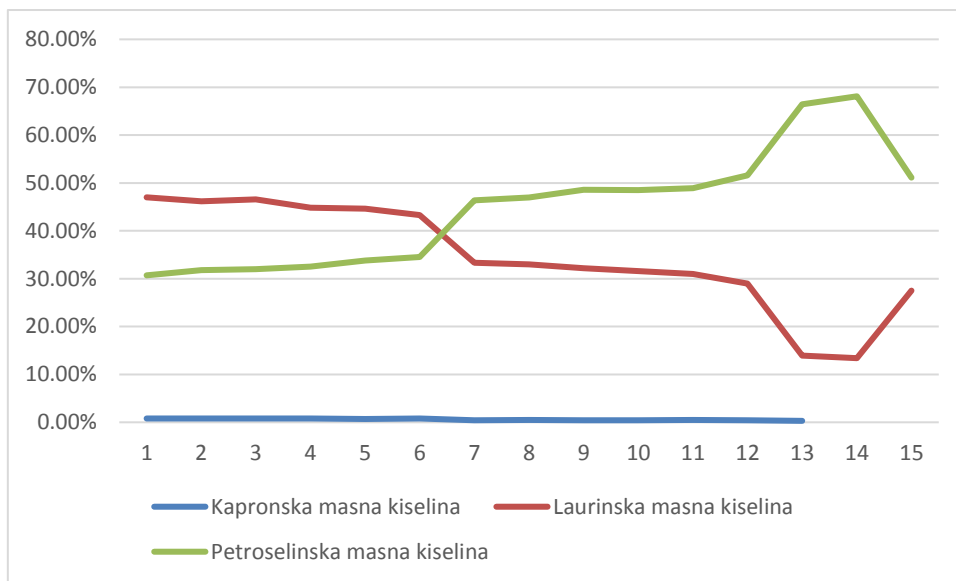
Uzorak	C4:0	C6:0	C10:0	C12:0	C14:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1n12	C18:2	C18:3n3	C20:0	C20:1	C24:1	C22:6n3
1	0,60%	0,80%	0,20%	47,00%	0,20%	1,60%	0,10%	0,30%	30,70%	5,40%	0,20%	0,10%	0,10%	1,80%	
2	0,60%	0,80%	0,20%	46,20%	0,20%	1,60%	0,10%	0,30%	31,80%	5,60%	0,20%	0,10%	0,10%	1,70%	
3	0,50%	0,80%	0,20%	46,60%	0,20%	1,70%	0,10%	0,30%	32,00%	5,70%	0,20%	0,10%	0,10%	1,80%	
4	0,70%	0,80%	0,20%	44,80%	0,20%	1,70%	0,10%	0,30%	32,50%	5,60%	0,20%	0,10%	0,10%	1,80%	
5	0,50%	0,70%	0,20%	44,60%	0,20%	1,70%	0,10%	0,30%	33,80%	5,80%	0,20%	0,10%	0,10%	1,70%	
6	0,60%	0,80%	0,20%	43,30%	0,20%	1,80%	0,10%	0,30%	34,50%	5,90%	0,20%	0,10%	0,10%	1,60%	
7	0,30%	0,40%	0,10%	33,30%	0,20%	2,30%	0,10%	0,50%	46,40%	7,80%	0,20%	0,10%	0,10%	1,30%	
8	0,30%	0,50%	0,10%	33,00%	0,20%	2,30%	0,10%	0,50%	47,00%	7,80%	0,20%	0,10%	0,10%	1,10%	
9	0,20%	0,40%	0,10%	32,20%	0,20%	2,30%	0,10%	0,50%	48,60%	8,00%	0,20%	0,10%	0,10%	1,00%	
10	0,20%	0,40%	0,10%	31,60%	0,20%	2,30%	0,10%	0,50%	48,50%	7,80%	0,20%	0,10%	0,10%	1,00%	
11	0,30%	0,50%	0,10%	31,00%	0,20%	2,40%	0,10%	0,50%	48,90%	7,90%	0,20%	0,10%	0,10%	1,00%	
12	0,30%	0,40%	0,10%	29,00%	0,20%	2,45	0,10%	0,50%	51,60%	8,20%	0,20%	0,10%	0,10%	0,90%	
13	0,20%	0,30%	0,10%	13,90%	0,10%	3,00%	0,10%	0,70%	66,40%	10,30%	1,00%	0,10%	0,10%		
14			0,40%	13,40%	0,10%	3,20%	0,10%	0,70%	68,10%	11,10%	0,40%	0,10%	0,10%	1,80%	
15	0,30%	0,40%	0,10%	27,50%	0,10%	2,60%	0,10%	0,50%	51,10%		0,30%	0,10%	0,10%		1,00%

Tablica 5. Sastav masnih kiselina gorkog komorača

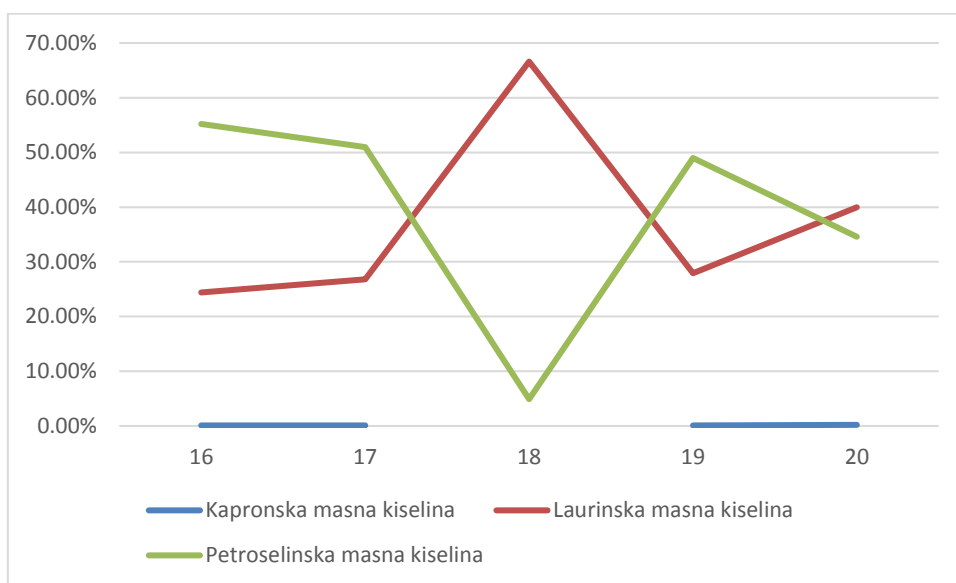
Uz	C4: 0	C6:0	C10:0	C12: 0	C14: 1	C15: 1	C16: 0	C16: 1	C18: 0	C18:1n 12	C18:3 n6	C18:3 n3	C20: 0	C20: 1	C20: 2	C20:3 n3	C20:5 n3	C22: 2	C24: 1
16	0,4 0%	0,10 %	0,10 %	24,4 0%	0,10 %			0,10 %	0,50 %	55,20%	8,60%	0,30%	0,10 %	0,10 %					0,50 %
17	0,5 0%	0,10 %	0,10 %	26,8 0%	0,20 %		2,50 %	0,10 %	0,50 %	51,00%			0,10 %	0,10 %				0,20 %	0,80 %
18			1,20 %	66,6 0%	1,80 %	0,40 %	0,80 %	0,30 %	0,20 %	4,90%	1,20%		0,50 %		0,80 %	0,80%	0,80%		
19	0,5 0%	0,10 %	0,10 %	27,9 0%	0,10 %		2,30 %	0,10 %	0,10 %	49,00%		0,20%						0,20 %	0,80 %
20	1,0 0%	0,20 %	0,20 %	40,0 0%	0,20 %		1,70 %	0,10 %	0,30 %	34,60%		0,20%						0,30 %	1,20 %

Tablica 6. Sastav masnih kiselina slatkog, samoniklog i gorkog komorača

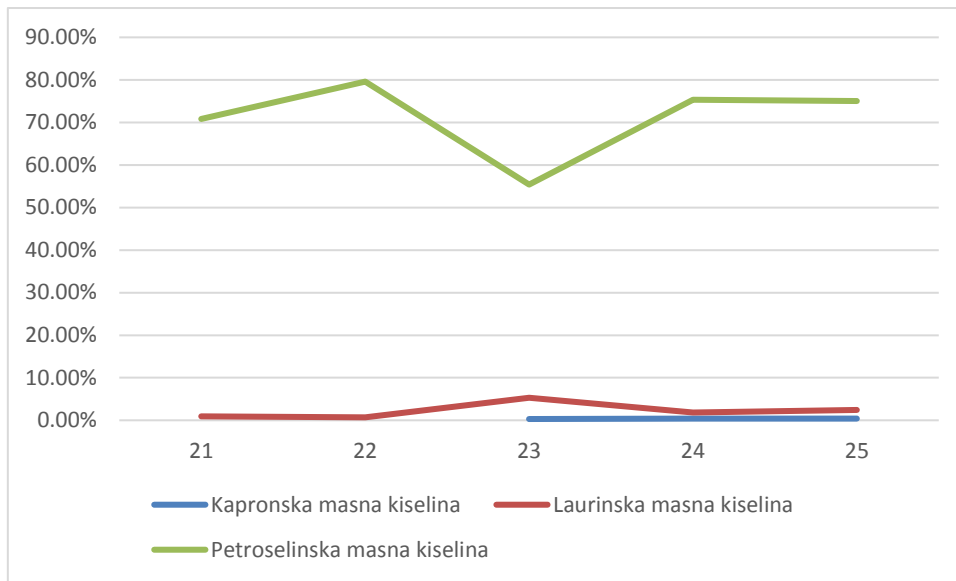
Uz	C4:0	C6:0	C10: 0	C12: 0	C14: 1	C15: 0	C15: 1	C16: 0	C16: 1	C17: 0	C18: 0	C18:1n 12	C18:2	C18:3 n6	C18:3 n3	C20: 0	C20: 1	C22: 0	C22: 1	C24: 1
21	0,30 %	1,40 %	9,20 %	0,90 %	0,10 %			3,60 %	0,20 %		1,10 %	70,80%	9,40 %		0,40%	0,20 %	0,20 %			1,30 %
22			1,40 %	0,70 %			0,10 %	4,20 %	0,20 %		1,20 %	79,60%	10,40 %		0,40%	0,20 %			0,20 %	1,80 %
23	0,20 %	0,30 %	0,10 %	5,30 %				2,70 %	0,10 %		0,90 %	55,40%	9,00 %		2,40%	0,10 %	0,10 %			1,20 %
24		0,40 %	0,30 %	1,80 %	1,10 %	0,30 %		4,10 %	0,20 %		0,90 %	75,30%		11,50 %	0,40%	0,10 %	0,20 %	1,00 %		
25		0,40 %	0,30 %	2,40 %	1,20 %	0,40 %		4,10 %	0,20 %	0,10 %	0,90 %	75,00%		11,60 %	0,30%	0,10 %	0,20 %	0,30 %		0,20 %



Slika 4. Različiti udio petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline u uzorcima gorkog komorača



Slika 5. Različiti udio petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline u uzorcima gorkog komorača



Slika 6. Različiti udio petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline u uzorcima slatkog, samoniklog i gorkog komorača

5. RASPRAVA

Cilj ovog završnog rada bio je odrediti udio ulja i sastav masnih kiselina u sjemenu komorača, u odnosu na različite uvjete ekstrakcije ulja komorača. U radu su provedene analize na uzorcima sjemena slatkog i različitih vrsta gorkog komorača. Ulje je iz sjemena izdvojeno hladnom ekstrakcijom i ubrzanom ekstrakcijom otapalima pri povišenom tlaku. Uzorcima sjemena je određen udio vode i ulja te sastav masnih kiselina.

Udio vode određen u uzorku sjemena gorkog komorača bio je 6,06%, a u uzorku slatkog komorača 5,25%. Prema navodima iz literature preporuča se skladištenje sjemena kojem je udio vode do 9% čime se sprječava pojava mikrobiološkog kvarenja te ubrzane hidrolize i oksidacije ulja.

Udio ulja na suhu tvar u uzorku sjemena gorkog komorača iznosio je 11,6%, a u uzorku slatkog komorača 15,1%. Coşge i sur. (2008) u radu navode udio ulja dobiven iz sjemena gorkog komorača 14,41%, što je veće od dobivenih rezultata. Također navode udio ulja dobiven iz sjemena slatkog komorača 12,22%, koji je manji od dobivenih rezultata. U oba je slučaja veći udio ulja u sjemenu slatkog komorača no u sjemenu gorkog komorača. Na Slici 4. prikazane su vrijednosti udjela ulja sjemena gorkog i slatkog komorača, izdvojenih hladnom ekstrakcijom, ubrzanom ekstrakcijom otapalima pri povišenom tlaku te referentnom metodom po Soxhletu. Uzorci 1-12 predstavljaju uzorke ulja gorkog komorača izdvojenih ubrzanom ekstrakcijom te variraju od 6,4% do 12,0%. Metodom po Soxhletu je određen udio ulja istog sjemena, koji je iznosio 11,6%. Uzorak 13 predstavlja uzorak ulja gorkog komorača dobiven postupom hladne ekstrakcije. Dobiveni udio ulja za uzorak 13 je 14%. Uzorak 13 ima najveći udio ulja, a također je i u skladu s rezultatima koje navode Coşge i sur. (2008). Uzorak 23 predstavlja uzorak samoniklog (gorkog) komorača izdvojenog hladnom ekstrakcijom, a dobiveni udio ulja je 6,3, koji je najmanji udio ulja od svih ispitivanih uzoraka. Uzorak 21 predstavlja uzorak slatkog komorača izdvojenog hladnom ekstrakcijom. Dobiveni udio ulja je 14,1%, te je manji od uzorka 22 (uzorak slatkog komorača ekstrahiranog metodom po Soxhletu), koji iznosi 15,1%, te od rezultata koje navode Coşge i sur. (2008).

Uzorci 1-12 predstavljaju uzorke ulja gorkog komorača ekstrahiranih ubrzanom ekstrakcijom heksanom pri povišenom tlaku. Uvjeti ekstrakcije su prikazani u Tablici 2. Iz Tablice 4. je vidljivo da udio laurinske kiseline (C12:0) u uzorcima opada. Najveći udio ima uzorak 1, čak 47,0%, a najmanji udio uzorak 12, 29,0%. Laurinska kiselina je, uz kapronsku kiselinu (C6:0)

produkt oksidacijske razgradnje petroselinske masne kiseline (C18:1n12), najzastupljenije masne kiseline u ulju komorača.

Budući da se udio laurinske masne kiseline smanjuje s promjenom uvjeta ekstrakcije može se zaključiti da su najpovoljniji uvjeti pri 100 °C, sa statičkim vremenom ekstrakcije od 10 minuta i s 3 ciklusa jer je udio laurinske masne kiseline pri tim uvjetima 29,0%. Udio palmitinske masne kiseline (C16:0) je najmanji u uzorku 1, 1,6%, a najveći u uzorku 12, 2,5%. Coşge i sur. (2008) navode udio palmitinske kiseline 4,47%, što je veće no u analiziranom uzorku. Udio petroselinske masne kiseline se također povećava, što je vidljivo u Tablici 4. Najmanji udio je u uzorku 1, 30,7%, a najveći u uzorku 12, čak 51,6%. Udjeli petroselinske masne kiseline su znatno manji u usporedbi s rezultatima koje su prikazali Coşge i sur. (2008), gdje je udio petroselinske masne kiseline 72,07%. Na Slici 5. prikazani su udjeli petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline u uzorcima 1 – 15. Iz grafa je vidljivo da su udjeli petroselinske i laurinske masne kiseline obrnuto proporcionalni, a udio kapronske masne kiseline je u svim uzorcima nizak. U uzorcima 1 – 6 udio laurinske kiseline veći je od udjela petroselinske masne kiseline, a u uzorcima 7 – 12 veći je udio petroselinske masne kiseline. Udio petroselinske masne kiseline je znatno manji u odnosu na rezultate koje su prikazali Coşge i sur. (2008), ali udjeli petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline zajedno daju udio veći od 70%, koliki bi udio petroselinske masne kiseline trebao biti. Udio linolne masne kiseline (C18:2) raste od uzorka 1 gdje je 5,4% prema uzorku 12 gdje je 8,2%. Coşge i sur. (2008) navode udio linolne kiseline 14,78%, što je znatno veći udio u odnosu na analizirani uzorak.

Uzorak 13 predstavlja uzorak ulja gorkog komorača izdvojen hladnom ekstrakcijom, uzorak 14 uzorak ulja gorkog komorača koje je izdvojeno metodom po Soxhletu, a uzorak 15 predstavlja uzorak ulja gorkog komorača izdvojen ubrzanom ekstrakcijom otapalima pri sobnoj temperaturi. Iz Tablice 4. vidljivo je da je udio laurinske kiseline (C12:0) u uzorcima 13 i 14 znatno manji (13,9% i 13,4%) u odnosu na uzorak 15, gdje je udio 27,5%. Također su znatno manji u odnosu na uzorke 1 – 12. Iz toga se može zaključiti da se ubrzanom ekstrakcijom otapalima pospješuje raspadanje palmitinske masne kiseline na laurinsku i kapronsku masnu kiselinu. Udio palmitinske masne kiseline (C16:0) je veći u uzorcima 13 i 14 (3,0% i 3,2%), u odnosu na uzorak 15 (2,6%), kojem je udio sličan udjelu palmitinske masne kiseline u uzorku 12. U usporedbi s rezultatima koje navode Coşge i sur. (2008), udio palmitinske masne kiseline je manji u analiziranim uzorcima. Udio petroselinske masne kiseline je u uzorku 13 (66,4%) i 14 (68,1%) znatno veći no u uzorku 15, gdje je 51,1%. Coşge i sur. (2008) navode udjel petroselinske masne kiseline 72,07%, kojem je uzorak 13 i

14 puno sličniji. Na slici 5. vidljivo je da uzorci 13 – 15 imaju veći udio petroselinske masne kiseline u odnosu na uzorke 1 – 12, a istovremeno se smanjuje udio laurinske masne kiseline.

U Tablici 4. je prikazan udjel linolne masne kiseline (C18:2) koji je kod uzorka 13 10,3%, uzorka 14 11,1%, a u uzorku 15 linolna masna kiselina nije očitana na kromatogramu. Udjel linolne kiseline je manji u usporedbi s podacima koje navode Coşge i sur. (2008).

Uzorci 16 – 20 predstavljaju uzorke gorkog komorača izdvojene ubrzanom ekstrakcijom otapalima pri 100 °C (uzorci 16 – 18) i pri 25 °C (uzorci 19 i 20). Iz Tablice 5. je vidljivo da udio laurinske kiseline (C12:0) raste od uzorka 16 (24,4%) prema uzorku 20 (40,0%), izuzev uzorka 18, gdje je udio laurinske kiseline znatno veći, 66,6%. Uzorak 18 je ujedno i uzorak s najvećim udjelom laurinske masne kiseline. Udio palmitinske masne kiseline (C16:0) je manji no što navode Coşge i sur. (2008). Najveći udio ima uzorak 19, a u uzorku 16 palmitinska masna kiselina nije ni očitana na kromatogramu. Udio petroselinske masne kiseline (C18:1n12), što je prikazano u Tablici 5., se smanjuje od uzorka 16 (55,2%), prema uzorku 20 (34,6%), a najmanji je u uzorku 18, gdje je 4,9%. Coşge i sur. (2008) navode udio petroselinske masne kiseline 72,07%. Na Slici 6. prikazani su udjeli petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline za uzorke 16 – 20. Iz grafa je vidljivo da je najmanji udio petroselinske masne kiseline u uzorku 18, a u tom je uzorku i najveći udio laurinske masne kiseline. Svi analizirani uzorci imaju manji udio petroselinske kiseline, a osobito uzorak 18, što navodi na zaključak da ubrzano ekstrahiranje otapalima pri 100 °C, u 2 ciklusa i pri 50% uzrokuju najveće raspadanje petroselinske masne kiseline na laurinsku i kapronsku masnu kiselinu, te stoga nisu povoljni uvjeti za ekstrakciju. Linolna masna kiselina (C18:2) na kromatogramu uzoraka 16 – 20 nije detektirana.

Uzorak 21 predstavlja ulje slatkog komorača izdvojeno hladnom ekstrakcijom, uzorak 22 ulje slatkog komorača izdvojeno metodom po Soxhletu, uzorak 23 ulje samoniklog (gorkog) komorača izdvojeno hladnom ekstrakcijom, a uzorci 24 i 25 ulje gorkog komorača izdvojeno ubrzanom ekstrakcijom otapalima pri 25 °C i 100 °C. U Tablici 6 prikazani su rezultati analize plinskom kromatografijom tih uzoraka.

Udio laurinske masne kiseline (C12:0) je najveći u uzorku 23 (5,3%), a najmanji u uzorku 22 (0,7%). Udio laurinske masne kiseline je znatno manji u uzorcima 21 – 25, u odnosu na ranije analizirane uzorke. Udio palmitinske masne kiseline (C16:0) je najveći u uzorku 22 (4,2%), a najmanji u uzorku 23 (2,7%). Coşge i sur. (2008) navode udio palmitinske masne kiseline u slatkom komoraču 4,76%, a u gorkom komoraču 4,47%, što je također manje u

analiziranim uzorcima. Udio petroselinske masne kiseline (C18:1n12) prema Coşge i sur. (2008) u slatkom komoraču iznosi 75,18%. U uzorku 21 udio je manji (70,8%), a u uzorku 22 je veći od očekivanog (79,6%).

Uzorak 23 (samonikli, gorki komorač) ima najmanji udio petroselinske masne kiseline (55,4%), a uzorci 24 i 25 oko 75%, što je više od rezultata koje su dobili Coşge i sur. (2008). Slika 7. predstavlja udjele petroselinske, laurinske i kapronske masne kiseline u uzorcima 21 – 25. Iz grafa je vidljivo da uzorci 21 – 25 imaju najveće udjele petroselinske masne kiseline, te najmanje udjele laurinske masne kiseline. Najveći udio petroselinske masne kiseline ima uzorak 22, koji predstavlja uzorak slatkog komorača.

Udio linolne masne kiseline (C18:2) u slatkom komoraču je oko 10%, a Coşge i sur. (2008) navode 11,18%. Dobiveni udio linolne masne kiseline za uzorak 23 je 9,0%, što je manje od očekivanog. Za uzorke 24 i 25, ulje gorkog komorača izdvojeno ubrzanom ekstrakcijom otapalima, linolna kiselina nije detektirana na kromatogramu.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu provedenih analiza i obrađenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Udio ulja je veći u slatkom komoraču no u gorkom komoraču
2. Dominantna masna kiselina u ispitivanim uzorcima gorkog i slatkog komorača je petroselinska masna kiselina.
3. Najveći udio petroselinske masne kiseline dobiven je u ulju slatkog komorača ekstrahiranom metodom po Soxhletu i iznosi 79,6%.
4. Istraživanje je pokazalo određeni stupanj oksidacije kod 4 od 5 istraživanih uzoraka bez obzira na metodu ekstrakcije ulja i s obzirom na prisutnost laurinske i kapronske masne kiseline u određenim postocima.

7. LITERATURA

Anonymous (2017) < <https://zivotistil.rtl.hr/vrt-i-sobno-bilje/2669189/korijander-biljka-otkrijte-posebnosti-biljke-korijander/>> Pristupljeno 19. svibnja 2019.

Anonymous (2006)
<https://hr.wikipedia.org/wiki/Obi%C4%8Dni_komora%C4%8D#/media/File:Fennel_seed.jpg> Pristupljeno 22. svibnja 2019.

Aćimović M., Oljača S., Dražić S. (2011) Upotreba korijandra (*Coriandrum sativum* L.). *Lek sirov* **31**

Badgjuar S. B., Patel V. V., Bandivdekar A. H. (2014) *Foeniculum vulgare* Mill.: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *BioMed Research International* **2014**

Charvet A. S., Commeau L.C., Gaydon E. M. (1991) New preparation of pure petroselinic acid from fennel oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **68**: 604-607

Coşge B., Kiralan M., Gürbüz B., (2008) Characteristics of fatty acids and essential oil from sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. dulce) and bitter fennel fruits (*F. vulgare* Mill. var. vulgare) growing in Turkey. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* **22**: 1011-1016

Das L., Raychaudhuri U., Chakraborty R. (2013) Herbal Fortification of Bread with Fennel Seeds.

Duke J. A., (1988) Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton: Chemical Rubber Company

HRN EN ISO 5508:1999, Životinjske i biljne masti i ulja – Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom.

HRN EN ISO 659:2010, Uljarice – Određivanje udjela ulja (Referentna metoda).

HRN EN ISO 665:2004, Uljarice – Određivanje količine vode i hlapljivih tvari.

Kobis d.o.o. <<https://www.kobis.hr/Prodajni-program/prodajni-program/oprema/priprema-uzoraka/accelerated-solvent-extraction-ase/>> (Pristupljeno 28.7.2019.)

Komes L., Papeš-Mokos B., Nanić Z., Fazinić M. (1996) Slušaj kako zemlja diše, 1. izd., Alfa d.d. Zagreb, str. 94.

Kuštrak D. (2014) Morfološka i mikroskopska analiza začina, 1. izd., Golden Marketing – Tehnička knjiga, str. 51-52.

Obradović D., (2016) Izolacija bioaktivnih spojeva iz stevije (*Stevia rebaudiana* Bertoni) primjenom ubrzane ekstrakcije otapalima pri povišenom tlaku, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Mottaleb M. A., Sarker S. D. (2012) Accelerated Solvent Extraction for Natural Products Isolation. U: Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology , 3. izd., (Sarker S. D., Nahar L., ured.), Springer, New York/ Dordrecht/ Heidelberg/ London, str. 75-87.

Mustafa A., Turner C., (2011) Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta* **703**: 8-18.

Rade, D., Mokrovčak, Ž., Štrucelj, D. (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, Zagreb

Reiter B., Lechner M., Lorbeer E. (1998) The fatty acid profiles-including petroselinic and cis-vaccenic acid-of different Umbelliferae seed oils. *Forschungsbeiträge/Research papers, Fett/Lipid* **100**: 498-502.

Španić I., (2016) Izolacija bioaktivnih spojeva iz lista masline primjenom ubrzane ekstrakcije otapalima pri povišenom tlaku, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Uitterhaegen E., Sampaio K.A., Delbeke E.I.P., Greyt W.D., Cerny M., Evon P., Merah O., Talou T., V. Stevens C.V. (2016) *Molecules* **21**: 1202

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Mia Parać