

# Izolacija i identifikacija eteričnog ulja stolisne ruže (*Rosa x centifolia* L. 'Fantin-Latour')

---

Festini Mikulec, Zrinka

Professional thesis / Završni specijalistički

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:372192>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO – BIOKEMIJSKI FAKULTET

Zrinka Festini Mikulec

**Izolacija i identifikacija eteričnog ulja stolisne ruže  
(*Rosa x centifolia* L. 'Fantin-Latour')**

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

Poslijediplomski specijalistički studij: **Fitofarmacija s dijetoterapijom**

Mentorica rada: prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević

Specijalistički rad obranjen je dana 26. rujna 2022. na Zavodu za farmakognoziju

Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. doc. dr. sc. Marija Kindl
2. prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević
3. prof. dr. sc. Antun Alegro

Rad ima 35 listova.

Specijalistički rad na poslijediplomskom specijalističkom studiju „Fitofarmacija s dijetoterapijom“ prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Sande Vladimir-Knežević.

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Sande Vladimir-Knežević na svesrdnoj pomoći kao mentoru i kao osobi, te Maši Grgurić na ustupljenim ružama.*

## **SAŽETAK**

### **Cilj istraživanja**

Cilj ovog specijalističkog rada je po prvi put provesti izolaciju i identifikaciju eteričnog ulja jednog od najstarijih kultivara stolisne ruže, *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour', uzgojenog u Hrvatskoj.

### **Materijali i metode**

Sadržaj eteričnog ulja u cvjetovima stolisne ruže određen je metodom destilacije pomoću vodene pare. Identifikacija izoliranog eteričnog ulja provedena je primjenom plinske kromatografije i spektrometrije masa (GC-MS).

### **Rezultati**

Svježe latice biljnog uzorka uzgojenog u središnjoj kontinentalnoj Hrvatskoj sadržavao je 0,08 mg/kg eteričnog ulja. Identificirana je 31 sastavnica, što predstavlja 98,12 % eteričnog ulja. Glavne sastavnice bile su alifatski ugljikovodici C<sub>17</sub>-C<sub>29</sub> (61,99 %) i alifatski alkohol heksadekanol (17,65 %). U slabo zastupljenoj terpenskoj frakciji, dominirali su geraniol (9,58 %) i citronelol + nerol (4,27 %).

### **Zaključci**

Dobiveni rezultati ukazuju na potencijal korištenja kultivara stolisne ruže 'Fantin Latour' iz hrvatskog uzgoja u parfemskoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Stoga se očekuju opsežnija daljnja istraživanja utjecaja uzgoja i obrade biljnog materijala na prinos i sastav eteričnog ulja te iznalaženje drugih mogućnosti izolacije eteričnog ulja.

## **SUMMARY**

### **Objectives**

The aim of this study is to isolate and identify for the first time the essential oil of one of the oldest cultivars of Provence (cabbage) rose, *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour', grown in Croatia.

### **Materials and methods**

The essential oil content of rose petals was determined by steam distillation. Rose essential oil was identified by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS).

### **Results**

Fresh petals of the sample from continental central Croatia contained 0.08 mg/kg essential oil. Thirty-one components were identified, accounting for 98.12 % of the essential oil. The main components were aliphatic hydrocarbons C<sub>17</sub>-C<sub>29</sub> (61.99 %) and aliphatic alcohol hexadecanol (17.65%). Geraniol (9.58%) and citronellol + nerol (4.27 %) dominated the weakly represented terpene fraction.

### **Conclusion**

The obtained results indicate the potential of *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour' from Croatian cultivation for perfume, cosmetic and pharmaceutical industries. Therefore, it is expected that further extensive research will be conducted on the influence of growing conditions and processing of the plant material on the yield and composition of the essential oil, as well as on other ways of isolation of essential oils.

## SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA .....	1
1.1. Stolisna ruža - <i>Rosa x centifolia</i> L.....	2
1.2. Eterična ulja .....	4
1.3. Sastav ružinog eteričnog ulja .....	5
1.4. Djelovanje i primjena ružibnog eteričnog ulja .....	7
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	10
3. MATERIJALI I METODE .....	11
3.1. Biljni materijal .....	11
3.2. Određivanje i izolacija eteričnog ulja .....	12
3.3. Analiza eteričnog ulja u vezanom sustavu: plinski kromatograf - spektrometar masa .....	13
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	15
5. ZAKLJUČCI .....	23
7. LITERATURA .....	24
8. ŽIVOTOPIS .....	29

# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Biljni rod *Rosa* L. iz porodice Rosaceae sadrži 200 vrsta i više od 18 tisuća kultivara (1). Mnoge današnje ruže ne pripadaju samo jednoj vrsti već su kompleksni hibridi izvedeni iz više vrsta ruža (2). Ljepota i miris ružinih cvjetova poznati su od davnina, a prvi zapisi potječu iz starih kineskih i indijskih tekstova. Pronađeni fosili stari oko 40 milijuna godina ukazuju da su ruže i tada postojale. Smatra se da potječu s Bliskog Istoka iako je danas njihov uzgoj raširen svugdje po svijetu. Ruže su do danas ostale najvažnije ukrasne biljke, ali se uzgajaju širom svijeta i u svrhu dobivanja sirovine za parfemsku i kozmetičku industriju. Najveći svjetski proizvođači ruža su Turska, Kina, zemlje bivšeg Sovjetskog saveza, Egipat, Maroko i Bugarska (2, 3). Slika 1 prikazuje najvažnija područja uzgoja ruža i proizvodnje ružinog eteričnog ulja.



Slika 1. Glavna područja uzgoja ruža i proizvodnje ružinog eteričnog ulja (2)

Najviše se uzgajaju sljedeće vrste: *Rosa damascena* Mill., *R. alba* L., *R. centifolia* L. i *R. gallica* L. Na tržištu je prisutno ružino eterično ulje i hidrolati dobiveni destilacijom te apsoluti i konkretni kao etanolni ekstrakti. Ne samo da se navedeni pripravci koriste kao mirisne



komponente za parfemsku, kozmetičku, farmaceutsku i prehrambenu industriju, već se primjenjuju u aromaterapiji i tradicionalnoj medicini (2-4). Biljnu drogu Rosae flos čine osušene latice vrsta *Rosa gallica* L., *R. centifolia* L. ili *R. damascena* Mill. Prema Europskoj agenciji za lijekove biljni pripravci ove droge se mogu registrirati kao tradicionalni biljni lijekovi za blage upale na koži te u usnoj šupljini i ždrijelu (4, 5).

Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada usmjerena su na istraživanje eteričnog ulja stolisne ruže - *Rosa x centifolia* L. 'Fantin-Latour', starinskog kultivara koji je dobio ime po francuskom slikaru iz 19. stoljeća Henriju Fantin-Latoru poznatom po svojim iznimnim slikama ruža (6, 7).

## 1.1. Stolisna ruža - *Rosa x centifolia* L.

*Rosa x centifolia* L. je kompleksan hibrid između četiri vrste ruža (*R. gallica*, *R. moschata*, *R. canina* i *R. damascena*). Ova ruža koja u rano ljeto stvara vrlo mirisne roze cvjetove naziva se još provansanska i majska ruža, a zbog bujnih cvjetova s gusto zbijenim laticama i ruža kupusnjača. Smatra se da je nastala u težnji stvaranja hibrida koji će imati što bujnije cvjetove, pa je dobila i naziv „ruža sa stotinu latica“ (slika 2) (2).



Slika 2. *Rosa x centifolia* L.

(<https://www.istockphoto.com/photos/rosa-centifolia-photos>)

Stolisna ruža je grm visok oko 1,5 m. Stabljike su joj prekrivene brojnim bodljama različite veličine, veće su bodlje kukaste dok su ostale uskih baza i gotovo ravne. Listovi su sastavljeni od 5-7 liski, čije su plojke široko jajaste, s gornje strane tamnozelenene i gole, na naličju pahuljasto dlakave te izraženo nazubljenog ruba. Rahis lista je hrapav ali nije bodljikav. Cvjetni

pupoljci su široko jajasti. Čaške su raširene, duže od cvjetnih pupova te, poput cvjetnih stapki, prekrivene žljezdastim dlakama. Ružičasti cvjetovi su raspoređeni pojedinačno ili po nekoliko u cvatu. Postaju labaviji kad se potpuno otvore. Imaju dvostruko ocvijeće i gusto zbijene latice koje se savijaju i stvaraju peharast oblik cvijeta. Plodovi su okruglasti ili eliptični, s mesnatom pulpom (8).

## 1.2. Eterična ulja

Eterična ulja su aromatični i hlapljivi sekundarni biljni produkti sastavljeni od velikog broja kemijskih spojeva. Najzastupljenije su terpenske molekule, a mogu sadržavati fenilpropane, lančane ugljikovodike te spojeve s dušikom i sumporom. Sposobnost stvaranja eteričnog ulja imaju vrste iz određenih biljnih porodica, primjerice, Apiaceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Rutaceae i Zingiberaceae. Biljke odlažu eterična ulja u posebnim spremnicima koji su histološki lako prepoznatljivi i čija je anatomska građa svojstvena cijelom rodu ili porodici. To mogu biti žljezdane dlake, uljenice te intracelularni prostori (kanali) lokalizirani u nadzemnim i podzemnim organima.

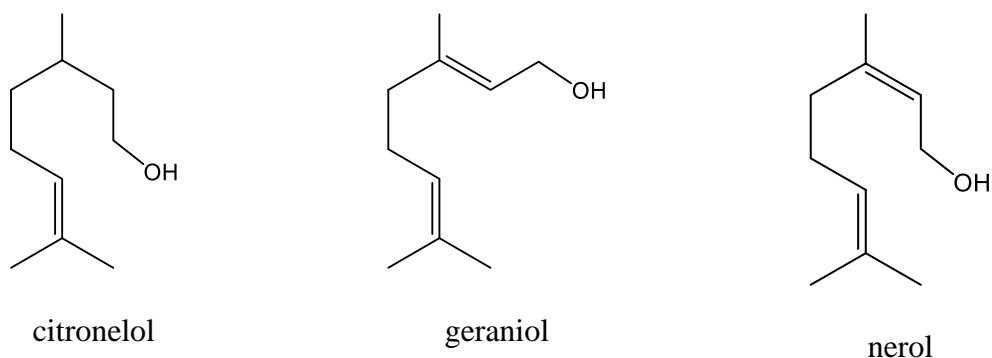
Najveći broj sastavnica eteričnih ulja su terpeni, prirodni spojevi čiji se građevni princip zasniva na molekuli izoprena (2-metilbutadiena;  $C_5H_8$ ). U eteričnim uljima su uglavnom prisutni monoterpeni ( $C_{10}$ ) i seskviterpeni ( $C_{15}$ ), a diterpene ( $C_{20}$ ) i triterpene ( $C_{30}$ ) nalazimo u eteričnim uljima koji se izoliraju ekstrakcijom ili mehaničkim postupcima. Mogu biti aciklične, mono-, bi- i triciklične strukture, a prema stupnju oksidacije pripadaju skupinama ugljikovodika, alkohola, fenola, aldehida, ketona, estera, oksida i peroksida. Iako se u eteričnim uljima obično detektira veliki broj sastavnica, samo ih je nekoliko prisutno u većoj količini te one određuju mirisna, fizikalno-kemijska i biološka svojstva eteričnog ulja (9, 10).

Svježe izolirana eterična ulja su većinom bistre, bezbojne do blijedožućkaste tekućine, a samo rijetko obojene. Dobro se otapaju u lipofilnim otapalima, a teško su topljiva u vodi. Većina ih je slabo viskozna i manje gustoće od vode. Točka vrelišta im je relativno visoka, najčešće u granicama od 150°C do 300 °C .

Izolacija eteričnih ulja provodi se konvencionalnim tehnikama koje uključuju destilaciju, ekstrakciju otapalima i mehaničke postupke, kao što je hladno prešanje (11). Među naprednije tehnike ubraja se mikrovalna ekstrakcija bez otapala (11-13) i ekstrakcija superkritičnim CO<sub>2</sub> (11, 14).

### **1.3. Sastav ružinog eteričnog ulja**

Prinos i sastav eteričnog ulja ruže značajno ovisi o genotipu, geografskom podrijetlu te ekološkim i pedološkim čimbenicima tijekom uzgoja (2, 15). Glavne sastavnice ružinog eteričnog ulja su aciklični monoterpenski alkoholi (slika 3). Mnoga su istraživanja pokazala da su citronelol, geranil i nerol glavne sastavnice eteričnog ulja brojnih vrsta ruža (16-18). ISO 9842 standard propisuje udio citronelola (20-34 %), geraniola (15-22 %) i nerola (5-12 %). Međusobni odnos njihovih udjela, posebice ukupni udio citronelola i nerola utječe na kvalitetu ulja i cijenu na tržištu (2, 19, 20). Osnovni karakter ružinog ulja uglavnom ovisi o sadržaju citronelola i geraniola, dok ga dodatno modificiraju nerol i farnezol koji je prisutan s udjelom 0,2-1,4 %. Drugi tipični sastojci ružinog ulja su esteri poput geranil-acetata, citronelil-formata i citronelil-acetata. Osim monoterpenskih alkohola, na miris ružinog eteričnog ulja značajno utječu i prisutni feniletanoidi poput 2-fenil-etanola (21). Damascenoni i spojevi sa sumporom su karakteristične slabije zastupljene komponente. Parafinu slični ugljikovodici pod nazivom stearopteni (poglavito nonadekan) su također tipične sastavnice ružina ulja zbog kojih se ulje skrutne na sobnoj i nižim temperaturama (4, 22).



Slika 3. Glavne sastavnice ružinog eteričnog ulja

Istraživanje provedeno 1994. pokazalo je da su geraniol (26,7 %) i citronelol (22,9 %) glavne sastavnice eteričnog ulja izoliranog hidrodestilacijom iz latica vrste *R. centifolia*. Udio izomera nerola je također bio visok (14,26 %). Među lančanim ugljikovodicima se isticao nonadekan (11,20 %) i heneikosan (6,34 %). Biljni uzorak je uzgojen u Poljskoj, a sadržavao je 0,05% eteričnog ulja (23). U usporedbi s vrstom *R. damascena*, pokazalo se da vrsta *R. centifolia* sadrži tri puta manje eteričnog ulja (2).

Younis i sur. (2008) su usporedno određivali eterično ulje u laticama stolisne ruže dobiveno destilacijom i ekstrakcijom heksanom. Metodom hidrodestilacije, iz vrste *R. centifolia* uzgoje u Pakistanu izolirano je 0.075 % eteričnog ulja, dok je ekstrakcijom latica heksanom dobiveno 0,11 % ekstrakta. U oba slučaja, za vrstu *R. damascena* su dobivene značajno veće vrijednosti (0,13 % i 0,145 %). U eteričnom ulju dobivenom hidrodestilacijom i heksanskom ekstraktu stolisne ruže podrijetlom iz Pakistana analizirano je 13 sastavnica, među kojima je bilo najviše citronelola (50,80 % i 54,04 %) i 2-fenil-etanola (35,80% i 30,69 %). Pojedinačni udjeli metil-eugenola, geraniola, geranil-acetata, benzil-acetata, citronelil-acetata, linalola, benzaldehida, rodinil-acetata bili su 1,23-4,92 %, dok su za ostale sastavnice određeni udjeli manji od 1 % u uzorku dobivenom hidrodestilacijom. U eteričnom ulju nije detektiran nerol (24). Vrlo slični rezultati su dobiveni i za vrstu *R. damascena*, u čijem je eteričnom ulju i heksanskom ekstraktu bilo više citronelola (56,03% i 62,13%) a manje 2-fenil-etanola (20,72% i 19,25%). U još

jednom istraživanju pakistanskog uzorka stolisne ruže dobiveno je 0,23 % petroleterkog ekstrakta primjenom Soxhlet ekstrakcije, dok je iz analiziranog apsoluta dobiveno 0,13 % eteričnog ulja. Plinskom kromatografijom je ustanovljeno da su 2-fenil-etanol, geranil-acetat, geraniol i linalol glavne sastavnice (25).

Apsolut vrste *R. centifolia* s marokanskog tržišta sadržavao je 66,5 % 2-fenil-etanola te 10,1 % citronelola. Pojedinačni udjeli geraniola, nerola, nonadekana, eugenola bili su u granicama između 1,6 % i 5,6 %, dok su postoci ostalih detektiranih sastavnica bili manji od 1 % (26).

#### **1.4. Djelovanje i primjena ružinog eteričnog ulja**

Osim u izradi parfema i kozmetičkih proizvoda stolisna ruža se primjenjuje u tradicionalnoj medicini u liječenju artritisa, astme, kašlja, bronhitisa, rana i čireva. No, unatoč širokoj primjeni, samo mali broj znanstvenih istraživanja potvrđuju medicinska svojstva vodenih i etanolnih ekstrakata stolisne ruže. *In vitro* istraživanja ukazala su na antioksidacijski učinak te sposobnost inhibicije kolagenaze i elastaze, dok su protuupalna i antiartritična svojstva stolisne ruže dokazana na animalnom modelu (27, 28).

Ružinom eteričnom ulju koje se najčešće dobiva iz vrsta *R. damascena* i *R. centifolia* se također pripisuju protuupalna i anti-infektivna svojstva te povoljno djelovanje na zarastanje rana. Tradicionalno se primjenjuje za ublažavanje glavobolje, hemoroida, upalnih stanja u gastrointestinalnom traktu te bolova u mišićima (3). Vazorelaksirajući učinak u torakalnoj aorti štakora pokazalo je eterično ulje damašćanske ruže, a velika odgovornost se pripisuje geraniolu i citronelolu (29, 30). Nekoliko recentnih istraživanja ukazalo je na antibakterijska i antifungalna svojstva ružinog eteričnog ulja (31-34). Iako u značajno manjem broju znanstvenih studija, dokazano je antivirusno (33), antioksidacijsko (31) i neuroprotektivno (35) djelovanje ružinog eteričnog ulja.

Pregled 13 kliničkih studija objavljenih do 2015. godine u kojima je sudjelovalo 722 ispitanika pokazao je da eterično ulje primijenjeno inhalacijski ili topikalno djeluje opuštajuće i analgetski te da ublažava depresiju, anksioznost i seksualnu disfunkciju, bez neželjenih učinaka (3).

Provedena je randomizirana, placebo kontrolirana klinička studija koja je uključivala 60 bolničkih pacijenata sa sindromom sagorijevanja. Inhalacijom pet kapi 40 %-tnog ružinog eteričnog ulja tijekom tri uzastopne večeri smanjila se anksioznost i poboljšala kvaliteta sna u intervencijskoj skupini (36). Druga randomizirana i placebo kontrolirana studija pokazala je da ružino eterično ulje smanjuje anksioznost u hospitaliziranih pacijenata s akutnim infarktom miokarda. U studiji je sudjelovalo 80 pacijenata koji su inhalacijom dobivali tri kapi eteričnog ulja ili placebo, tri puta dnevno tijekom tri dana (37). Nadalje, inhalacija eteričnog ulja tijekom 10 minuta prije jutarnje smjene smanjila je anksioznost u medicinskog osoblja u operacijskim dvoranama. Pet kapi eteričnog ulja na jastuku tijekom 30 uzastopnih noći poboljšalo je kvalitetu sna u istih ispitanika. Studija je provedena tijekom COVID-19 pandemije kao randomizirana, neslijepa, u paralelnim skupinama, a uključivala je 80 ispitanika iz Irana (38). Suprotno navedenim rezultatima, jedna randomizirana, placebo kontrolirana, jednostruko slijepa studija je pokazala da inahlacija ružinog eteričnog ulja ne smanjuje anksioznost bolesnika koji idu na ugradnju premosnice koronarne arterije. U studiji je sudjelovalo 66 pacijenata koji su inhalirali 10 minuta tri kapi ružinog eteričnog ulja jednu noć i jedan sat prije zahvata (39).

Jedna iranska klinička studija potvrdila je smanjenje boli i anksioznosti u trudnica u prvoj fazi porođaja pri primjeni ružinog eteričnog ulja. Svakih 30 minuta trudnice su inhalacijom dobivale 0.08 mL eteričnog ulja. Istraživanje je bilo randomizirano te je uključivalo 110 roditelja (40). Ustanovljeno je da topikalno primijenjeno ružino eterično ulje ublažava bol u donjem dijelu leđa kod trudnica. Studija je provedena u Iranu, trajala je četiri tjedna, uključivala 120 ispitanica, a dizajnirana je kao randomizirana i placebo kontrolirana (41).

Topikalna primjena ružinog eteričnog ulja pokazala se učinkovitom u kratkotrajnom ublažavanju intenziteta boli kod migrenske glavobolje. U ispitivanju je sudjelovalo 40 iranskih ispitanika. Studija je bila randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana i križna (42).

Djelotvornost inhalacije eteričnog ulja damašćanske ruže na ublažavanje simptoma premenstrualnog sindroma ispitana je u Iranu. Trostruko slijepa, placebo kontrolirana, randomizirana studija uključivala je 64 ženske osobe koje su dva puta dnevno po pet minuta inhalirale 4 %-tno eterično ulje za vrijeme luteinske faze, kroz pet dana. Nakon dva mjeseca, ustanovljeno je smanjenje fizioloških, psihičkih i socijalnih simptoma (43).

U Turskoj je provedena randomizirana klinička studija u kojoj je ispitano djelovanje ružinog eteričnog ulja u kombinaciji s diklofenakom. Pokazalo se da adjuvantna primjena ružinog eteričnog ulja ublažava bol kod dismenoreje (44).



## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog specijalističkog rada je po prvi put provesti izolaciju i identifikaciju eteričnog ulja iz jednog od najstarijih kultivara stolisne ruže, *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour', uzgojenog u okolici Zagreba. Iako se smatra da eterično ulje vrhunske kvalitete daje stolisna ruža uzgojena u francuskoj regiji Grasse kao poznatoj svjetskoj prijestolnici parfema, u okviru ovog rada pokušali smo saznati može li se uzgojem u kontinentalnoj Hrvatskoj dobiti relevantna visoko vrijedna biljna sirovina. Na taj način smo htjeli potaknuti daljnja istraživanja i dati doprinos hrvatskoj proizvodnji eteričnih ulja i izradi parfema.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Biljni materijal

Biljni materijal za ovo istraživanje bili su svježe prikupljeni cvjetovi uzgojenog kultivara stolisne ruže - *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour' (slike 4 i 5). Primjerci navedenog kultivara zasađeni su 2013. godine u okolini Zagreba na lokalitetu Sveta Klara (45° 45' 0" SJ, 15° 59' 0" I) na 112 metara nadmorske visine. Primijenjen je ekološki način uzgoja. Ruže nisu tretirane gnojivima niti sredstvima zaštite, a obrezivane su dva puta godišnje. Budući da stolisna ruža cvjeta u drugoj polovici svibnja i prvoj polovici lipnja, prikupljanje biljnog materijala provedeno je 25. svibnja 2018. godine. Cvjetovi su prikupljeni s 20 različitih biljaka po kišnom vremenu, rano ujutro (oko 6 sati), nježnim otkidanjem od cvjetne stapke. U sljedeća dva sata latice su odvojene i podvrgnute postupku destilacije.



Slika 4. *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour' u uzgoju



Slika 5. Prikupljeni cvjetovi stolisne ruže

### 3.2. Određivanje i izolacija eteričnog ulja

Svježe latice stolisne ruže podvrgnute su postupku destilacije pomoću vodene pare u aparaturi koju propisuje Europska farmakopeja (45). U tikvicu za destilaciju od 1000 mL stavljene su odvojene ružine latice (250 g), prelivene s 500 mL destilirane vode (slika 6) te podvrgnute destilaciji tijekom tri sata, pri brzini destilacije 2-3 mL/min. Izolirano eterično ulje prikupljeno je u graduiranoj cijevi (slika 7), iz koje je izdvojeno primjenom heksana.



Slika 6. Biljni materijal prije destilacije



Slika 7. Graduirana cijev s eteričnim uljem

### 3.3. Analiza eteričnog ulja u vezanom sustavu: plinski kromatograf – spektrometar masa

Eterično ulje izolirano iz ružinih latica podvrgnuto je analizi u spregnutom sustavu plinske kromatografije sa spektrometrijom masa (slika 8). Uzorak za analizu pripremljen je otapanjem eteričnog ulja u heksanu te je 1  $\mu\text{L}$  uzorka injektiran u split modu (1:50), pri temperaturi 250  $^{\circ}\text{C}$ . Kao plin nositelj korišten je helij s protokom 1 mL/min. Sastavnice eteričnog ulja odijeljene su u kapilarnoj koloni HP-5ms (5 % fenil-metilpolisiloksan) duljine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine filma 0,25  $\mu\text{m}$ , uz sljedeći temperaturni program: početna temperatura kolone 60  $^{\circ}\text{C}$  (1 min), zagrijavanje 3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do 300  $^{\circ}\text{C}$  te zadržavanje temperature kolone 10 min na 300  $^{\circ}\text{C}$ . Odijeljene sastavnice analizirane su na masenom spektrometru (EI 70 eV, m/z 40-400). U svrhu izračuna retencijskih indeksa pod istim je uvjetima analizirana i smjesa n-alkana od C-8 do C-30. Obrada rezultata provedena je korištenjem računalnog paketa Agilent GC/MSD ChemStation verzija F.01.03. Sastavnice eteričnog ulja identificirane su usporedbom spektara masa u bazi NIST 14, Wiley 9 i HPCH 2205. Identifikacija je također provedena na temelju linearnog retencijskog indeksa (RI) koji je izračunat za svaku odijeljenu sastavnicu prema sljedećem izrazu:

$$RI = 100 \times C + 100 \frac{(t_R)_X - (t_R)_C}{(t_R)_{C+1} - (t_R)_C}$$

gdje je  $C$  broj  $C$  atoma n-alkana,  $t_R$  retencijsko vrijeme za pojedinu sastavnicu, a  $X$  komponenta za koju se računa retencijski indeks.



Slika 8. Spregnuti sustav plinske kromatografije sa spektrometrijom masa u kojem je napravljena analiza eteričnog ulja (Zavod za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta)

#### 4. REZULTATI i RASPRAVA

Određeno je da svježe latice stolisne ruže sadrže 0,08 mL/kg eteričnog ulja. Biljni materijal je prikupljen u ranim jutranjim satima jer su dosadašnja istraživanja pokazala da je tada prinos ružinog eteričnog ulja najveći (46). Primijenjen je postupak destilacije pomoću vodene pare kojeg propisuje Europska farmakopeja (45). Odnos biljnog materijala i vode u tikvici za destilaciju bio je 1:2. Prema rezultatima prethodnih istraživanja dokazano je da upravo taj omjer osigurava najveći prinos ružinog eteričnog ulja postupkom destilacije (47). Slika 9 prikazuje izolirano eterično ulje koje je podvrgnuto analizi kromatografskog profila plinskom kromatografijom.



Slika 9. Izolirano ružino eterično ulje metodom destilacije pomoću vodene pare

Ispitivana stolisna ruža sadržavala je manje eteričnog ulja u odnosu na prethodno istraženi poljski uzorak (23) te uzorke uzgojene u Pakistanu (24, 25). No, treba uzeti u obzir činjenice da kultivari prethodno istražene stolisne ruže nisu specificirani te da se poljski i pakistanski uzorci razlikuju od hrvatskih uzoraka prema geografskom podrijetlu i uvjetima uzgoja, a sve to može značajno utjecati na prinos eteričnog ulja. Niski prinosi eteričnog ulja opravdavaju



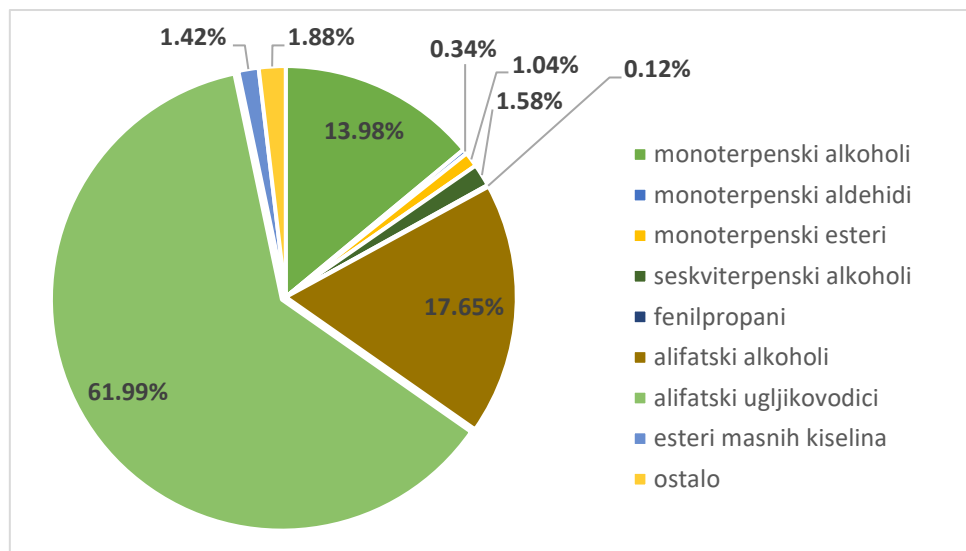
dominantnu ekstrakciju latica stolisne ruže etanolom u svrhu dobivanja konkretna i apsoluta za kozmetičku i parfemsku industriju (26), kao što je to slučaj i s drugim vrstama ruža (48, 49).

Analizom eteričnog ulja u vezanom sustavu: plinski kromatograf-spektrometar masa uspješno je odijeljena i identificirana 31 sastavnica, što predstavlja 98,12 % eteričnog ulja. Rezultati su prikazani u tablici 1. Vidljivo je da ovo eterično ulje sadrži veliku količinu dugolančanih ugljikovodika (61,99 %) koji su sastavljeni od 17-29 ugljikovih atoma. Vrlo mala frakcija pripada nezasićenim ugljikovodicima (7,19 %), dok zasićeni ugljikovodici prevladavaju. Upravo se među njima nalazi i najzastupljenija sastavnica heneikosana ( $C_{21}H_{44}$ ), s udjelom od 20,85 %. Među ostalim lančanim ugljikovodicima valja istaknuti prisutnost nonadekana (13,47 %), trikosana (7,38 %), pentakosana (5,21 %) i heptakosana (4,17 %). Dobiveni rezultati su pokazali da veliki dio eteričnog ulja od 17,65 % čini dugolančani alkohol heksadekanol ( $C_{16}H_{34}O$ ), poznat i kao cetilni alkohol. Kad se promatraju prisutne terpenijske molekule, prevladavaju također alkoholi. To su prvenstveno aciklični monoterpenski alkoholi poput geraniola (9,58 %) te citronelola i nerola (4,27 %), a samo mali dio pripada seskviterpenskima alkoholima kao što su *trans*-farnezol te  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -eudesmol. Zanimljivo je spomenuti prisutnost metilnog estera linolne kiseline (1,42 %). U količini manjoj od 1 % detektirani su aciklični monoterpenski alkohol linalol, aldehidi neral i geranial, esteri citronelil-acetat i geranil-acetat te fenilpropan eugenol. Monoterpenski i seskviterpenski ugljikovodici nisu detektirani. Slika 10. donosi usporedne udjele pojedinih skupina spojeva u ispitivanom eteričnom ulju. Slika 11. prikazuje plinski kromatogram ispitivanog eteričnog ulja stolisne ruže na kojem se može uočiti da prevladavaju pikovi neterpenskih spojeva iz skupine alifatskih ugljikovodika i alkohola. Strukture glavnih sastavnica su prema zastupljenosti u eteričnom ulju prikazane na slici 12.

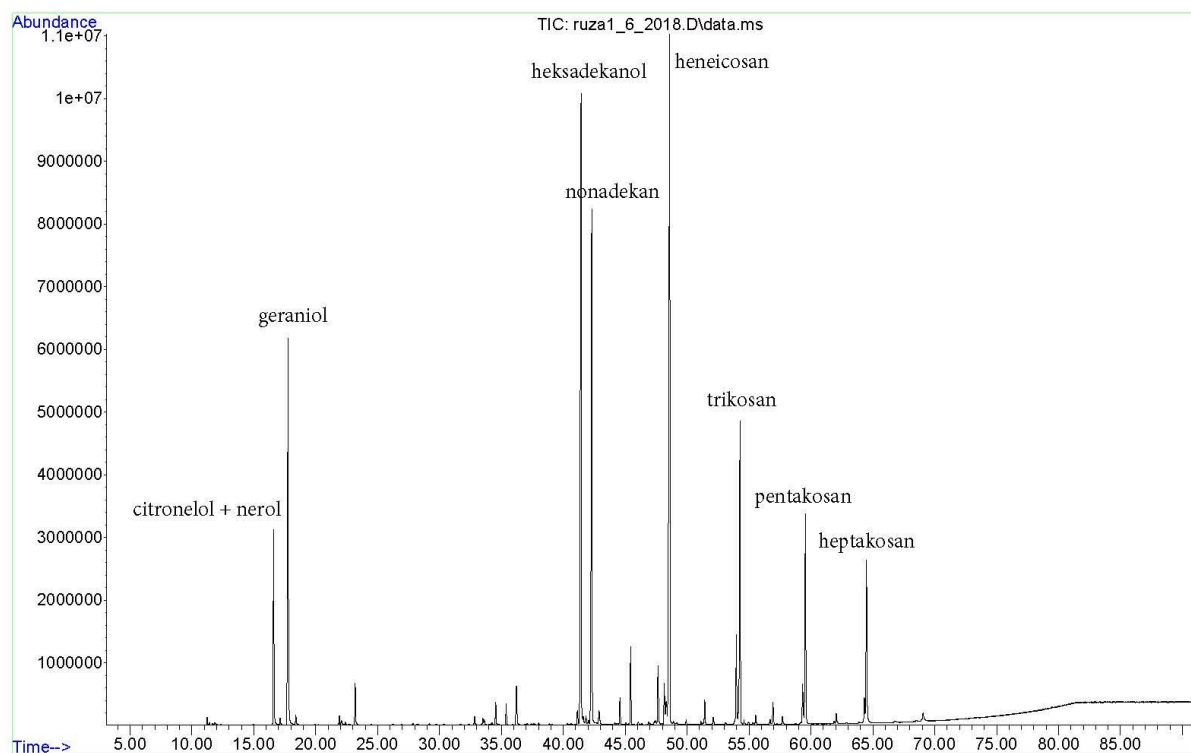
**Tablica 1.** Sastav eteričnog ulja latica vrste *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour'

No.	Sastavnica	Kemijska formula	RI (HP-5ms)	Udio (%)
1	linalol	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1101	0,13
2	<b>citronelol + nerol</b>	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O + C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1229	<b>4,27</b>
3	neral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1242	0,13
4	<b>geraniol</b>	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1257	<b>9,58</b>
5	geranial	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1271	0,21
6	citronelil-acetat	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1354	0,17
7	eugenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	1358	0,12
8	geranil-acetat	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	1385	0,87
9	γ-eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1630	0,19
10	β-eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1648	0,15
11	α-eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1651	0,12
12	heptadekan	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	1699	0,44
13	<i>trans</i> -farnesol+6,8-heptadekadien	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O + C <sub>17</sub> H <sub>32</sub>	1722	1,12
14	<b>heksadekanol</b>	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	1875	<b>17,65</b>
15	<b>nonadekan</b>	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	1901	<b>13,47</b>
16	9-ikosen	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub>	1971	0,56
17	ikosan	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	1998	1,69
18	metil-linoleat	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	2071	1,42
19	9-heneikosen	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	2087	0,95
20	1-heneikosen	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	2092	1,69
21	<b>heneikosan</b>	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	2102	<b>20,85</b>
22	dokosan	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	2198	0,56
23	9-trikosen	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub>	2289	2,29
24	<b>trikosan</b>	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	2299	<b>7,38</b>
25	tetrakosan	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	2398	0,53
26	1-pentakosen	C <sub>25</sub> H <sub>50</sub>	2490	1,09
27	<b>pentakosan</b>	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	2499	<b>5,21</b>
28	heksakosan	C <sub>26</sub> H <sub>56</sub>	2598	0,25
29	1-heptakosen	C <sub>27</sub> H <sub>54</sub>	2691	0,61
30	<b>heptakosan</b>	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	2698	<b>4,17</b>
31	nonakosan	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	2898	0,25
	<b>ukupno identificirano</b>			<b>98,12</b>

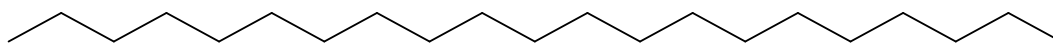




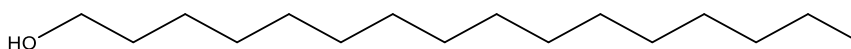
Slika 10. Udjeli skupina spojeva u eteričnom ulju vrste *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour'



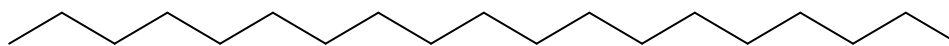
Slika 11. Plinski kromatogram eteričnog ulja vrste *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour'



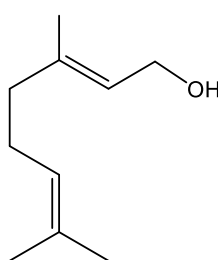
Heneikosan ( $C_{21}H_{44}$ )



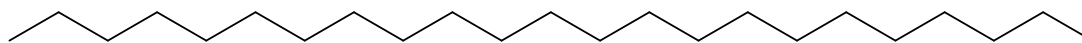
Heksadekanol ( $C_{16}H_{34}O$ )



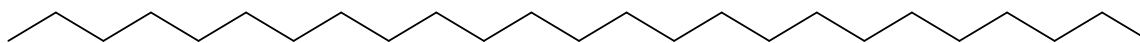
Nonadekan ( $C_{19}H_{40}$ )



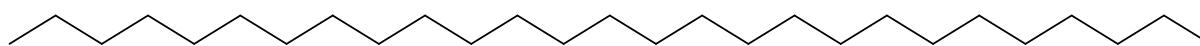
Geraniol



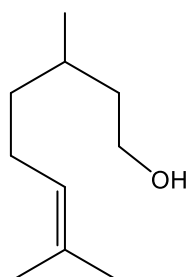
Trikosan ( $C_{23}H_{48}$ )



Pentakosan ( $C_{26}H_{52}$ )



Heptakosan ( $C_{27}H_{56}$ )



Citronelol

Slika 12. Strukture glavnih sastavnica eteričnog ulja vrste *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour'

Uvidom u dostupne literaturne podatke, ovo je prvo istraživanje eteričnog ulja kultivara stolisne ruže 'Fantin Latour'. Ispitani hrvatski uzorak sadržavao je značajno manje monoterpenkih alkohola geraniola, nerola i citronelola u odnosu na uzorak stolisne ruže uzgojene u Poljskoj (23). Iako su među alkanima također prevladavali nonadekan, heneikosan i trikosan, poljski uzorak je bio puno siromašniji frakcijom lančanih ugljikovodika u odnosu na naš uzorak. Uz veliki udio citronelola iznad 50 %, eterično ulje izolirano iz stolisne ruže uzgojene u Pakistanu sadržavalo je i više od 30 % 2-fenil-etanola (24). U hrvatskom eteričnom ulju nije detektiran 2-fenil-etanol, a karakterizira ga i visok udio dugolančanih ugljikovodika, što ga čini vrlo različitim od pakistanskog eteričnog ulja. Inače je 2-fenil-etanol vrlo zastupljen u ružinim laticama i doprinosi karakterističnom mirisu na ruže (48). No, dobro je topljiv u vodi, pa se obično gubi tijekom procesa destilacije, što može biti razlog da nije detektiran u ispitivanom uzorku. U prilog tome govore i rezultati analize hidrolata koji je zaostao nakon destilacije damašćanske ruže. U diklormetanskom ekstraktu dobivenom izmućkavanjem hidrolata detektiran je 2-fenil-etanol u vrlo visokom udjelu od 69,7-81,6 %, a među ostalim sastavnicama identificirani su linalol, citronelol, nerol i geraniol, s pojedinačnim udjelima između 2,9 % i 7,2 % (50).

Udjeli monoterpenkog alkohola linalola (0,13 %) i fenilpropana eugenola (0,12 %) odgovaraju propisanim standardima kvalitete (< 2 %). Ako se uzme u obzir omjer citronelola i geraniola, može se pretpostaviti da, iako je uzorak sabiran po kišnom vremenu, nije došlo do fermentacije svježih latica budući da su prethodna istraživanja pokazala da fermentacijski procesi povećavaju udio citronelola, a da se postotak geraniola smanjuje (51). U ispitivanom eteričnom ulju zastupljeno je svega 16,94 % terpena. Važno je napomenuti da monoterpenki alkoholi citronelol i geraniol određuju osnovni karakter ružinog eteričnog ulja. Stoga je u procjeni kakvoće ulja važan omjer citronelola i geraniola koji bi trebao biti 1,0-1,5 (48). Udio citronelola i geraniola u našem uzorku je puno manji u odnosu na ISO standarde za ružino eterično ulje

(19) te u odnosu na prethodna istraživanja kako stolisne ruže (23, 24) tako i nekih drugih vrsta ruža (15, 45, 52). Pored toga, omjer citronelola i geraniola je oko 0,5. Velika zastupljenost alifatskih ugljikovodika je važno obilježje ružinog eteričnog ulja. Ti kruti parafinski ugljikovodici (stearopteni) ne doprinose mirisnim svojstvima eteričnog ulja, ali je važna njihova uloga u održavanju stabilnosti mirisa (48). Nadalje, zbog njihove prisutnosti ružino ulje očvrstne na sobnoj temperaturi i kada se ohladi (22).

Dobiveni rezultati su ukazali na vrlo visok udio neterpenskih molekula u ispitivanom eteričnom ulju (81,18 %), što se preventivno odnosi na alifatske ugljikovodike (61,99 %) i alifatski alkohol heksadekanol (17,65 %). Provedeno je samo nekoliko istraživanja eteričnog ulja i apsoluta stolisne ruže, a predmetom istraživanja bile su samo odabrane sastavnice, pa detaljnija međusobna usporedba sastava nije moguća. Bugarski uzorak stolisne ruže sadržavao je nešto više nonadekana (16,9 %), značajno više heptadekana (4,49 %) te značajno manje heneicosana (8,36 %). Osim navedenih ugljikovodika, u uzorku eteričnog ulja bugarskog podrijetla smjesa citronelola i nerola iznosila je 15,3 %, što je 3,5 puta više u odnosu na hrvatski uzorak. No, bugarski uzorak je sadržavao manje geraniola, čime također nisu zadovoljeni ISO standardi kojima se propisuje 15-22 % geraniola (20). Najzastupljenije sastavnice hrvatskog uzorka su alifatski ugljikovodici, među kojima prevladavaju heneicosan i nonadekan. U usporedbi s drugim ružama poput vrsta *R. damascena*, *R. gallica*, *R. alba* i *R. hybrida*, eterično ulje stolisne ruže hrvatskog podrijetla sadrži puno više heneicosana, dok se udjeli nonadekana bolje usporedivi (20). Ako sastav stolisne ruže uzgojene u Hrvatskoj usporedimo s rezultatima dobivenim za damaščansku ružu, može se zaključiti da su neki iranski uzorci sličniji jer sadrže značajno više alifatskih ugljikovodika (45, 53) nego što je to slučaj u bugarskim i turskim eteričnim uljima (20, 52, 54). Zanimljivo je spomenuti da je u eteričnom ulju žute ruže (*R. foetida* Herrm.) uzgojene u Iraku vrlo zastupljena frakcija alifatskih ugljikovodika koja je sastavom najviše slična ispitivanom eteričnom ulju. Nadalje, u eteričnom ulju žute ruže, za

razliku od damašćanske i drugih vrsta ruža, detektiran je alifatski alkohol heksadekanol u visokom postotku koji odgovara hrvatskom uzorku (55).

Uz sve navedeno, važno je istaknuti ustanovljenu veliku genotipsku raznolikost među vrstama ruža i njihovim kultivarima, pa tako i unutar vrste *Rosa x centifolia* L. (56), što svakako utječe na prinos i sastav eteričnog ulja te opravdava sve navedene razlike.

## 6. ZAKLJUČCI

U okviru ovog rada po prvi put je provedeno fitokemijsko istraživanje eteričnog ulja starinskog kultivara stolisne ruža - *Rosa x centifolia* L. 'Fantin Latour'. Svježe latice biljnog uzorka uzgojenog u središnjoj kontinentalnoj Hrvatskoj sadržavale su 0,08 mg/kg eteričnog ulja.

Analizom izoliranog eteričnog ulja u vezanom sustavu plinske kromatografije i spektrometrije masa identificirana je 31 sastavnica, što predstavlja 98,12 % eteričnog ulja. Alifatski ugljikovodici C<sub>17</sub>-C<sub>29</sub> (61,99 %) i alifatski alkohol heksadekanol (17,65 %) su najzastupljenije sastavnice. U skromnoj terpenskoj frakciji prevladavali su geraniol (9,58 %) te citronelol + nerol (4,27 %).

Ispitivani uzorak ne udovoljava propisanim ISO 9842 standardima kakvoće ružinog eteričnog ulja jer sadrži značajno manje monoterpenkih alkohola citronelola, geraniola i nerola. Omjer citroneola i geraniola iznosio je 0,5 te nije odgovarao preporučenom omjeru 1,0-1,5 koji upućuje na bolju kakvoću ružinog eteričnog ulja.

Pri usporedbi s dosadašnjim vrlo oskudnim istraživanjima eteričnog ulja stolisne ruže bez specificiranog kultivara, prinos eteričnog ulja je manji, a sastav se značajno razlikuje zbog dominantnije frakcije alifatskih ugljikovodika i alkohola te slabije zastupljenih acikličnih monoterpenkih alkohola u hrvatskom uzorku. Navedene razlike mogu se pripisati razlikama u genotipu, geografskom podrijetlu i uvjetima uzgoja.

Dobiveni rezultati ukazuju na potencijal korištenja stolisne ruže iz hrvatskog uzgoja u parfemskoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Stoga se očekuju opsežnija daljnja istraživanja utjecaja uvjeta uzgoja i obrade biljnog materijala na prinos i sastav eteričnog ulja te iznalaženje drugih mogućnosti izolacije eteričnog ulja poput ekstrakcije superkritičnim ugljikovim dioksidom koja je pogodna za uzorke s malim prinosima eteričnog ulja te je medicinski i ekološki prihvatljiva.

## 7. LITERATURA

1. Gil CS, Lim ST, Lim YJ, Jung K-H, Na J, Eom S. Volatile content variation in the petals of cut roses during vase life. *Sci Hortic* 2019;261:108960.
2. Mileva M, Ilieva Y, Jovtchev G, Gateva S, Zaharieva MM i sur. Rose flowers - A delicate perfume or a natural healer? *Biomolecules* 2021;11:127.
3. Mohebitabar S, Shirazi M, Bioos S, Rahimi R, Malekshahi F, Nejatbakhsh F. Therapeutic efficacy of rose oil: A comprehensive review of clinical evidence. *Avicenna J Phytomed* 2017;7:206-213.
4. European Medicines Agency: Assessment report on *Rosa gallica* L., *Rosa centifolia* L., *Rosa damascena* Mill., flos. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/rosae-flos>. Pristupljeno: 20. travnja 2021.
5. European Medicines Agency: Community herbal monograph on *Rosa gallica* L., *Rosa centifolia* L., *Rosa damascena* Mill., flos. Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/rosae-flos>. Pristupljeno: 20. studenog 2021.
6. The Rosarian Library: Fantin-Latour; the rose and the artist. Dostupno na: <https://therosarianlibrary.co.uk/stories/fantin-latour-the-rose-and-the-artist/>; Pristupljeno: 20. rujna 2021.
7. Dickerson B. The Old Rose Index. iUniverse 2001, str. 253.
8. International Dendrology Society: Trees and shrubs online - *Rosa centifolia* L. Dostupno na: <https://treesandshrubsonline.org/articles/rosa/rosa-centifolia/>; Pristupljeno: 20. kolovoza 2022.
9. Tisserand R, Young R, Williamson EM, Essential Oil Safety. Elsevier; 2014, str 5-22.
10. Samuelson G, Bohlin L. Drugs of natural origin. Swedish Pharmaceutical Press; 2009, str. 366-412.
11. Rassem HHA, Nour AH, Yunus RM. Techniques for extraction of essential oils from plants: A review. *Aust J Basic Appl Sci* 2016;10:117-127.
12. Villa C, Robustelli Della Cuna FS, Russo E, Ibrahim MF, Grignani E, Preda S. Microwave-assisted and conventional extractions of volatile compounds from *Rosa x damascena* Mill. fresh petals for cosmetic applications. *Molecules* 2022;27:3963.
13. Patrascu M, Radoiu M. Rose essential oil extraction from fresh petals using synergetic microwave and ultrasound energy: Chemical composition and antioxidant activity assessment. *J Chem Chem Eng* 2016;10:136-142.

14. Da Porto C, Decorti D, Natolino A. Application of a supercritical CO<sub>2</sub> extraction procedure to recover volatile compounds and polyphenols from *Rosa damascena*. *Sep Sci Technol* 2015;50:1175-1180.
15. Dobрева A, Getchovska K, Nadelcheva-Antonova D, A comparative study of Saudi Arabia and Bulgarian rose oil chemical profile: The effect of technology and geographic origin. *Flav Fragr J* 2020;35(5):584-596.
16. Mirzaei M, Sefidkon F, Ahmadi N, Shojaeiyan A, Hosseini H. Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) essential oil is affected by short-and long-term handling. *Ind Crops Prod* 2016;79:219-224.
17. Maciąg A, Kalembe D. Composition of rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb.) hydrolate according to the time of distillation. *Phytochem Lett* 2015;11:373-377.
18. Xiao Z, Luo J, Niu Y, Wu M. Characterization of key aroma compounds from different rose essential oils using gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and partial least squares regression. *Nat Prod Res* 2018;32:1567-1572.
19. ISO 9842. Dostupno na: <https://www.sis.se/api/document/preview/904024/>. Pristupljeno: 20. studenog 2021.
20. Kovatcheva N, Zheljzakov VD, Astatkie T. Productivity, oil content, composition, and bioactivity of oil-bearing rose accessions. *Hort Sci* 2011; 46(5):710-714.
21. Roccia A, Oyant LHS, Cavel E, Caissard J-C, Machenaud J i sur. Biosynthesis of 2-phenylethanol in rose petals is linked to the expression of one allele of RhPAAS. *Plant Physiol* 2019;179(3):1064-1079.
22. American Botanical Council: Turkish Rose: A review of the history, ethnobotany, and modern uses of Rose petals, rose oil, rose water, and other rose products. Dostupno na: <https://www.herbalgram.org>; Pristupljeno: 17. svibnja 2021.
23. Góra J, Lis A, Kalembe D. Chemical composition of the essential oil of *Rosa centifolia* L. petals. *J Essent Oil Res* 1995;7:89-90.
24. Younis A, Riaz A, Khan MA, Khan AA, Pervez MA. Extraction and identification of chemical constituents of the essential oil of *Rosa* species. *Acta Horti* 2008;766:485-492.
25. Shabbir MK, Nadeem R, Mukhtar H, Anwar F, Mumtaz M. Physico-chemical analysis and determination of various chemical constituents of essential oil in *Rosa centifolia*. *Pak J Bot* 2009;41: 615-620.
26. Wanner J, Schmidt E, Bail S, Jirovetz L, Buchbauer G, Gochev V, Girova T, Atanasova T, Stoyanova A. Chemical composition, olfactory evaluation and antimicrobial activity of selected essential oils and absolutes from Morocco. *Nat Prod Commun* 2010;5:1349-1354.



27. Kumar R, Nair V, Singh S, Gupta YK. In vivo antiarthritic activity of *Rosa centifolia* L. flower extract. *Ayu* 2015;36(3):341-345.
28. Mohsen E, Younis I Y, Farag MA. Metabolites profiling of Egyptian *Rosa damascena* Mill. flowers as analyzed via ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry in relation to its anti-collagenase skin effect. *Ind. Crops Prod* 2020;155:112818.
29. Demirel S. Geraniol and  $\beta$ -citronellol participate in the vasorelaxant effects of *Rosa damascena* Miller essential oil on the rat thoracic aorta. *Fitoterapia* 2022;161:105243.
30. Demirel S. *Rosa damascena* Miller essential oil relaxes rat thoracic aorta through the NO-cGMP-dependent pathway. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2022;162:106661.
31. Yi F, Sun J, Bao X, Ma B, Sun M. Influence of molecular distillation on antioxidant and antimicrobial activities of rose essential oils. *LWT* 2019;102:310-331.
32. Elhawary EA, Mostafa NA, Labib RM, Singab AN. Metabolomic profiles of essential oils from selected *Rosa* varieties and their antimicrobial activities. *Plants (Basel)* 2021;10:1721.
33. Androutopoulou C, Christopoulou SD, Hahalis P, Kotsalou C, Lamari FN, Vantarakis A. Evaluation of essential oils and extracts of rose geranium and rose petals as natural preservatives in terms of toxicity, antimicrobial, and antiviral activity. *Pathogens* 2021, 10:494.
34. Ghavam M, Afzali A, Manca ML. Chemotype of damask rose with oleic acid (9 octadecenoic acid) and its antimicrobial effectiveness. *Sci Rep* 2021;11:8027.
35. Senol FS, Orhan IE, Kurkuoglu M, Khan MTH, Altintas A, Sener B, baser KHC. A mechanistic investigation on anticholinesterase and antioxidant effects of rose (*Rosa damascena* Mill.). *Food Res Int* 2013;53: 502-509.
36. Mokhtari R, Mirbagher Ajorpaz N, Abdi K, Golitaleb M. The effects of *Rosa damascene* aromatherapy on anxiety and sleep quality in burn patients: A randomized clinical trial. *Burns* 2022 (u tisku).
37. Haddadi M, Sarpooshi HR, Jaghoury E, Dehnabi A. The effect of aromatherapy with rose essential oil on apparent anxiety in patients with myocardial infarction. *J Complement Integr Med* 2021; doi: 10.1515/jcim-2021-0126.
38. Mahdood B, Imani B, Khazaei S. Effects of inhalation aromatherapy with *Rosa damascena* (Damask rose) on the state anxiety and sleep quality of operating room personnel during the COVID-19 pandemic: A randomized controlled trial. *J Perianesth Nurs* 2022;37:493-500.

39. Fazlollahpour-Rokni F, Shorofi SA, Mousavinasab N, Ghafari R, Esmaeili R. The effect of inhalation aromatherapy with rose essential oil on the anxiety of patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Complement Ther Clin Pract* 2019;34:201-207.
40. Hamdamian S, Nazarpour S, Simbar M, Hajian S, Mojab F, Talebi A. Effects of aromatherapy with *Rosa damascena* on nulliparous women's pain and anxiety of labor during first stage of labor *J Integr Med* 2018;16:120-125.
41. Shirazi M, Mohebitabar S, Bioos S, Yekaninejad MS, Rahimi R, Shahpiri Z, Malekshahi F, Nejatbakhsh F. The effect of topical *Rosa damascena* (Rose) oil on pregnancy-related low back pain: A randomized controlled clinical trial. *J Evid Based Comp Altern Med* 2017;22:120-126.
42. Niazi M, Hashempur MH, Taghizadeh M, Heydari M, Shariat A. Efficacy of topical rose (*Rosa damascena* Mill.) oil for migraine headache: A randomized double-blinded placebo-controlled cross-over trial. *Complement Ther Med* 2017;34:35-41.
43. Heydari N, Abootalebi M, Jamalimoghadam N, Kasraeian M, Emamghoreishi M, Akbarzaded M. Evaluation of aromatherapy with essential oils of *Rosa damascena* for the management of premenstrual syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 2018;142:156-161.
44. Uysal M, Dođru HY, Sapmaz E, Tas U, Çakmak B, Ozsoy AZ, Sahin F, Ayan S, Esen M. Investigating the effect of rose essential oil in patients with primary dysmenorrhea. *Complement Ther Clin Pract* 2016,24:45-49.
45. European Pharmacopoeia Online: Essential oils in herbal drugs (2.8.12). Dostupno na: <https://pheur.edqm.eu/subhome/10-3>; Pristupljeno: 20. studenog 2021.
46. Omidi M, Khandan-Mirkohi A, Kafi M, Rasouli, O, Shaghaghi A, Kiani M, Zamani Z. Comparative study of phytochemical profiles and morphological properties of some Damask roses from Iran. *Chem Biol Technol Agric* 2022;9:51
47. Kumar R, Sharma S, Sharma S, Sharma M, Kumar N. Influence of flower to water ratio and distillation time of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) flowers on essential oil content and composition in the western Himalayas. *J Essent Oil Res* 2018;30:353-359.
48. Nedeltcheva-Antonova D, Stoicheva P, Antonov L. Chemical profiling of Bulgarian rose absolute (*Rosa damascena* Mill.) using gas chromatography-mass spectrometry and trimethylsilyl derivatives. *Ind Crops Prod* 2017;108:36-43.
49. Yaghoobi M, Moridi M, Farimani M, Sadeghi Z, Asghari S, Rezadoost H. Chemical analysis of Iranian *Rosa damascena* essential oil, concrete, and absolute oil under different bio-climatic conditions. *Ind Crops Prod* 2018;108:36-43.

50. Agarwal SG, Gupta A, Kapahi BK, Meena B, Thappa RK, Suri OP. Chemical composition of rose water volatiles. *J Essent Oil Res* 2005;17:265-267.
51. Baydar H, Schulz H, Krüger H, Erbas S, Kineci S. Influences of fermentation time, hydro-distillation time and fractions on essential oil composition of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). *J Essent Oil Bearing Plants* 2008;11:224-232.
52. Cebi N, Arici M, Sagdic O. The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC-MS techniques combined with chemometrics. *Food Chem* 2021;354:129495.
53. Moein M, Ghasemi Y, Karami F, Tavallali H. Composition of the essential oil of *Rosa damascena* Mill. from south of Iran. *Iran J Pharm Sci* 2010; 6:59-62.
54. Pellati F, Orlandini G, van Leeuwen KA, Anesin G, Bertelli D, Paolini M, Benvenuti S, Camin F. Gas chromatography combined with mass spectrometry, flame ionization detection and elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometry for characterizing and detecting the authenticity of commercial essential oils of *Rosa damascena* Mill. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2013;27:591-602.
55. Mirjalili MH, Akhoondi, R, Hadian J. Chemical composition of the aliphatic compound-rich essential oil of *Rosa foetida* from Iran. *Chem Nat Comp* 2015; 51:171-172.
56. Akhtar G, Jaskani MJ, Farooq A, Byrne DH, Rajwana IA, Sajjad Y, Shah SM, Awan FS. Genetic plasticity among genotypes of *Rosa centifolia* and *R. damascena* from Pakistan, USA and Iran. *Int J Agric Biol* 2019;21: 513-519.