

Određivanje aromatičnih tvari u listu smokve (*Ficus carica* L.) plinskom kromatografijom uz masenu spektrometriju (GC-MS)

Ljubas, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:844912>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, studeni 2021.

Ana Ljubas

**ODREĐIVANJE AROMATIČNIH
TVARI U LISTU SMOKVE (*Ficus
carica* L.) PLINSKOM
KROMATOGRAFIJOM UZ
MASENU SPEKTROMETRIJU
(GC-MS)**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju voća i povrća na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Branke Levaj, te uz pomoć doc. dr. sc. Maje Repajić.



Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju voća i povrća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u okviru projekta „Bioaktivne molekule ljekovitog bilja kao prirodni antioksidansi, mikrobiocidi i konzervansi“ (KK.01.1.1.04.0093), koji je sufinanciran sredstvima Europske unije iz Europskog fonda za regionalni razvoj - Program: Ulaganje u znanost i inovacije; Operativni program Konkurentnost i kohezija 2014. - 2020.



TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

ODREĐIVANJE AROMATIČNIH TVARI U LISTU SMOKVE (*Ficus carica* L.) PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM UZ MASENU SPEKTROMETRIJU (GC-MS)

Ana Ljubas, univ. bacc. ing. techn. aliment
0058208434

Sažetak: Cilj ovoga rada bio je odrediti aromatični sastav lišća 9 sorata smokve s područja Istre: Fico della Madonna, Bjelica, Zimica, Miljska figa, Tiger, Šaraguja, Sušioka, Petrovača bijela i Petrovača crna. Hlapljivi aromatični spojevi u lišću smokve izolirani su vodenom destilacijom po Clevengeru, a zatim su identificirani plinskom kromatografijom uz masenu spektrometriju. Ukupno je detektirano 46 spojeva, od kojih su 8 neidentificirana. Identificirana su 3 alkana, 6 aldehida, 3 estera, 2 fenola, 1 monoterpenoid, 5 norizoprenoida, 14 seskviterpenoida, 1 diterpenoid, te 3 spoja ostalih skupina. U svim uzorcima, detektirani su spojevi: kariofilen oksid, β -kariofilen, β -ionon, 2,4-ditert-butilfenol, heksahidrofarnesilacetone i fitol. Najveći udio aromatičnih spojeva detektiran je u uzorku sorte Tiger, dok je najveći udio spoja kariofilen oksida detektiran u uzorku sorte Fico della Madonna.

Ključne riječi: *list smokve, plinska kromatografija, terpenoidi, seskviterpenoidi, vodena destilacija*

Rad sadrži: 44 stranica, 14 slika, 11 tablica, 40 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Pomoć pri izradi: doc. dr. sc. Maja Repajić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. Maja Repajić (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Branka Levaj (mentor)
3. prof. dr. sc. Sandra Balbino (član)
4. doc. dr. sc. Marina Tomašević (zamjenski član)

Datum obrane: 12. studenog 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits and Vegetables

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

DETERMINATION OF AROMATIC SUBSTANCES IN FIG LEAVES (*Ficus carica* L.) BY GAS CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRY

Ana Ljubas, univ. bacc. ing. techn. aliment
0058208434

Abstract: The aim of this study was to determine the aromatic composition of leaves of 9 varieties of figs from Istria: Fico della Madonna, Bjelica, Zimica, Miljska Figa, Tiger, Saraguja, Susioka, Petrovaca white and Petrovaca black. The volatile aromatic compounds in the fig leaves were isolated by hydrodistillation according to Clevenger and then identified by gas chromatography coupled with mass spectrometry. A total of 46 compounds were detected, of which 8 were unidentified. 3 alkanes, 6 aldehydes, 3 esters, 2 phenols, 1 monoterpene, 5 norisoprenoids, 14 sesquiterpenoids, 1 diterpenoid and 3 compounds of other groups were identified. In all samples the following compounds were detected: caryophyllene oxide, β -caryophyllene, β -ionone, 2,4-ditert-butylphenol, hexahydropharnesilacetone and phytol. The highest content of aromatic compounds was detected in the sample of the Tiger variety, while the highest content of caryophyllene oxide was detected in the sample of Fico della Madonna variety.

Keywords: *fig leaf, gas chromatography, terpenoids, sesquiterpenoids, hydrodistillation*

Thesis contains: 44 pages, 14 figures, 11 tables, 40 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Branka Levaj, PhD, Full professor

Technical support and assistance: Maja Repajić, PhD, Assistant professor

Reviewers:

1. Maja Repajić, PhD, Assistant professor
2. Branka Levaj, PhD, Full professor
3. Sandra Balbino, PhD, Full professor
4. Marina Tomašević, PhD, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: November 12th 2021

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SMOKVA.....	2
2.2. LIST SMOKVE.....	4
2.2.1. Kemijski sastav lista smokve	4
2.3. AROMATIČNI SPOJEVI.....	5
2.3.1. Terpenoidi	7
2.3.2. Biosinteza terpenoida	9
2.3.3. Biosinteza ostalih spojeva	10
2.3.4. Aromatični sastav lista smokve.....	11
2.4. VODENA DESTILACIJA	13
2.5. PLINSKA KROMATOGRAFIJA	14
2.5.1. GC-MS	16
3. EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1. MATERIJAL.....	17
3.1.1. Uzorci	17
3.1.2. Kemikalije, standardi i plinovi	17
3.1.3. Aparatura i pribor	18
3.2. METODE	19
3.2.1. Vodena destilacija	19
3.2.2. Određivanje prinosa	20
3.2.3. Analiza hlapljivih spojeva GC-MS analizom.....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
5. ZAKLJUČCI	38
6. LITERATURA	40

1. UVOD

Obična smokva *Ficus carica* L. listopadno je stablo poznato po velikom, mirisnom lišću, složenom, skrivenom cvatu, sočnim plodovima i lateksu. Od davnina se uzgaja na Mediteranu, Bliskom istoku i zapadnoj Aziji te predstavlja jednu od najranijih uzgajanih voćki. Danas se uzgoj proširio po cijelome svijetu te stabla smokvi pronalazimo u Turskoj, Španjolskoj, Grčkoj, Italiji, Brazilu, Kaliforniji i drugim mjestima na kojima prevladavaju blage zime i vruća suha ljeta.

Plodovi smokve konzumiraju se u svježem, sušenom i prerađenom obliku. Svježa i suha smokva sadrže bogatu nutritivnu vrijednosti zbog visokog sadržaja minerala, masti, šećera, vlakana i fenolnih spojeva. Plod, korijen i lišće se tradicionalno koriste u liječenju gastrointestinalnih, respiratornih, kardiovaskularnih poremećaja te je smokva uključena u brojne farmakopeje i terapijske vodiče (Mawa i sur., 2013).

Listovi smokve sadrže bogati aromatski sastav. Hlapljivi spojevi razvijaju se u lišću tijekom sazrijevanja i značajno utječu na kvalitetu i sastav arome. Uzgoj kao i sorta smokve utječu na aromatični profil lista što potvrđuju brojna provedena istraživanja.

Cilj ovoga rada bio je odrediti aromatični sastav lišća devet sorata smokve s područja Istre te usporediti dobivene rezultate s rezultatima istraživanja različitih izvora. Aromatični spojevi izolirani su vodenom destilacijom, a kemijski sastav aromatičnog profila određen je plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom (GC-MS).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SMOKVA

Smokva je listopadno stablo iz porodice Moraceae (tablica 1). Uključuje veliki broj vrsta prisutnih u tropskim i suptropskim područjima. Obična smokva (*Ficus carica* L.) razvija jestivi plod. Vruća suha ljeta, niska relativna vlažnost i blage zime karakteristike su klime idealne za uzgoj smokve. Niske temperature tijekom zime ograničavajući su faktor za preživljavanje smokve, pogotovo za mlada stabla koja mogu biti oštećena mrazom (Flaishman i sur., 2008).

Tablica 1. Klasifikacija vrste *Ficus carica* L. prema taksonomskim kategorijama (USDA, 2020)

Taksonomska kategorija	Naziv
Carstvo	Plantae
Koljeno	Magnoliophyta
Razred	Magnoliopsida
Red	Urticales
Porodica	Moraceae
Rod	<i>Ficus</i> L.
Vrsta	<i>Ficus carica</i> L.

Smokva potječe iz južne Arabije gdje i danas možemo pronaći stabla samonikle smokve (Mars, 2001), odakle su odabrani oblici preneseni u druge regije osobito na područje Mediterana, Bliskog istoka i zapadne Azije. Uzgoj smokve prisutan je već 11 000 godina te je jedna od prvih kultiviranih voćki na svijetu. Pretpostavlja se da ime *carica* potječe od imena pokrajine Karije u Maloj Aziji, današnjem jugozapadnom dijelu Turske, poznatoj po uzgoju smokava. Predstavljala je jedan od glavnih izvora prehrane Mediterana tijekom cijele godine zahvaljujući visokoj kalorijskoj vrijednosti i lakom očuvanju plodova sušenjem (Falistocco, 2020).

Ficus carica je listopadno drvo visine od 10 do 30 m. Ima brojne raširene grane, ali deblo rijetko naraste do promjera većeg od 2,5 m. Kora je glatka, pepeljasto sive boje (Badgjar i sur., 2014). *Ficus carica* nosi sočan, okrugli plod, spljošten u sredini, veličine od 3 do 5 cm

(slika 1). Razlikujemo sorte žućkasto-zelene, bakrene, ljubičaste boje ploda. Karakteristični plod smokve zapravo je cvat imena sikonij u kojemu cvjetovi i sjemenke zajedno rastu u mesnatu, sočnu masu (Khatib i Vaya, 2010). Sikonij je spojen s vanjskim dijelom kroz mali otvor naziva ostiola. Osušeni plodovi su iznimne nutritivne vrijednosti zbog visokog sadržaja vitamina, minerala, ugljikohidrata, šećera, organskih kiselina i fenolnih spojeva. Suhe i svježe smokve sadrže veliku količinu vlakana i polifenola. Također, svježiji plodovi smokve bogati su proantocijanima (Mawa i sur., 2013).



Slika 1. Plodovi i lišće smokve *Ficus carica* L. (prema Palić, 2019)

Flashman i sur. (2008) opisuju četiri tipa smokve s obzirom na oprašivanje i nastanak ploda. Obična smokva, Smyrna tip i San Pedro tip razvijaju jestivi plod, dok je plod tipa Kaprifag nejestiv. Tip obične smokve i San Pedro tip imaju dva usjeva godišnje, Smyrna tip jedan usjev godišnje, dok Kaprifag ima tri usjeva godišnje. Veliki udio kultivara, čak 78 % pripadaju običnom tipu (Crisosto i sur., 2011). Sorte se razlikuju po morfologiji lista, vanjskoj i unutarnjoj boji ploda, obliku i okusu ploda, količini topljivih tvari, karakteristikama sjemena, debljini kože. Plodovi obične smokve su partenokarpni, dakle plod nastaje bez oprašivanja. Sadrži ženske cvjetove dugog tučka koji za rast i sazrijevanje ne trebaju oprašivanje. Ukoliko ipak dođe do oprašivanja nastat će znatno veći plodovi, intenzivnijeg okusa, s promijenjenom bojom kože i pulpe. Smyrna tip i San Pedro tip za razvoj i nastanak ploda zahtjevaju oprašivanje uz pomoć smokvinih osa roda *Blastophaga* (Flashman i sur., 2008). Kaprifaga tip smokve sadrži muške sikonije unutar kojih osa *Blastophaga psenes* završava svoj životni ciklus. Kada su ženski cvjetovi Smyrna tipa i San Pedro tipa spremni za oprašivanje, luče hlapljive spojeve kako bi privukli smokvine ose. One izlaze iz muškog sikonija Kaprifag tipa kroz ostiole i

prenoseći pelud do ženskih cvjetova vrše oprašivanje, odnosno kaprifakciju smokve (Crisosto i sur., 2011).

2.2. LIST SMOKVE

Listovi smokve su dužine od 10 - 20 cm s 3 do 5 režnja nazubljenih rubova. Dlakavi su s donje površine s izraženim žilama, dok je gornja površina hrapava. Kod vrsta roda *Ficus* uočena je prisutnost sekretornih stanica na lamini lista koje izlučuju lateks, mliječni sok (Bercu i Popoviciu, 2014). Lateks sadrži proteolitički enzim ficin koji uzrokuje svrbež i djeluje iritabilno na upaljenu kožu. Također, ficin izoliran iz lateksa koristiti se u prehrambenoj industriji za omekšavanje mesa, bistrenje bezalkoholnih pića te koagulaciju mlijeka (Mars, 2001).

Mala površina lisnih plojki štiti lišće od pregrijavanja tijekom ljetnih vrućina. Međutim, list *Ficus carica* ima i do deset puta veću površinu od zimzelenih grmova rasprostranjenih na mediteranskom području. Zbog toga lišće *Ficus carice* nije postavljeno u ravnini s tlom, nego okomito da sunčeve zrake padaju na list bočno (Mamoucha i sur., 2016).

2.2.1. Kemijski sastav lista smokve

Kemijski spojevi identificirani u ekstraktu lišća *Ficus carica* su: fenolni spojevi, flavonoidi (flavonoli, flavoni i antocijani), steroli, hlapljive tvari (monoterpeni, seskviterpeni, ketoni, alkoholi, esteri), kumarini (Solana i Romano, 2019), glikozidi, alkaloidi i sapononini (Nebedum i sur., 2010). Prema El-Shobaki i sur. (2010) lišće *Ficus carica* sadrži 82,20 % vlage, 0,65 % pepela, 1 % proteina, 1,55 % vlakna te 12,90 % ugljikohidrata. List sadrži viši ukupni sadržaj flavonoida ($275 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) s obzirom na zreli plod smokve ($82 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$).

Ukupni sadržaj polifenola ($32 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) ne razlikuje se puno od ukupnog sadržaja polifenola u plodu zrele smokve ($40 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Naadem i Zeb (2018) uočili su značajne promjene u ukupnom sadržaju fenola tijekom sazrijevanja lišća. Sazrijevanjem se povećava sadržaj fenola te antioksidacijsko djelovanje. Udio polifenola veći je od onog u crnom vinu i čaju, stoga lišće *Ficus carica* ima jače antioksidacijsko djelovanje (Li i sur., 2021).

Rezultati mineralnog sastava pokazuju prisutnost esencijalnih mineralnih elemenata: Na, K, Zn, Fe, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Mn, Ca, Mg, Cd (Khan i sur., 2012), te vitamina C i E (Ghazi i sur., 2012).

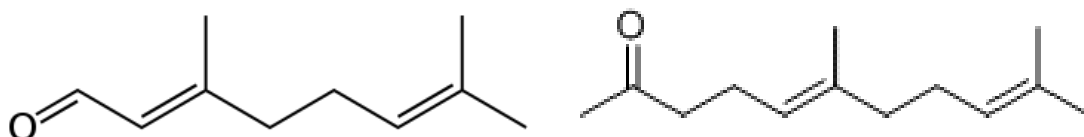
Brojna znanstvena istraživanja dokazala su hipoglikemijsko, antioksidacijsko, protuupalno, renoprotektivno i hepatoprotektivno djelovanje ekstrakta lišća *Ficus carica* (Li i sur., 2021).

Stephen Irudayara i sur. (2017) dokazali su značajan učinak etil acetatnog ekstrakta lišća *Ficus carica* na metaboličke enzime ugljikohidrata s obećavajućim hipoglikemijskim i hipolipidemijskim aktivnostima u štakora s dijabetesom tipa 2. Time su potvrdili pozitivan učinak čaja od lišća *Ficus carice* u prevenciji dijabetesa koji se koristi u tradicionalnoj medicini.

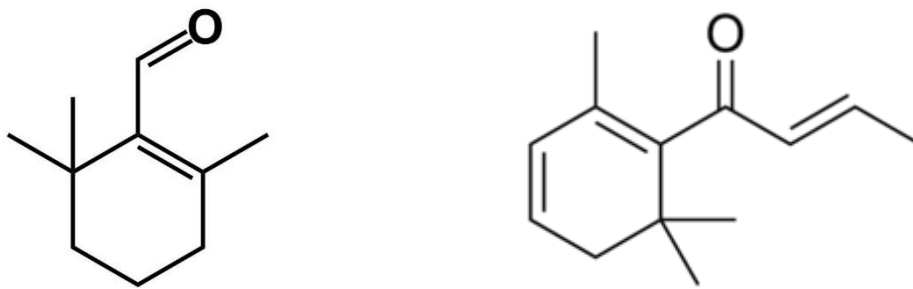
2.3. AROMATIČNI SPOJEVI

Hlapljivi spojevi voća doprinose okusu te predstavljaju njihove karakteristične arome. Aromatičnim tvarima se smatraju spojevi koji su prisutni u koncentraciji većoj od pragova osjetljivosti na miris ili okus. Spojevi s nižim koncentracijama također doprinose aromi kada njihove koncentracije prijeđu navedene pragove osjetljivosti. Količina hlapljivih spojeva prisutnih u hrani iznosi od 10 do 15 mg kg⁻¹ (Belitz i sur., 2004).

Različite vrste voća često imaju slične aromatične karakteristike. Međutim, svako voće ima specifični sastav aroma ovisno o kombinacijama, koncentracijama i pragu percepcije prisutnih hlapljivih spojeva. Samo je dio hlapljivih spojeva odgovoran za aromu s obzirom na zastupljenost i prag mirisa. Uglavnom se sastoje od alkohola, aldehida, ketona, estera, laktona i terpenoida. Najbrojniju skupinu spojeva odgovornih za aromu predstavljaju C₁₀ monoterpeni i C₁₅ seskviterpeni. Hlapljivi terpenoidni spojevi sintetizirani iz karotenoida, izazivaju jaki učinak na okus i miris iako su prisutni u niskim koncentracijama. Geranial, geranilaceton (slika 2), β-ciklocitral, β-damaskenon (slika 3), pseudoionon, β-ionon i teaspirom najčešći su predstavnici terpenoidnih spojeva prisutnih u plodovima voća (El Hadi i sur., 2013).



Slika 2. Kemijska struktura geraniala i geranilacetona (prema Solana i Romano, 2019)



Slika 3. Kemijska struktura β -ciklocitrala i β -damaskenona (prema Ludwiczuk i sur., 2017)

Hlapljivi spojevi nastaju tijekom zrenja i nazivaju se primarnim aromama odgovornima za specifičnu aroma voća (Solana i Romano, 2019). Mogu biti prisutni u slobodnom ili vezanom obliku. Slobodni hlapljivi spojevi izravno doprinose aromi voća, dok su vezani oblici povezani β -glikozidnim vezama s monosaharidima ili disaharidima. Tijekom rasta i sazrijevanja plodova dolazi do oslobađanja hlapljivih spojeva u glikoziliranom obliku te se hlapljivi spojevi mogu koristiti kao oznaka za razlikovanje faza zrelosti (Khalil i sur., 2017). Nakupljaju se u skladištima biljaka te se oslobađaju s površine lista. Upravo je u listu *Ficus carica* prisutno više hlapljivih spojeva nego u plodu. Hlapljivi spojevi su nestabilni te podliježu promjenama.

Tijekom prerade voća razvijaju se sekundarne arome djelovanjem topline, enzima, kvasaca (Solana i Romano, 2019). Stupanj zrelosti, okolišni uvjeti, rukovanje, transport i skladištenje nakon berbe utječu na sastav hlapljivih spojeva (El Hadi i sur., 2013).

Sinteza hlapljivih spojeva započinje primarnim putem metabolizma iz derivata masnih kiselina, aminokiselina, terpenoida i ugljikohidrata. Prekursori bitni za sintezu hlapljivih spojeva su šećeri i masne kiseline. Tijekom zrenja dolazi do razgradnje lipida i do nastajanja estera i alkohola (Breitmaier, 2006).

2.3.1. Terpenoidi

Terpeni su najbrojniji i strukturno najrazličitiji sekundarni metaboliti biljaka. To su hlapljivi nezasićeni ugljikovodici, netopljivi u vodi, ugodna mirisa. Terpenoidi su modificirani terpeni s ugrađenim različitim funkcionalnim grupama (Ludwiczuk i sur., 2017).

Mnoge biljke proizvode hlapljive terpene kako bi privukle insekte za oprašivanje. Monoterpenoidi linalool i epoksilinalool (slika 4), prisutni u smokvi, imaju ključnu ulogu u privlačenju smokvinih osa (Solana i Romano, 2019). Terpeni izrazito gorkog okusa te otrovni terpeni štite biljke od životinja.



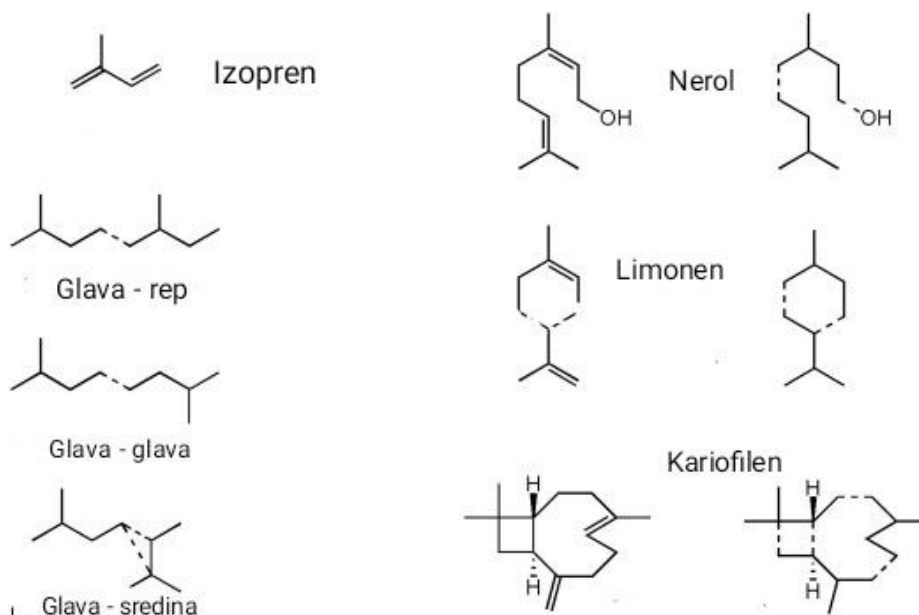
Slika 4. Kemijska struktura linaloola i epoksilinaloola (prema Solana i Romano, 2019)

Također, terpeni mogu imati ulogu regulatora rasta biljaka (Breitmaier, 2006).

Ovi spojevi su glavne komponente eteričnih ulja i odgovorni su za karakterističan miris. Terpenoidi prisutni u eteričnim uljima s obzirom na vrelište svrstavaju se u monoterpenoide i seskviterpenoide. Monoterpenoidi imaju raspon vrelišta od 140 do 180 °C, dok je vrelište seskviterpenoida 200 °C.

Izoprenska jedinica, 2-metilbuta-1,3-dien (C_5H_8), čini glavnu gradivnu jedinicu terpenoida. Prema pravilu izoprena, izoprenske jedinice unutar terpenoida mogu se vezati na sljedeće načine: glava - rep, glava - glava ili glava - sredina (slika 5). Izopropilni dio 2-metilbutana predstavlja glavu, a etilni ostatak rep izoprenske jedinice. Najčešći način vezanja je glava - rep, dok je vezanje glava - glava uobičajeno između triterpenoida i karotenoida.

Terpenoidi mogu biti ciklični ili aciklični s velikim rasponom strukturnih varijacija. U tablici 2 prikazana je podjela terpenoida s obzirom na broj izoprenskih jedinica (Ludwiczuk i sur., 2017).



Slika 5. Načini vezanja terpenoida – izoprensko pravilo (prema Ludwiczuk i sur., 2017)

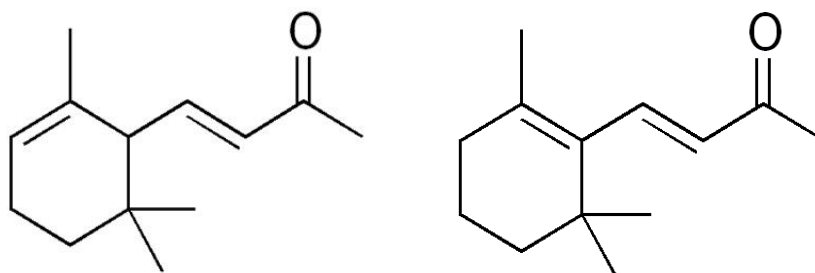
Tablica 2. Podjela terpenoida

	Broj C atoma	Broj izoprenskih jedinica
Hemiterpenoidi	5	1
Monoterpenoidi	10	2
Seskviterpenoidi	15	3
Diterpenoidi	20	4
Sesterterpenoidi	25	5
Triterpenoidi	30	6
Tetraterpenoidi	40	8
Politerpenoidi	> 40	> 8

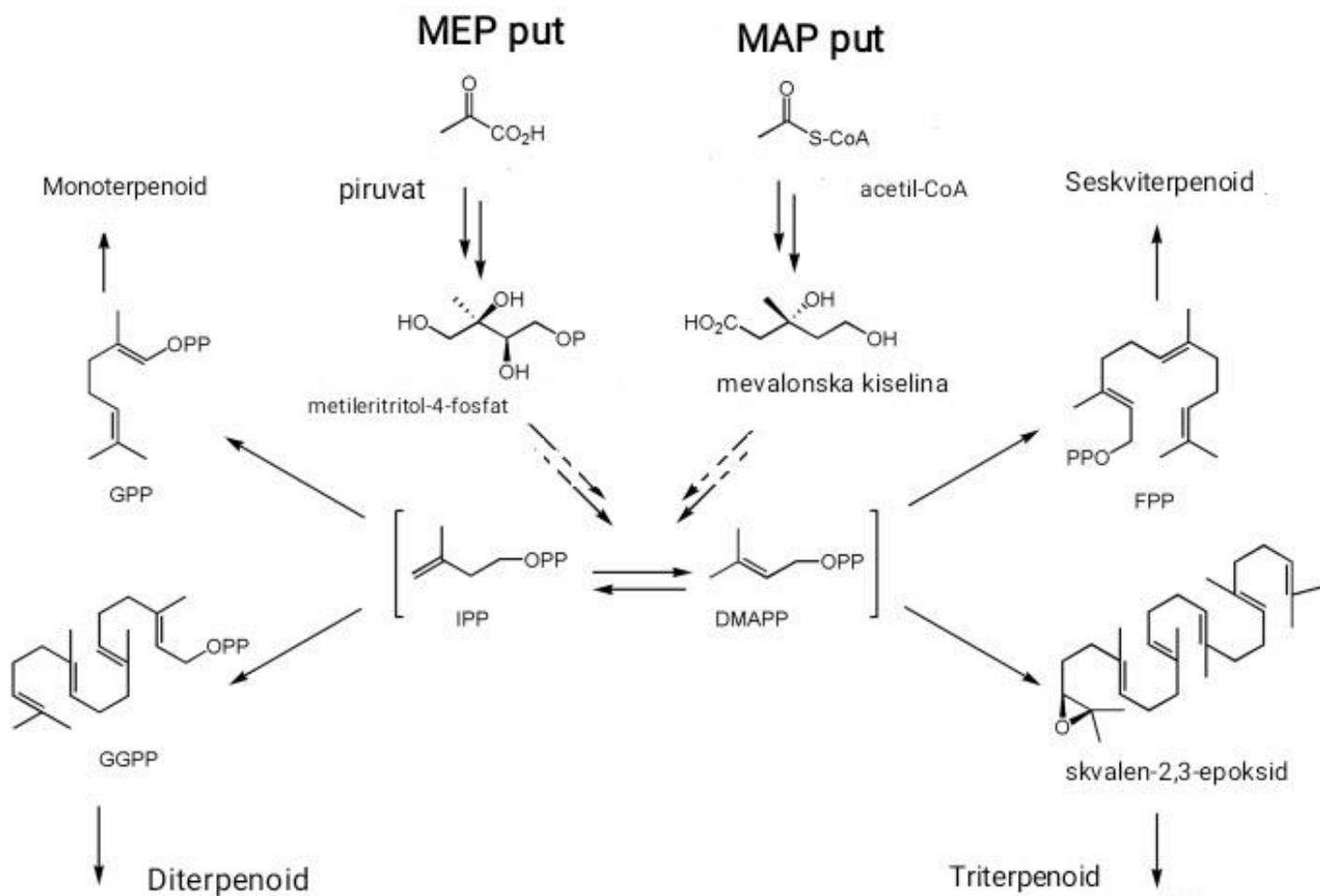
2.3.2. Biosinteza terpenoida

Biosinteza terpenoida (slika 7) može se odvijati putem nastanka mevalonske kiseline (MAP) i putem nastanka metileritritol-4-fosfata (MEP). Put MAP započinje od acetil-CoA te dovodi do nastanka seskviterpenoida i triterpenoida. Put MEP započinje kondenzacijom piruvata i D-gliceraldehid-3-fosfata pri čemu nastaju prekursori za sintezu hemiterpenoida, monoterpenoida i diterpenoida (Aragüez i Valpuesta Fernández, 2013).

Nastanak mevalonske kiseline odvija se u citosolu te započinje kondenzacijom triju molekula acetil-CoA pri čemu nastaje 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA. Nakon hidrolize i redukcije, 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA prelazi u mevalonsku kiselinu. Adenozin trifosfat (ATP) putem monofosfata predaje difosfat mevalonskoj kiselini. Fosforilirana mevalonska kiselina dalje se dekarboksilira i dehidrira pri čemu nastaje izopentenil pirofosfat (IPP). U prisutnosti izomeraze, izopentenil pirofosfat se izomerizira u dimetilalilpirofosfat (DMAPP). Kation dimetilalilpirofosfata reagira s dvostrukom vezom izopentenil pirofosfata te nastaje geranil pirofosfat (GPP), prekursor monoterpenoida. Prekursor diterpenoida geranilgeranil pirofosfat (GGPP), nastaje dodavanjem još jedne molekule izopentenil pirofosfata na farnezil pirofosfat. Kondenzacijom geranil pirofosfata (GPP) i izopentenil difosfata nastaje farnezil difosfat (FPP) iz kojega se biosintetiziraju seskviterpenoidi. Povezivanje dviju molekula farnezil pirofosfata od repa do repa dovodi do nastanka triterpenoida, dok tetraterpenoidi nastaju dimerizacijom geranilgeranil pirofosfata od repa do repa (Breitmaier, 2006). Iz tetraterpenoida karotenoida nastaju norizoprenoidi, odnosno terpenoidi s 13 C atoma. Glavni predstavnici su α -ionon, β -ionon (slika 6), α -damaskenon i β -damaskenon koji su prisutni u mnogim eteričnim uljima (Ludwiczuk i sur., 2017).



Slika 6. Kemijska struktura α -ionona i β -ionona (prema Ludwiczuk i sur., 2017)



Slika 7. Biosinteza terpenoida (prema Ludwiczuk i sur., 2017)

2.3.3. Biosinteza ostalih spojeva

Hlapljivi spojevi dobiveni iz masnih kiselina su alkoholi, kiseline, ketoni, esteri i laktoni. Nastaju tijekom procesa α -oksidacije i β -oksidacije te reakcijama kataliziranim lipoksigenazom. Nezasićene, linolna ili linolenska, masne kiseline u prisutnosti lipoksigenaze se oksidiraju te nastaju krajnji produkti hlapljivi aldehidi, alil alkoholi i oksokiseline. Nastaju aldehidi važni za aromu: heksanal, 2-heksenal, 3-heksenal, 2-nonenal, 3-nonenal, 2,6-nonadienal i 3,6-nonadienal. Dio alil alkohola oksidira do odgovarajućih ketona (Belitz i sur., 2004).

Spojevi važni za aromu kao što su benzenoidi ($C_6 - C_1$) i fenilpropanoidi ($C_6 - C_3$), sintetizirani su iz aminokiseline L-fenilalanin. Prvi korak u biosintezi navedenih spojeva

katalizira L-fenilalanin amonijak liza, te nastaje međuprodukt *trans*-cimetna kiselina. Skraćivanjem bočnog lanca za dvije ugljikove jedinice nastaje benzenoid.

Katabolizam aminokiselina pokreću enzimi. Aminotransferaze dovode do stvaranja α -keto kiselina. One mogu poslužiti kao supstrati za reakcije dekarboksilacije nakon čega slijede redukcije, oksidacije ili esterifikacije. Dakle, sintetiziraju se aldehidi, alkoholi, esteri i kiseline (Aragüez i Valpuesta Fernández, 2013).

Alkoholi, ketoni i esteri doprinose 41 % ukupne arome u plodovima zrele smokve (Solana i Romano, 2019).

2.3.4. Aromatični sastav lista smokve

Brojni hlapljivi aromatični spojevi identificirani su u istraživanjima o aromatičnom profilu lišća *Ficus carica*. Uočeni su spojevi skupina aldehida, alkohola, ketona, kiselina, estera, seskviterpenoida, monoterpenoida, norizoprenoida, diterpenoida i drugih skupina.

Prema literaturi (Oliveira i sur., 2010) u lišću portugalske smokve identificirani su: 3-metil-butanal, 2-metil-butanal, (E)-2-pental, heksanal, (E)-2-heksenal, 1-penten-3-ol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 1-heptanol, benzil alkohol, (E)-2-nonen-1-ol, feniletil alkohol, 3-pentanon, metil butanoat, metil heksanoat, heksil acetat, etil benzoat, metil salicilat, limonen, mentol, α -kubeben, β -kubeben, α -guaien, α -ylangen, kopaen, β -bourbonen, β -elemen, δ -elemen, α -gurjunen, α -kariofilen, β -kariofilen, aloaromadendren, α -muurolen, δ -muurolen, germakren D, (+)-leden, δ -kadinen, β -ciklocitral, psoralen i δ -nonalaktan.

Ayoub i sur. (2010) identificirali su u lišću egipatske *Ficus carica* spojeve: (E)-2-heksenal, α -pinen, *n*-oktanal, 1,8-cineol, 1-oktanol, nonanal, etil benzoat, (E)-2,6-dimetilokta-1,5,7-trien-3-ol, metil salicilat, non-1-en-3-ol, dileter, dodekanal, mirtenal, β -damaskenon, 3-tujen-10-al, 4-izopropilcikloheksanol, β -kariofilen, nerilaceton, cis-eudesma-6,11-dien, β -ionon, cis-muurola-4(15),5-dien, (E,E)- α -farnesen, (Z)-3-heksenil benzoat, spatulenol, viridiflorol, *n*-pentadekan, *n*-heptadekan, *n*-tetradekanoična kiselina, *n*-oktadekan, 7,11-dimetilheptadekan, heksahidrofarnesilaceton, nonadekan, metil palmitat, *n*-heksadekanoična kiselina, etil heksadekanoat, fitol, heptakosan, neofitadien, *n*-pentakosan, fitan, *n*-dokosan, farnesan, *n*-tetrakosan i *n*-heneikosan.

Prema literaturi (Nafis i sur., 2019) u lišću *Ficus carica* uzgajanoj u Maroku identificirani su sljedeći aromatski spojevi: 1-(2-metil-1-ciklopenten-1-il)etanon, 3-furfural,

(E)-2-heksenal, acetilfuran, benzaldehid, sulkaton, 4-etilcikloheksanol, (E,E)-2,4-heptadienal, benzil alkohol, nonanal, 6-metil-3,5-heptadien-2-on, 3-etil-4-metil-1H-pirol-2,5-dion, 1,7-oktandiol, 3,7-dimetil, metil salicilat, 2,3-dihidrobenzofuran, 1-ciklopentilester-2-furankarboksilna kiselina, safranal, 2-metoksi-4-vinilfenol, geranilaceton, 1,5-naftalendiol, β -ionon, cikloheksankarboksilna kiselina, heksahidro-8a-metil-1,8(2H,5H)-naftalendion, 5,6,7,7a-tetrahidro-4,4,7a-trimetil-2(4H)-benzofuranon, benzenetamin, 5,8,11,14-eikosatetranoična kiselina, kariofilen oksid, humulen oksid, (1R,7S,E)-7-izopropil-4,10-dimetilenciklodek-5-enol, heptadekan, fikusin, bis(2-metilpropil)ester-1,2-benzendikarboksilna kiselina, bergapten i fitol.

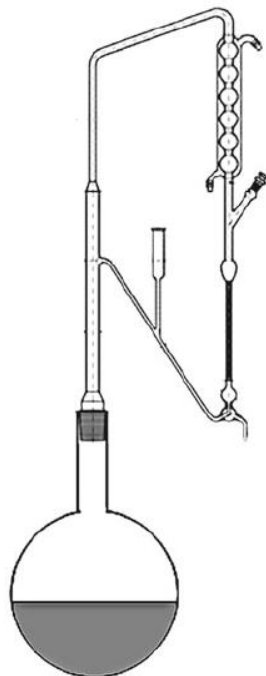
Nafis i sur. (2019) su razlike u aromatičnom profilu pripisali varijabilosti biljnih sorti i postojanju različitih kemotipova unutar vrste.

Ayoub i sur. (2010) eterično ulje lišća smokve izolirali su vodenom destilacijom te analizirali GC-MS analizom. U izdvojenom ulju prevladavaju oksigenirani spojevi različitih skupina, zatim slijede masne kiseline uz najveći udio heksadekanoične kiseline te seskviterpenoidi. Nafis i sur. (2019) također su izolirali eterično ulje lišća smokve vodenom destilacijom te kvalitativnu i kvantitativnu analiza proveli primjenom GC-MS. Identificirano je najviše furokumarina, zatim seskviterpenoida, alkohola, ketona i aldehida. Za razliku od navedenih istraživanja, Oliveira i sur. (2010) izolirali su hlapljive spojeve lišća smokve metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) te analizirali pomoću GC-MS. Izdvojeno je najviše seskviterpenoida, zatim alkohola, aldehida, estera, monoterpenoida i ketona.

2.4. VODENA DESTILACIJA

Postoji više metoda izdvajanja eteričnog ulja iz biljnog materijala. Prvo čisto eterično ulje ruže izolirano je upravo vodenom destilacijom. Navedenu metodu karakterizira kontakt biljnog materijala i vode unutar tikvice. Tijekom zagrijavanja pri atmosferskom tlaku, molekule vode i molekule eteričnih ulja tvore heterogenu smjesu s temperaturom vrelišta nižom od 100 °C, dok je vrelište samih eteričnih spojeva znatno više. Smjesa vode i eteričnih ulja zatim se destilira istodobno (El Asbhani i sur., 2015).

Standardna aparatura za izolaciju eteričnih ulja je aparatura po Clevengeru (slika 8). Sastoji se od tri osnovna dijela: tikvice s okruglim dnom, separatora i kondenzatora. Pri destilaciji biljni materijal se zagrijava u vodi unutar tikvice s okruglim dnom do temperature isparavanja. Oslobođene pare uzrokuju pucanje i raspadanje stanične strukture biljnog materijala te se oslobađaju hlapljivi sastojci eteričnih ulja. Nastale pare zajedno s oslobođenim hlapljivim sastojcima eteričnog ulja provode se duž cijevi kondenzatora gdje se hlade i kondenziraju, a hlapljive komponente hvataju se unutar graduirane cijevi separatora. Destilacija se treba provoditi dovoljno sporo kako bi se spriječilo isparavanje para oko kondenzatora i gubitak hlapljivih sastojaka. Voda ne reagira s hlapljivim sastojcima eteričnih ulja te se nakon kondenzacije eterična ulja mogu lagano odvojiti od izdvojenog destilata (Clevenger, 1298).

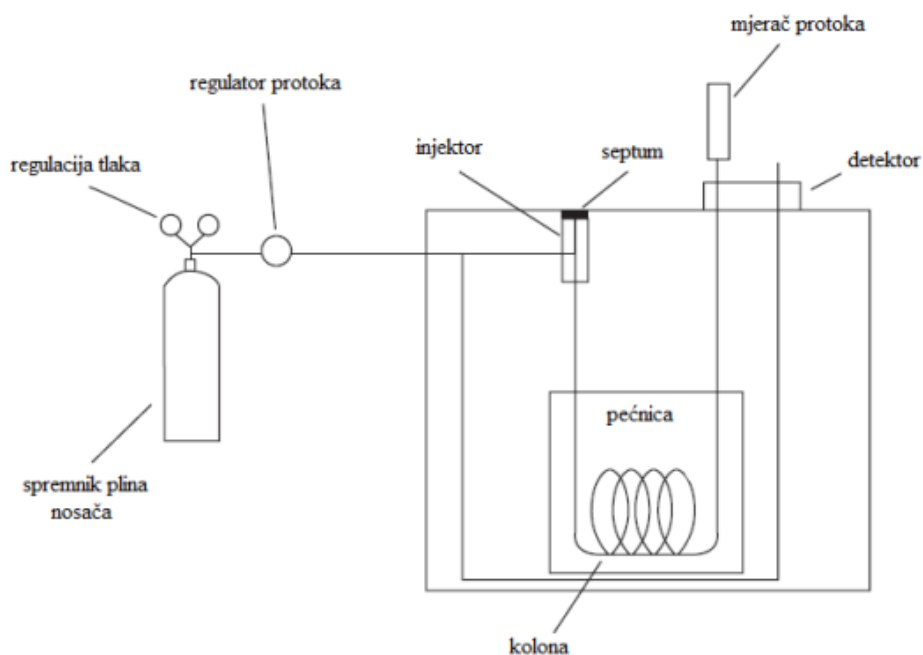


Slika 8. Aparatura po Clevengeru (prema Bicchi i Maffei, 2012)

Nedostatci destilacije vodenom parom su: dugo vrijeme ekstrakcije, gubitak polarnih molekula tijekom izdvajanja vode iz destilata, kemijske promjene sastojaka eteričnih ulja, gubitak hlapljivih spojeva te veliki utrošak energije (Asbhani i sur., 2015). Iako su za uklanjanje navedenih nedostataka primjenjive druge metode destilacije, vodena destilacija se navodi kao najčešća metoda izolacije eteričnih ulja u laboratorijima. Primjerice Soxhlet metoda i metoda ubrzane ekstrakcije otapala (ASE) pokazale su se učinkovitije na prinos eteričnog ulja te su rezultirale manjim gubitkom hlapljivih komponenata. Međutim, navedene metode su nepoželjne zbog uporabe organskih otapala (Samadi i sur., 2020).

2.5. PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Plinska kromatografija (GC) je tehnika razdvajanja složenih smjesa na temelju razlike vrelišta, tlaka pare i polariteta (Stauffer i sur., 2008). Predstavlja glavnu kromatografsku tehniku za razdvajanje i analizu hlapljivih uzoraka s molekulskom masom manjom od 1000 Da koji su pri temperaturi razdvajanja stabilni. Hlapljivi analiti iz uzorka razdvajaju se između mobilne i stacionarne faze. Mobilnu fazu čini plin nosioc prenoseći molekule uzorka od injektora, kroz kolonu, sve do detektora. Zbog razlike u raznoteži između plinovitog uzorka nošenog plinom i čvrste površine stacionarne faze dolazi do odjeljivanja. S obzirom na stacionarnu fazu, plinsku kromatografiju možemo podijeliti na dvije tehnike razdvajanja: plinovito – čvrstu (GSC) i plinovito – tekuću (GLC). Prednosti GC s obzirom na druge kromatografske metode su: brzina analize obično mjerena u minutama, nedestruktivnost analize, visoka rezolucija, visoka osjetljivost, zahtjeva unošenje male količine uzorka (μL), preciznost analize s RSD-om od 1 do 5 %. Glavni nedostatci su ograničenost metode na hlapljive uzorke te onemogućuje razdvajanje velikih uzoraka. Stoga se GC koristi za analizu uzoraka, a ne za pročišćavanje i prikupljanje (McNair i sur., 2019).



Slika 9. Shematski prikaz plinskog kromatografa (prema Harvey, 2000)

Osnovni dijelovi plinskog kromatografa prikazani na slici 9 su: plin nosioc, uređaj za regulaciju tlaka i protoka plina, injektor, kromatografska kolona, pećnica i detektor. Pripremljena otopina uzorka ili plinoviti uzorak injektira se preko injektora u struju plina nosioca. Uzorak se može uvesti u kolonu na dva načina, pomoću „*split*“ ili „*splitless*“ injektora. U kapilarnoj plinskoj kromatografiji prednost imaju „*split*“ injektori, pri čemu se dio smjese plina nosioca i uzorka uvodi u kolonu, dok se ostatak ispušta. Omjer između protoka koji ulazi u kolonu i protoka koji izlazi iz kolone naziva se „*split ratio*“ te je u rasponu od 20:1 do 80:1. Korištenjem „*split*“ injektora sprječava se širenje pikova na kromatogramu i preopterećenje kolone. Inertni plin nosioc visoke čistoće prolazeći kroz kolonu ne stupa u interakciju s analitima. Izbor inertnog plina ovisi o izabranoj vrsti detektora. Za kapilarnu plinsku kromatografiju najčešće se koriste plinovi helij, vodik ili dušik. Helij je jeftin te omogućuje prihvatljivo vrijeme analize omogućujući rad brzinom u rasponu od 30 cm s^{-1} (Stauffer i sur., 2008) te je korišten kao inertni plin u ovom diplomskom radu.

Za analizu aroma i eteričnih ulja koriste se kapilarne kolone duljine od 50 do 100 m. Povećanjem duljine kolone, povećava se razlika tlakova na ulazu i izlazu iz kolone (Stashenko i Martínez, 2014). S obzirom da su arome i eterična ulja mješavine spojeva različitih

molekulskih masa potrebno je razdvajanje provesti pri odgovarajućem temperaturnom programu. Pri izotermnoj temperaturi od 60 °C, komponente smjese ne odvajaju se jedna od druge te su na kromatogramu prikazane kao široki pik uz dugo vrijeme elucije. S druge strane, pri izotermnoj temperaturi od 200 °C, nastaju uski pikovi na kromatogramu uz kraće vrijeme elucije. Stoga se počinje s nižim temperaturama kako bi se odvojili najhlapljiviji ugljikovodici od 10 C atoma (monoterpenoidi). Zatim se temperatura povišuje za 5 do 10 °C te se postiže temperatura od 200 °C, pri kojoj se odvajaju najmanje hlapljivi ugljikovodici od 15 C atoma (seskviterpenoidi) (Chamorro i sur., 2012).

Selektivnost i osjetljivost su glavni kriteriji prilikom odabira detektora. Komponente uzorka prolaskom kroz detektor stvaraju određenu aktivnost koja se na odgovarajući način registrira. Postavljanjem detektora na izlazu iz kolone dobiva se kromatogram, graf ovisnosti koncentracije uzorka o vremenu. Na kromatogramu se očitava vrijeme od trenutka injektiranja uzorka u kolonu do pojave maksimuma pika (t_R), odnosno vrijeme zadržavanja analita u mobilnoj fazi (t_M) te vrijeme zadržavanja u stacionarnoj fazi (t_R').

2.5.1. GC-MS

GC je kvalitativna metoda te se pomoću nje određuje vrijeme zadržavanja spojeva na koloni. Stoga je potrebno na plinski kromatograf spojiti maseni spektrometar kako bi se ti isti spojevi identificirali. GC kao i spektrometrija masa provode se na analitima niske molekulske mase, srednjeg ili niskog polariteta te u ppb ili ppm koncentracijama. Također, obje metode analize provode se u plinovitom stanju. Jedina razlika je u različitim radnim tlakovima. Uvođenjem vakuumske pumpe i kromatografskim kapilarnim kolonama navedena razlika je uklonjena. U GC-MS analizi postoje dvije osnovne tehnike za identifikaciju spojeva. Prva je korištenje certificiranih referentnih materijala. Međutim, nisu svi referentni materijali dostupni. Stoga se češće primjenjuje druga tehnika, određivanje retencijskog indeksa (RI) zajedno sa eksperimentalnim spektrima masa te njihovom usporedbom s vremenima zadržavanja u bazama podataka (Stashenko i Martínez, 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Uzorci

Kao materijal korišteni su osušeni uzorci listova smokve (*Ficus carica* L.) 9 različitih sorti (tablica 3). Listovi su ubrani u okolini Rovinja u listopadu 2020. god. Nakon branja uzorci su osušeni u zračnoj sušari pri temperaturi 40 - 50 °C. Osušeni listovi bili su pohranjeni u plastične vrećice do daljnje analize kako ne bi apsorbirali vlagu iz zraka. Prije provođenja vodene destilacije, osušeni uzorci listova smokve usitnjeni su pomoću električnog mlinca.

Tablica 3. Popis analiziranih uzoraka listova smokve

OZNAKA UZORKA	SORTA
1	Fico della Madonna
2	Bjelica
3	Zimica
4	Miljska figa
5	Tiger
6	Šaraguja
7	Sušioka
8	Petrovača bijela
9	Petrovača crna

3.1.2. Kemikalije, standardi i plinovi

- *n*-heksan p.a. (Fisher Scientific, Loughborough, UK)
- *n*-heksan HPLC čistoće (Fisher Scientific, Loughborough, UK)

- Interni standard, nerol ($10,650 \text{ mg mL}^{-1}$) (Fluka Chemika, Buchs, Švicarska)

Priprema: 0,533 g nerola otopi se u 50 mL *n*-heksana HPLC čistoće.

- Standardna smjesa C₇ - C₃₀ alkana (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, SAD)
- Dušik čistoće 5,0 (Messer Croatia Plin d.o.o., Zaprešić, Hrvatska)
- Dušik čistoće 4,6 (Messer Croatia Plin d.o.o., Zaprešić, Hrvatska)
- Etilni alkohol 96 %-tni (Lach-Ner, Neratovice, Češka Republika)
- Destilirana voda

3.1.3. Aparatura i pribor

Aparatura:

- Analitička vaga (AX224, Ohaus corporation, New York, SAD)
- Aparatura za izolaciju eteričnog ulja po Clevengeru (Europska Farmakopeja, 2008)
- Električni mlinac (GT11, Tefal, Rumilly, Francuska)
- Plinski kromatograf (GC) 6890N s 5973 *inert* masenim spektrometrom (MS) (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD)

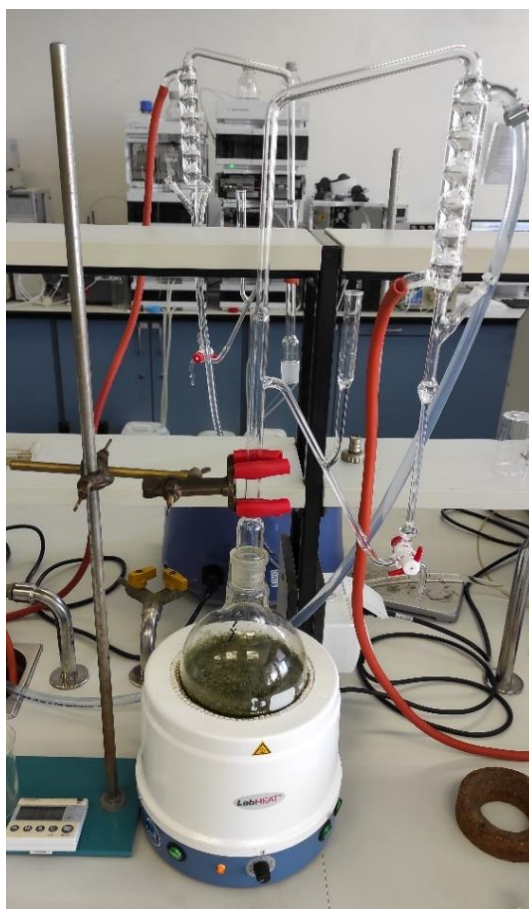
Pribor:

- Staklene laboratorijske čaše (150 mL)
- Menzura (100 mL)
- Lijevak
- Okrugle tikvice s okruglim dnom (1000 mL)
- Mikropipeta Eppendorf (100 i 1000 μL)
- Staklene bočice (viale) (4 i 1,5 mL)
- Plastični čep s PTFE septom
- Špatula

3.2. METODE

3.2.1. Vodena destilacija

U tikvicu s okruglim dnom od 1000 mL odvaže se 30 g samljevenog uzorka lista smokve i doda se 200 mL destilirane vode. Sadržaj tikvice se promiješa i doda se 100 mL destilirane vode kako bi se isprao zaostatak uzorka sa stijenki tikvice. Tikvica s mješavinom uzorka i vode spoji se na aparaturu po Clevengeru (slika 10). Separator aparature se ispuni destiliranom vodom, a zatim se doda 1 mL *n*-heksana p.a. Sadržaj tikvice se kontinuirano zagrijava, a vrijeme destilacije se mjeri od trenutka vrenja, odnosno od trenutka kada se prva kap destilata kondenzira na vodenom hladilu. Destilacija traje 2 h uz održavanje stalne temperature zagrijavanja. Po završetku vodene destilacije, najprije se ispusti destilat, a zatim se eterično ulje uhvaćeno u sloju *n*-heksana pažljivo izdvoji u vialu. Potom se *n*-heksan upari iz viala s uzorkom u struji dušika kako bi zaostalo samo eterično ulje. Prije sljedeće destilacije aparatura se ispire destilacijom etanola (96 %-tni) te potom destilacijom destilirane vode. Postupak vodene destilacije proveden je u dva ponavljanja za svaki uzorak.



Slika 10. Vodena destilacija u aparaturi po Clevengeru (vlastita fotografija)

3.2.2. Određivanje prinosa

Prinos se računa prema jednadžbi [1]:

$$\text{prinos (\%)} = \frac{m(\text{eteričnog ulja})}{m(\text{uzorka})} \cdot 100 \quad [1]$$

gdje je:

m (eteričnog ulja) = masa eteričnog ulja (g)

m (uzorka) = masa usitnjenih listova smokve (g)

3.2.3. Analiza hlapljivih spojeva GC-MS analizom

Priprema uzorka za plinsku kromatografiju:

Pomoću mikropipete u vialu s eteričnim uljem doda se 30 μL otopine internog standarda i 70 μL *n*-heksana HPLC čistoće te se sadržaj prenese u vialu s insertom od 150 μL .

Postupak određivanja:

Pripremljeni uzorak analiziran je na plinskom kromatografu (GC) 6890N s 5973 *inert* masenim spektrometrom (MS), koji je spojen na računalo s instaliranim softverom MSD ChemStation Data Analysis. Analiza se provela na kapilarnoj koloni Agilent HP-5MS [(5%-fenil)-metilpolisiloksan; 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm] uz sljedeće uvjete: volumen injektiranog uzorka 1 μL , omjer razdjeljenja (eng. *split ratio*) 100:1 te helij kao plin nosioc uz konstantan protok 1 mL min⁻¹. Tijekom analize koristio se sljedeći temperaturni program kolone: početna temperatura 40 °C, zatim 40 - 250 °C (3 °C min⁻¹) te zadržavanje 3 min na maksimalnoj temperaturi (250 °C). Ukupno vrijeme trajanja kromatografske analize bilo je 73 min. Temperatura injektora bila je 250 °C, dok su temperature premosnice, MS izvora i kvadripola iznosile 280, 230 i 150 °C. Energija elektrona za ionizaciju molekula uzoraka bila je 70 eV, a način rada postavljen je kao snimanje ukupnog ionskog kromatograma (eng. *total ion chromatogram*, TIC). Parametri masenog spektrometra bili su postavljeni na brzinu očitavanja 1 očitavanje s⁻¹, a opseg razdvajanja mase i naboja (*m/z*) u rasponu 30 - 550. Analiza je provedena u dva paralelna određivanja.

Identifikacija i kvantifikacija:

Identifikacija hlapljivih spojeva provedena je usporedbom masenih spektara (m/z) ispitivanih spojeva s onima dostupnim u literaturi i NIST bazi podataka. Također, izračunat je retencijski indeks (RI) analiziranih spojeva i uspoređen s podacima u dostupnoj literaturi. Kako bi se izračunao retencijski indeks izdvojenih hlapljivih spojeva pripremi se standardna smjesa $C_7 - C_{30}$ alkana i analizira pod istim kromatografskim uvjetima kao i uzorci. RI je izračunat prema formuli [2]:

$$RI_X = 100 \cdot C_Y + 1000 \cdot (C_Z - C_Y) \cdot \log \quad [2]$$

gdje je:

RI_X - retencijski indeks analiziranog spoja

C_Y - broj ugljikovih atoma alkana nižeg broja ugljikovih atoma čije je retencijsko vrijeme najbliže retencijskom vremenu analiziranog spoja

C_Z - broj ugljikovih atoma alkana višeg broja ugljikovih atoma čije je retencijsko vrijeme najbliže retencijskom vremenu analiziranog spoja

\log - logaritam retencijskih vremena izračunat prema formuli [3]:

$$\log = \frac{\log RT(X) - \log RT(Y)}{\log RT(Z) - \log RT(Y)} \quad [3]$$

gdje je:

$RT(X)$ - retencijsko vrijeme analiziranog spoja

$RT(Y)$ - retencijsko vrijeme odgovarajućeg alkana nižeg broja ugljikovih atoma

$RT(Z)$ - retencijsko vrijeme odgovarajućeg alkana višeg broja ugljikovih atoma

Udio (%) analiziranog spoja u uzorku izračunat je prema formuli [4]:

$$udio (\%) = \frac{A/A_{is}}{\sum A/A_{is}} \cdot 100 \quad [4]$$

gdje je:

A/A_{is} – omjer površine ispod pika analiziranog spoja i površine ispod pika internog standarda

4. REZULTATI I RASPRAVA

Provedenim istraživanjem vodenom destilacijom izolirano je eterično ulje listova 9 različitih sorti smokve (Fico della Madonna, Bjelica, Zimica, Miljska figa, Tiger, Šaraguja, Sušioka, Petrovača bijela i Petrovača crna) ubranih u okolici Rovinja u 2020. godini. Eterično ulje podvrgnuto je GC analizi te je detektirano oko 200 različitih spojeva u svakom uzorku. Međutim, u radu je prikazano 46 spojeva za svaki uzorak koji su u provedenom istraživanju bili prisutni u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane spojeve u tom uzorku. Od tih 46 spojeva 8 ih je neidentificirano, dok 38 identificiranih spojeva pripada skupinama: alkana, aldehida, estera, terpenoida (monoterpenoida, norizoprenoida, seskviterpenoida, diterpenoida) i ostalim skupinama.

Na slici 11 prikazan je prinos (%) eteričnog ulja izoliranog iz listova smokve 9 sorti.

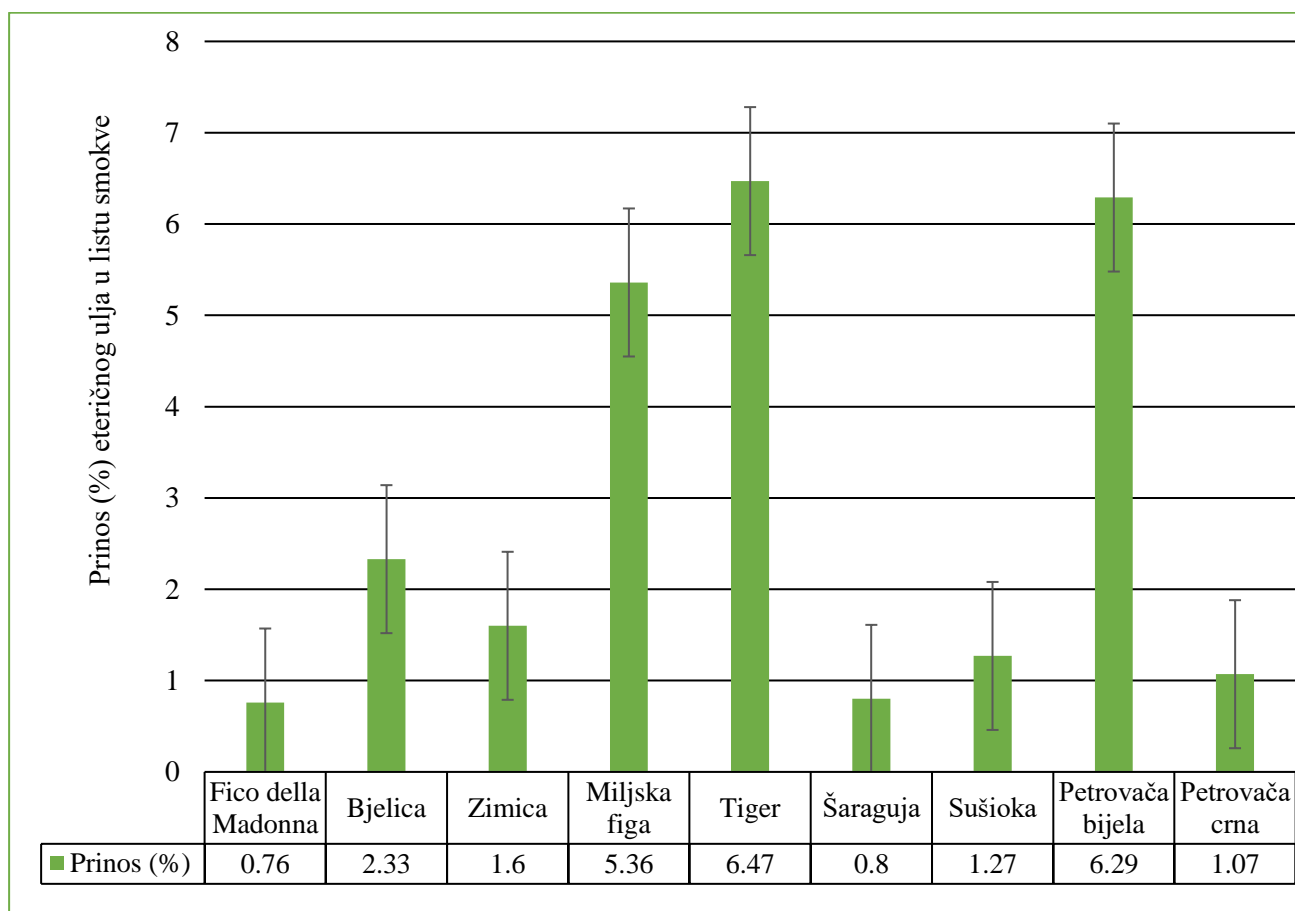
U tablici 4 prikazano je izdvojenih 46 spojeva s pripadajućim retencijskim vremenima i izračunatim retencijskim indeksima.

Rezultati pojedinih spojeva prikazani su kao udio spoja (%) u ukupnoj površini svih detektiranih spojeva pojedinog uzorka, a prikazani su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija dva paralelna mjerenja i razvrstani po skupinama (tablice od 5 do 10).

Zbroj udjela svih spojeva prisutnih u uzorcima listova smokve pojedinih sorti u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane aromatične spojeve prikazan je na slici 12.

Na slici 13 prikazan je broj spojeva koji pripadaju pojedinim skupinama (alkana, aldehida, estera, terpenoida, fenola i ostalih spojeva) prisutnih u svakom uzorku zasebno, dok su na slici 14 prikazani udjeli navedenih skupina u svakom uzorku.

U tablici 11 prikazana su tri najzastupljenija spoja u svakom uzorku lista smokve.



Slika 11. Prinos (%) dobivenog eteričnog ulja u listovima smokve različitih sorti

Na slici 11 navedeni su izračunati prinosi dobivenog ulja uzoraka 9 sorti smokve. Najveći prinos dobiven je iz sorte Tiger (6,47 %), zatim slijede redom sorte Petrovača bijela, Miljska figa, Bjelica, Zimica, Sušioka, Petrovača crna, Šaraguja i Fico della Madonna s najmanjim prinosom (0,76 %).

Tablica 4. Spojevi prisutni u uzorcima listova 9 sorti smokve u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane aromatične spojeve s pripadajućim retencijskim vremenima (RT) i izračunatim retencijskim indeksima (RI)

Broj pika	RT (min)	RI	Spoj
1	11,855	1010	(2E,4E)-hepta-2,4-dienal
2	16,133	1104	Nonanal
3	20,167	1192	Metil salicilat
4	21,376	1220	β -Ciklocitral
5	21,94	1233	Z-ocimenon
6	23,509	1268	Neidentificirani spoj
7	25,526	1312	2-metoksi-4-vinilfenol
8	25,674	1316	(2E,4E)-deka-2,4-dienal
9	28,608	1384	β -Damaskenon
10	30,014	1418	β -Kariofilen
11	30,406	1427	Trans- β -ionon
12	31,11	1445	(+)-Sativen
13	31,408	1452	Humulen
14	31,48	1454	Geranilaceton
15	32,545	1480	Germakren D
16	32,78	1485	β -Ionon
17	33,175	1494	Biciklogermakren
18	33,892	1513	2,4-ditert-butilfenol
19	34,076	1518	Neidentificirani spoj
20	34,317	1524	δ -Kadinen
21	35,882	1565	1,5-epoksisalvial-4(14)-en
22	36,308	1576	Spatulenol
23	36,524	1581	Kariofilen oksid
24	36,845	1589	(+)- γ -Gurjunen
25	36,963	1592	Neidentificirani spoj
26	37,861	1616	1-metil-2-(3-metilbenzil)benzen
27	38,137	1624	Aromadendren
28	38,268	1628	Neidentificirani spoj
29	38,367	1918	Farnesilaceton
30	38,783	1642	γ -Elemen
31	39,524	1662	Neidentificirani spoj
32	40,092	1677	6-vinil-7-metoksi-2,2-dimetilkromen
33	40,334	1683	Neidentificirani spoj
34	40,582	1690	3-fenoksibenzaldehid

Tablica 4. Spojevi prisutni u uzorcima listova 9 sorti smokve u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane aromatične spojeve s pripadajućim retencijskim vremenima (RT) i izračunatim retencijskim indeksima (RI) – *nastavak*

Broj pika	RT (min)	RI	Spoj
35	41,445	1714	Pentadekanal
36	42,556	1746	2-benzildeneoktanal
37	43,156	1764	Neidentificirani spoj
38	43,346	1769	Neidentificirani spoj
39	44,943	1815	2H-furo[2,3-H]-1-benzopiran-2-on
40	45,966	1846	Heksahidrofarnesilaceton
41	46,698	1868	Ftalna kiselina izobutil oktil ester
42	47,518	1892	Metil(11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat
43	54,417	2113	Fitol
44	61,461	2399	Tetrakosan
45	65,068	2499	Pentakosan
46	69,975	2699	Heptakosan

Tablica 5. Udio identificiranih alkana i estera (%) u listovima 9 sorti smokve

	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
ALKANI									
Tetrakosan	nd	nd	nd	1,03±1,01	nd	nd	0,91±0,69	nd	0,75±0,71
Pentakosan	nd	0,57±0,03	nd	nd	nd	nd	0,48±0,04	nd	0,56±0,08
Heptakosan	nd	1,54±0,02	0,61±0,06	2,44±0,06	nd	1,02±0,09	0,61±0,05	0,75±0,22	3,10±0,06
ESTERI									
Metil salicilat	nd	nd	nd	nd	nd	0,52±0,02	nd	0,78±0,07	nd
Ftalna kiselina izobutil oktil ester	nd	nd	nd	0,56±0,01	0,81±0,01	0,69±0,01	nd	1,03±0,03	0,81±0,01
Metil-(11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat	0,65±0,04	2,78±0,00	8,21±0,12	1,76±0,01	nd	1,54±0,02	1,91±0,00	nd	nd

nd - nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Tablica 6. Udio identificiranih aldehida i fenola (%) u listovima 9 sorti smokve

	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
ALDEHIDI									
(2E,4E)-hepta-2,4-dienal	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,27±0,02	1,11±0,20	1,70±0,01
(2E,4E)-deka-2,4-dienal	nd	nd	nd	nd	nd	0,77±0,02	0,52±0,00	1,00±0,10	0,77±0,02
Nonanal	nd	0,97±0,02	0,73±0,00	1,09±0,01	0,74±0,07	1,52±0,04	0,81±0,01	2,03±0,29	1,61±0,01
3-fenoksibenzaldehid	nd	1,19±0,05	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Pentadekanal	nd	0,73±0,01	1,28±0,01	0,57±0,01	nd	1,26±0,03	0,73±0,00	0,81±0,10	0,68±0,00
2-benzildeneoktanal	nd	0,58±0,01	nd	nd	nd	nd	nd	1,08±0,05	1,03±0,01
FENOLI									
2-metoksi-4-vinilfenol	0,90±0,02	nd	1,95±0,04	3,53±0,10	6,23±1,59	nd	0,77±0,00	0,91±0,07	1,99±0,01
2,4-ditert-butilfenol	1,56±0,03	2,51±0,07	1,67±0,01	1,93±0,05	1,89±0,08	2,42±0,04	2,63±0,12	1,94±0,04	1,43±0,02

nd - nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Tablica 7. Udio identificiranih monoterpenoida, norizoprenoida i diterpenoida (%) u listovima 9 sorti smokve

	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
MONOTERPENOID									
Z-ocimenon	nd	nd	nd	0,79±0,01	nd	nd	nd	nd	nd
NORIZOPRENOIDI									
β-Damaskenon	nd	nd	nd	nd	nd	0,56±0,00	nd	nd	nd
β-Ciklocitral	nd	nd	1,15±0,04	1,34±0,04	nd	1,07±0,03	0,66±0,01	1,21±0,21	0,84±0,01
Trans-β-ionon	nd	0,64±0,02	nd	nd	nd	nd	1,09±0,02	nd	nd
β-Ionon	1,21±0,01	1,98±0,06	1,18±0,01	2,46±0,08	1,94±0,06	2,75±0,13	3,76±0,11	2,41±0,16	3,46±0,07
Geranilaceton	0,66±0,01	1,12±0,10	nd	1,49±0,03	0,72±0,02	1,25±0,05	0,75±0,02	1,53±0,08	1,12±0,02
DITERPENOID									
Fitol	3,75±0,17	11,39±0,00	8,56±0,00	6,96±0,03	5,95±2,00	14,14±0,32	13,79±0,18	13,43±0,63	14,20±0,02

nd - nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Tablica 8. Udio identificiranih seskviterpenoida (%) u listovima 9 sorti smokve

SESKVITERPENOIDI	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
β-Kariofilen	11,39±0,22	2,01±0,15	7,83±0,23	1,25±0,04	14,58±2,83	1,82±0,08	6,00±0,17	1,58±0,15	3,45±0,08
(+)-Sativen	0,58±0,00	nd	nd	1,83±0,06	nd	nd	nd	nd	nd
Humulen	0,72±0,00	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Germakren D	nd	nd	nd	2,81±0,08	1,25±0,01	0,93±0,03	nd	0,65±0,01	nd
Biciklogermakren	nd	nd	nd	nd	2,50±0,33	nd	nd	nd	nd
δ-Kadinen	nd	2,22±0,09	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1,5-epoksisalvial-4(14)-en	nd	nd	nd	0,55±0,02	nd	0,86±0,06	nd	nd	nd
Kariofilen oksid	27,64±0,44	1,97±0,05	12,18±0,33	1,18±0,04	10,61±1,93	1,32±0,04	14,05±0,50	0,71±0,00	6,61±0,13
(+)-γ-Gurjunen	nd	nd	0,64 ± 0,00	nd	0,86 ± 0,04	nd	nd	nd	nd
Aromadendren	nd	nd	0,61±0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd – nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

Tablica 8. Udio identificiranih seskviterpenoida (%) u listovima 9 sorti smokve - *nastavak*

SESKVITERPENOIDI	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
γ -Elemen	nd	nd	1,01±0,01	nd	nd	nd	nd	nd	1,13±0,03
Spatulenol	nd	nd	nd	0,70±0,00	3,63±0,33	0,69±0,02	nd	nd	nd
Farnesilaceton	nd	nd	0,60±0,01	0,89±0,00	nd	0,98±0,02	nd	0,89±0,07	1,03±0,01
Heksahidrofarnesilaceton	0,72±0,01	0,94±0,03	1,01±0,01	1,25±0,01	1,17±0,14	1,56±0,04	2,39±0,06	2,69±0,11	2,27±0,04

nd - nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

Tablica 9. Udio identificiranih spojeva ostalih skupina (%) u listovima 9 sorti smokve

SPOJEVI OSTALIH SKUPINA	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
2H-furo[2,3-H]-1-benzopiran-2-on	0,68±0,07	nd	0,64±0,01	1,92±0,05	0,68±0,10	0,70±0,02	0,67±0,02	nd	nd
1-metil-2-(3-metilbenzil)benzen	nd	1,33±0,05	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6-vinil-7-metoksi-2,2-dimetilkromen	nd	nd	nd	2,83±0,06	nd	nd	1,12±0,00	nd	2,21±0,03

nd - nije detektiran

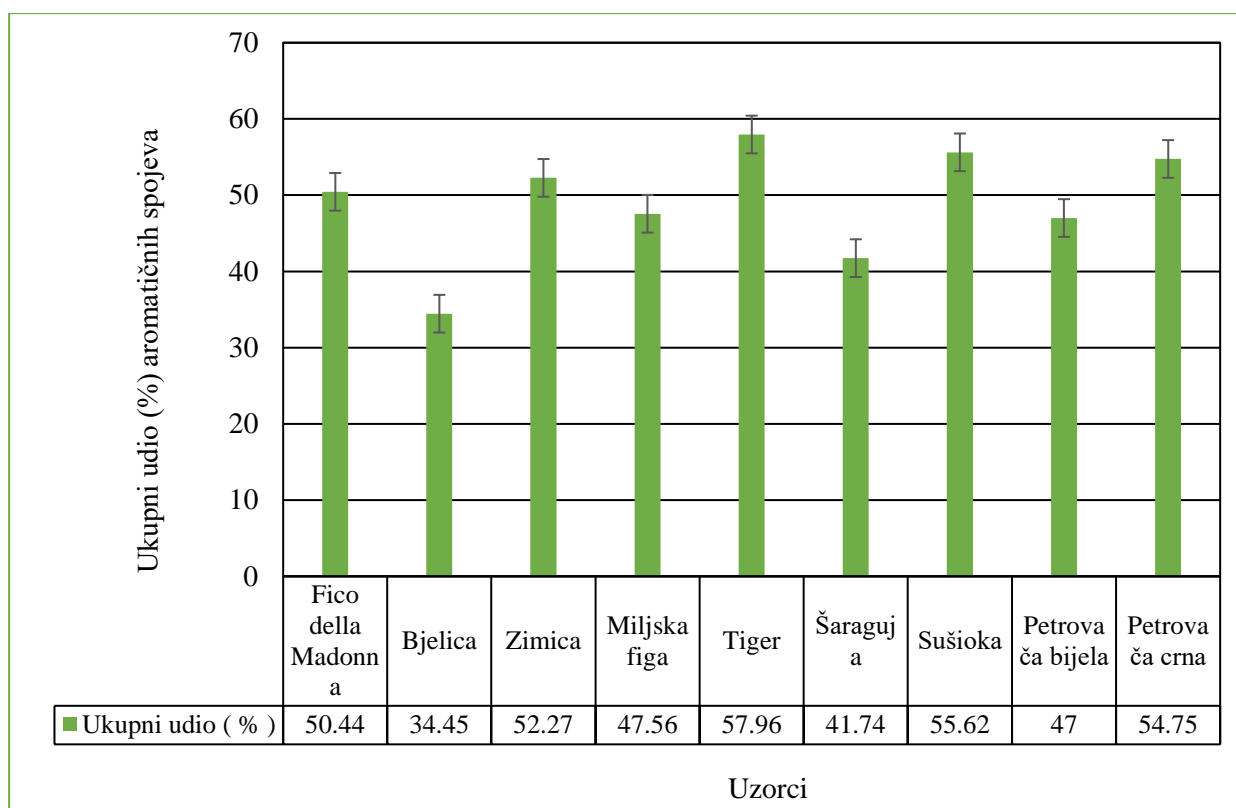
Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

Tablica 10. Udio neidentificiranih spojeva (%) u listovima 9 sorti smokve

NEIDENTIFICIRANI SPOJ	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
1.	nd	nd	nd	1,03±0,00	1,22±0,03	nd	nd	nd	nd
2.	nd	nd	0,68±0,05	1,12±0,03	0,76±0,15	0,83±0,02	0,69±0,00	0,94±0,01	0,87±0,01
3.	nd	nd	0,61±0,01	1,14±0,00	nd	0,84±0,02	nd	nd	nd
4.	nd	nd	nd	1,43±0,04	nd	0,99±0,07	nd	nd	nd
5.	nd	nd	0,61±0,00	0,68±0,00	0,63±0,12	0,71±0,01	nd	0,89±0,03	0,88±0,01
6.	nd	nd	nd	0,98±0,02	nd	nd	nd	nd	nd
7.	nd	nd	nd	nd	0,68±0,22	nd	nd	1,14±0,05	0,92±0,02
8.	nd	nd	0,58±0,02	nd	1,12±0,16	nd	nd	1,49±0,15	1,34±0,00

nd - nije detektiran

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

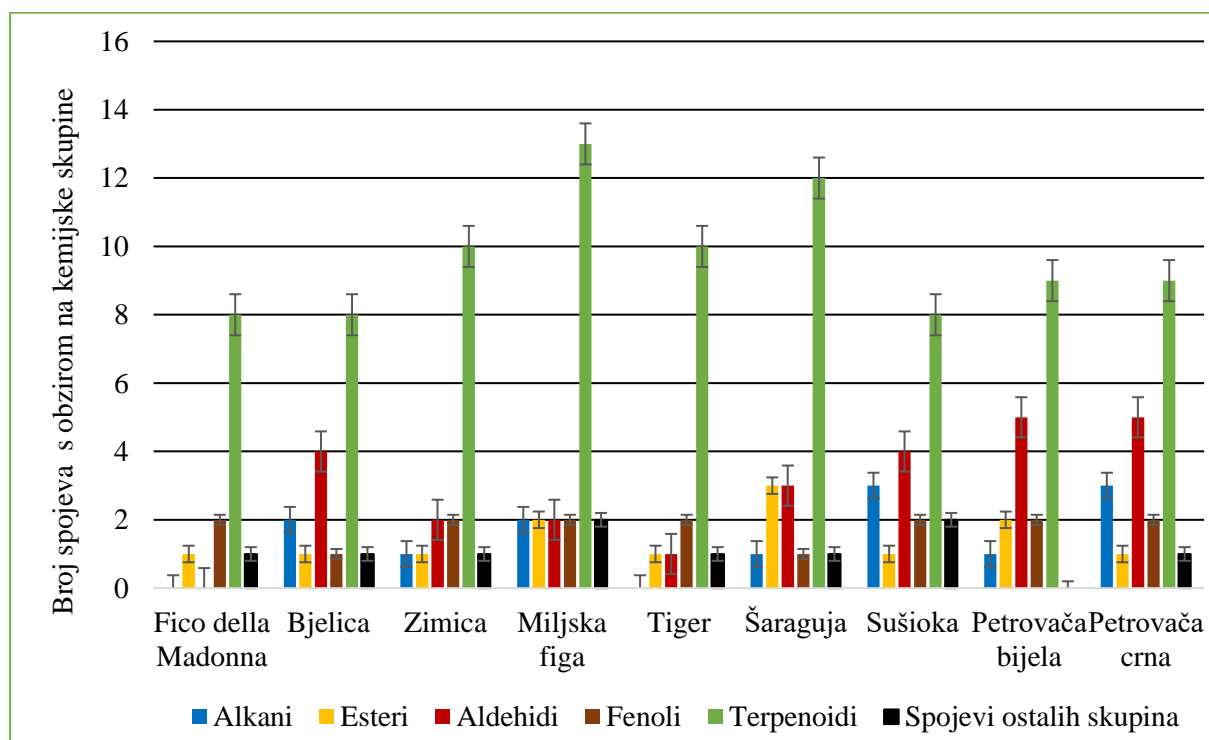


Slika 12. Ukupni udio spojeva prisutnih u uzorcima listova 9 sorti smokve u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane aromatične spojeve

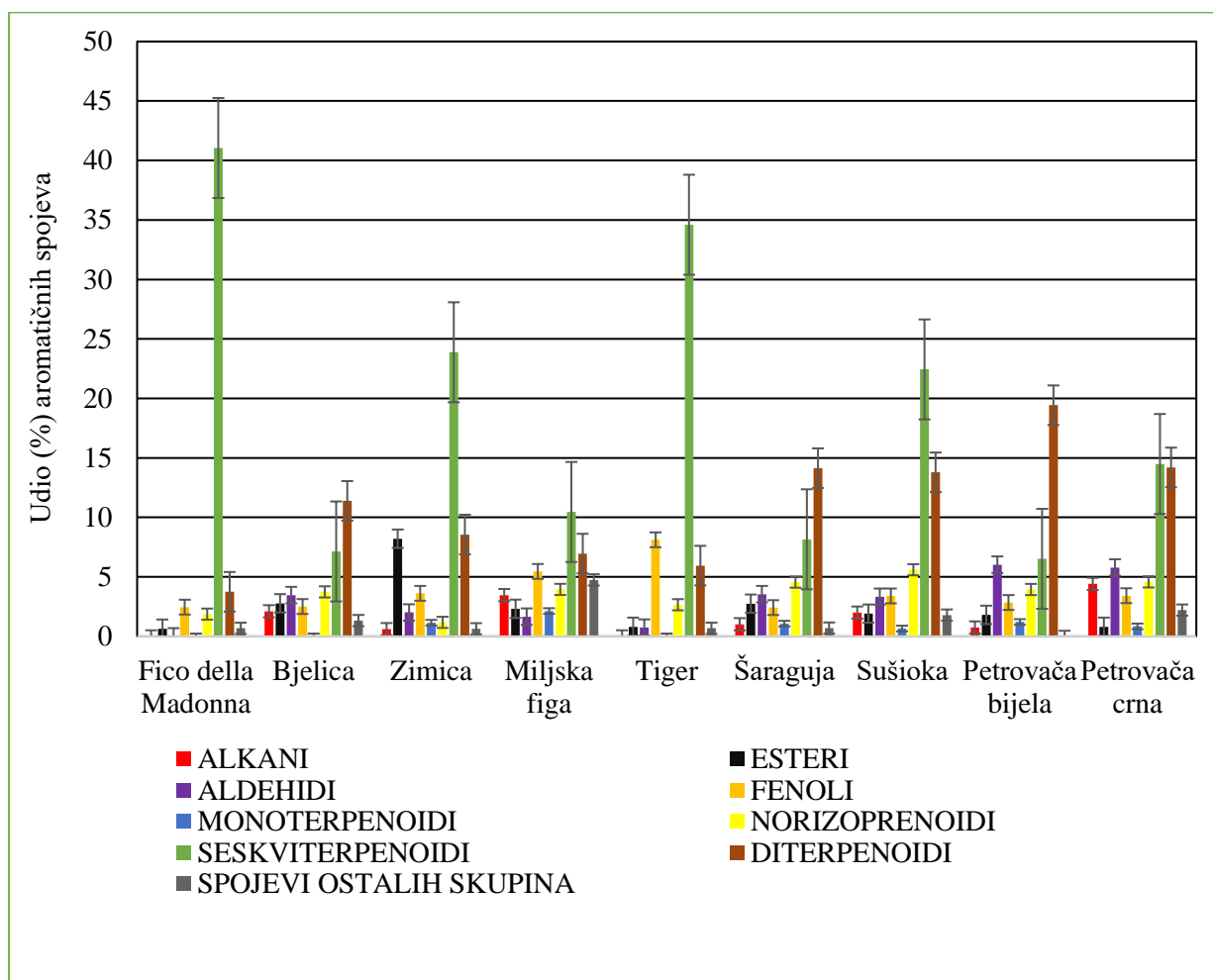
Iz grafičkog prikaza (slika 12) vidljivo je kako je ukupni udio aromatičnih spojeva u uzorcima listova smokve *Ficus carica* između 40 i 60 % s obzirom na ukupni broj detektiranih spojeva u uzorku. Jedino je u sorti Bjelica prisutan manji udio hlapljivih aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % i iznosi 34,45 %. Najveći udio izdvojenih aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % prisutan je u sorti Tiger 57,96 %. U navedenoj sorti prisutno je 20 spojeva te seskviterpenoidi β -kariofilen s udjelom od $14,58 \pm 2,83$ % i kariofilen oksid s udjelom od $10,61 \pm 1,93$ % zauzimaju najveće udjele. U sorti Miljska figa izdvojeno je najviše spojeva, 29 te je diterpenoid fitol prisutan u najvećem udjelu $6,96 \pm 0,03$ %. U sorti Fico della Madonna izdvojeno je samo 12 spojeva, među kojima je 5 seskviterpenoida. Međutim, udio aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosi 50,44 %, a kariofilen oksid zauzima najveći udio od $27,64 \pm 0,44$ %. Također, izdvaja se udio β -kariofilena u iznosu $11,39 \pm 0,22$ %. U sorti Bjelica izdvojeno je 17 spojeva, a najveći udio od $11,39 \pm 0,00$ zauzima fitol, dok ukupni udio aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosi 34,45 %. U sorti Zimica izdvojen je 21 spoj, a ukupni udio aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosi 52,27 %. Kariofilen oksid s udjelom $12,18 \pm 0,33$ % zauzima najveći udio uz fitol s udjelom $8,56 \pm 0,00$ % i metil

(11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat s udjelom $8,21 \pm 0,12$ %. U sorti Šaraguja izdvojeno je 25 aromatičnih spojeva s ukupnim udjelom aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosa 41,74 %. Fitol s udjelom od $14,14 \pm 0,32$ % zauzima najveći udio između izdvojenim spojevima. U sorti Sušioka izdvojen je 21 spoj s ukupnim udjelom aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosa 55,62 %. Najveće udjele zauzimaju kariofilen oksid $14,05 \pm 0,50$ % i fitol $13,79 \pm 0,18$ %. U sorti Petrovača bijela izdvojena su 23 aromatična spoja koji zauzimaju ukupni udio aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % od 47,00 %. Također, najveći udio pripada fitolu $13,43 \pm 0,63$ % kao i u sorti Petrovača crna u kojoj udio fitola iznosi $14,10 \pm 0,02$ %. U sorti Petrovača crna izdvojeno je 25 spojeva s ukupnim udjelom aromatičnih spojeva udjela većeg od 0,5 % iznosa 54,75 %.

Kariofilen oksid, β -kariofilen, β -ionon, 2,4-ditert-butilfenol, heksahidrofarnesilaceton i fitol detekrirani su u svim uzorcima. 3-fenoksibenzaldehid, δ -kadinen i 1-metil-2-(3-metilbenzil)benzen detektirani su jedino u sorti Bjelica, dok je Z-ocimenon detektiran jedino u sorti Miljska figa, β -damaskenon u sorti Šaraguja, humulen u sorti Fico della Madonna, aromadendren u sorti Zimici te biciklogermakren u sorti Tiger.



Slika 13. Broj pojedinih spojeva s obzirom na kemijske skupine prisutne u uzorcima listova 9 sorti smokve



Slika 14. Udio aromatičnih spojeva s obzirom na kemijske skupine prisutne u uzorcima listova 9 sorti smokve

Iz grafičkog prikaza (slika 13) vidljivo je kako su terpenoidi najbrojnija skupina spojeva detektiranih u uzorcima provedenog istraživanja. U uzorcima je detektiran 21 terpenoid, od kojih su monoterpenoid (*Z*-ocimenon), norizoprenoidi (β -damaskenon, β -ciklocitral, *trans*- β -ionon, β -ionon i geranilaceton), diterpenoid (fitol) prikazani u tablici 7, te seskviterpenoidi (β -kariofilen, (+)-sativin, humulen, germakren D, biciklogermakren, δ -kadinen, 1,5-epoksisalvial-4(14)-en, kariofilen oksid, (+)- γ -gurjunen, aromadendren, γ -elemen, spatulenol, farnesilaceton i heksahidrofarnesilaceton) prikazani u tablici 8. Seskviterpenoidi su najbrojniji detektirani spojevi u gotovo svim sortama te sorte Fico della Madonna, Zimica i Tiger sadrže značajnije udjele seskviterpenoida s obzirom na udjele ostalih skupina izdvojenih spojeva (slika 14). Sorta Petrovača bijela ističe se s obzirom na visoki udio diterpenoida, što se pripisuje većem udjelu fitola s obzirom na ostale spojeve. Također sorta Fico della Madonna ističe se s najvećim

udjelom seskviterpenoida, a već je navedeno kako kariofilen oksid u navedenom uzorku sadrži najveći udio između ostalih spojeva. Također, sorta Zimica ($12,18 \pm 0,33$ %), Tiger ($10,61 \pm 1,93$ %) i Sušioka ($14,05 \pm 0,05$ %) sadrže značajne udjele kariofilen oksida, dok Petrovača bijela sadrži tek $0,71 \pm 0,00$ %, a Bjelica $1,97 \pm 0,05$ %.

Nafis i sur. (2019) su identificirali 35 spojeva u listu *Ficus carice* uzgajane u Maroku, također pomoću GC - MS analize. Kariofilen oksid je prevladavajući spoj u izdvojenom ulju, uz fikusin i bergapten. Prema Oliveira i sur. (2010), seskviterpenoidi su također najbrojnija skupina spojeva detektiranih u pet različitih sorata lišća portugalske *Ficus carica*. Germakren D, β -kariofilen i δ -elemen glavni su seskviterpenoidi detektirani u navedenom istraživanju. Također, detektiran je i monoterpenoid β -ciklocitral kao i u ovom istraživanju. Osim u listovima, u navedenom istraživanju određen je aromatični sastav pulpe i kore plodova. Najviše spojeva detektirano je u listovima, zatim u pulpi i kori plodova. Za razliku od listova, u pulpi i kori plodova najbrojniju skupinu detektiranih spojeva predstavljaju aldehidi. Germakren D i β -kariofilen detektirani su i u pulpi i kori plodova.

Soltana i sur. (2017) u istraživanju su naveli aromatski profil listova i plodova *Ficus carice* s područja Tunisa. Kao i u istraživanju kojeg su proveli Oliveira i sur. (2010), veći broj spojeva je detektiran u listovima nego u plodovima. Također, najviše detektiranih spojeva pripada skupini terpenoida. β -kariofilen, aromadendren, humulen, biciklogermakren, δ -kadinen, spatulenol, kariofilen oksid, β -ciklocitral, β -damaskenon detektirani su u listovima sorata *Ficus carica* s područja Tunisa kao i u ovom provedenom istraživanju.

Sorta Petrovača crna sadrži najveći udio detektiranih alkana te su prisutna sva tri identificirana alkana (tetrakosan, pentakosan i heptakosan) kao i u sorti Sušioka. U sorti Fico della Madonna i sorti Tiger nisu detektirani navedeni alkani. U istraživanju koje su proveli Ayoub i sur. (2010), naveden je upravo alkan tetrakosan kao jedan od glavnih identificiranih spojeva s najvećim udjelom u izoliranom ulju listova egipatske *Ficus carice*. Jedino 3-heksenil benzoat u navedenom istraživanju sadrži veći udio od tetrakosana. Također, fitol i nonanal su navedeni kao glavne komponente. Kao i u ovom istraživanju detektirani su spojevi: metil salicilat, β -damaskenon, β -kariofilen, β -ionon, spatulenol, heptakosan, pentakosan i heksahidrofarnesilaceton.

U uzorcima je identificirano 6 aldehida: (2E,4E)-hepta-2,4-dienal, (2E,4E)-deka-2,4-dienal, nonanal, 3-fenoksibenzaldehid, pentadekanal i 2-benzildeneoktanal. U sorti Fico della Madonna nije izdvojen niti jedan aldehyd, dok u sorti Petrovača bijela i Petrovača crna nije

detektiran samo 3-fenoksibenzaldehid. Najveći udio navedenih aldehida u provedenom istraživanju detektiran je u sorti Petrovača bijela. Nonanal nije detektiran samo u sorti Fico della Madonna, te je nonanal jedini aldehyd detektiran u sorti Tiger. Soltana i sur. (2017) navode pentadekanal kao jedan od glavnih spojeva u listovima *Ficus carice* iz Tunisa.

Jun i sur. (2012) odredili su aromatski sastav kineske *Ficus carica*. Psoralen, β -damaskenon, benzil alkohol, behenska kiselina i bergapten su glavni spojevi. (2E,4E)-hepta-2,4-dienal, (2E,4E)-deka-2,4-dienal, metil salicilat, geranilacetone, β -ionon, heksahidrofarnesilacetone, tetrakosan, pentakosan, heptakosan, ftalna kiselina izobutil oktil ester, fitol, Z-ocimenon i 2H-furo[2,3-H]-1-benzopiran-2-on identificirani su u lišću kineske *Ficus carica* kao i u ovom istraživanju.

U tablici 10 navedeno je i 8 neidentificiranih spojeva. Najviše neidentificiranih spojeva sadrži sorta Miljska figa. Sorta Fico della Madonna i sorta Bjelica ne sadrže neidentificirane spojeve, dok je u sorti Sušioka izdvojen jedan neidentificirani spoj.

Tablica 11. Prikaz tri najzastupljenija spoja u svakom uzorku lista smokve

	Fico della Madonna	Bjelica	Zimica	Miljska figa	Tiger	Šaraguja	Sušioka	Petrovača bijela	Petrovača crna
β -Kariofilen	++				+++		+		
Kariofilen oksid	+++		+++		++		+++		++
Metil-(11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat		++	+						
Fitol	+	+++	++	+++		+++	++	+++	+++
2,4-ditert-butilfenol		+				+			
2-metoksi-4-vinilfenol				++	+				
Germakren D				+					
β -Ionon						++		+	+
Heksahidrofarnesilacetone								++	

+++ - najzastupljeniji spoj u uzorku, ++ - drugi najzastupljeniji spoj u uzorku, + - treći najzastupljeniji spoj u uzorku

S obzirom na 46 detektirana aromatična spoja, u tablici 11 izdvojeni su najzastupljeniji aromatični spojevi u svakom uzorku zasebno. Fitol je najzastupljeniji spoj u uzorcima Bjelica, Miljska figa, Šaraguja, Petrovača bijela i Petrovača crna, dok je u uzorcima Fico della Madonna i Sušioka najzastupljeniji kariofilen oksid, a u uzorku Tiger β -kariofilen. Ester metil-(11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat u uzorcima Bjelica i Zimica spada među najzastupljenije spojeve, kao i fenol 2,4-ditert-butilfenol u uzorcima Bjelica i Šaraguja te fenol 2-metoksi-4-vinilfenol u uzorcima Miljska figa i Tiger. Seskviterpenoid germakren D među zastupljenijim je spojevima u uzorku Miljska figa, dok je seskviterpenoid heksahidrofarnesilaceton među zastupljenijim spojevima u uzorku Petrovača bijela. U uzorcima Šaraguja, Petrovača bijela i Petrovača crna, β -ionon je jedan od zastupljenijih spojeva.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata i provedene diskusije, mogu se izvući sljedeći zaključci:

1. Izolirano je eterično ulje listova 9 različitih sorti smokve. Najveći prinos dobiven je iz sorte Tiger, zatim slijede redom sorte Petrovača bijela, Miljska figa, Bjelica, Zimica, Sušioka, Petrovača crna, Šaraguja i Fico della Madonna.
2. U izoliranom ulju detektirano je oko 200 različitih spojeva u svakom uzorku, a 46 spojeva je bilo prisutno u udjelu većem od 0,5 % s obzirom na ostale detektirane spojeve u tom uzorku te su detaljnije analizirani.
3. Od detektiranih 46 aromatičnih spojeva, najveći udio prisutan je u sorti Tiger (57,96 %), dok je u sorti Bjelica zabilježen najmanji udio (34,45 %).
4. Od 46 spojeva identificirana su tri alkana: tetrakosan, pentakosan, heptakosan; tri estera: metil salicilat, ftalna kiselina izobutil oktil ester, metil (11E,14E,17E)-ikosa-11,14,17-trienoat; šest aldehida: (2E,4E)-hepta-2,4-dienal, (2E,4E)-deka-2,4-dienal, nonanal, 3-fenoksibenzaldehid, pentadekanal, 2-benzildeneoktanal; dva fenola: 2-metoksi-4-vinilfenol, 2,4-ditert-butilfenol; jedan monoterpenoid: Z-ocimenon; četiri norizoprenoida: β -damaskenon, trans- β -ionon, β -ionon, geranilaceton; jedan diterpenoid: fitol; četrnaest seskviterpenoida: β -kariofilen, (+)-sativen, humulen, germakren D, biciklogermakren, δ -kadinen, 1,5-epoksisalvial-4(14)-en, kariofilen oksid, (+)- γ -gurjunen, aromadendren, γ -elemen, spatulenol, farnesilaceton, heksahidrofarnesilaceton; te spojevi 2H-furo[2,3-H]-1-benzopiran-2-on, 1-metil-2-(3-metilbenzil)benzen, 6-vinil-7-metoksi-2,2-dimetilkromen te je među njima bilo i osam neidentificiranih spojeva.
5. Kariofilen oksid, β -kariofilen, β -ionon, 2,4-ditert-butilfenol, heksahidrofarnesilaceton i fitol detektirani su u svim uzorcima.
6. 3-fenoksibenzaldehid, δ -kadinen i 1-metil-2-(3-metilbenzil)benzen detektirani su jedino u sorti Bjelica. Z-ocimenon detektiran je jedino u sorti Miljska figa. β -damaskenon detektiran je jedino u sorti Šaraguja. Humulen je detektiran jedino u sorti Fico della Madonna. Aromadendren je detektiran jedino u sorti Zimica. Biciklogermakren je detektiran jedino u sorti Tiger.

7. Seskviterpenoidi su najbrojnija skupina aromatičnih spojeva većini ispitivanih sorti *Ficus carica* te sorta Fico della Madonna sadrži najveći udio seskviterpenoida s obzirom na ostale uzorke.
8. Kariofilen oksid u sorti Fico della Madonna je identificirani spoj najvećeg udjela ($27,64 \pm 0,44$ %) u ovome istraživanju. Zatim slijede β -kariofilen ($14,58 \pm 2,83$ %) identificiran u sorti Tiger te fitol ($14,14 \pm 0,32$ %) u sorti Šaraguja.
9. Općenito sorta Tiger se istakla kao sorta u kojoj je određen najveći udio eteričnog ulja i analizirani spojevi predstavljali su najveći udio u odnosu na ostale detektirane spojeve, među kojima su seskviterpenoidi bili najbrojnija i najzastupljenija skupina, a β -kariofilen najzastupljeniji spoj.

6. LITERATURA

Aragüez I, Valpuesta Fernández V (2013) Metabolic engineering of aroma components in fruits. *Biotechnol. J.* **8**, 1144-1158.

Ayoub N, Singab AN, Mostafa N, Schultze W (2010) Volatile constituents of leaves of *Ficus carica* Linn. grown in Egypt. *J. Essent. Oil-Bear. Plant.* **13**, 316-321.

Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH, Mahajan RT (2014) Traditional uses phytochemistry and pharmacology of *Ficus carica*: A review. *Pharm Biol.* **52**, 1487-1503.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2004) Food Chemistry. Springer, Berlin / Heidelberg, str. 342–346.

Bercu R, Popoviciu DR (2014) Anatomical study of *Ficus carica* L. leaf. *Annals of R. S. C. B.* **19**, 33-37.

Bicchi C, Maffei M (2012) The plant volatilome: methods of analysis. U: Normanly J (ured.) High - throughput phenotyping in plants, Humana Press, Totowa NJ, str. 291.

Breitmaier E (2006) Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones, John Wiley & Sons, Weinheim, str. 1–11.

Chamorro ER, Zambón SN, Morales WG, Sequeira AF, Velasco GA (2012) Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. U: Salih B (ured.) Gas chromatography in plant science, wine technology, toxicology and some specific application, Intech Open, London, str. 307-324.

Clevenger JF (1928) Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.* **17**, 345–349.

Crisosto, H., Ferguson L., Bremer V. (2011) Fig (*Ficus carica* L.). U: Yahia EM (ured.) Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Volume 3: cocona to mango, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, str. 134-145.

El Ashabani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Ail Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A, Hartman D, Jilale A, Renaud FNR, Elaissari A (2015) Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int. J. Pharm.* **483**, 220-243.

El Hadi MAM, Zhang FJ, Wu FF, Zhou CH, Tao J (2013) Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules.* **18**, 8200-8229.

El-Shobaki FA, El-Bahay AM, Esmail RS, Abd El Megeid AA, Esmail NS (2010) Effect of figs fruits (*Ficus carica* L.) and its leaves on hyperglycemia in Alloxan diabetic rats. *World J. Dairy & Food Sci.* **5**, 47-57.

Falisticco E (2020) The millenary history of the fig tree (*Ficus carica* L.). *Adv in Agri Horti and Ento.* **2020**, 1–8.

Flaishman MA, Rodov V, Stover E (2008) The fig: botany, horticulture, and breeding. U: Janick J (ured.) Horticultural reviews, John Wiley & Sons, str. 114-135.

Ghazi F, Rahmat A, Yassin Z, Ramli NS, Buslima NA (2012) Determination of total polyphenols and nutritional composition of two different types of *Ficus carica* leaves cultivated in Saudi Arabia. *Pak. J. Nutr.* **11**, 1061-1065.

Harvey D (2000) Modern analytical chemistry, McGraw - Hill, New York, str. 563.

Jun LI, Tian YZ, Sun BY., Dan YANG, Chen JP, Men QM (2012) Analysis on volatile constituents in leaves and fruits of *Ficus carica* by GC - MS. *Chin. Herb. Med.* **4**, 63-69.

Khalil MNA, Fekry MI, Farag MA (2017) Metabolome based volatiles profiling in 13 date palm fruit varieties from Egypt via SPME GC – MS and chemometrics. *Food Chem.* **217**, 171–181.

Khan KY, Khan MA, Niamat R, Shah GM, Fazal H, Seema N (2012) Elemental content of some anti - diabetic ethnomedicinal species of genus *Ficus* Linn. using atomic absorption spectrophotometry technique. *J. Med. Plants Res.* **6**, 2136-2140.

Khatib S, Vaya J (2010) Fig, carob, pistachio, and health. U: Watson RR, Preedy VR (ured.) Bioactive foods in promoting health, Academic Press, London, str. 245-248.

Li Z, Yang Y, Liu M, Zhang C, Shao J, Hou X, Tian J, Cui Q (2021) A comprehensive review on phytochemistry, bioactivities, toxicity studies, and clinical studies on *Ficus carica* Linn. leaves. *Biomed. Pharmacother.* **137**, 111393.

Ludwiczuk A, Skalicka-Woźniak K, Georgiev MI (2017) Terpenoids. U: McCreath SB, Delfoda R (ured.) Pharmacognosy: Fundamentals, applications and strategies, Academic Press, London, str. 233-266.

Mamoucha S, Fokialakis N, Christodoulakis NS (2016) Leaf structure and histochemistry of *Ficus carica* (Moraceae), the fig tree. *Flora.* **218**, 24-34.

Mars M (2001) Fig (*Ficus carica* L.) genetic resources and breeding. *Acta Hort.* **605**, 19-27.

Mawa S, Husain K, Jantan I (2013) *Ficus carica* L.(Moraceae): phytochemistry, traditional uses and biological activities. *Evid.-Based Complementary Altern. Med.* **2013**, 1–8.

McNair HM, Miller JM, Snow NH (2019) Basic gas chromatography, 3. izd., John Wiley & Sons, Hoboken, str. 1–15.

Palić M (2019) Kako uspješno uzgojiti smokvu u dvorištvu i na okućnici – agroklub. <https://www.agroklub.com/vocarstvo/kako-uspjesno-uzgojiti-smokvu-u-dvoristvu-i-na-okucnici/52916/>. Pristupljeno 10. listopada 2021.

Nadeem M, Zeb A (2018) Impact of maturity on phenolic composition and antioxidant activity of medicinally important leaves of *Ficus carica* L. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* **24**, 881–887.

Nafis A, Kasrati A, Jamali CA, Samri SE, Mezrioui N, Abbad A, Hassani L (2019) Antioxidative effect and first evidence of synergistic antimicrobial effects of *Ficus carica* (L.) leaf essential oil with conventional antibiotics. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **22**, 1289-1298.

Nebedum JO, Udeafor PC, Okeke CU (2010) Comparative effects of ethanolic extracts of *Ficus carica* and *Mucuna pruriens* leaves on haematological parameters in albino rats. *Biokemistri.* **22**, 77-84.

Oliveira AP, Silva LR, de Pinho PG, Gil – Izquierdo A, Valentão P, Silva BM., Pereira JA, Andrade PB (2010) Volatile profiling of *Ficus carica* varieties by HS - SPME and GC – IT - MS. *Food Chem.* **123**, 548-557.

Samadi M, Zainal Abidin Z, Yoshida H, Yunus R, Awang Biak DR (2020) Towards higher oil yield and quality of essential oil extracted from *Aquilaria malaccensis* wood via the subcritical technique. *Molecules.* **25**, 3872.

Solana RR, Romano A (2019) Chemical and biological characteristics of *Ficus carica* L. fruits, leaves, and derivatives (wine, spirit, and liqueur). U: Kahramanoglu I, Kafkas NE, Küden A, Çömlekçioğlu S (ured.) Modern Fruit Industry, IntechOpen, str. 896–509.

Soltana H, Flamini G, Hammami M (2017) Volatile compounds from six varieties of *Ficus carica* from Tunisia. *Rec. Nat. Prod.* **11**, 157-165.

Stashenko E, Martínez JR (2014) Gas chromatography - mass spectrometry. U: Guo X (ured.) Advances in gas chromatography, Intech Open, London, str. 1–38.

Stauffer E, Dolan JA, Newman R (2008) Fire debris analysis, Academic Press, Amsterdam, str. 235-293.

Stephen Irudayaraj S, Christudas S, Antony S, Duraipandiyan V, Naif Abdullah AD, Ignacimuthu S (2017) Protective effects of *Ficus carica* leaves on glucose and lipids levels,

carbohydrate metabolism enzymes and β - cells in type 2 diabetic rats. *Pharm. Biol.* **55**, 1074-1081.

USDA (2020) *Ficus carica* L. USDA - United States Department of Agriculture, <https://plants.sc.egov.usda.gov/home/plantProfile?symbol=FICA>. Pristupljeno 19. rujna 2021.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Ana Ljubas izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. Ljubas', written in a cursive style.

Vlastoručni potpis