

Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na hemijski sastav etarskog ulja kleke (*Juniperus communis* L.)

Vladimir P. Pavićević¹, Marko N. Radović¹, Svetomir Ž. Milojević², Miljana S. Marković², Mihailo S. Ristić³, Dragan S. Povrenović¹

¹Tehnološko–metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija

²Fakultet tehničkih nauka u Kosovskoj Mitrovici Univerziteta u Prištini, Srbija

³Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Beograd, Srbija

Izvod

U radu su prikazane promene hemijskog sastava etarskog ulja dobijenog hidrodestilacijom ploda kleke u zavisnosti od brzine destilacije i odnosa mase kleka–voda (hidromodula). Odabrane su 23 komponente (od ukupno 58 određenih) sa masenim udelom većim od 0,5%. Najzastupljeniji su bili monoterpeni, zatim seskviterpeni i mnogo manje oksigenovani ugljovodonici. Prema isparljivosti, najviše je bilo lakoisparljivih, zatim teškoisparljivih i najmanje srednjeisparljivih komponenata. Sa povećanjem brzine destilacije, maseni udeo lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti se smanjuje, dok se maseni udeo teškoisparljivih komponenti povećava. Promene hidromodula su znatno manje uticale na maseni sastav nego promene brzine destilacije. Eksperimente hidrodestilacije treba nastaviti pri različitim brzinama destilacije, uključujući istovremenu rektifikaciju, uticaj pripreme kleke i određivanje optimalne potrošnje energije.

Ključne reči: kleka, etarsko ulje, hemijski sastav, brzina hidrodestilacije, hidromodul.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Prerodom zrelog ploda kleke (*Fructus juniperi*) mogu se dobiti: etarsko ulje, ekstrakti, vodene smeše, alkoholne smeše, aromatizovani napici, prirodni alkoholni destilat karakterističnog mirisa i ukusa, đubrivo organskog porekla i briketi. Hemijski sastav zrelog ploda kleke predstavljen je u tabeli 1 [1]. Etarsko ulje ploda kleke je najvažniji bioaktivan sastojak, koji ima široku primenu i visoku komercijalnu vrednost zbog značajnog antibakterijskog, antivirusnog i antifungalnog dejstva [2,3]. Koristi se u medicini, farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji i veterini. Zbog velikog sadržaja fermentabilnih šećera (najviše glukoze i fruktoze), plod kleke se može koristiti za proizvodnju specifičnog alkoholnog pića [1], dok je otpadni tok džibra sa malo fino suspendovanih čestica koje su biorazgradive, pa ne predstavlja zagađenje za životnu sredinu. Đubrivo ima visoku hranljivu vrednost, može se koristiti kao dodatak za gajenje cveća i za organsku proizvodnju povrtarskih kultura. Briketi potpuno sagorevaju zbog visokog sadržaja smola, imaju visoku toplotnu vrednost, a gasovi i pare nastali njihovim sagorevanjem imaju prijatan miris, pa osvežavaju prostor i deluju antimikrobno.

Etarsko ulje ploda kleke (*Aetheroleum juniperi*) je uljasta, lako isparljiva, bistra, bezbojna, žućkasta ili zelenkasta tečnost karakterističnog mirisa sličnog medi-

Prepiska: V.P. Pavićević, Tehnološko–metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija.

E-pošta: vpavicevic@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 19. novembar, 2015

Rad prihvaćen: 22. februar, 2016

NAUČNI RAD

UDK 582.477:655.5:66:543

Hem. Ind. 71 (1) 1–10 (2017)

doi: 10.2298/HEMIND151119011P

teranskom čempresu (ista familija), ljutog i nagorkog ukusa. Ono je hidrofobna, lipofilna složena smeša terpenoidnih jedinjenja, uglavnom monoterpena i seskviterpena, alkohola, aldehida, ketona, kiselina, laktona, estara i fenola alifatične, aliciklične, aromatične i heterociklične prirode. Čuva se zaštićeno od toplote, svetlosti i jačeg strujanja vazduha. Starije ulje ima tamniju boju, manje je tečljivo, reaguje kiselo i ima miris užeglosti [1,4]. Kvalitet etarskog ulja najčešće se procenjuje na osnovu fizičko-hemijskih karakteristika: izgleda, boje, mirisa, ukusa, gustine, indeksa refrakcije, ugla rotacije i rastvorljivosti u etanolu [5–7]. One, kao i hemijski sastav etarskog ulja, zavise od staništa (lokacije, vrste zemljišta, nadmorske visine, prisojne ili osoj-

Tabela 1. Delimičan hemijski sastav zrelog ploda kleke

Table 1. Incomplete chemical composition of a ripe juniper fruit

Komponenta	Sastav, mas.%
Etarsko ulje	0,2–3,42
Invertni šećer	18,0–40,0
Azotne komponente	4,2
Celulozna vlakna	3,4
Smole	8,0–10,0
Pentozani	6,0
Pektini	0,7
Tanini	> 5,0
Pepeo	6,4
Mravlja kiselina	1,9
Sirćetna kiselina	0,9
Jabučna kiselina	0,2

ne strane), godišnjih klimatskih uslova (osunčanosti, temperature vazduha, padavina), vremena berbe, načina sušenja i skladištenja, tehnike dobijanja, pripreme sirovine (gnječenja, mlevenja, namakanja u vodi) i procesnih parametara.

Etarsko ulje ploda kleke ispoljava farmakološka svojstva karakteristična za komponente koje ulaze u njegov sastav [8,9]. Fenol terpinen-4-ol, najzaslužniji za prijatan miris etarskog ulja, pokazuje jako antiseptično dejstvo zbog aktiviranja belih krvnih zrnaca, kao i diuretsko dejstvo. Terpeni imaju antiseptično, antiupalno i antimikrobno dejstvo. Oni su analgetici, sedativi, antipiretici (snižavaju temperaturu organizma, odnosno sprečavaju groznicu), antispazmatici (ublažavaju grčeve), sredstva za izbacivanje sluzi i usporavanje akumulacije otrova u ljudskom organizmu [10]. Tako je α -pinen jak antiseptik, proširuje krvne sudove kože što dovodi do boljeg protoka krvi i osećaja toplote, a smanjuje se osećaj bola. Kamfen, kadinen, kariofilen, terpinen i sabinen imaju jako izražena antiupalna i antibakterijska svojstva. Miracen deluje kao sedativ, antipiretik i periferni analgetik. Limonen je poznat po svom jakom antivirusnom dejstvu, pomaže pri detoksikaciji jetre i izlučivanju kancerogenih supstanci i može da zaustavi rast tumora [11]. U literaturi su objavljena mnoga istraživanja o farmakološkim i drugim svojstvima etarskog ulja kleke, navedena su neka od njih objavljena od 2000. godine [12–23].

Upotreba kleke je mnogo veća u narodnoj, nego u zvaničnoj medicini. Kod nas i u okolnim zemljama ona je jedan od najpoznatijih i najviše upotrebljivanih narodnih lekova. Čajne mešavine ploda kleke sa delovima drugih biljaka, plodovi i etarsko ulje upotrebljavaju se za lečenje polipa, raka, oteklina, tumora, kolika, vodene bolesti, kostobolje, lumbaga, išijasa, reumatizma, artritisa, arterioskleroze, bronhitisa, tuberkuloze, histerije, upala urinarnih puteva, zatim protiv zmijskog ujeda i za izbacivanje peska i kamena iz bubrega. U zvaničnoj medicini poznata je primena preparata na bazi ekstrakta ploda kleke kao diuretika, urodezinficijensa, stomahika (lek za želudac), karminativa (protiv nadimanja), za izbacivanje kamena, lečenje disajnih organa i kožnih bolesti [1,24]. Alkoholni rastvori etarskog ulja poboljšavaju probavu i pomažu kod dijareje i kolika. U malim dozama etarsko ulje olakšava iskašljavanje, zbog čega se često u savremenoj fitoterapiji koristi za inhalaciju pri oboljenju organa za disanje. Što se tiče njegovog antimikrobnog dejstva, utvrđeno je da je antifungalno snažnije od antibakterijskog dejstva [25]. U kozmetičkoj industriji etarsko ulje se upotrebljava za izradu različitih kozmetičkih preparata u obliku losiona, sprejeva i krema. U veterini se preparati na bazi etarskog ulja i ploda kleke upotrebljavljaju kao antiseptici, diuretici, u lečenju pleuritisa (zapaljenja plućne maramice), kao i sredstvo protiv gubitka apetita [1].

Etarsko ulje se dobija uglavnom hidrodestilacijom [1,2], iako su korišćene i druge separacione tehnike, na primer, superkritična ekstrakcija [4]. Hidrodestilacija ne samo da daje ulje visokog kvaliteta, već je i relativno jednostavna i bezbedna tehnika u poređenju sa ostalim tehnikama ekstrakcije, a povoljna je i u smislu zaštite životne sredine. Priprema sirovine i radni uslovi, tj. procesni parametri utiču i na prinos i na hemijski sastav dobijenog etarskog ulja. Interesantno je da nema mnogo objavljenih radova o kinetici hidrodestilacije, kao ni o njenom uticaju na prinos, hemijski sastav i fizičko-hemijske osobine etarskog ulja kleke [27]. Ovo je verovatno posledica činjenice da proizvođači koriste tradicionalne tehnologije i pridaju malo ili nimalo značaja optimizaciji procesa. Hemijski sastav i fizičko-hemijske osobine određuju kvalitet dobijenog etarskog ulja, tj. njegovu primenu, time i tržišnu vrednost, dok su saznanja o prinosu ulja i kinetičkom modelu izdvajanja važni za tehnološku i ekonomsku analizu hidrodestilacije. Modelovanjem kinetike hidrodestilacije doprinosi se ne samo razumevanju procesa, već i boljoj kontroli i većoj efikasnosti.

Predmet rada je optimizacija procesa hidrodestilacije etarskog ulja ploda kleke u laboratoriji sa namerom dalje primene u industrijskoj praksi. Cilj ovog istraživanja je sagledavanje eventualne promene hemijskog sastava etarskog ulja (predstavljenog masenim udelima njegovih komponenti) u zavisnosti od brzine destilacije i odnosa mase kleka–voda (hidromodula).

EKSPERIMENTALNI DEO

Biljni materijal i priprema

Za eksperiment su korišćeni zreli plodovi kleke ubrani na području Leposavića na južnim padinama Kopaonika u jesen 2011. godini. Plodovi su očišćeni od iglica, grančica i drugih nečistoća. Zatim su čisti plodovi sušeni prirodnim provetravanjem i ubačeni u višeslojne papirne kese. One su skladištene u mračnoj i suvoj prostoriji, na sobnoj temperaturi, sa mogućnošću povremenog provetravanja, kako ne bi došlo do fermentacije. Plodovi su usitnjeni pomoću mlina (blender Bosh, 500 W), mlevenje je vršeno 3 min srednjim intenzitetom (da bi se izbeglo nepoželjno veće zagrevanje pri jačem intenzitetu), u 5 perioda (prvi period 1 min, ostali periodi po 30 s), kako ne bi došlo do slepljivanja sirovine za zidove suda i kako bi usitnjavanje bilo što ravnomernije.

Hidrodestilacija

Samlevena kleka (300 g) kvantitativno je prenetu u balon za destilaciju zapremine 2 l, i zatim je dodato 900, 1200 ili 1500 ml destilovane vode u zavisnosti da li se radi sa odnosom mase kleka–voda (hidromodulom) 1:3, 1:4 ili 1:5, redom. Balon je povezan sa aparaturom

za hidrodestilaciju tipa Klevendžer (Clavenger), puštena je voda za hlađenje i smeša je zagrevana do ključanja. Zagrevanje je vršeno pomoću električnog grejača (kalote) različitim ulaznim naponima, koji su podešavani pomoću regulatora napona, kako bi se postigla željena brzina destilacije iskazana zapreminskim protokom kohobacione vode od 3, 6 i 8 ml/min. Proces hidrodestilacije je trajao 6 h, pri čemu se etarsko ulje, kao lakše od vode, sakupljalo u graduisanom delu aparature, gde se očitavala njegova zapremina u zadatim vremenskim intervalima, dok je kohobaciona (kondenzovana) voda recirkulisala. Kada je proces završen, nakon očitavanja ukupne zapremine izdvojenog etarskog ulja, ono je pomoću slavine ispuštano u stakleni sud odgovarajuće zapremine (vijalu) uz dodatak sredstva za uklanjanje moguće prisutne male količine vode (anhidrovano natrijum-sulfata). Takvi dobro zaptiveni uzorci čuvani su na hladnom i mračnom mestu (frižideru) do njihove instrumentalne analize [28]. Na osnovu izmerenih zapremina i precizno određene gustine dobijenog etarskog ulja, izračunati su maseni prinosi u zadatim vremenskim intervalima (naravno, na kraju procesa i ukupan maseni prinos) potrebni za određivanje kinetike hidrodestilacije i proveru njenih modela (što nije tema ovog rada).

Instrumentalna analiza hemijskog sastava etarskog ulja ploda kleke

Gasnohromatografska analiza (GC/FID) etarskog ulja rađena je na gasnom hromatografu Agilent Technologies, model 7890A, opremljenom split-splitless injektorom i automatskim semplerom za tečnosti (ALS), povezanom sa HP-5 silika kapilarnom kolonom (30 m×0,32 mm, debljina filma 0,25 μm) i podešenom sa plameno-jonizujućim detektorom (FID). Kao noseći gas korišćen je vodonik protoka 1 ml/min na 210 °C (režim konstantnog pritiska), temperatura injektora iznosila je 220 °C, detektora 240 °C, dok je temperatura kolone linearno programirana od 60 do 240 °C (pri brzini od 3 °C/min), i održavana izotermiski na 240 °C sledećih 10 min. Rastvori etarskih ulja u etanolu (~1%) injektirani su pomoću ALS (1 μl, split-režim, 1:30). Procentni izveštaji, dobijeni kao rezultat standardne obrade hromatograma, korišćeni su kao osnova za kvantifikaciju. Ona je postignuta metodom normalizacije, prema preporuci iz standarda ISO 8897:2010 [29].

Isti hromatografski analitički uslovi kao navedeni za GC/FID, korišćeni su i za potrebe gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC/MS) sa kapilarnom kolonom HP-5MS (30 m×0,25 mm, debljina filma 0,25 μm), korišćenjem HP G 1800C GCD Series II Electron Ionization Detector (EID) sistema. Umesto vodonika, helijum je korišćen kao noseći gas. Temperatura transfer linije iznosila je 240 °C. Maseni spektri snimani su u EI režimu (70 eV), u opsegu m/z 40–400. Rastvori uzoraka u etanolu (~1%) injektirani su pomoću ALS (1

μl, split-režim, 1:30). Sastojci su identifikovani poređenjem njihovih masenih spektara sa onim iz Wiley275 i NIST/NBS baza podataka, korišćenjem različitih načina pretrage, Probability Merge Search (PBM) prisutnom u instrumentu G1701DA, ver. D.00.00.38, data station software i NIST 2.0. Eksperimentalne vrednosti za retenciona vremena određene su korišćenjem kalibrisanog programa Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System software (AMDIS, ver. 2.64), poređene su sa onima iz dostupne literature [30] i korišćene su kao dodatno sredstvo da potvrde MS nalaze.

REZULTATI I DISKUSIJA

U tabeli 2 je prikazan delimičan sastav etarskog ulja kleke kroz odabrane 23 komponente čiji je maseni udeo veći od 0,5% (od ukupno 58 komponenti) u zavisnosti od procesnih parametara hidrodestilacije – brzine destilacije (3, 6 i 8 ml/min) i odnosa mase kleka–voda (hidromodula – 1:3, 1:4 i 1:5). Ove odabrane komponente predstavljaju 95–96 mas.% etarskog ulja. Glavni sastojci ovih etarskih ulja su monoterpeni (67,39–71,00 mas.%) i seskviterpeni (21,64–24,54 mas.%) ugljovodonici, dok su sadržaji oksigenovanih monoterpenih (samo terpinen-4-ol: 1,54–2,42 mas.%) i oksigenovanih seskviterpenih (samo epi- α -kadinol i kadinol: 0,89–1,46 mas.%) ugljovodonika znatno manji. Prema tome, sadržaj ukupnih ugljovodonika je 91,99–92,89 mas.% a oksigenovanih ugljovodonika 2,97–3,27 mas.%.

Komponente su prikazane u redosledu pojavljivanja iz GC kolone, tj prema isparljivosti (vrednosti tačke ključanja) koja ne zavisi od brzine destilacije i hidromodula, posebno kod nemešljivih komponenti. Redom su zastupljene:

a) lakoisparljive komponente, koje čine monoterpeni ugljovodonici (tačka ključanja 153–167 °C): trikilen, α -tujen, α -pinen, kamfen, sabinen, β -pinen i mircen, ukupno 61,69–63,81 mas.%, najviše α -pinen (24,39–26,30 mas.%), sabinen (15,29–17,33 mas.%) i mircen (12,69–14,18 mas.%),

b) sredneisparljive komponente, koje čine monoterpeni ugljovodonici (tačka ključanja 173–185 °C): α -terpinen, limonen, γ -terpinen i terpinolen i oksigenovani monoterpeni ugljovodonik terpinen-4-ol (tačka ključanja 212 °C), ukupno 7,24–9,61 mas.%, najviše limonen (3,13–3,29 mas.%) i terpinen-4-ol (1,54–2,42 mas.%) i

c) teškoisparljive komponente, koje čine seskviterpeni ugljovodonici (tačka ključanja 252–288 °C): β -elemene, trans-kariofilen, γ -elemen, murola-3,5-dien, α -humulen, germakren D, biciklogermakren, γ -kadinen, δ -kadinen, germakren B, i oksigenovani seskviterpeni ugljovodonici: epi- α -kadinol i α -kadinol, ukupno 22,57–26,04 mas.%, najviše germakren D (7,44–8,68 mas.%),

Tabela 2. Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na hemijski sastav (mas.%) etarskog ulja kleke; M – monoterpenski ugljovodonici, OM – oksigenovani monoterpeni, S – seskviterpeneski ugljovodonici i OS – oksigenovani seskviterpeni, LI – lakoisparljive, SI – srednjeisparljive i TI – teškoisparljive komponente

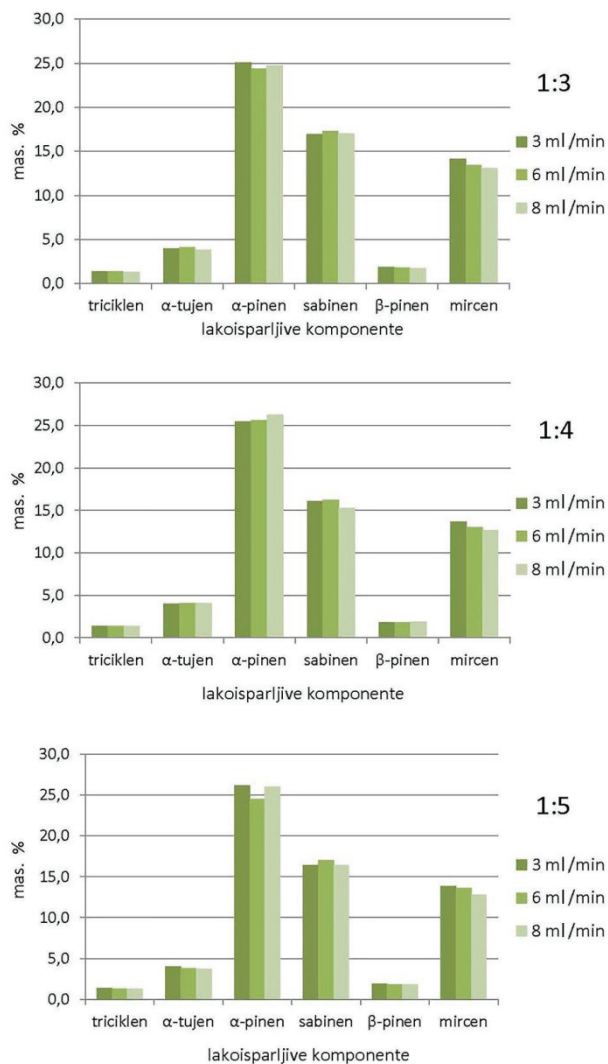
Table 2. Influence of hydrodistillation rate and hydromodule on the chemical composition (mass%) of *Juniperus communis* L. essential oil

Komponenta	Vrsta	Hidromodul								
		1:3			1:4			1:5		
		Brzina hidrodestilacije, ml/min								
	3	6	8	3	6	8	3	6	8	
Triciklen	M	1,39	1,42	1,34	1,38	1,41	1,42	1,39	1,33	1,29
α -Tujen	M	4,02	4,11	3,88	4,01	4,08	4,10	4,03	3,83	3,73
α -Pinen	M	25,09	24,39	24,77	25,48	25,60	26,30	26,20	24,51	26,06
Sabinen	M	16,98	17,33	17,06	16,11	16,21	15,29	16,44	17,04	16,42
β -Pinen	M	1,89	1,80	1,78	1,86	1,82	1,89	1,88	1,81	1,83
Mircen	M	14,18	13,43	13,12	13,73	13,02	12,69	13,87	13,63	12,82
Σ LI		63,55	62,48	61,95	62,57	62,14	61,69	63,81	62,15	62,15
α -Terpinen	M	0,80	0,63	0,53	0,79	0,59	0,49	0,89	0,67	0,59
Limonen	M	3,27	3,17	3,16	3,39	3,26	3,24	3,37	3,13	3,25
γ -Terpinen	M	1,41	1,20	0,98	1,41	1,07	0,91	1,57	1,20	1,08
Terpinolen	M	1,33	1,22	1,13	1,30	1,16	1,06	1,36	1,24	1,16
Terpinen-4-ol	OM	2,17	1,71	1,60	2,14	1,73	1,54	2,42	1,96	1,81
Σ SI		8,98	7,93	7,40	9,03	7,81	7,24	9,61	8,20	7,89
β -Elemen	S	1,93	1,99	2,14	1,99	2,07	2,28	1,83	1,97	2,15
trans-Kariofilen	S	2,09	2,11	2,27	2,20	2,30	2,40	2,08	2,07	2,36
γ -Elemen	S	2,56	2,85	2,82	2,70	2,92	2,79	2,49	2,66	2,82
Murola-3,5-dien	S	0,69	0,71	0,79	0,74	0,76	0,89	0,67	0,69	0,78
α -Humulene	S	1,56	1,59	1,70	1,63	1,75	1,78	1,57	1,60	1,76
Germakrene D	S	7,93	8,42	8,68	7,93	8,43	7,98	7,44	8,61	8,01
Biciklogermacren	S	1,51	1,59	1,62	1,58	1,59	1,71	1,44	1,54	1,60
γ -Kadinen	S	0,66	0,74	0,7	0,65	0,67	0,70	0,59	0,67	0,59
δ -Kadinen	S	1,96	2,11	2,06	2,08	2,07	2,11	1,93	2,07	2,00
Germakren B	S	1,64	1,79	1,76	1,73	1,91	1,96	1,60	1,79	1,77
Epi- α -kadinol	OS	0,41	0,58	0,63	0,41	0,57	0,64	0,42	0,62	0,63
α -Kadinol	OS	0,48	0,68	0,77	0,50	0,71	0,80	0,51	0,80	0,83
Σ TI		23,42	25,16	25,94	24,14	25,75	26,04	22,57	25,09	25,30
	M	70,36	68,70	67,75	69,46	68,22	67,39	71,00	68,39	68,23
	S	22,53	23,90	24,54	23,23	24,47	24,60	21,64	23,67	23,84
	OM	2,17	1,71	1,60	2,14	1,73	1,54	2,42	1,96	1,81
	OS	0,89	1,26	1,40	0,91	1,28	1,44	0,93	1,42	1,46
Σ ugljovodonici		92,89	92,60	92,29	92,69	92,69	91,99	92,64	92,06	92,07
Σ oksigenovani ugljovodonici		3,06	2,97	3,00	3,05	3,01	2,98	3,35	3,38	3,27
Σ		95,95	95,57	95,29	95,74	95,70	94,97	95,99	95,44	95,34

γ -elemen (2,49–2,92 mas.%) i trans-kariofilen (2,07–2,40 mas.%).

Na slici 1 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od brzine destilacije pri hidrodestilaciji ploda kleke predstavljene zapreminskim protokom kohobacione vode (jer je to direktno srazmerna veličina intenzitetu zagrevanja od koga direktno zavisi brzina desti-

lacije) za vrednosti 3, 6 i 8 ml/min pri različitim hidromodulima – 1:3, 1:4 i 1:5. Opšti trend je malo smanjenje masenog udela sa povećanjem brzine destilacije – 63,55 > 62,48 > 61,95 mas.% (najveća razlika 1,60 mas.%) za hidromodul 1:3, 62,57 > 62,14 > 61,69 mas.% (najveća razlika 0,88 mas.%) za hidromodul 1:4 i 63,81 > 62,15 \geq 62,15 mas.% (najveća razlika 1,66 mas.%) za hidromodul 1:5. Razlog za to je jasan: lakoisparljive kom-

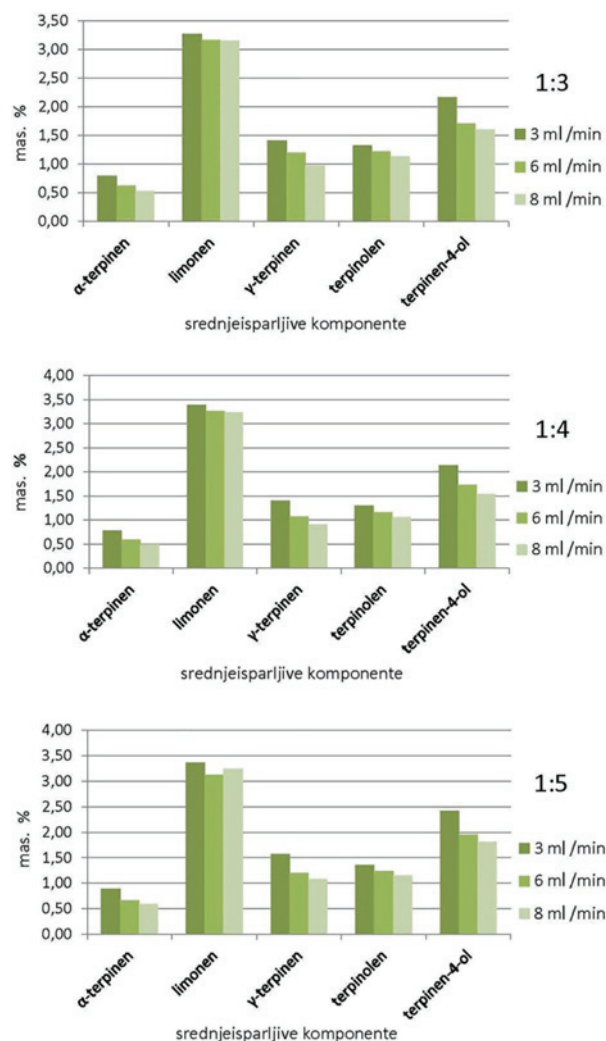


Slika 1. Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri hidromodulima 1:3, 1:4 i 1:5.
Figure 1. Influence of hydrodistillation rate on the chemical composition of low volatile components at hydromodules 1:3, 1:4 and 1:5.

ponente i pri slabijem zagrevanju lako isparavaju, dok se deo teškoisparljivih komponenti ne izdvaja u tim uslovima, tako da je veći udeo lakoisparljivih komponenti u slučaju slabijeg zagrevanja, tj. manje brzine destilacije. Uočava se se da postoji malo odstupanje od opšteg trenda u slučaju dve komponente sa najvećim masenim udelom od svih – α -pinena (najviše 26,30 mas.%) i sabinena (najviše 17,33 mas.%). Promena kod α -pinena pri hidromodulu 1:4 je obrnuta, tj. prisutan je mali porast sa povećanjem brzine destilacije (čak je za najveću brzinu destilacije 26,30 mas.%, ukupno najveći za svih 9 eksperimenata, razlika je 0,82 mas.%), dok su pri hidromodulima 1:3 i 1:5 maseni udeli za srednju brzinu destilacije manji nego za najveću brzinu destilacije (razlika je 0,38 i 1,56 mas.%, redom). Kod sabinena, pri svim hidromodulima, najveći maseni udeli su za

srednju brzinu destilacije (razlika je 0,17, 0,92 i 0,62 mas.%, redom).

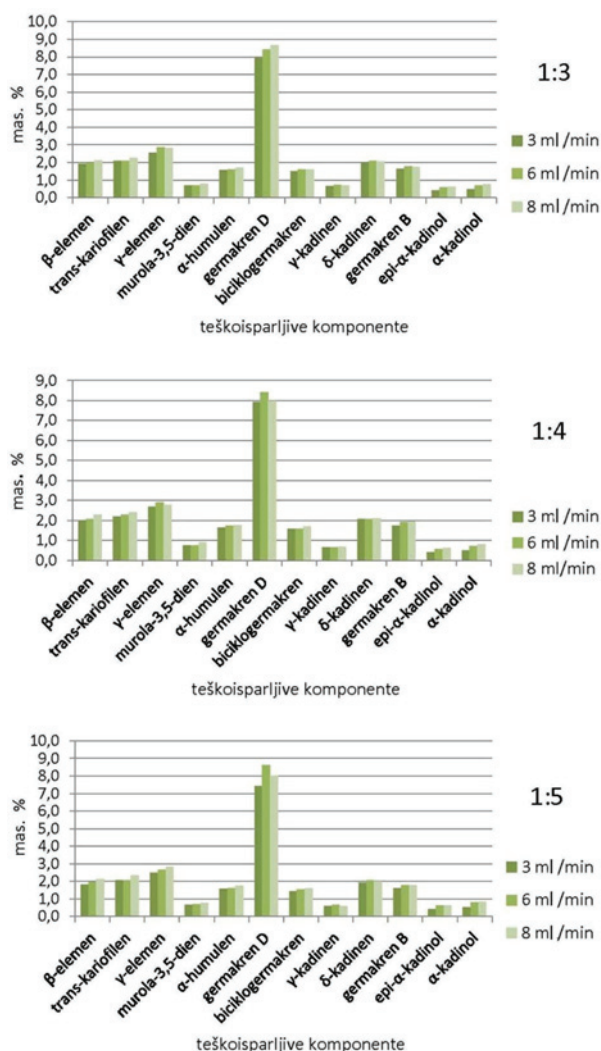
Slika 2 slično prikazuje zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti od navedenih procesnih parametara hidrodestilacije. Kao i u slučaju lakoisparljivih komponenti, postoji jasan opšti trend smanjenja masenog udela srednjeisparljivih komponenti sa povećanjem brzine destilacije, relativno izraženiji u odnosu na lakoisparljive komponente – 8,98 > 7,93 > 7,40 mas.% (najveća razlika 1,58 mas.%) za hidromodul 1:3, 9,03 > 7,81 > 7,24 mas.% (najveća razlika 1,79 mas.%) za hidromodul 1:4 i 9,61 > 8,20 > 7,89 mas.% (najveća razlika 1,72 mas.%) za hidromodul 1:5. Razlog je identičan onom kod lakoisparljivih komponenti, tj. i srednjeisparljive komponente pri slabijem zagrevanju više isparavaju u odnosu na teškoisparljive komponente, čiji se deo ne izdvaja u tim uslovima, tako da je veći maseni



Slika 2. Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri hidromodulima 1:3, 1:4 i 1:5.
Figure 2. Influence of hydrodistillation rate on the chemical composition of medium volatile components at hydromodules 1:3, 1:4 and 1:5.

udeo i srednjeisparljivih komponenti za manju brzinu destilacije. Jedino malo odstupanje od opšteg trenda je kod limonena, komponente sa daleko najvećim masenim udelom među srednjeisparljivim komponentama (najviše 3,39 mas.%). Pri hidromodulu 1:5 maseni udeo za srednju brzinu destilacije manji je nego za najveću brzinu destilacije (razlika je samo 0,12 mas.%). Značajno je uočiti da je opšti trend smanjenja masenog udela sa povećanjem brzine destilacije posebno izražen kod fenola terpinen-4-ola koji ispoljava veoma korisna farmakološka svojstva, što ga čini izuzetno vrednom bioaktivnom komponentom.

Slika 3 ilustruje zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti od navedenih procesnih parametara hidrodestilacije. Opšti trend je suprotan onima kod lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti, odnosno prisutno je povećanje masenog udela teškois-



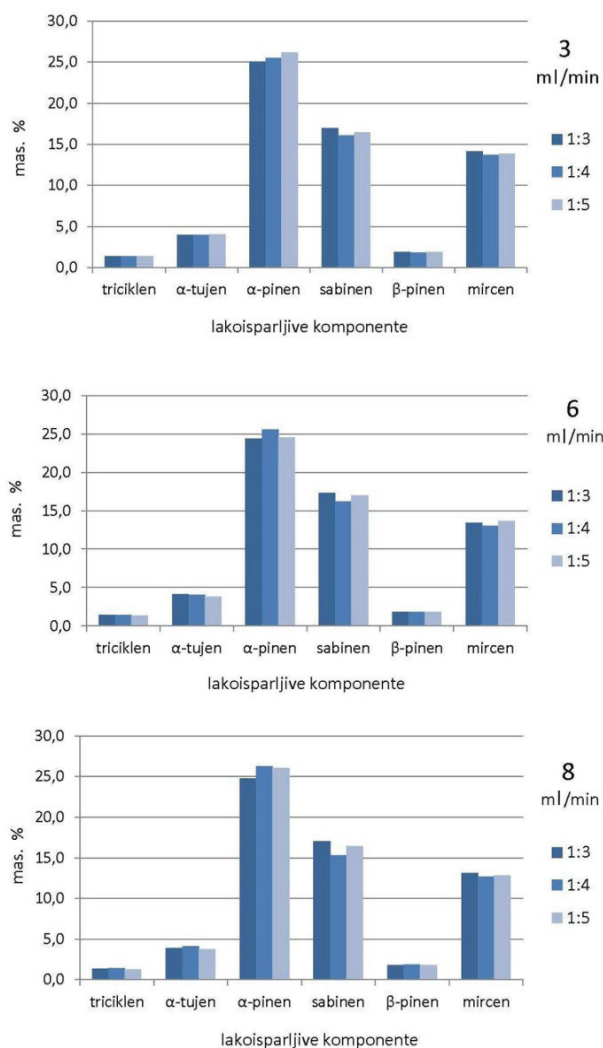
Slika 3. Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri hidromodulima 1:3, 1:4 i 1:5.
Figure 3. Influence of hydrodistillation rate on the chemical composition of low volatile components at hydromodules 1:3, 1:4 and 1:5.

parljivih komponenti sa povećanjem brzine destilacije – 23,42 < 25,16 < 25,94 mas.% (najveća razlika 2,52 mas.%) za hidromodul 1:3, 24,14 < 25,75 < 26,04 mas.% (najveća razlika 1,90 mas.%) za hidromodul 1:4 i 22,57 < 25,09 < 25,30 mas.% (najveća razlika 2,73 mas.%) za hidromodul 1:5. Pri jačem zagrevanju, tj. većoj brzini destilacije teškoisparljive komponente brže i više se izdvajaju tokom hidrodestilacije, što povećava njihov maseni udeo u odnosu na lakoisparljive i srednjeisparljive komponente. Pojedine komponente delimično malo odstupaju od opšteg trenda (γ -kadinen, δ -kadinen, germakren B), gde je najznačajniji germakren D, komponenta sa daleko najvećim masenim udelom od svih teškoisparljivih komponenti (najviše 8,68 mas.%). Dok je pri hidromodulu 1:3 promena njegovih masenih udela u skladu sa opštim trendom, pri većim hidromodulima 1:4 i 1:5 oni su veći za srednju brzinu destilacije nego za najveću brzinu destilacije (razlika je 0,45 i 0,60 mas.%, redom). On je važan jer je farmakološki najznačajnija bioaktivna komponenta među teškoisparljivim komponentama.

Brzina hidrodestilacije ima najveći uticaj na promenu masenog udela srednjeisparljivih komponenti (prosek za sve hidromodule 18,4 mas.%), manji kod teškoisparljivih komponenti (prosek 10,3 mas.%) i najmanji kod lakoisparljivih komponenti (prosek 2,2 mas.%).

Na slici 4 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od hidromodula za vrednosti 1:3, 1:4 i 1:5 pri različitim brzine destilacije – 3, 6 i 8 ml/min. Opšti trend je vrlo malo smanjenje masenog udela sa promenom hidromodula od 1:3 na 1:4, a zatim, takođe vrlo malo povećanje sa sa promenom hidromodula od 1:4 na 1:5 – 62,55 > 62,57 < 63,81 (najveća razlika 1,24 mas.%) za brzinu zagrevanja 3 ml/min, 62,48 > 62,14 < 62,15 (najveća razlika samo 0,34 mas.%) za brzinu zagrevanja 6 ml/min i 61,95 > 61,69 < 62,15 (najveća razlika samo 0,46 mas.%) za brzinu zagrevanja 8 ml/min. Uočava se da su promene masenih udela u zavisnosti od hidromodula značajno manje, pogotovo za veće brzine destilacije (6 i 8 ml/min), u odnosu na prethodno navedene promene masenih udela u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima (1,24–0,34–0,46 prema 1,60–0,88–1,66 mas.%). Slično kao na slici 1., najznačajnija bioaktivna komponenta među lakoisparljivim komponentama α -pinen pokazuje odstupanje od opšteg trenda. Za najmanju brzinu destilacije njegovi maseni udeli se povećavaju sa porastom hidromodula (razlika je 0,39 mas.%), dok su za veće brzine destilacije, suprotno opštem trendu, najveći maseni udeli za srednji hidromodul 1:4 (razlika je 1,21 i 1,53 mas.%, redom).

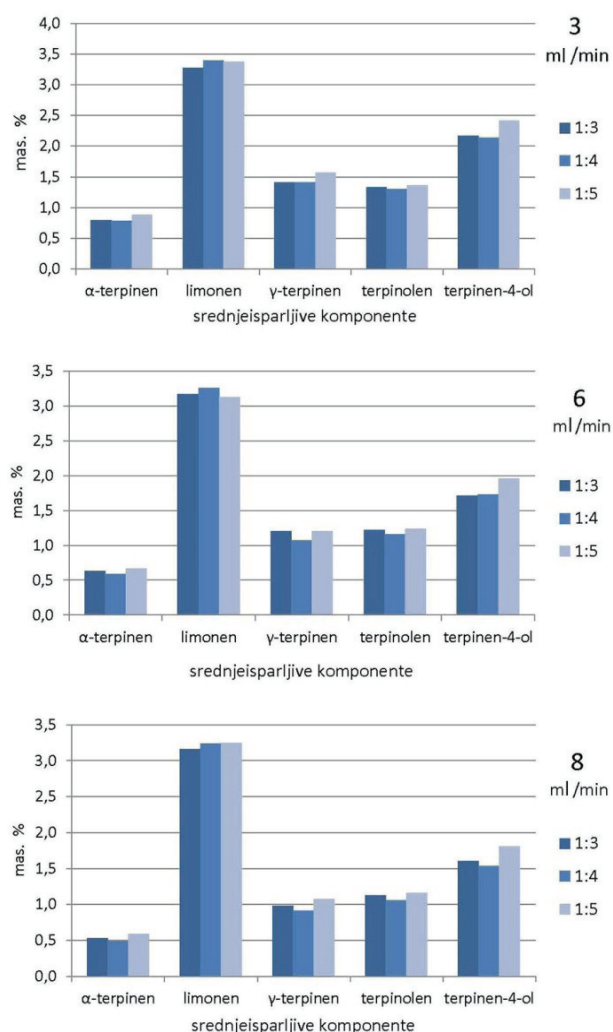
Slika 5 slično prikazuje zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti od istih procesnih parametara hidrodestilacije kao u slučaju lakoisparljivih kom-



Slika 4. Uticaj hidromodula na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzinama hidrodestilacije 3, 6 i 8 ml/min.
Figure 4. Influence of hydromodule on the chemical composition of high volatile components at hydrodistillation rates 3, 6 and 8 ml/min.

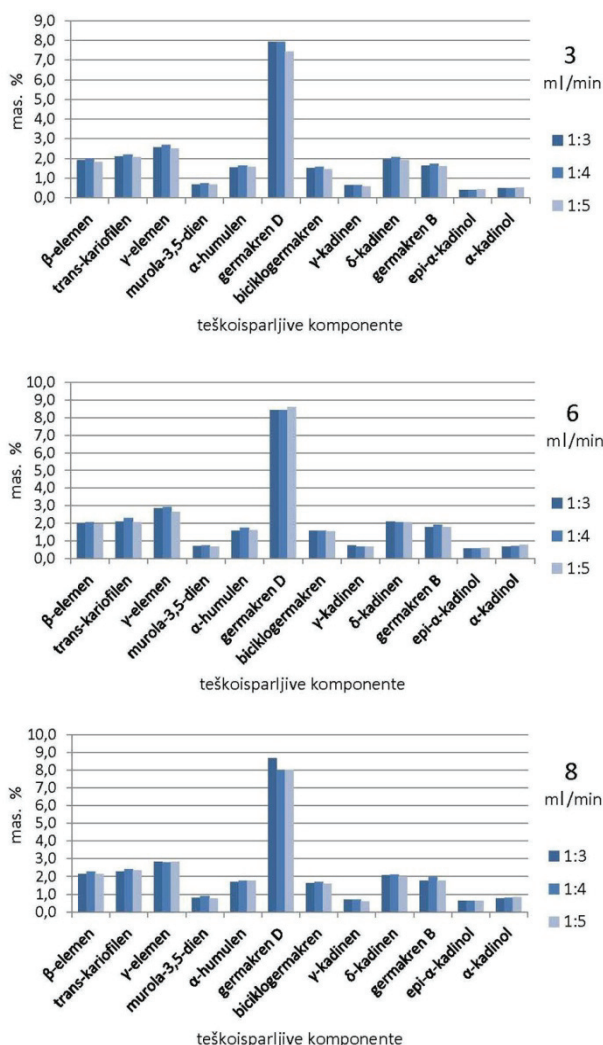
ponenti (slika 4). Nema opšteg trenda već pojedinačnih za različite brzinu destilacije, tako se za najmanju brzinu destilacije maseni udeli povećavaju sa porastom hidromodula – $8,98 < 9,03 < 9,61$ mas.% (najveća razlika 0,63 mas.%) za brzinu destilacije 3 ml/min, dok se za veće brzine destilacije prvo smanjuju, pa zatim povećavaju – $7,93 > 7,81 < 8,20$ (najveća razlika 0,39 mas.%) za brzinu destilacije 6 ml/min i $7,40 > 7,24 < 7,89$ (najveća razlika 0,65 mas.%) za brzinu destilacije 8 ml/min. Kao u slučaju lakoisparljivih komponenti, primećuje se da su promene masenih udela u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama destilacije značajno manje u odnosu na prethodno navedene promene masenih udela u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima (0,63–0,39–0,65 prema 1,58–1,79–1,72 mas.%). Komponenta sa daleko najvećim masenim udelom među srednjeisparljivim kompo-

nentama limonen opet pokazuje malo odstupanje od ostalih, jer pri najmanjoj brzini destilacije, suprotno ostalima, ima najveći maseni udeo za srednji hidromodul 1:4 (razlika je samo 0,02 mas.%); pri srednjoj brzini destilacije, suprotno ostalima, opet za srednji hidromodul 1:4 (razlika je 0,26 mas.%) i pri najvećoj brzini destilacije, opet suprotno ostalima, najmanji maseni udeo ima za najmanji hidromodul 1:3 (razlika je samo 0,08 mas.%). Sve navedene razlike su veoma male, tako je odstupanje od trendova kod srednjeisparljivih komponenti u odnosu na lakoisparljive i teškoisparljive komponente najmanje, kao i u prethodnom slučaju.



Slika 5. Uticaj hidromodula na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri brzinama hidrodestilacije 3, 6 i 8 ml/min.
Figure 5. Influence of hydromodule on the chemical composition of medium volatile components at hydrodistillation rates 3, 6 and 8 ml/min.

Slika 6 ukazuje na zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti od istih procesnih parametara hidrodestilacije kao u slučaju lakoisparljivih i srednjeis-



Slika 6. Uticaj hidromodula na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzinama hidroddestilacije 3, 6 i 8 ml/min.
Figure 6. Influence of hydromodule on the chemical composition of low volatile components at hydrodistillation rates 3, 6 and 8 ml/min.

parljivih komponenti (slike 4 i 5). Postoji opšti trend jer se maseni udeli za sve brzine destilacije porastom hidromodula prvo povećavaju, zatim smanjuju – 23,42 < 24,14 > 22,57 (najveća razlika 1,57 mas.%) za brzinu destilacije 3 ml/min, 25,16 < 25,75 > 25,09 (najveća razlika 0,66 mas.%) za brzinu destilacije 6 ml/min i 25,94 < 26,04 > 25,30 (najveća razlika 0,74 mas.%) za brzinu destilacije 8 ml/min. Kao u slučaju lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti, i ovdje su razlike masenih udela u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama destilacije značajno manje u odnosu na prethodno navedene razlike masenih udela u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima (1,57–0,66–0,74 prema 2,52–1,90–2,73 mas.%). Komponenta sa daleko najvećim masenim udelom od svih teškoisparljivih komponenti germakren D pokazuje malo odstupanje od opšteg trenda jer je maseni udeo pri

srednjoj brzini destilacije najveći za najveći hidromodul 1:5 (razlika je samo 0,18 mas.%), dok je pri najvećoj brzini destilacije maseni udeo najveći za najmanji hidromodul 1:3 (razlika je 0,70 mas.%).

Hidromodul ima najveći uticaj na promenu masenog udela srednjeisparljivih komponenti (prosek za sve brzine hidroddestilacije 6,9 mas.%), manji kod teškoisparljivih komponenti (prosek 4,1 mas.%) i najmanji kod lakoisparljivih komponenti (prosek 1,1 mas.%). Ovaj uticaj je isti u odnosu na vrste komponenata kao u prethodnom slučaju uticaja brzine hidroddestilacije, ali su promene mnogo manje nego kod njega (18,4, 10,3 i 2,2 mas.%).

ZAKLJUČAK

Promene procesnih parametara hidroddestilacije etarskog ulja kleke – intenziteta grejanja, tj. brzine destilacije i odnosa mase kleka–voda (hidromodula) utiču samo na kvantitet hemijskog sastava (promenu masenih udela komponenti), a ne na njegov kvalitet (nema promene sastava, tj. iste su komponente).

Promena hemijskog sastava predstavljenog masenim udelima u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima ima jasne opšte trendove prema vrsti komponenata. Kod lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti za sve hidromodule maseni udeli se smanjuju sa povećanjem brzine destilacije, dok se kod teškoisparljivih komponenti povećavaju. Ista promena u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama destilacije ima manje izražene opšte trendove prema vrsti komponenata jer su razlike masenih udela mnogo manje. To znači da promena hidromodula mnogo manje utiče na kvantitet hemijskog sastava od promene brzine destilacije. U oba slučaja najveći uticaj je kod masenog udela srednjeisparljivih komponenti, manji kod teškoisparljivih komponenti i najmanji kod lakoisparljivih komponenti.

Zanimljivo je uočiti da kod obe zavisnosti od opštih trendova odstupaju baš komponente sa najvećim masenim udelima u svojoj vrsti – α-pinen kod lakoisparljivih komponenti, limonen kod srednjeisparljivih komponenti i germakren D kod teškoisparljivih komponenti.

Pošto povećanje hidromodula utiče na kvantitativan sastav etarskog ulja vrlo malo, inženjerski gledano zanemarljivo, a smanjuje prinos [28] i povećava utrošak energije, jasno je da ne treba koristiti hidromodul veći od 1:3. Što se tiče uticaja brzine destilacije, situacija nije tako jednostavna. Prinos može biti osetno veći pri većim brzinama destilacije [28], dok je pri manjim brzinama destilacije veći maseni udeo poželjnih bioaktivnih, lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti (α-pinen, sabinen i terpinen-4-ol) [2,4,28] i manji utrošak energije (manje intenzivno zagrevanje). Zato je potrebno nastaviti ispitivanja uticaja brzine destilacije u

kombinaciji sa frakcionim izdvajanjem željenih vrednih komponenti pomoću istovremene hidrodestilacije i rektifikacije [2,23,31], kao i određivanjem optimalnog utroška energije, odnosno optimalnog vremena hidrodestilacije [32]. To je izuzetno važno sa tehnoeкономskog aspekta u okviru glavnog cilja – optimizacije procesa hidrodestilacije etarskog ulja kleke razvijene u laboratoriji i potvrđene primenom u industrijskoj praksi.

LITERATURA

- [1] M. Stanković, V. Veljković, M. Lazić, Bioaktivni proizvodi iz ploda kleke (*Juniperus communis* L.), monografija, Tehnološki fakultet, Leskovac, Univerzitet u Nišu, 1994.
- [2] S. Milojević, Kinetika hidrodestilacije, karakterizacija i frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis* L.), doktorska disertacija, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2011.
- [3] S. Glišić, S. Milojević, S. Dimitrijević, A. Orlović, D. Skala, Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics, J. Serb. Chem. Soc. **72** (2007) 311–320.
- [4] B. Damjanović, Komparativna ispitivanja uslova ekstrakcije biološki aktivnih materija ploda kleke (*Juniperus communis* L.) u standardnim, nadkritičnim i subkritičnim uslovima, magistarski rad, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2000.
- [5] British Pharmacopoeia, 1992.
- [6] N. Bisset, M. Wichtl, Herbal drugs and phytopharmaceuticals, 2nd ed., Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 2001.
- [7] Pharmacopea Jugoslavica, Edition quatra, Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd, 1984.
- [8] N. Kovačević, Osnovi farmakognozije (2. dopunjeno izdanje), Srpska školska knjiga, Beograd, 2002.
- [9] W.C. Evans, Pharmacognosy, 16th ed., Trease and Evans, London, 2009.
- [10] E. Breitmaier, Terpenes – Flavors, Fragrances, Pharmacology, Pheromones, Wiley Verlag GmbH, Weinheim, 2006.
- [11] E. Gildemeister, F. Hoffman, Die Ätherischen Öle, Akademie Verlag, Berlin, 1956.
- [12] B. Tepe, D. Daferera, A. Sokmen, M. Sokmen, M. Polissiou, Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), Food Chem. **90** (2005) 333–340.
- [13] A. Jimenez-Arellanes, M. Meckes, R. Ramirez, J. Torres, J. Luna-Herrera, Activity against multidrug–resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mexican plants used to treat respiratory diseases, Phytother. Res. **17** (2003) 903–908.
- [14] S. Shin, S. Lim, Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp., J. Appl. Microbiol. **97** (2004) 1289–1296.
- [15] M. Mori, N. Ikeda, Y. Kato, M. Minamino, K. Watabe, Inhibition of elastase activity by essential oils in vitro J. Cosmetic Dermatol. **1** (2002) 183–187.
- [16] B. Tepe, E. Donmez, M. Unlu, F. Candan, D. Daferera, G. Vardar-Unlu, M. Polissiou, A. Sokmen, Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis*, Food Chem. **84** (2004) 519–525.
- [17] H.J.D. Dorman, S.G. Deans, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, J. Appl. Microbiol. **88** (2000) 308–316.
- [18] C.F. Bagamboula, M. Uyttendaele, J. Debevere, Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*, Food Microbiol. **21** (2004) 33–42.
- [19] P.S. Chatzopoulou, A. de Haan, S.T. Katsiotis, Investigation on the Supercritical CO₂ Extraction of the Volatile Constituents from *Juniperus communis* Obtained under Different Treatments of the Berries, Planta Med. **68** (2002) 827–831.
- [20] A. Angioni, A. Barra, M. Russo, V. Coroneo, S. Dessi, P. Cabras, Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity, J. Agric. Food Chem. **51** (2003) 3073–3078.
- [21] S. Cosentino, A. Barra, B. Pisano, M. Cabizza, F. M. Pirisi, F. Palmas, Composition and Antimicrobial Properties of Sardinian *Juniperus* Essential Oils against Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms, J. Food Protect. **66** (2003) 1288–1291.
- [22] P.J. Delaquis, K. Stanich, B. Girard, G. Mazza, Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, J. Food Microbiol. **74** (2002) 101–109.
- [23] S. Glišić, S. Milojević, S. Bačić, S. Dimitrijević Branković, A. Orlović, D. Skala, Vacuum and supercritical fractionation of the essential oil of *Juniperus communis* L. and analysis of different fractions behavior against some bacteria, yeasts and fungus, Proceedings of 16th International Congress of Chemical and Process Engineering – CHISA, Praha, Czech Republic, 2004, p. 497.
- [24] P.S. Chatzopoulou, S.T. Katsiotis, Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *Juniperus communis* L., Pharm. Acta Helv. **70** (1995) 247–253.
- [25] I.D. Morton, A.J. Meclleod, Food Flavours, Part B. The Flavour of Beverages, Elsevier, Amsterdam. Oxford, New York, 1986.
- [26] D. Skala, I. Žižović, S. Petrović, Etarska ulja – destilacija, ekstrakcija, izbor tehnologije i kvalitet, Hem. Ind. **53** (1999) 123–139.
- [27] S. Milojević, T. Stanković, R. Pilić, M. Lazić, V. Veljković, Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe Juniper (*Juniperus communis* L.) berries, Biochem. Eng. J. **3** (2008) 574–553.
- [28] M. Radović, Ispitivanje kinetike hidrodestilacije ploda kleke (*Juniperus communis* L.), diplomski rad, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2012.

- [29] International standard ISO 8897:2010 Oil of juniper berry (*Juniperus communis* L.), 2nd ed., 2010.
- [30] R.P. Adams, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th ed., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 2007.
- [31] S. Glišić, Frakciono razdvajanje etarskog ulja kleke, diplomski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2012.
- [32] V. Pavićević, S. Milojević, D. Radosavljević, V. Veljković, M. Ristić, Energy consumption optimization of essential oil hydrodistillation from juniper berries, Proceedings of VI International Conference on Sustainable Energy and Environmental Protection (SEEP), Maribor, Slovenia, 2013, pp. 601–607.

SUMMARY

INFLUENCE OF HYDRODISTILLATION RATE AND HYDROMODULE ON CHEMICAL COMPOSITION OF *Juniperus communis* L. ESSENTIAL OIL

Vladimir P. Pavićević¹, Marko N. Radović¹, Svetomir Ž. Milojević², Miljana S. Marković², Mihailo S. Ristić³, Dragan S. Povrenović¹

¹Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Serbia

²Faculty of Technical Sciences in Kosovska Mitrovica, University of Priština, Serbia

³Institute for Medicinal Plants Research "Dr Josif Pančić", Belgrade, Serbia

(Scientific paper)

Essential oils are aromatic, volatile, complex mixtures of various compounds, mainly hydrocarbons (monoterpene and sesquiterpene) and some oxygenated hydrocarbons. Juniper berry essential oil has wide application and high commercial value due to its considerable antimicrobial activities. It is used in medicine, food, cosmetic and pharmaceutical industry and veterinary medicine. Generally, it is obtained by hydrodistillation, technique for the extraction of substances which do not mix or mix very poorly with water and are unstable at their boiling temperatures. It provides high quality of essential oil and also represents a relatively simple, safe and environmentally friendly process. The variations in the chemical composition of the essential oil obtained from juniper berries at various distillation rates (3, 6 and 8 ml/min) and various mass ratio juniper berries–water (hydromodules – 1:3, 1:4 and 1:5) are presented in this paper. It is important to emphasize that the variations made influence only in quantitative (mass%), but not in qualitative chemical composition (no differences, same 58 components were detected in all experiments). To reflect those effects, only 23 identified components with the content higher than 0.5 mass% were selected, constituted 95–96 mass% of the essential oils. The major constituents of the essential oils were monoterpenes (67.39–71.00 mass%), followed by sesquiterpenes (21.64–24.54 mass%), while the oxygenated monoterpene (1.54–2.42 mas.%) and oxygenated sesquiterpenes (0.89–1.46 mass%) were much less present. According to volatility, the high volatile (boiling point 153–167 °C) components are the main constituents of the essential oils (61.69–63.81 mass%), followed by the low volatile (boiling point 252–288 °C) components (22.57–26.04 mass%), and the least present medium volatile (boiling point 173–212 °C) components (7.24–9.61 mass%). The variations in the mass content of the essential oil at various distillation rates showed clear general trends for all hydromodules (with exceptions at some components). With the increasing of distillation rate, mass% of high and medium volatile components decreased, while mass% of low volatile components increased. This is caused by higher extraction of low volatile components at high distillation rate, which resulted the increasing of their mass%. The variations in the mass composition of the essential oil at various hydromodules showed less expressive trends for all distillation rates. That means it has much less influence on the mass composition than the variation of distillation rate. Therefore, experiments at various distillation rates should be continued in combination with the fractionation of the essential oil by simultaneous hydrodistillation and rectification, including the effects of preparation procedures of juniper berries and defining of optimal energy consumption, *i.e.*, optimal time period of hydrodistillation.

Keywords: Juniper • Essential oil • Chemical composition • Hydrodistillation rate • Hydromodule