

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET

*Mr Zoran P. Zeković*

EKSTRAKCIJA TIMIJANA (*Thymus vulgaris* L.)  
SUPERKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM

DOKTORSKA DISERTACIJA

NOVI SAD, 1998.

*Ova doktorska disertacija je urađena u laboratoriji za Hemiju i tehnologiju farmaceutskih proizvoda Katedre za farmaceutsko inženjerstvo Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu.*

*Najveću zahvalnost dugujem svom učitelju i mentoru, pokojnom dr Branislavu Pekiću, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, koji, na žalost, nije doživio završetak moje doktorske disertacije.*

*Zahvaljujem se dr Aleksandru Toliću, redovnom profesoru Metalurško-tehnološkog fakulteta u Podgorici, koji je preuzeo dužnost mentora, i dr Žiki Lepojeviću, docentu Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, za pruženu nesebičnu pomoć u toku izrade ove disertacije, kao i dr Milanu Sovilju, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, na korisnim sugestijama.*

*Takođe se zahvaljujem dipl. hem. Đuri Vujiću, specijalisti medicinske biohemije, na urađenim GC-MS analizama.*

*Svima onima koji su na bilo koji način doprineli izradi ove doktorske disertacije, najtoplije se zahvaljujem.*

*Autor*



## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj RBR	
Identifikacioni broj IBR	
Tip dokumentacije TD	Monografska publikacija
Tip zapisa TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada VR	Doktorska disertacija
Autor AU	Zoran P. Zeković
Mentor /komentor M	Prof. dr Aleksandar Š. Tolić
Naslov rada NR	EKSTRAKCIJA TIMIJANA ( <i>Thymus vulgaris</i> L.) SUPERKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM
Jezik publikacije JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda JI	Srpski/engleski
Zemlja publikovanja ZP	Jugoslavija
Uže geografsko područje UGP	Vojvodina
Godina GO	1998.
Izdavač IZ	Autorski reprint

Mesto i adresa MA	Tehnološki fakultet, Bulevar Cara Lazara 1 21000 Novi Sad
Fizički opis rada FO	9 poglavlja, 94 strane, 61 lit. citat, 37 tabela, 53 slike
Naučna oblast NO	Tehničko-tehnološke nauke
Naučna disciplina ND	Farmaceutsko inženjerstvo i tehnologija
Predmetna odrednica/Ključne reči PO	Ekstrakcija, superkritični ugljendioksid, timijan, etarsko ulje, modelovanje
UDK	582.949.27: 66.061.34: 546.264
Čuva se ČU	U biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu; Bulevar Cara Lazara 1
Važna napomena VN	Nema
Izvod/Abstrakt IA	<p>Ispitana je ekstrakcija timijana (<i>Thymus vulgaris</i> L.) primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju kao ekstragensa. Razrađen je postupak tačne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) za određivanje farmakološki aktivnih fenolnih jedinjenja, timola i karvakrola, koji obezbeđuje visok stepen reproduktivnosti određivanja (za timol <math>K_w = 1,29\%</math>). Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu proizvoda na bazi timijana, etarskog ulja i ekstrakata, primenjen je metod gasne hromatografije (GC) sa masenom spektrometrijom (MS). Sadržaj etarskog ulja određen oficinalnim postupkom koji propisuje jugoslovenska farmakopeja iznosi 1,75% (V/m). Dominantna komponenta etarskog ulja timijana je timol čiji je sadržaj 50,06% (m/m), dok je karvakrol prisutan, praktično, u tragovima (1,15%). Od prisutnih parafina u etarskom ulju, najveći sadržaj ima n-tetradekan (16,11%). U totalnom ekstraktu timijana dobijenom metilenhloridom primenom ekstrakcije sa povremenim ispuštanjem ekstrakta (Ekstrakcija po Soxhlet-u), koji je dobijen u prinosu 4,95% (m/m), dominantna komponenta je n-tetradekan (47,18%), dok je sadržaj timola 16,11%.</p> <p>Kinetika ekstrakcije timola se može uspešno predstaviti analognu izrazu za kinetiku reakcije prvog reda, primenom koje se dobija najveća vrednost konstante brzine ekstrakcije (k)</p>

0,2209 h<sup>-1</sup> za selektovani protok superkritičnog ugljendioksida 97,725 dm<sup>3</sup>/h.

Primenom timijana stepena usitnjenosti d<sub>2</sub> srednjeg prečnika 0,35 mm za ekstrakciju superkritičnim ugljendioksidom (100 bar; 40°C; 2,5 sata) postiže se kvantitativna ekstrakcije prisutnog etarskog ulja. Po svom sastavu ovaj ekstrakt je najbliži etarskom ulju timijana dobijenom destilacijom pomoću vodene pare. Produžavanje vremena ekstrakcije iznad 2,5 sata ima za posledicu povećani prinos, pre svega, parafina.

Primenom ugljendioksida male moći rastvaranja (80 bar; 40°C; d=0,1918 g/cm<sup>3</sup>) ne postiže se kvantitativna ekstrakcija etarskog ulja. Povećanjem radnog pritiska od 100 do 400 bar, usled povećanja moći rastvaranja, dobijaju se ekstrakti koji su po svom sastavu sve sličniji totalnom ekstraktu dobijenom ekstrakcijom metilenhloridom.

Za modelovanje ekstrakcionog sistema timijan - superkritični ugljendioksid je primenjena jednačina Reverchon-a i Sesti Osseo-a:

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{t}{t_i}\right) \right]$$

gde je: Y - normalizovani ekstrakcioni prinos (%); t - vreme ekstrakcije (s) i t<sub>i</sub> - vreme unutrašnje difuzije (s)

odnosno njen modifikovani oblik:

$$Y = 100 [1 - \exp (a t + b)]$$

Izračunate vrednosti standardne greške regresije (S<sub>Y,X</sub>) ukazuju da u osnovi modifikovana jednačina bolje fituje normalizovane prinose kako totalnog ekstrakta, tako i timola, u odnosu na polaznu jednačinu.

Jednačine:

$$\log S = a m_{rel} + b$$

i

$$\log S = a d_{CO_2} + b$$

gde je: S - rastvorljivost totalnog ekstrakta (g/dm<sup>3</sup>), odnosno timola (mg/dm<sup>3</sup>) u ugljendioksidu; m<sub>rel</sub> - relativna masa ugljendioksida (g CO<sub>2</sub>/g timijana) i d<sub>CO<sub>2</sub></sub> - zapreminska masa ugljendioksida (g/cm<sup>3</sup>)

se mogu, takođe, uspešno primeniti za modelovanje ekstrakcije ispitivanog sistema.

Primenom ugljendioksida u tečnom stanju (65 bar; 23°C) se dobija ekstrakt timijana sličan po svom sastavu ekstraktu dobijenom ekstrakcijom superkritičnim ekstragensom na pritisku 100 bar.

U cilju dobijanja ekstrakta timijana koji je po svom kvalitativnom i kvantitativnom sastavu najbliži etarskom ulju dobijenom oficinalnim postupkom destilacije pomoću vodene pare, neophodno je za ekstrakciju koristiti ugljendioksid zapreminske mase 0,6302 g/cm<sup>3</sup> (100 bar; 40°C), biljni materijal stepena usitnjenosti d<sub>2</sub>, vreme ekstrakcije 2,5 sata i protok ekstragensa 97,725 dm<sup>3</sup>/h.

Datum pihvatanja teme od strane NN Veća  
DP

15.12.1997.

Datum odbrane  
DO

22. 1. 1999.

Članovi komisije  
KO

Predsednik: Dr Milan Sovilj, red. prof.

Član: Dr Aleksandar Tolić, red. prof.

Član: Dr Žika Lepojević, docent

## KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number ANO	
Identification number INO	
Document type DT	Monographic publication
Type of record TR	Textual material, printed
Contents code CC	Ph.D. thesis
Author AU	Zoran P. Zeković
Menthor/co-Menthor MN	Prof. dr Aleksandar Š. Tolić
Title TI	EXTRACTION OF THYME ( <i>Thymus vulgaris</i> L.) BY SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE
Language of text LT	Serbian (Roman alphabet)
Language of abstract LS	Serbian/English
Country of publication CP	Yugoslavia
Locality of publication LP	Vojvodina
Publication year PY	1988.
Publisher PB	Author's reprint



Publication place PL	Faculty of Technology, Bulevar Cara Lazara 1, Novi Sad
Physical description PD	9 chapters, 94 pages, 61 references, 37 tables, 53 figures
Scientific field SF	Technical-technological sciences
Scientific discipline SD	Pharmaceutical technology and science
Subject/Key words CX	Extraction, supercritical carbon dioxide, thyme, essential oil, modelling
UC	582.949.27: 66.061.34: 546.264
Holding data HD	Library of Faculty of Technology Novi Sad, Bulevar Cara Lazara 1, YU-21000 Novi Sad

Note  
N

Abstract  
AB

The extraction of thyme (*Thymus vulgaris* L.) by supercritical carbon dioxide as an extragent was investigated. The developed HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) method for determination of pharmacologically active phenolic compounds, thymol and carvacrol, showed a high reproducibility ( $K_w$  for thymol 1.29%). Qualitative and quantitative analyses of thyme products, essential oil and extracts, were carried out by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). The content of essential oil determined by an official procedure given by Yugoslav pharmacopoeia was 1.75% (V/w). The predominant compound of the essential oil is thymol (50.06%; w/w), while carvacrol is present, practically, in traces (1.15%; w/w). The content of n-tetradecane in the thyme essential oil (16.11%; w/w) is higher than that of other paraffins. In the total thyme extract obtained by methylene chloride using extraction with periodical exchange of the extract (Soxhlet extraction) in a yield of 4.95% (w/w), the predominant compound was n-tetradecane (47.18%), while the content of thymol was 16.11%. The extraction kinetic of thymol can be successfully expressed by analogy to first order reaction kinetic, and a highest value of extraction rate constant ( $k$ ) of  $0.2209 \text{ h}^{-1}$  for the selected flow rate of supercritical carbon dioxide of  $97.725 \text{ dm}^3/\text{h}$ . A quantitative extraction of thyme essential oil by supercritical carbon dioxide (100 bar;  $40^\circ\text{C}$ ; 2.5 hours) was obtained using thyme of the grinding degree  $d_2$  (mean particle diameter 0.35 mm). The composition

of this extract is very similar to that of the essential oil obtained by steam distillation. A higher yield of extraction, primarily of paraffins, was obtained by prolonging the extraction time over 2.5 hours.

The use of carbon dioxide of low solubility power (80 bar; 40°C;  $d = 0.1918 \text{ g/cm}^3$ ) did not yield a quantitative extraction of thyme essential oil.

By increasing extraction pressure from 100 to 400 bar, i.e. solubility power, the extract composition was more and more similar to the composition of total extract obtained by methylene chloride.

To model extraction of the system thyme - supercritical carbon dioxide use was made of the Reverchon - Sesti Osseo equation:

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{t}{t_i}\right) \right]$$

where: Y - normalized extraction yield (%); t - extraction time (s) and  $t_i$  - internal diffusion time (s)

i.e. of its modified form:

$$Y = 100 [1 - \exp (a t + b)]$$

The calculated values of standard error of regression ( $S_{Y,X}$ ) show that the modified equation is generally a better fit for the normalized yields of total extract and thymol compared to the original equation.

Equations:

$$\log S = a m_{\text{rel}} + b$$

and

$$\log S = a d_{\text{CO}_2} + b$$

where: S - solubility of total extract ( $\text{g/dm}^3$ ), i.e. of thymol ( $\text{mg/dm}^3$ ) in carbon dioxide;  $m_{\text{rel}}$  - relative mass of carbon dioxide ( $\text{g CO}_2/\text{g thyme}$ ) and  $d_{\text{CO}_2}$  - carbon dioxide density ( $\text{g/cm}^3$ )

could be successfully used for modelling of the investigated extraction system.

The composition of thyme extract obtained by liquid carbon dioxide (65 bar; 23°C) is very similar to that obtained by supercritical extragent at a pressure of 100 bar.

To obtain a thyme extract whose qualitative and quantitative characteristics are most similar to those of the essential oil obtained using official procedure by steam distillation, it is necessary to use a carbon dioxide density of  $0.6302 \text{ g/cm}^3$  (100 bar; 40°C), grinding degree of thyme  $d_2$ , extraction time of 2.5 hours and extragent flow rate of  $97.725 \text{ dm}^3/\text{h}$ .

Accepted by the Scientific Board on 15<sup>th</sup> December 1997  
ASB

Defended on  
DE

Thesis defend board  
DB

Chairman: Dr Milan Sovilj, Full Professor

Member: Dr Aleksandar Tolić, Full Professor

Member: Dr Žika Lepojević, Assist. Professor



# SADRŽAJ

	Strana
1. UVOD .....	1
2. OPŠTI DEO .....	2
2.1. EKSTRAKCIJA GASOVIMA POD PRITISKOM .....	2
2.1.1. Superkritični ugljendioksid .....	4
2.1.2. Postupci i uređaji za superkritičnu ekstrakciju .....	12
2.1.3. Ekstrakcija aromatičnog i lekovitog bilja ugljendioksidom .....	16
2.2. TIMIJAN ( <i>Thymus vulgaris</i> L.) .....	17
2.2.1. Etarsko ulje timijana .....	18
3. REZULTATI I DISKUSIJA .....	21
3.1. ODREĐIVANJE FENOLNIH JEDINJENJA TIMIJANA .....	21
3.1.1. Kvalitativna i kvantitativna analiza fenola primenom HPLC .....	22
3.2. KARAKTERIZACIJA TIMIJANA .....	27
3.2.1. Etarsko ulje .....	27
3.2.2. Ekstrakt .....	29
3.3. EKSTRAKCIJA SUPERKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM .....	32
3.3.1. Protok ugljendioksida .....	32
3.3.1.1. Definisane reprezentativnog pokazatelja toka ugljendioksida .....	32
3.3.1.2. Izbor protoka ugljendioksida .....	34
3.3.2. Uticaj veličine čestica na superkritičnu ekstrakciju timijana .....	40
3.3.3. Uticaj vremena na superkritičnu ekstrakciju timijana .....	43
3.3.4. Uticaj pritiska ugljendioksida na superkritičnu ekstrakciju timijana .....	46
3.3.5. Modelovanje superkritične ekstrakcije timijana .....	49
3.3.5.1. Rastvorljivost ekstrakta i timola u superkritičnom ugljendioksidu ..	64

3.4.	EKSTRAKCIJA TIMIJANA UGLJENDIOKSIDOM U TEČNOM STANJU .....	68
4.	EKSPERIMENTALNI DEO .....	74
4.1.	DOBIJANJE ETARSKOG ULJA I EKSTRAKATA TIMIJANA...	75
4.1.1.	Određivanje sadržaja etarskog ulja timijana .....	75
4.1.2.	Ekstrakcija timijana metilenhloridom .....	75
4.1.3.	Ekstrakcija superkritičnim ugljendioksidom .....	76
4.2.	ANALIZA ETARSKOG ULJA I EKSTRAKATA TIMIJANA ...	76
4.2.1.	Analiza fenola timijana primenom HPLC .....	76
4.1.2.	Analiza primenom GC-MS .....	77
5.	PRILOG .....	78
5.1.	Proračun koeficijenta difuzije (D) za oblik ploče i cilindra .....	78
5.2.	Proračun koeficijenta difuzije za timol primenom Sun - Chen-ove jednačine .....	78
5.3.	Model "jedinične sfere" .....	79
6.	ZAKLJUČCI .....	83
7.	LITERATURA .....	87
8.	SIMBOLI .....	93
9.	BIOGRAFIJA .....	94

## 1. UVOD

U okviru ove doktorske disertacije postavljen je zadatak da se detaljno ispita ekstrakcija timijana (*Thymus vulgaris* L.) primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju kao ekstragensa. Variranjem uslova ekstrakcije (protoka ekstragensa, veličine čestica biljnog materijala, vremena ekstrakcije, pritiska i temperature) i praćenjem kinetike ekstrakcije preko prinosa totalnog ekstrakta i prinosa fenolnih jedinjenja izvršeno je modelovanje ekstrakcionog sistema timijan - superkritični ugljendioksid. Na osnovu dobijenih rezultata određeni su najpovoljniji uslovi ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom i ispitana je ekstrakcija timijana primenom ugljendioksida u tečnom stanju.

Prvi korak u realizaciji postavljenih zadataka je razrada odgovarajućih analitičkih postupaka. Iz ovih razloga istraživanja obuhvaćena ovom disertacijom su podeljena u četiri dela, i to:

- određivanje fenola i drugih komponenata sadržanih u ekstraktima timijana;
- karakterizacija polaznog biljnog materijala;
- ekstrakcija timijana superkritičnim ugljendioksidom i
- ekstrakcija timijana ugljendioksidom u tečnom stanju.



## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. EKSTRAKCIJA GASOVIMA POD PRITISKOM

Ekstrakcija gasovima u tečnom i superkritičnom stanju poslednjih godina ima sve veću primenu i predstavlja dobru alternativu klasičnim postupcima ekstrakcije. Ona daje novu dimenziju osobinama rastvarača - promenljivu zapreminsku masu ekstragensa. Iznad kritične tačke se malim promenama pritiska i/ili temperature menjaju osobine superkritičnog gasa kao ekstragensa, čime je omogućena selektivna ekstrakcija. Povećanjem pritiska raste zapreminska masa i dielektrična konstanta, odnosno moć rastvaranja ekstragensa. Fluidi u superkritičnom stanju integrišu dobre osobine gasova (niži viskozitet i veće vrednosti koeficijenta difuzije) i tečnosti (povećana zapreminska masa i povećana rastvorljivost), što se može videti iz podataka datih u tabeli 1.

U literaturi je pre više od 100 godina (Hannay and Hogarth, 1879; Andrews, 1887) objavljeno zapažanje da fluidi u superkritičnom stanju rastvaraju neočekivano velike količine relativno neisparljivih supstanci. Tada je dokazano da helati metala postaju rastvorljivi u superkritičnom ugljentetrahloridu i etanolu. Međutim, intenzivnije ispitivanje primene fluida u superkritičnom stanju, pre svega u prehrambenoj industriji, je počelo ranih 70-tih godina ovoga veka. Prvo industrijsko postrojenje većeg kapaciteta za uklanjanje kofeina iz zrna zelene kafe primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju počelo je da se koristi 1979. godine u Nemačkoj<sup>1</sup>.

**Tabela 1.** Fizičke osobine fluida u zavisnosti od njegovog stanja<sup>1</sup>

Stanje fluida	Zapreminska masa (g/cm <sup>3</sup> )	Koeficijent difuzije (cm <sup>2</sup> /s)	Viskozitet (g/cm s)
<u>Gas</u>			
p=1 atm, T=15-30°C	(0,6-2)x10 <sup>-3</sup>	0,1-0,4	(1-3)x10 <sup>-4</sup>
<u>Tečnost</u>			
p=1 atm, T=15-30°C	0,6-1,6	(0,2-2)x10 <sup>-5</sup>	(0,2-3)x10 <sup>-2</sup>
<u>Superkritično</u>			
p=p <sub>k</sub> , T=T <sub>k</sub>	0,2-0,5	0,7x10 <sup>-3</sup>	(1-3)x10 <sup>-4</sup>
p=4 p <sub>k</sub> , T=T <sub>k</sub>	0,4-0,9	0,2x10 <sup>-3</sup>	(3-9)x10 <sup>-4</sup>

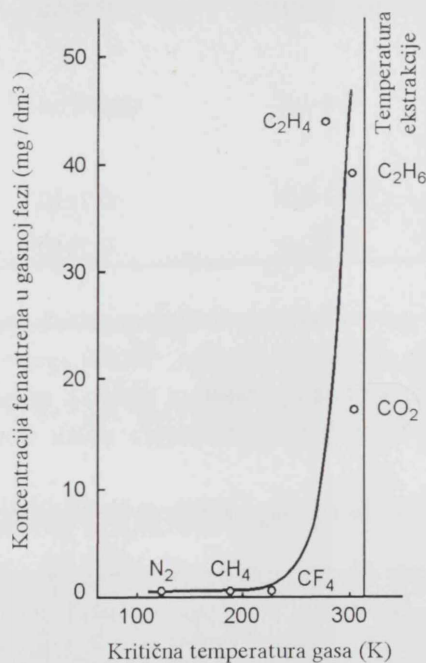
Poznato je da se gasovi mogu povećanjem pritiska prevesti u tečno stanje, ali samo na temperaturama nižim od kritične. Fluidi (gasovi i tečnosti) prelaze u superkritično stanje kada su i temperatura i pritisak iznad kritičnih vrednosti. U tabeli 2 su date vrednosti kritičnih parametara nekih fluida koji se koriste kao

**Tabela 2.** Kritične vrednosti nekih superkritičnih rastvarača<sup>2</sup>

Rastvarač	Kritična temperatura, T <sub>k</sub> (K)	Kritični pritisak, p <sub>k</sub> (MPa)	Kritična zapreminska masa, d <sub>k</sub> (g cm <sup>-3</sup> )
Metan	191	4,60	0,162
Etilen	282	5,03	0,218
Hlorotri fluorometan	302	3,92	0,579
Ugljendioksid	304	7,38	0,468
Etan	305	4,88	0,203
Propilen	365	4,62	0,233
Propan	370	4,24	0,217
Amonijak	406	11,3	0,235
Dietiletar	467	3,64	0,265
n-Pentan	470	3,37	0,237
Aceton	508	4,70	0,278
Metanol	513	8,09	0,272
Benzen	562	4,89	0,302
Toluen	592	4,11	0,292
Piridin	620	5,63	0,312
Voda	647	22,0	0,322



rastvarači u superkritičnoj ekstrakciji. Na primeru ekstrakcije fenantrena (Slika 1), pri istim uslovima ekstrakcije ( $T = 313 \text{ K}$ ;  $p = 40 \text{ MPa}$ ), različitim gasovima, istaknuta je važnost primenjene temperature, koja mora biti bliska kritičnoj vrednosti temperature korišćenog gasa<sup>2</sup>.



**Slika 1.** Koncentracija fenantrena u gasnoj fazi dobijena primenom različitih gasova pri konstantnim uslovima ekstrakcije ( $313 \text{ K}$ ;  $40 \text{ MPa}$ )<sup>2</sup>

Za ekstrakciju supstanci iz prirodnih izvora se najčešće primenjuje ugljendioksid kao ekstragens, pored ostalog i zbog relativno niskih vrednosti kritičnog pritiska i temperature ( $p_k = 73,8 \text{ bar}$  i  $T_k = 31,1^\circ\text{C}$ ).

### 2.1.1. Superkritični ugljendioksid

Prva primena ugljendioksida kao ekstragensa bila je u njegovom tečnom stanju. Ugljendioksid pri temperaturama od  $-55$  do  $31^\circ\text{C}$  i pritiscima od 5 do 74 bar je u subkritičnom stanju, i na određenom konstantnom pritisku može se smatrati

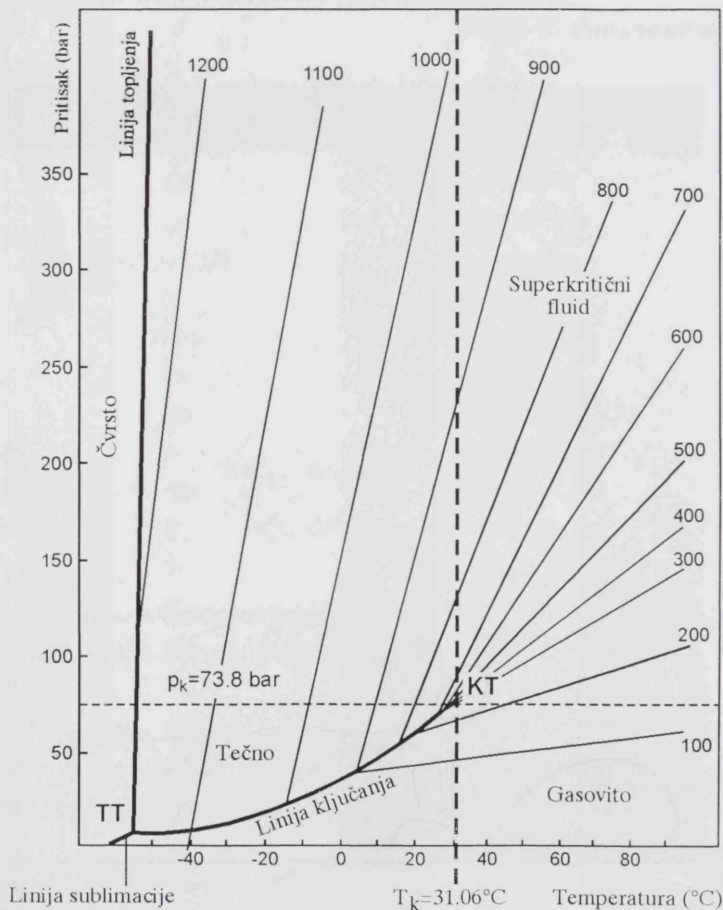
običnom tečnošću. Tečni ugljendioksid se meša sa vodom (0,1%) i skoro svim uobičajenim tečnim rastvaračima od metanola do pentana<sup>3</sup>. U tabeli 3 su date rastvorljivosti nekih organskih jedinjenja u tečnom ugljendioksidu<sup>1</sup>. Na osnovu vrednosti rastvorljivosti može se zaključiti da je ugljendioksid izrazito nepolaran rastvarač, po polarnosti sličan pentanu i heksanu. Moć rastvaranja tečnog ugljendioksida nije velika u poređenju sa uobičajenim tečnim rastvaračima. Za takve izrazite nepolarne rastvarače je karakteristično da se sa povećanjem temperature obično smanjuje moć rastvaranja<sup>3</sup>.

**Tabela 3.** Rastvorljivost nekih organskih jedinjenja u tečnom ugljendioksidu (temperatura 22-24°C)<sup>1</sup>

J e d i n j e n j e	Rastvorljivost (%; m/m)
n-Heptan	∞
n-Dodekan	∞
β-Karoten	0,01- 0,05
Pentametilbenzen	17
Antracen	<0,02
Metanol	∞
Terc-butil alkohol	∞
Benzofenon	4
Metil benzoat	∞
Anilin	3
Difenilamin	1
Fenol	3
p-Izopropilfenol	6
α-Tokoferol	1
Sirćetna kiselina	∞
Fenilsirćetna kiselina	<0,1
2,4-Dinitrotoluen	24
Glukoza	0

U cilju razmatranja mogućih stanja ugljendioksida i nekih njegovih osobina, na slici 2 je prikazan pT dijagram ugljendioksida sa zapreminskom masom kao parametrom. Na dijagramu su istaknute linije ključanja, topljenja i sublimacije, odnosno oblasti u kojima se ugljendioksid nalazi u tečnom, gasovitom i čvrstom

stanju. Subkritični ugljendioksid se nalazi u oblasti koju formiraju linije ključanja, topljenja i kritičnog pritiska. Iz ove oblasti se linija ključanja može dostići povećanjem temperature na konstantnom pritisku ili smanjenjem pritiska na konstantnoj temperaturi. Ovakve promene imaju za posledicu prevođenje ugljendioksida u gasovito stanje. U oblasti kritičnog ugljendioksida odvajanje rastvarača i rastvorene supstance nije moguće prostim otparavanjem. Moć rastvaranja superkritičnog ugljendioksida zavisi pre svega od pritiska i temperature, odnosno zapreminske mase, koja za ugljendioksid na kritičnoj tački iznosi  $468 \text{ g/dm}^3$ .



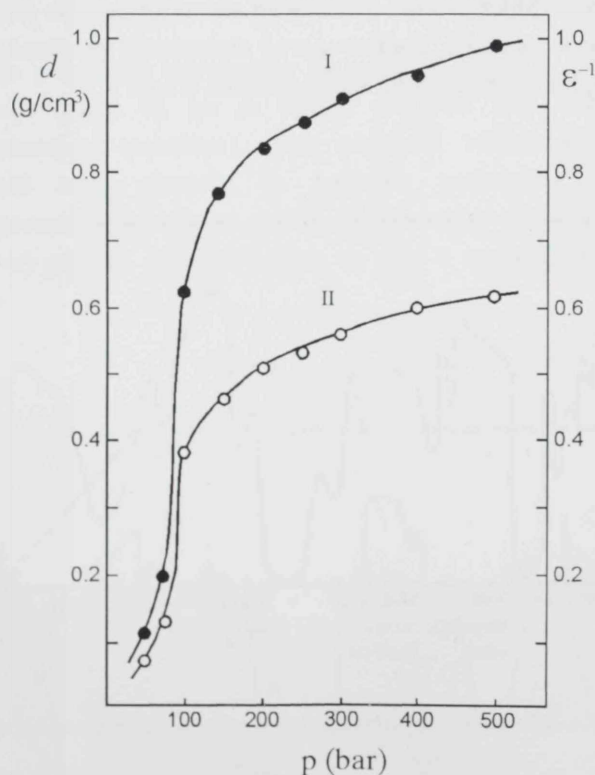
Slika 2. pT dijagram ugljendioksida sa zapreminskom masom ( $\text{g/dm}^3$ ) kao parametrom  
(KT - kritična tačka; TT - trojna tačka)



Ugljendioksid u gasovitom stanju ima veoma malu zapreminsku masu, zbog čega mu je moć rastvaranja zanemarljiva. Povećanjem temperature, iz subkritičnog gasovitog stanja, dolazi se do gasovitog stanja visoke temperature. U ovoj oblasti, i pored male zapreminske mase ugljendioksida, pri ekstrakciji se dobija izvesna količina komponenata u gasovitom stanju. Ovakav način ekstrakcije je sličniji destilaciji pomoću vodene pare nego ekstrakciji primenom rastvarača.

Pomeranjem duž linije ključanja do kritične tačke (KT), njenom stranom gde se ugljendioksid nalazi u tečnom stanju, moć rastvaranja ugljendioksida bi trebala da raste sa porastom temperature. Međutim, istovremeno zapreminska masa opada što ima za posledicu smanjenje moći rastvaranja. Iako je nemoguće predvideti koji će uticaj biti dominantniji, potpuno je izvesno da će prema gornjem delu linije ključanja uticaj zapreminske mase biti izraženiji.

Na slici 3 je prikazan široki interval mogućih vrednosti zapreminskih masa i dielektričnih konstanti ugljendioksida na pritiscima većim od kritičnog pritiska<sup>4</sup>.

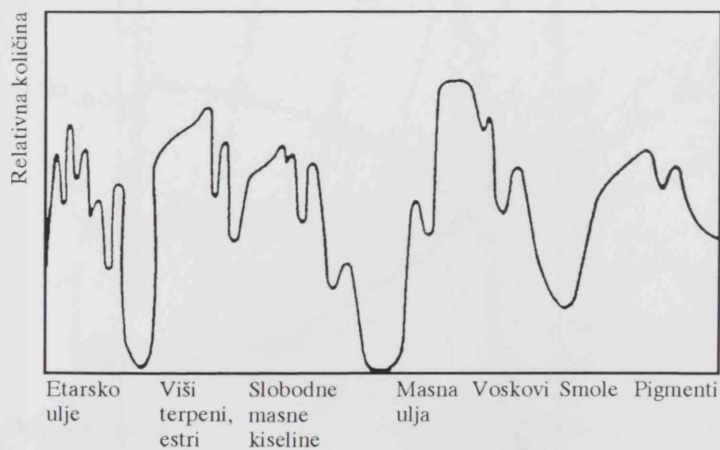


Slika 3. Zapreminska masa  $d$  (I) i dielektrična konstanta  $\epsilon$  (II) ugljendioksida u zavisnosti od pritiska na temperaturi  $40^{\circ}\text{C}$

Ugljendioksid u superkričnom stanju se ponaša kao nepolaran rastvarač, i sličan je drugim nepolarnim rastvaračima u tečnom stanju. Za takve rastvarače je karakteristično sledeće<sup>3</sup>:

- rastvorljivost supstance je veća ukoliko je ona po svojim fizičkim i hemijskim osobinama sličnija rastvaraču;
- isparljivost i rastvorljivost komponenata slične polarnosti opadaju sa porastom njihove molekulske mase;
- rastvarač sa većom moći rastvaranja rastvara više komponenata date smeše (mala selektivnost) za razliku od rastvarača male moći rastvaranja (visoka selektivnost rastvarača).

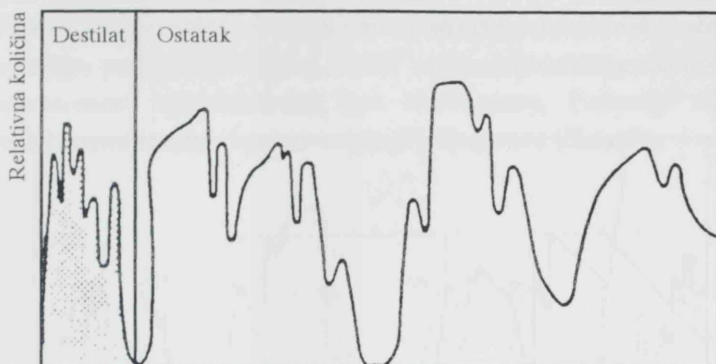
Prirodni proizvodi obično sadrže veliki broj hemijski različitih komponenata čija se rastvorljivost u određenom rastvaraču može kretati od visoke rastvorljivosti do potpune nerastvorljivosti. Na jednom model sistemu nepolarnih komponenata prirodnih proizvoda (Slika 4) biće diskutovan sastav proizvoda dobijenih primenom postupka destilacije pomoću vodene pare, ekstrakcije metilenhloridom, smešom etanola i vode i ugljendioksidom u superkričnom stanju<sup>3</sup>.



**Slika 4.** Model sistem nepolarnih komponenata prirodnih proizvoda

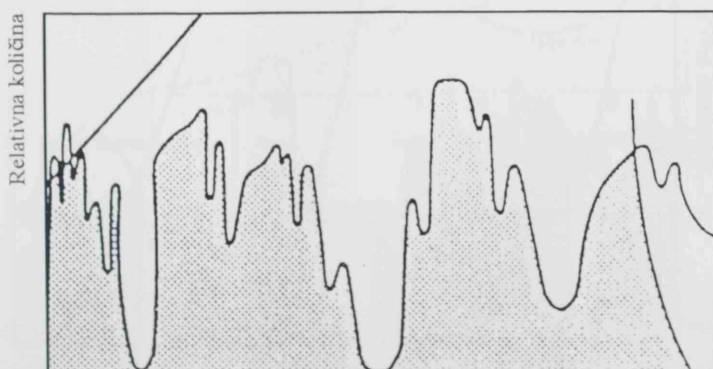
Destilacijom pomoću vodene pare (Slika 5) se dobija proizvod (destilat) koji sadrži isključivo isparljive komponente sadržane u etarskom ulju (zatamnjena

površina na dijagramu). Sastav dobijenog proizvoda u izvesnoj meri je izmenjen u odnosu na njegov nativni sastav.



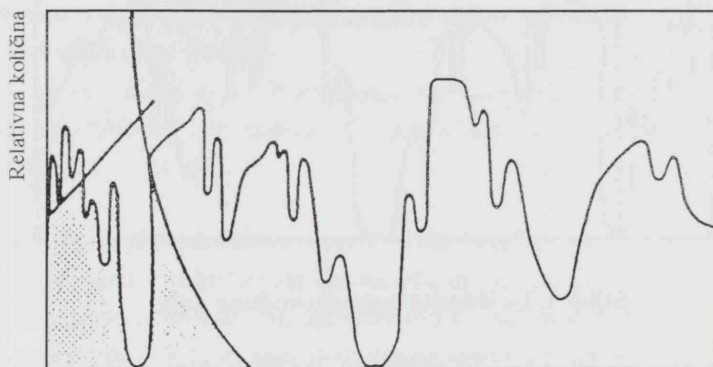
Slika 5. Destilacija pomoću vodene pare

Ekstrakcija pogodnim nepolarnim rastvaračem, kao što je metilenhlorid, je potpuna ekstrakcija (Slika 6), jer se dobija proizvod koji sadrži sve prisutne komponente (zatamnjene površine), osim polimera velikih molekulskih masa. Međutim, dobijeni tečni ekstrakt se najčešće podvrgava uparavanju radi odstranjivanja rastvarača, pri čemu dolazi do izvesnog gubitka lako isparljivih komponenata. Ovaj gubitak je predstavljen na slici 6 u gornjem levom uglu kao nezatamnjeni deo.



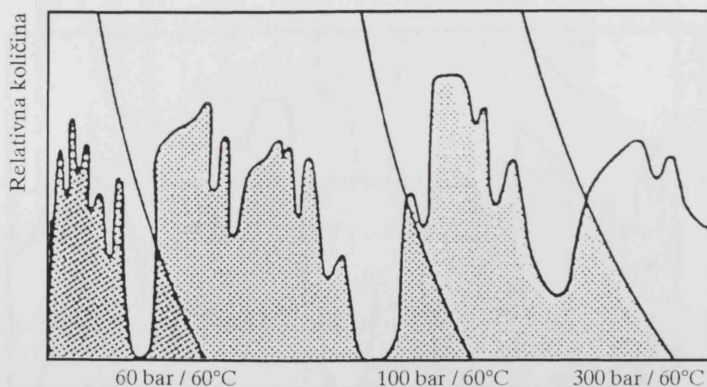
Slika 6. Ekstrakcija metilenhloridom

Primenom polarnih rastvarača, kao što je na primer smeša etanola i vode, dobija se ekstrakt koji sadrži komponente prisutne u etarskom ulju i polarne komponente (Slika 7). Na ovaj način dobijen ekstrakt sadrži i polarne komponente kao što su šećeri, glikozidi, tanini, soli i dr., koje nisu predstavljene model sistemom (Slika 4). Odstranjivanje rastvarača iz ovakvog ekstrakta dovodi do većeg gubitka lako isparljivih komponenata.



Slika 7. Ekstrakcija smešom etanol-voda

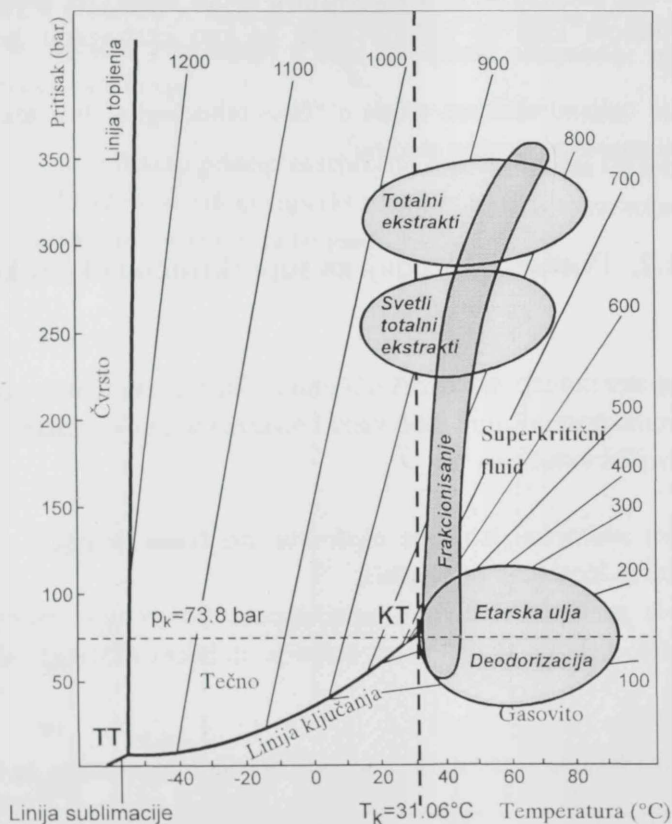
Primenom ugljendioksida je moguće dobiti ekstrakte sa željenim sastavom komponentata sadržanih u polaznom materijalu. Tako, na primer, primenom superkritičnog ugljendioksida velike moći rastvaranja ( $p=300$  bar;  $T=60^{\circ}\text{C}$ ;  $d=830$  g/dm<sup>3</sup>) dobija se ekstrakt (Slika 8) koji je po sastavu sličan ekstraktu dobijenom



Slika 8. Ekstrakcija ugljendioksidom: Različito zatamnjene površine prikazuju ekstrakte dobijene ugljendioksidom različitih moći rastvaranja

metilenhloridom. Smanjena moć rastvaranja superkričnog ugljendioksida (100 bar/60°C) dovodi do promene sastava dobijenog ekstrakta. Izdvajanje ugljendioksida iz dobijenog ekstrakta dovodi samo do neznatnog gubitka lako isparljivih komponenata.

Na kraju, možemo reći da se izborom pogodne kombinacije pritiska i temperature mogu podešavati željeni efekti rastvaranja, odnosno može se postići određena selektivnost ugljendioksida kao ekstragensa. Područja temperature i pritiska za različite primene prikazana su na pT dijagramu (Slika 9).



Slika 9. pT dijagram sa označenim područjima za različite primene

Prednosti primene ugljendioksida za ekstrakciju nad ostalim gasovima, kao i nad uobičajenim postupcima ekstrakcije tečnim rastvaračima i destilacije, su sledeće:

- fiziološki je inaktivan i ne izaziva štetne posledice po ljudski organizam;
- nezapaljiv je i jednostavan za rukovanje;



- prirodni je proizvod koji je hemijski inertan, tako da nema opasnosti od zaostalih toksičnih primesa u dobijenom ekstraktu;
- ima ga u velikim količinama i nije skup;
- ne ekstrahuje pesticide i produkte njihovog raspadanja koji su često prisutni u biljnim sirovinama;
- omogućuje rad na niskim temperaturama što se povoljno odražava na kvalitet ekstrakta;
- omogućuje selektivnu ekstrakciju i frakcionisanje ekstrakta, što ga čini atraktivnim za primenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji;
- ekstrahovane sirovine se mogu koristiti u druge svrhe, jer nema opasnosti od štetnih primesa koje se javljaju kada se kao ekstragensi koriste organski rastvarači;
- ekstrakcija ugljendioksidom spada u "čiste tehnologije" bez sekundarnih proizvoda koji zagađuju životnu sredinu<sup>5</sup>.

### 2.1.2. Postupci i uređaji za superkritičnu ekstrakciju

Postupak i uređaji za ekstrakciju primenom superkritičnog ugljendioksida se podešavaju prema postavljenim zahtevima i materijalu koji se ekstrahuje. Moguća su dva potpuno različita slučaja, i to:

1. kada je cilj postupka dobijanje ekstrakta, pri čemu iscrpljeni materijal nema upotrebnu vrednost ili je ona mala i
2. kada je cilj postupka dobijanje parcijalno ekstrahovanog materijala, čime se poboljšavaju njegova svojstva, pri čemu je dobijeni ekstrakt od sekundarnog značaja.

Postupci koji se primenjuju kod superkritične ekstrakcije se mogu podeliti na:

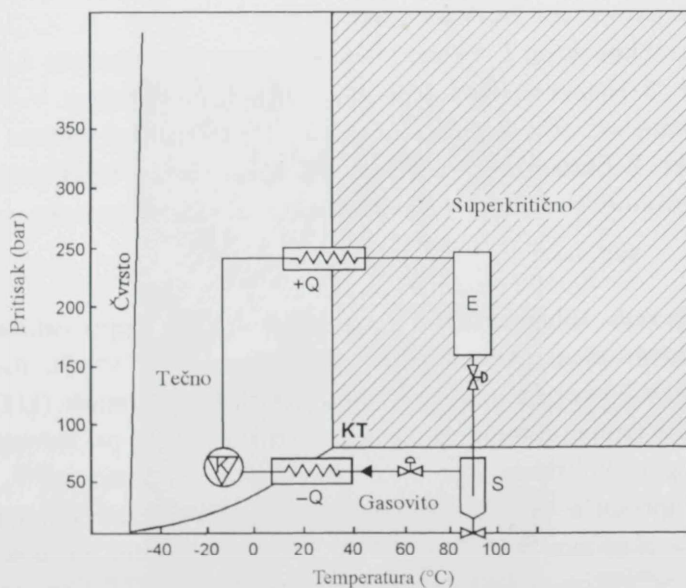
1. **Izotermiski postupak.** Ekstrakcija materijala se vrši na konstantnoj temperaturi i povišenom pritisku, pri čemu ugljendioksid ima veću zapreminsku masu, odnosno moć rastvaranja u superkritičnoj oblasti. Izdvajanje dobijenog proizvoda se ostvaruje sniženjem pritiska, pri čemu se odvaja i ekstragens u gasovitom stanju, koji se može vratiti u ekstrakcioni ciklus.

2. **Izobarski postupak.** Ekstrakcija se vrši na konstantnom pritisku. Promenom radne temperature (povećanjem) u procesu separacije snižava se zapreminska masa ugljendioksida, što ima za posledicu izdvajanje proizvoda.

Pogodnim izborom pritiska i temperature pri izdvajanju proizvoda mogu se postići i odgovarajući efekti frakcionisanja. Višestepenim kaskadnim smanjenjem pritiska, primenom više separatora, moguće je dobiti ekstrakt željenog sastava. Odgovarajuće frakcionisanje je moguće postići i u toku same ekstrakcije programiranjem odnosa pritiska i temperature.

3. **Izobarno-izotermiski postupak.** Ekstrakcija se vrši na konstantnom pritisku i temperaturi, a proizvod se izdvaja adsorpcijom na pogodnom adsorbensu. Ovaj postupak se najčešće primenjuje u cilju selektivne ekstrakcije materijala, npr. dekofeinizacija kafe i čaja<sup>5</sup>.

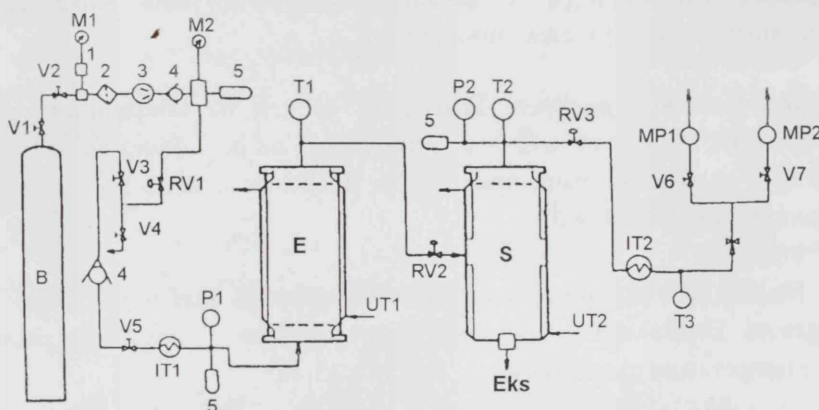
Na slici 10 je prikazan princip ekstrakcije superkričnim ugljendioksidom na pT dijagramu. Ekstrakcija se vrši u superkričnoj oblasti, a separacija pri uslovima pritiska i temperature gasovitog stanja ugljendioksida.



Slika 10. Princip ekstrakcije superkričnim ugljendioksidom

(E - ekstraktor; S - separator; K - kompresor; Q - izmenjivač toplote)

Uređaji za superkritičnu ekstrakciju se razlikuju, pre svega, po svojoj nameni, veličini i kapacitetu, kao i sastavnim delovima (npr. broj potrebnih separatora). Na slici 11 je prikazana šema, a na slikama 12 i 13 fotografije uređaja za ekstrakciju pod visokim pritiskom koji je korišćen u ovom radu.

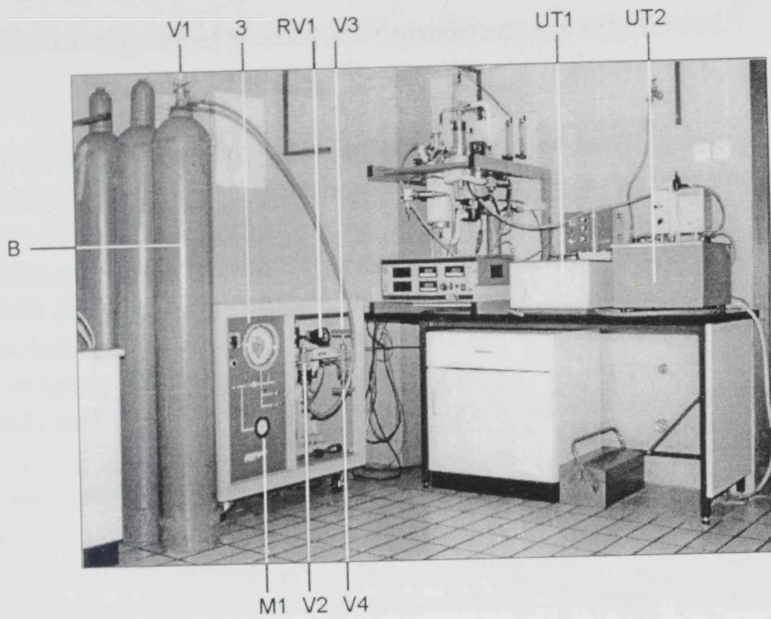


Slika 11. Šema uređaja za ekstrakciju pod visokim pritiskom (HPEP-High Pressure Extraction Plant, NOVA-Swiss)

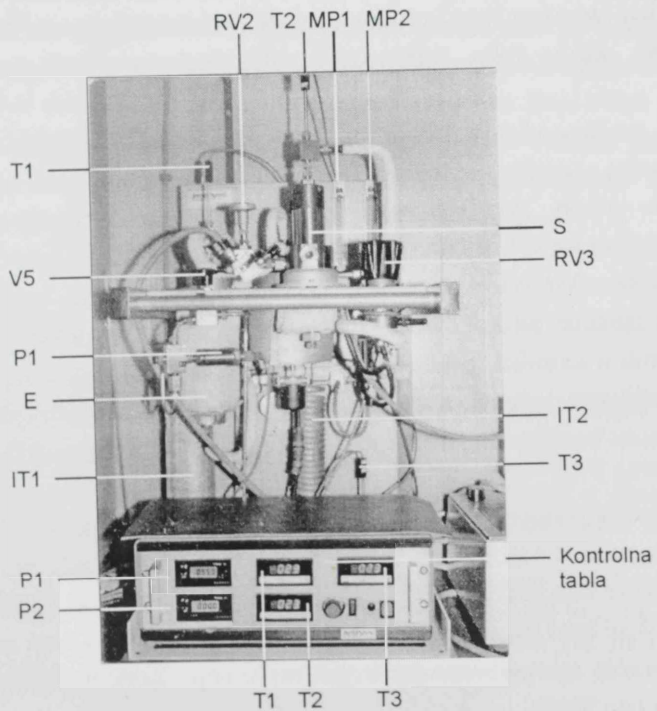
1. Merni konektor; 2. Filter; 3. Kompresor sa dijafragmom; 4. Kontrolni ventil; 5. Sigurnosni ventil; B-Boca sa ugljendioksidom; V-Ventil; M-Manometar; RV-Regulacioni ventil; IT- Izmenjivač toplote; P-Merač pritiska; E-Ekstraktor ( $V=200 \text{ cm}^3$ ); T-Termometar; UT-Ultratermostat; S-Separator ( $V=200 \text{ cm}^3$ ); Eks-Ekstrakt; MP-Merač protoka.

**Princip rada.** Biljni materijal u ekstraktoru (E) se najpre oslobađa prisutnog vazduha produvanjem ugljendioksida (B) u gasovitom stanju, nakon čega se zatvore ventil ( $V_5$ ) i regulacioni ventil ( $RV_2$ ). Ultratermostatima ( $UT_1$ ) i ( $UT_2$ ) se održavaju radne temperature u ekstraktoru i separatoru (S) pri zatvorenom ventilu ( $V_1$ ) boce sa ugljendioksidom. Zatim se, nakon otvaranja ventila od  $V_1$  do  $V_5$  ( $V_4$  je zatvoren), kompresor na kome je podešen pritisak nešto iznad radnog pritiska pusti u pogon i regulacionim ventilom ( $RV_1$ ) se podeši radni pritisak ekstrakcije. Ugljendioksid se nakon prolaska kroz izmenjivač toplote ( $IT_1$ ) otvaranjem ventila ( $V_5$ ) uvodi u ekstraktor pri čemu je regulacioni ventil ( $RV_2$ ) zatvoren. Otvaranjem i podešavanjem regulacionih ventila ( $RV_2$ ) i ( $RV_3$ ) se ostvaruje pritisak u separatoru, kao i održavanje željenog protoka ekstragensa. Maksimalni protok ugljendioksida je  $5,7 \text{ kg/h}$ .





Slika 12. Fotografija uređaja HPEP



Slika 13. Fotografija dela uređaja HPEP

### 2.1.3. Ekstrakcija aromatičnog i lekovitog bilja ugljendioksidom

Ekstrakcija gasovima pod pritiskom nalazi primenu u različitim granama industrije, pre svega prehrambenoj, naftnoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj. Mogu se ekstrahovati prirodni proizvodi kao što su biljna ulja, masti i ulja životinjskog porekla, masne kiseline, pivski kvasac, začini i arome, etarska ulja, alkaloidi (npr. nikotin iz duvana; kofein iz kafe i čaja), hmelj, insekticidi, steroidi. Takođe, ovaj način ekstrakcije se primenjuje i za regeneraciju adsorbenasa i katalizatora, kao i za frakcionisanje polimera po molekulskim masama. Posebnu primenu gasovi u superkritičnom stanju imaju u hromatografiji za separaciju finih hemikalija i farmakoloških supstanci<sup>1,6</sup>.

Ekstrakcija biljnog materijala gasovima u tečnom, a naročito superkritičnom stanju, je područje istraživanja za koje vlada veliki interes. Ispitivana je ekstrakcija kamilice<sup>7,8</sup>, kafe, čaja, duvana, mente, konoplje, suncokreta, semena sezama, hmelja, paprike, odoljena<sup>2,5</sup>; bibera<sup>9,10</sup>, plodova kole, lišća limuna, semena maka<sup>11</sup>; bosiljka<sup>12</sup>; đumbirovog rizoma<sup>13</sup>; hrizanteme, buhača i nemačke kamilice<sup>14</sup>; jorgovana, kore limuna, crnog bibera i badema<sup>15</sup>; arome limuna i palminog ulja<sup>16,17</sup>; soje<sup>18</sup>; semena kanole<sup>19</sup>; ulja limuna<sup>20</sup>; anisa, kima, karanfilića i cimeta<sup>21</sup>; limuna i pomorandže<sup>22</sup>; kukuruznih klica, semena lana i plodova jojobe<sup>23</sup>; srdića, majorana<sup>24</sup> i pomorandže<sup>25</sup>; jabuke, kruške, crnog luka, korijandera, lišća lorbera, eukaliptusa i mimoze<sup>24</sup>, lavande<sup>26</sup>.

Prof. dr Branislav Pekić je pre oko 10 godina<sup>5</sup> skrenuo pažnju naučne javnosti u našoj zemlji na široke mogućnosti primene gasova u tečnom i superkritičnom stanju. Posebno veliki doprinos je dao na ispitivanju ekstrakcije kamilice primenom superkritičnog ugljendioksida. U radovima Pekića i saradnika je ispitana kinetika ekstrakcije kamilice<sup>27,28</sup>, zavisnost prinosa totalnog ekstrakta izotermske ekstrakcije od količine CO<sub>2</sub><sup>29</sup>, ponašanje farmakološki aktivnih komponenta sadržanih u kamilici pri superkritičnoj ekstrakciji ugljendioksidom<sup>30</sup>, kao i primena Chrastil-ove jednačine za sistem cvet kamilice - superkritični ugljendioksid<sup>31</sup>, pri čemu su korišćene savremene metode, u prvom redu metoda GC-MS<sup>32,33</sup>.

Ekstrakcija timijana primenom gasova u tečnom i superkritičnom stanju do sada nije bila predmet istraživanja. Pregledom naučne i stručne literature, kao i informacija koje se nalaze na globalnoj kompjuterskoj mreži INTERNET nije nađen ni jedan rad koji se bavi ovom problematikom. Upravo ovo je i bio razlog da se naša pažnja i istraživački interes usmeri na ispitivanje superkritične ekstrakcije timijana primenom ugljendioksida.

## 2.2. TIMIJAN (*Thymus vulgaris* L.)

Poznato je da mnoge biljne vrste imaju izraženo antiseptičko delovanje. Baktericidno i fungicidno delovanje je karakteristično za etarska ulja biljaka roda *Thymus* i *Satureja*. *Hilendarski medicinski kodeks*<sup>34</sup> koji sadrži spise ne samo srpske, već i evropske naučne medicine od XII do XV veka navodi, između ostalih lekovitih biljaka, majčinu dušicu (*Thymus serpyllum*) i njenu upotrebu: "Majčina dušica je vruća, suva i spada u treći stepen. Svoje dejstvo neće izgubiti tokom dve godine. Uzmi majčinu dušicu, skuvaj je u vodi i tom vodom peri glavu. Koristiće onima koji imaju reumu u glavi usled nazeba. - Uzmi majčinu dušicu i skuvaj je u octu; dodaj zatim nekoliko suvih smokava i neka bolesnik sa ovim opere grlo i grgoće. Od koristi je za one kojima je upaljeno grlo pa ne mogu gutati slinu. - Majčinu dušicu skuvaj u vinu i to mu podaj da pije. Ovo je korisno onima koji kašlju zbog nazeba ili im je bolestan stomak"\*.

Timijan (*Thymus vulgaris* L., *Labiatae*) je sličan majčinoj dušici, stabljika mu ne puzi po zemlji, već raste uspravno formirajući žbun visok do 40 cm. Stabljika je drvenasta, listovi su dužine do 1 cm sa kratkom peteljkom ili sedeći. Oblik lista je izduženo eliptičan, skoro igličast, a ivice su savijene prema naličju. List je kožast, na licu tamnozelen bez dlačica sa udubljenom glavnom provodnom žilom, dok je naličje sivozelene boje, ima dlačice i istaknutu glavnu provodnu žilu. Boja cveta je ružičasta. Nadzemni delovi biljke se sakupljaju sredinom ili krajem leta. Timijan raste po suvim mestima zapadnog Mediterana, a može se gajiti i kod nas, posebno u Vojvodini. Biljka ima izuzetno aromatičan miris, a ukus je aromatičan i opor<sup>35-37</sup>.

\*

### СЪТЪ ПОЛЕГІСЪ, СЪПРЪЧЪ, М(А)ТРЕНЯ Д(Ъ)ШНЦЯ:

По легісмъ в рѣкѣхъ іес(тѣ) и сѣх(х) въ трѣтїи степен(ѣ). и мож(е) се дрѣжати въ своен крѣпости .в. лѣт(ѣ) вѣзми по легіѣ и свари въ водѣ, и шнѣм(ѣ) вод(о)мъ мѣн главѣ. Добро іес(тѣ) за онѣхъ коемъ іе рѣкѣмъ ѣ главѣ ѡт(ѣ) настѣда. и ѡц(ѣ) ѣзми по легісмъ(ѣ) и свари ѣ ѡцѣ и постави къ нѣмъ нѣколько сѣхѣх(ѣ) смокѣвѣ, и нека чин(и) нѣколько кратѣ гар'гарнжмѣ, добро іес(тѣ) за онѣхъ(ѣ) коемъ(ѣ) ѣ отеко грѣмѣ терѣ не могѣ прождирати слинѣ:— И ѡц(ѣ) по легісмъ свари ѣ винѣ и дан мѣ пити, добро іес(тѣ) за онѣхъ(ѣ) коемъ(ѣ) кашлѣ ѡт(ѣ) настѣда или болестѣ ѣ стомѣхъ:†

Osim već spomenutog baktericidnog i fungicidnog delovanja, timijan se preporučuje kao ekspektorans (olakšava iskašljavanje), stomahik (podstiče funkcije želuca), anthelmintik (protiv crevnih parazita), aromatik, spazmolitik (otklanja grčeve), tonik (za jačanje), rubefacijent (za izazivanje crvenila i osećaja toplote na koži usled širenje krvnih sudova) i karminativ (olakšava odstranjivanje gasova iz creva)<sup>35-39</sup>.

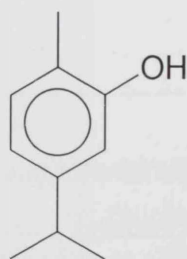
Andrew Chevallier u knjizi "The Encyclopedia of Medicinal Plants"<sup>36</sup> navodi naziv "garden thyme" (baštenski timijan) za *Th. vulgaris* L., odnosno "wild thyme" (divlji timijan) za *Th. serpyllum*, uz napomenu da im je ista upotreba.

Timijan sadrži od 0,3 do 6,3% etarskog ulja koje je nosilac lekovitog delovanja<sup>35-40</sup>. Jugoslovenska farmakopeja<sup>35</sup> propisuje upotrebu lišća timijana (*Thymi folium*) kao ekspektoransa i navodi da je minimalni sadržaj etarskog ulja 1,5%. Prema DAB 8<sup>41</sup> minimalni sadržaj je 1,2%. Osim etarskog ulja, timijan sadrži smole, tanine, gorke materije, saponozide, kao i flavone apigenin i luteolin<sup>36</sup>.

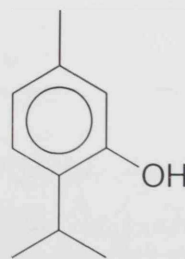
### 2.2.1. Etarsko ulje timijana

Etarsko ulje timijana (*Aetheroleum thymi*), dobijeno destilacijom pomoću vodene pare iz sveže biljke u cvetu, je bezbojna tečnost intenzivnog mirisa na timol, aromatičnog i ljutog ukusa, koja ubrzo postaje crvenožuta ili crvenomrka. Često se ovo ulje pogrešno naziva "ulje origana"<sup>39</sup>.

Antimikrobno delovanje etarskog ulja timijana potiče od prisutnih fenola, u prvom redu timola (5-metil-2-izopropil-1-fenol) i karvakrola (2-metil-5-izopropil-1-fenol). Timol se preporučuje kao antiseptik i anthelmintik<sup>6</sup>. Dokazano je delo-



Timol



Karvakrol

vanje timola na bakterije usne šupljine<sup>42</sup>, zbog čega se kako timol, tako i etarsko ulje timijana, upotrebljavaju u vodama za ispiranje usta i pastama za zube. Poznato je da je timol kao antiseptik oko trideset puta aktivniji, a četiri puta manje toksičan od

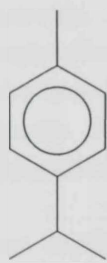


fenola<sup>43</sup>. Novija ispitivanja su pokazala da timol i karvakrol formiraju kiseonikove slobodne radikale reakcijama oksidacije<sup>44</sup>.

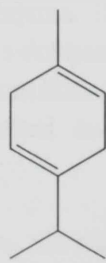
Farmakološko delovanje etarskog ulja timijana zavisi, pre svega, od sadržaja timola i karvakrola. Za etarsko ulje *Th. vulgaris* je karakterističan veliki sadržaj timola koji može biti i do 60,86%<sup>45</sup> i relativno mali sadržaj karvakrola, do 5,6%<sup>46</sup>. Po sadržaju ovih fenolnih jedinjenja etarsko ulje *Satureja horvatii* L. je slično etarskom ulju timijana. Nasuprot tome, etarska ulja *Th. serpyllum* L. i *Satureja hortensis* L. karakteriše veliki sadržaj karvakrola i mali sadržaj timola<sup>45</sup>. Etarsko ulje *Origanum compactum* karakteriše veliki sadržaj i različit odnos fenolnih jedinjenja<sup>47</sup>.

Etarsko ulje timijana sa visokim sadržajem fenolnih jedinjenja se može uspešno koristiti u veterini za izradu antidiaroičkih preparata koji su dobra supstitucija antibioticima. Timol i karvakrol su liposolubilni i površinski aktivni, pa se mehanizam njihovog antidiaroičkog delovanja zasniva na oštećenju i rastvaranju membrane mikrobne ćelije, kao i inhibiciji sinteze belančevina i procesa biooksidacije u organizmu uzročnika bolesti. Oralno aplikovan timol deluje kao spazmolitik i blag analgetik, što dovodi do smanjivanja peristaltike i ublažavanja bola<sup>48-50</sup>.

Za etarsko ulje timijana je karakteristično prisustvo komponenata koje su prekursori fenola, *p*-cimena i  $\gamma$ -terpinena<sup>46,51</sup>. Udeo *p*-cimena u etaskom ulju može



*p*-Cimen



$\gamma$ -Terpinen

biti i do 42,8%<sup>46</sup>, a  $\gamma$ -terpinena do 13,2%<sup>51</sup>. Sadržaji ostalih komponenata koje ulaze u sastav etarskog ulja timijana (Slika 14) su znatno niži od sadržaja fenolnih jedinjenja i njihovih prekursora. Neka od ovih jedinjenja se javljaju samo u tragovima ili uopšte nisu prisutna u pojedinim uzorcima etarskog ulja timijana.

Za određivanje kvalitativnog i kvantitativnog sastava etarskog ulja timijana metode izbora su tečna hromatografija pod visokom pritiskom (HPLC) i gasna hromatografija sa odgovarajućim detektorom. Određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja, koja apsorbuju svetlost u UV-oblasti, timola i karvakrola, se može uspešno vršiti primenom HPLC hromatografije, kako na normalnoj<sup>47,52,53</sup>, tako i na obrnutoj fazi<sup>45,54</sup>. Za analizu svih komponenata etarskog ulja timijana Ferh i

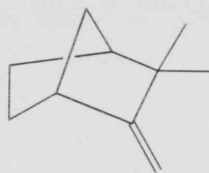


Stenzhorn<sup>46</sup> su koristili GC sa FID detektorom, dok su Jackson i Hay<sup>51</sup> primenili GC-MS.

Slika 14. Komponente etarskog ulja timijana<sup>46</sup>



$\alpha$ -Pinen



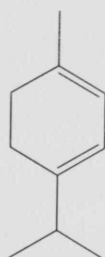
Kamfen



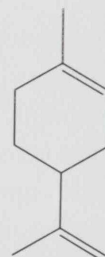
$\beta$ -Pinen



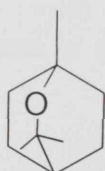
Mircen



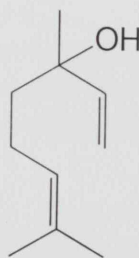
$\alpha$ -Terpinen



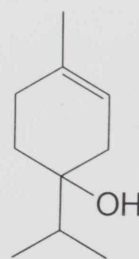
Limonen



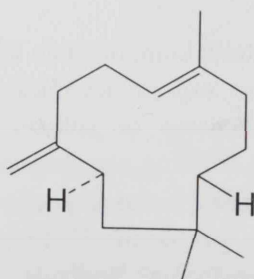
1,8-Cineol



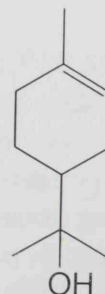
Linalool



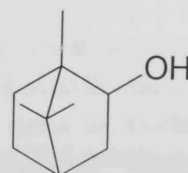
Terpinen-ol-4



$\beta$ -Kariofilen



$\alpha$ -Terineol



Borneol

### 3. REZULTATI I DISKUSIJA

U okviru ove disertacije, radi realizacije ranije postavljenih zadataka, bilo je neophodno, pre svega, izvršiti karakterizaciju polaznog biljnog materijala - droge. Radi toga, trebalo je raspolagati odgovarajućim analitičkim metodama za određivanje kvalitativnog i kvantitativnog sastava dobijenih proizvoda na bazi timijana (etarsko ulje, ekstrakti i dr.).

Da bi se pristupilo sistematskom ispitivanju ekstrakcije sistema timijan - superkritični ugljendioksid i njegovom modelovanju, bilo je neophodno varirati uslove superkritične ekstrakcije (protok ekstragensa, veličina čestica biljnog materijala, vreme ekstrakcije, pritisak i temperatura) i pratiti kinetiku ekstrakcije preko prinosa totalnog ekstrakta i prinosa fenolnih jedinjenja. Takođe je ispitivana ekstrakcija timijana ugljendioksidom u tečnom stanju i dobijeni rezultati ekstrakcije sn upoređeni sa rezultatima dobijenim primenom superkritičnog ugljendioksida kao ekstragensa. Na osnovu dobijenih rezultata određeni su najpovoljniji uslovi ekstrakcije timijana ugljendioksidom.

Iz ovih razloga istraživanja obuhvaćena ovom disertacijom su podeljena u četiri dela, i to:

- određivanje fenola i drugih komponentata sadržanih u ekstraktima timijana;
- karakterizacija polaznog biljnog materijala;
- ekstrakcija timijana superkritičnim ugljendioksidom i
- ekstrakcija timijana ugljendioksidom u tečnom stanju.

#### 3.1. ODREĐIVANJE FENOLNIH JEDINJENJA TIMIJANA

Za određivanje sadržaja farmakološki aktivnih fenolnih jedinjenja, timola i karvakrola, sadržanih u timijanu, odnosno njegovom etarskom ulju ili ekstraktima dobijenim iz njega različitim postupcima, metode izbora su tečna hromatografija pod

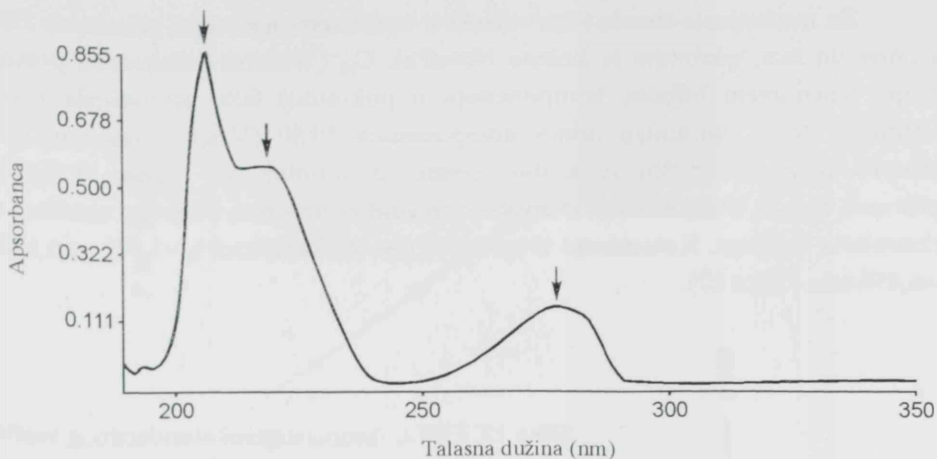
visokim pritiskom (High Pressure Liquid Chromatography - HPLC)<sup>45,47,52-54</sup> i gasna hromatografija (Gas Chromatography - GC) sa odgovarajućom detekcijom, npr. masenom spektrometrijom (Mass Spectrometry - MS)<sup>51</sup>.

### 3.1.1. Kvalitativna i kvantitativna analiza fenola primenom HPLC

Za određivanje sadržaja timola i karvakrola u etarskom ulju *Origanum compactum*<sup>47</sup> i tečnim ekstraktima timijana<sup>53</sup> Van Der Broucke i Lemli su primenili HPLC metodu na normalnoj fazi. Korišćena je kolona Porasil, izokratska elucija primenom pokretne faze hloroform : n-heksan (15:85; V/V), protok 2,5 ml/min uz UV detekciju na talasnoj dužini 280 nm. Postignuto je dobro razdvajanje fenola uz kratko vreme analize (retenciono vreme timola  $t_R=4,8$  min, karvakrola  $t_R=5,55$  min). Solinas i Oessa<sup>52</sup> su koristili metod HPLC na obrnutoj fazi, primenom kolona  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (Waters) i RP-18 (Brownlee Labs.), pokretne faze voda : acetonitril (60:40; V/V) i izokratske elucije. Protok pokretne faze je bio 1,5 ml/min, a UV detekcija je vršena na talasnoj dužini 283 nm. Ovaj postupak analize traje nešto duže (oko 24 min), a retenciona vremena primenom kolone  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> iznose za karvakrol 17,10 minuta i za timol 19,30 minuta, dok primenom kolone RP-18 retenciono vreme karvakrola je 17,50 minuta, a timola 19,40 minuta. Pekić i sar. su za određivanje timola i karvakrola u etarskom ulju timijana<sup>54</sup>, odnosno ovih jedinjenja u nekim biljnim vrstama roda *Thymus* i *Satureja*<sup>45</sup>, primenili metod HPLC na obrnutoj fazi i kolonu NovaPak C<sub>18</sub>, pokretnu fazu acetonitril : voda (38:62; V/V), izokratsku eluciju uz protok 0,7 cm<sup>3</sup>/min i UV detekciju na talasnoj dužini 254 nm. Analiza ovim postupkom je trajala oko 30 minuta, a retenciona vremena su iznosila za karvakrol  $t_R=21,58$  min, odnosno za timol  $t_R=23,05$  min. Ispitivanja su pokazala da se primenjeni postupak odlikuje visokom reproduktivnošću i preciznošću određivanja timola i karvakrola u ispitivanim uzorcima.

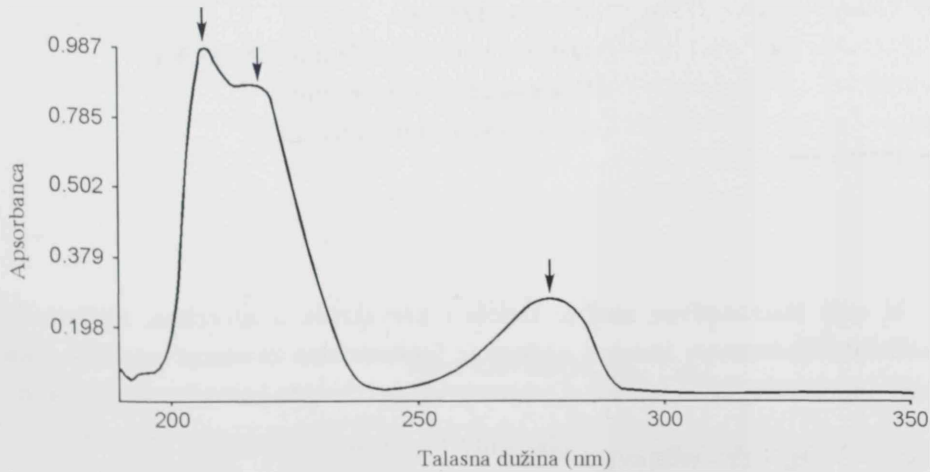
Radi određivanja maksimalne talasne dužine timola i karvakrola za njihovu analizu HPLC metodom, snimljeni su UV-spektri standardnih uzoraka ispitivanih fenola. Dobijeni spektri su prikazani na slikama 15 i 16. Na osnovu dobijenih rezultata, odabrana je talasna dužina UV-detektora  $\lambda=276$  nm na kojoj su vršene sve analize.





Slika 15. UV-spektar timola (koncentracija  $12,4 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ; rastvor u 95% etanolu)

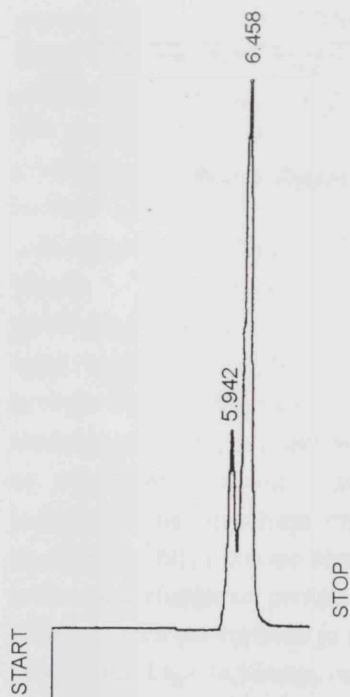
Talasna dužina, $\lambda$ (nm)	Apsorbanca
206	0,8558
218	0,5539
276	0,1738



Slika 16. UV-spektar karvakrola (koncentracija  $19,2 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ; rastvor u 95% etanolu)

Talasna dužina, $\lambda$ (nm)	Apsorbanca
206	0,9871
216	0,8719
276	0,2570

Za razdvajanje timola i karvakrola u ispitivanim uzorcima primenom HPLC na obrnutoj fazi, odabrana je kolona NovaPak C<sub>18</sub> (Waters) i izokratski postupak elucije. Variranjem odnosa komponenata u pokretnoj fazi, acetonitrila i vode, nađeno je da je optimalan odnos komponenata 50:50 (V/V). Primenom ovoga postupka može se izvršiti za kratko vreme (8 minuta), uz dobro razdvajanje ispitivanih fenola, kvalitativna i kvantitativna analiza timijana, odnosno etarskog ulja i ekstrakata timijana. Retenciona vremena iznose za karvakrol  $t_R=5,942$  min i timol  $t_R=6,458$  min (Slika 17).



**Slika 17.** HPLC-hromatogram standardnog rastvora timola i karvakrola

Karvakrol (5,942 min; 4,0 µg)

Timol (6,458 min; 11,2 µg)

Kolona: NovaPak C<sub>18</sub> (Waters; 3,9 mm I.D. x x 15 cm; 4 µm)

Pretkolona: Waters Guard-Pak<sup>TM</sup>/Resolve<sup>TM</sup> (10 µm)

Pokretna faza: Acetonitril - voda (50:50; V/V)

Protok: 0,8 cm<sup>3</sup>/min

Pritisak: 125 bar

Detekcija: UV na 276 nm/1,00 AUFS

Brzina papira: 0,4 cm/min

Injektovana zapremina: 10 µl

U cilju kvantitativne analize timola i karvakrola u uzorcima, ispitana je serija standardnih rastvora fenola i nađena je funkcionalna zavisnost površine pika ( $P$ ) i mase ( $m$ ) fenola (Slike 18 i 19). Ova zavisnost je izražena jednačinom, za timol:

$$m_T = (P - 681149)/7871720 \quad (1)$$

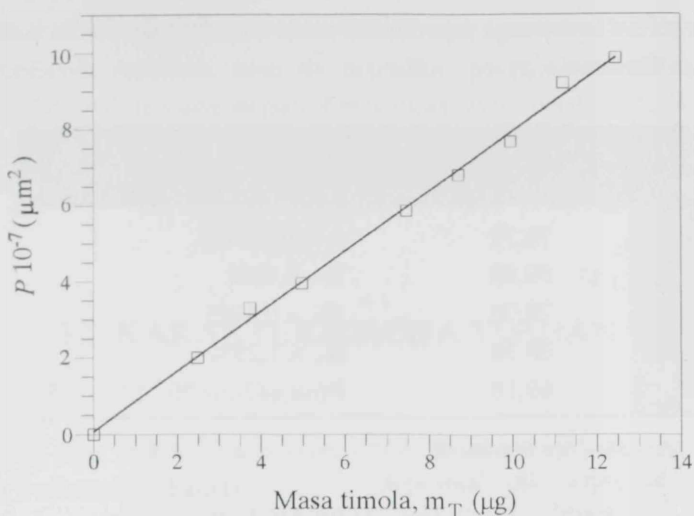
$r = 0,9985$

odnosno za karvakrol:

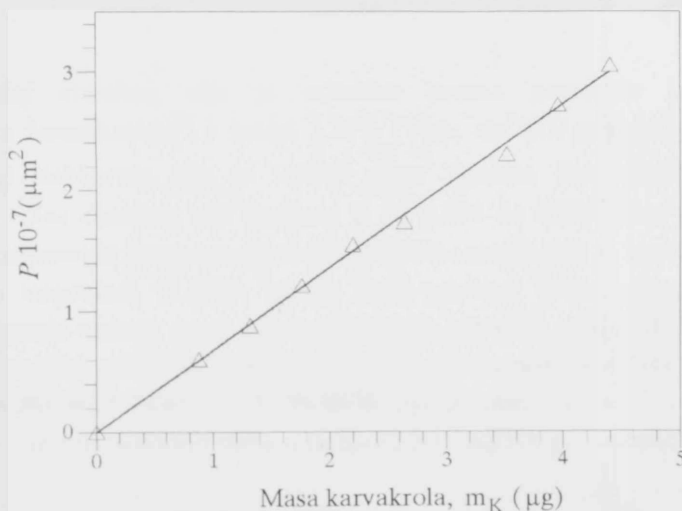
$$m_K = (P + 31191,5)/6813370 \quad (2)$$

$r = 0,9988$

pri čemu je  $r$  - koeficijent korelacije.



Slika 18. Dijagram zavisnosti površine pika ( $P$ ) od mase timola ( $m_T$ )



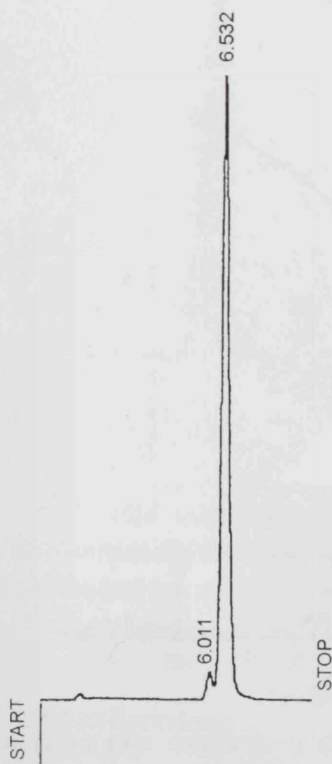
Slika 19. Dijagram zavisnosti površine pika ( $P$ ) od mase karvakrola ( $m_K$ )

Ispitivanje reproduktivnosti određivanja fenola u etarskom ulju opisanim HPLC postupkom, izvršeno je analizom istog uzorka više puta (Tabela 4). Određivan je sadržaj timola u etarskom ulju dobijenom destilacijom iz droge nakon superkritične ekstrakcije ugljendioksidom (40°C; 80 bar; 2,5 h). Uzorak etarskog ulja sadrži samo tragove karvakrola (Slika 20).

**Tabela 4.** Rezultati ispitivanja reproduktivnosti određivanja timola u etarskom ulju timijana

Broj probe	Sadržaj timola (%)	Statistički parametri
1	70,79	$\bar{x} = 69,594\%$
2	69,62	$S = 0,9001$
3	70,00	$S_{\bar{x}} = 0,4025$
4	68,38	$K_w = 1,29\%$
5	69,18	$P(68,447 < \mu < 70,714) = 0,95$

Napomena:  $\bar{x}$  - srednja vrednost  
 S - standardna devijacija  
 $S_{\bar{x}}$  - standardna greška srednje vrednosti  
 $K_w$  - koeficijent varijacije  
 P - interval pouzdanosti t-raspodele



**Slika 20.** HPLC-hromatogram etarskog ulja timijana

(Uslovi određivanja isti kao na slici 17)

Iz dobijenih rezultata sledi da razrađeni postupak određivanja timola u etarskom ulju obezbeđuje visok stepen reproduktivnosti određivanja ( $K_w=1,29\%$ ).

Razrađeni HPLC postupak se, takođe, može uspešno primeniti i za određivanje fenolnih jedinjenja u ekstraktima timijana.

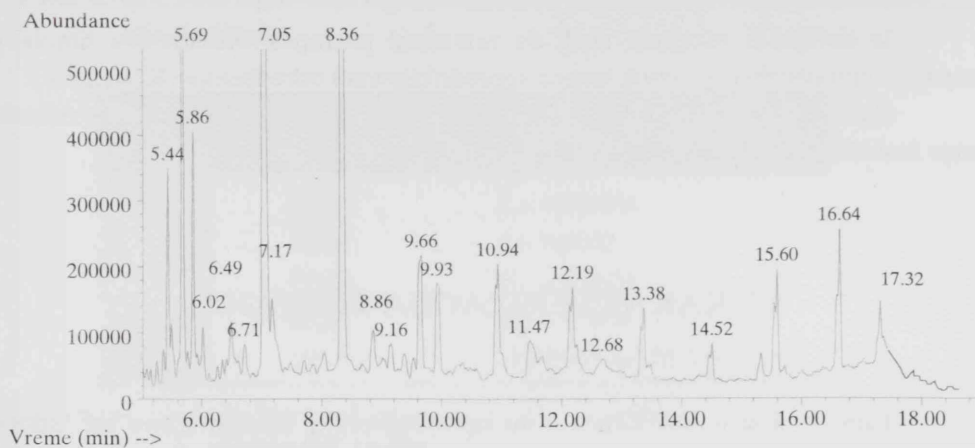
## 3.2. KARAKTERIZACIJA TIMIJANA

Timijan, koji je korišćen u svim ispitivanjima, je okarakterisan na osnovu etarskog ulja i ekstrakta. Sadržaj vlage u drogi (osušeno lišće timijana) je iznosio 8,27%.

### 3.2.1. Etarsko ulje

Sadržaj etarskog ulja je određen prema postupku koji propisuje jugoslovenska farmakopeja<sup>35</sup> i iznosi 1,75% (V/m;  $\text{cm}^3/100$  g droge). Zapreminska masa ( $d_{20^\circ\text{C}}$ ) dobijenog ulja je 0,9118  $\text{g}/\text{cm}^3$  (prema literaturnim podacima<sup>39</sup> zapreminska masa etarskog ulja timijana je od 0,894 do 0,930  $\text{g}/\text{cm}^3$ ). Etarsko ulje sadrži kao dominantnu komponentu timol (50,06%; m/m), dok je karvakrol prisutan, praktično, u tragovima (1,15%; m/m). Radi provere kvantitativnosti postupka destilacije pomoću vodene pare, nakon izdvajanja etarskog ulja, destilacija uzorka je produžena (2 sata), pri čemu nije došlo do izdvajanja nove količine etarskog ulja. Može se smatrati da je izdvajanje etarskog ulja potpuno nakon 2 sata destilacije, odnosno da je ukupni sadržaj timola u timijanu 800 mg/100 g, odnosno karvakrola 18 mg/100 g.

Kvalitativna i kvantitativna analiza dobijenog etarskog ulja je izvršena primenom GC-MS (Slika 21 i tabela 5). Strukture nekih detektovanih jedinjenja su prikazane na slici 21.



Napomena: Abundance - Ukupna jonska struja koja se javlja na elektronskom multiplikatoru

Slika 21. GC-hromatogram etarskog ulja timijana

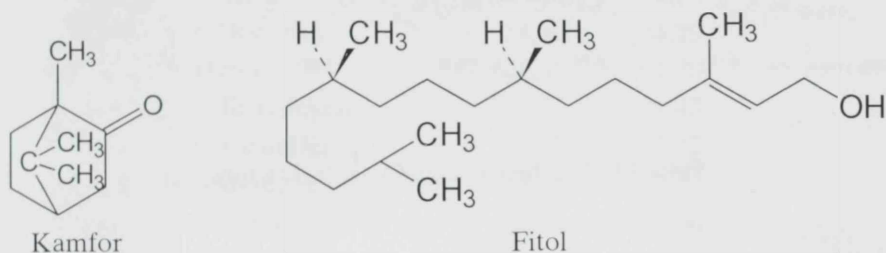
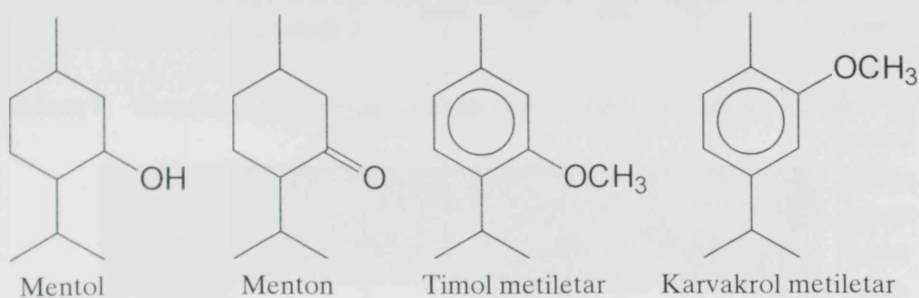
Tabela 5. Rezultati analize etarskog ulja timijana

$t_R$ (min)	Komponenta*	Match**	Sadržaj u odnosu na drogu etarsko ulje (mg/100g) (%)	
5,44	Kamfor	98	46,87	2,94
5,69	L-Mentol	91	129,95	8,14
5,86	n-Dodekan	95	48,27	3,02
6,02	2,6-Dimetilundekan	94	11,98	0,75
6,49	Timol metiletar	93	25,17	1,58
6,71	Karvakrol metiletar	96	9,77	0,71
7,05	Timol	99	798,78	50,06
7,17	Karvakrol	98	18,35	1,15
8,36	n-Tetradekan	98	257,12	16,11
8,86	$\beta$ -Kariofilen	99	11,52	0,72
9,16	2-Metildekan	90	9,95	0,62
9,66	n-Pentadekan	97	41,27	2,59
10,94	n-Heksadekan	97	50,82	3,18
12,19	n-Heptadekan	97	47,54	2,98
13,38	n-Oktadekan	97	32,32	2,02
16,64	Fitol	96	46,34	2,90

\* - Detektovano je prisustvo mentona ( $t_R=5,52$  min) i borneola ( $t_R=5,67$  min) u tragovima.

\*\* - Match predstavlja procenat poklapanja dobijenog masenog spektra jedinjenja iz ispitivanog uzorka sa masenim spektrom iz baze podataka.



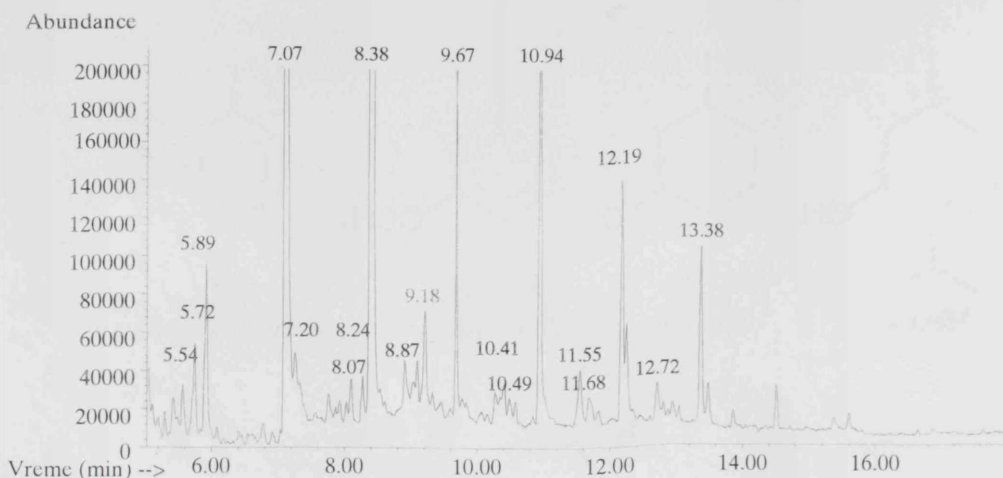


Slika 22. Strukturne formule nekih jedinjenja prisutih u etarskom ulju timijana

### 3.2.2. Ekstrakt

Totalni ekstrakt timijana dobijen je metilenhloridom postupkom ekstrakcije sa povremenim ispuštanjem ekstrakta (ekstrakcija po Soxhlet-u). Prinos ekstraktivnih materija je iznosio 4,95% (m/m), sa sadržajem timola 16,11% (m/m) (u odnosu na drogu 800 mg/100 g). Isti prinos timola, u odnosu na njegov sadržaj u drogi, je ostvaren i postupkom destilacije pomoću vodene pare, što govori o kvantitativnosti ekstrakcije. Sadržaj etarskog ulja u ekstraktu je iznosio oko 32%.

Kvalitativni i kvantitativni sastav ekstrakta je ispitan primenom GC-MS (Slika 23 i tabela 6). Iz rezultata datih u tabeli 6 se vidi da značajan udeo (oko 68%) u ekstraktu čine parafini (n-dodekan, n-tetradekan, 2-metildekan, n-pentadekan, n-heksaden, n-heptadekan i n-oktadekan) sa dominantnim n-tetradekanom (47,18%). Nadalje, sadržaj prisutnih parafina u ekstraktu je oko 7 puta veći od njihovog sadržaja u etarskom ulju. Ovo povećanje je najizraženije za n-tetradekan (oko 9 puta). U ekstraktu nije detektovan fitol, produkt raspadanja hlorofila.



Slika 23. CG-hromatogram ekstrakta timijana

Tabela 6. Rezultati analize ekstrakta timijana

$t_R$ (min)	Komponenta	Sadržaj u odnosu na drogu (mg/100g)	Sadržaj u odnosu na ekstrakt (%)
5,44	Kamfor	36,88	0,74
5,72	L-Mentol	65,09	1,31
5,89	n-Dodekan	97,17	1,96
7,07	Timol	797,44	16,11
8,38	n-Tetradekan	2335,36	47,18
8,87	$\beta$ -Kariofilen	56,53	1,14
9,18	2-Metildekan	65,93	1,33
9,67	n-Pentadekan	321,60	6,50
10,94	n-Heksadekan	271,65	5,49
12,19	n-Heptadekan	200,97	4,06
13,38	n-Oktadekan	103,06	2,08

Destilacijom pomoću vodene pare ekstrakta, dobijenog ekstrakcijom po Soxhlet-u, izdvojeno je etarsko ulje ( $1,11 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$  droge), što čini oko 63%

prisutnog etarskog ulja u drogi. Sadržaj timola u ovom ulju iznosio je 61,70%. Sastav dobijenog ulja je dat u tabeli 7.

**Tabela 7.** Rezultati analize etarskog ulja dobijenog iz ekstrakta timijana

$t_R$ (min)	Komponenta	Sadržaj u odnosu na drogu (mg/100g)	etarsko ulje (%)
5,44	Kamfor	6,95	0,63
5,72	L-Mentol	64,87	4,03
5,89	n-Dodekan	14,35	1,29
7,07	Timol	678,31	61,70
8,38	n-Tetradekan	238,31	21,43
8,87	$\beta$ -Kariofilen	14,75	1,32
9,18	2-Metildekan	5,92	0,53
9,67	n-Pentadekan	34,06	3,06
10,94	n-Heksadekan	29,88	2,68
12,19	n-Heptadekan	15,40	1,38
13,38	n-Oktadekan	11,20	1,00

Na osnovu rezultata datih u tabelama 6 i 7, može se zaključiti da se destilacijom pomoću vodene pare iz ekstrakta dobija 85,06% prisutnog timola, dok se kvantitativno izdvaja samo L-mentol (99,66%). Sadržaj parafina u dobijenom ulju je oko 10 puta manji u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu. Može se reći da se dobijeno etarsko ulje kvalitativno i kvantitativno razlikuje od etarskog ulja timijana dobijenog oficinalnim postupkom destilacije pomoću vodene pare (Tabela 5).

Na osnovu do sada sprovedenih ispitivanja i dobijenih rezultata može se zaključiti da se ekstrakcija timijana ugljendioksidom u superkričnom stanju može pratiti analizom timola, kao važne dominantne komponente etarskog ulja i ekstrakata timijana. Radi toga, u daljem radu, korišćiće se razrađeni analitički metodi.

### 3.3. EKSTRAKCIJA SUPERKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM

Ispitivanja ekstrakcije timijana primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju su obuhvatala:

- Izbor protoka ugljendioksida;
- Uticaj veličine čestica biljnog materijala na prinos ekstrakta, fenolnih jedinjenja i ostalih komponenata prisutnih u timijanu;
- Uticaj vremena ekstrakcije;
- Uticaj pritiska ugljendioksida;
- Primena ugljendioksida u tečnom stanju za ekstrakciju timijana i
- Modelovanje dobijenih rezultata ispitivanja ekstrakcije sistema timijan - superkritični (ili tečni) ugljendioksid.

#### 3.3.1. Protok ugljendioksida

Protok ekstragensa je veoma važan parametar u toku ekstrakcije, od koga zavise prinosi željenih komponenata. Potrebno je obezbediti ravnotežne uslove u toku ekstrakcije.

##### 3.3.1.1. Definisavanje reprezentativnog pokazatelja toka ugljendioksida

Na osnovu prečnika ekstraktora i primenjenog protoka ugljendioksida  $W$  ( $\text{dm}^3/\text{h}$ ) mogu se izračunati prividna brzina  $W_A$  ( $\text{mm/s}$ ) ili srednja prividna brzina ekstragensa  $W_{SA}$  ( $\text{mm/s}$ ):

$$W_A = W/A \quad (3)$$

odnosno

$$W_{SA} = W_A/F_d \quad (4)$$

gde je

$$F_d = d_{CO_2,E}/d_{CO_2} \quad (5)$$

A - površina poprečnog preseka ekstraktora (U našem slučaju:  $R = 4$  cm;  $A = 12,566$   $\text{cm}^2$ );

$d_{CO_2,E}$  - zapreminska masa ugljendioksida na pritisku ekstrakcije i temperaturi 40°C;

$d_{CO_2}$  - zapreminska masa ugljendioksida na atmosferskom pritisku i temperaturi 20°C (1,98 g/dm<sup>3</sup>).

Protoci ugljendioksida koji su ispitivani u okviru ovoga rada i odgovarajuće vrednosti za  $W_A$  i  $W_{SA}$  su dati u tabeli 8.

**Tabela 8.** Protoci ugljendioksida i vrednosti  $W_A$  i  $W_{SA}$  za  $p = 100$  bar ( $d_{CO_2,E} = 630$  g/dm<sup>3</sup>;  $F_d = 318,18$ )

Oznaka protoka	Zapreminski protok (dm <sup>3</sup> /h)	Maseni protok (g/h g timijana)	$W_A$ (mm/s)	$W_{SA}$ (mm/s)
$W_1$	48,082	1,904	10,629	0,0334
$W_2$	97,725	3,870	21,603	0,0679
$W_3$	139,898	5,540	30,925	0,0972

Napomena: Odnos protoka  $W_1 : W_2 : W_3 \equiv 1 : 2,03 : 2,91$

Za sva ispitivanja ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom selektovana je temperatura 40°C. Povećanje radne temperaure iznad ove vrednosti može dovesti do termičke transformacije farmakološki aktivnih komponenata prisutnih u biljnom materijalu, što, svakako, nije poželjno.

U tabeli 9 su dati odgovarajući podaci za protok  $W_2$  i pritiske 80, 150, 200 i 400 bar na temperaturi od 40°C.

**Tabela 9.** Podaci za pritiske 80,150, 200 i 400 bar na temperaturi od 40°C pri protoku  $W_2$  ( $W_A = 21,603$  mm/s)

Pritisak (bar)	$d_{CO_2,E}$ (g/dm <sup>3</sup> )	$F_d$ $d_{CO_2,E}/d_{CO_2}$	$W_{SA}$ (mm/s)
80	191,8	96,87	0,1126
150	789,6	398,79	0,0542
200	845,0	426,77	0,0506
400	983,0	496,46	0,0435



Podaci za srednju prividnu brzinu koji su dati u tabelama 8 i 9 se nalaze u intervalu ravnotežne ekstrakcije (0,0383-0,65 mm/s)<sup>55</sup>.

Kao pokazatelj ravnotežnih uslova ekstrakcije može poslužiti i specifični maseni protok ugljendioksida ( $W_{MS}$ ):

$$W_{MS} = W_M/A \quad (6)$$

gde je:  $W_M$  - maseni protok ugljendioksida kroz punjenje ekstraktora (g/min) i  
 $A$  - površina poprečnog preseka ekstraktora.

Podaci za specifični maseni protok ugljendioksida za protoke  $W_1$ ,  $W_2$  i  $W_3$  su dati u tabeli 10.

**Tabela 10.** Specifični maseni protoci

Oznaka protoka	$W_M$ (g/min)	$W_{MS}$ (g/min cm <sup>2</sup> )	$W_{MS}$ (g/s cm <sup>2</sup> )
$W_1$	1,5867	0,1263	$2,104 \cdot 10^{-3}$
$W_2$	3,2249	0,2566	$4,277 \cdot 10^{-3}$
$W_3$	4,6166	0,3674	$6,123 \cdot 10^{-3}$

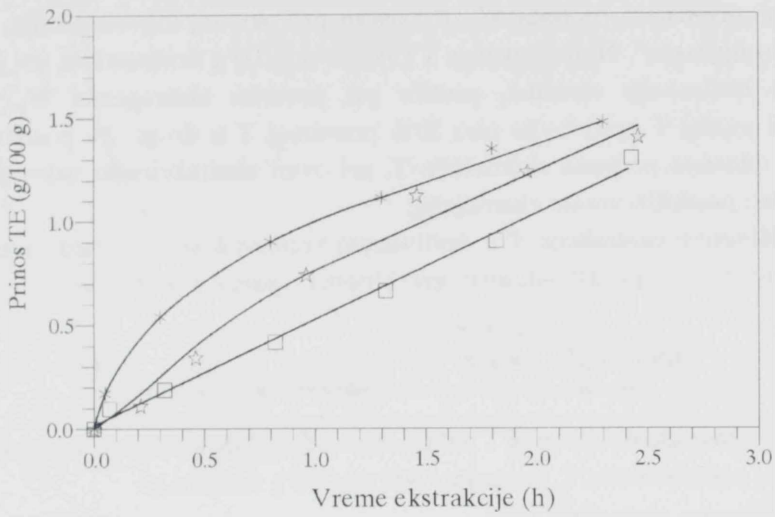
Specifični maseni protoci koji su dati u tabeli 10 se nalaze u intervalu protoka ravnotežne ekstrakcije<sup>19</sup> i mogu da posluže kao pokazatelji toka ugljendioksida za postizanje ravnotežne ekstrakcije za različite protoke, pritiske i temperature ugljendioksida i površine poprečnog preseka ekstraktora.

### 3.3.1.2. Izbor protoka ugljendioksida

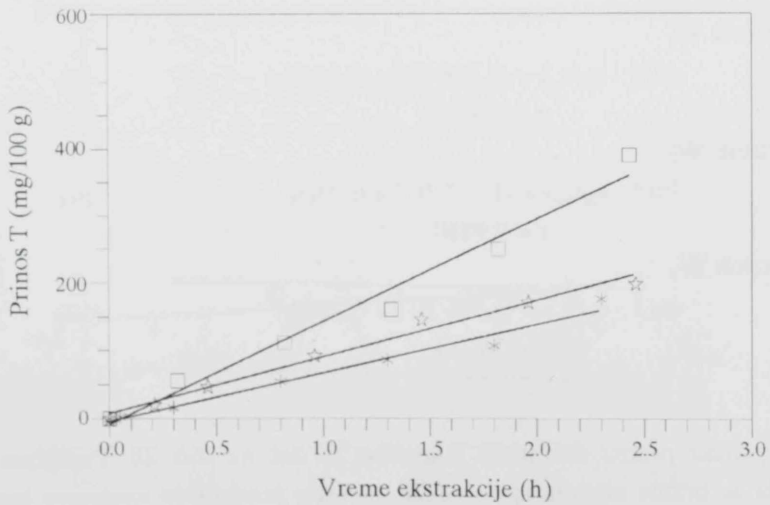
Rezultati ispitivanja uticaja protoka ekstragensa na ekstrakciju timijana stepena usitnjenosti  $d_o$  (*in toto*) superkritičnim ugljendioksidom ( $p=100$  bar;  $T=40^\circ\text{C}$ ;  $d=0,6302$  g/cm<sup>3</sup>), su prikazani na slikama 24 i 25 i dati u tabeli P1 (u Prilogu). Prinos totalnog ekstrakta (TE) i prinos timola (T) izražen je u g/100 g timijana (%), odnosno mg/100 g timijana.

Prinos TE je najveći pri najmanjem protoku ekstragensa  $W_1$ , a najmanji pri protoku  $W_2$ , dok je prinos T izrazito najveći pri protoku  $W_2$ . Kada se prethodni





Slika 24. Prinosi totalnog ekstrakta (TE) za različite protoke ugljendioksida:  $W_1$  (\*),  $W_2$  (□) i  $W_3$  (☆)



Slika 25. Prinosi timola (T) za različite protoke ugljendioksida:  $W_1$  (\*),  $W_2$  (□) i  $W_3$  (☆)

rezultati predstave kao rastvorljivost TE (slika 26), odnosno T (slika 27) u superkritičnom ugljendioksidu, potvrđuje se prethodni zaključak. Rastvorljivost TE je najveća pri protoku  $W_1$ , a slična za protoke  $W_2$  i  $W_3$ , dok je rastvorljivost T najmanja primenom protoka  $W_3$ . Pri ovom protoku se, najverovatnije, javlja tzv. "fenomen ispiranja". Najveći prinos T (389,08 mg/100 g timijana) se, pri ispitivanim uslovima ekstrakcije timijana, postiže pri protoku ekstragensa  $W_2$ . Međutim, ostvareni prinos T predstavlja oko 50% prisutnog T u drogi. Za postizanje većeg prinosa, odnosno potpune ekstrakcije T, pri ovim ekstrakcionim uslovima, bilo bi neophodno produžiti vreme ekstrakcije.

Kinetika ekstrakcije T u ispitivanom vremenskom intervalu ekstrakcije, se može kvantitativno predstaviti analogno kinetici reakcije prvog reda:

$$-\ln(1 - c_E/c_o) = k \tau \quad (7)$$

gde je:  $c_E$  - masa ekstrahovanog T nakon vremena  $\tau_i$  (odgovarajuća koncentracija);  
 $c_o$  - početna masa T (odnosno: 800 mg/100 g timijana);  
 $\tau_i$  - vreme ekstrakcije (h) i  
 $k$  - konstanta brzine ekstrakcije ( $h^{-1}$ ).

Primenom jednačine (7) dobijaju se jednačine koje veoma dobro fituju rezultate uticaja protoka ugljendioksida na ekstrakciju timijana, za ispitivane protoke ugljendioksida, i to:

Protok  $W_1$

$$-\ln(1 - c_E/c_o) = -0,175 \cdot 10^{-2} + 0,0858 \tau \quad (8)$$

$$r = 0,9989$$

Protok  $W_2$

$$-\ln(1 - c_E/c_o) = -1,733 \cdot 10^{-2} + 0,2209 \tau \quad (9)$$

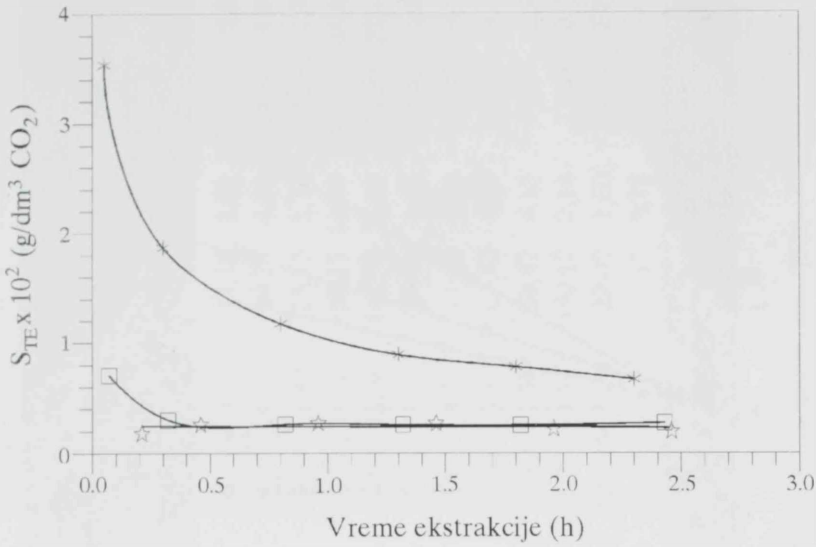
$$r = 0,9880$$

Protok  $W_3$

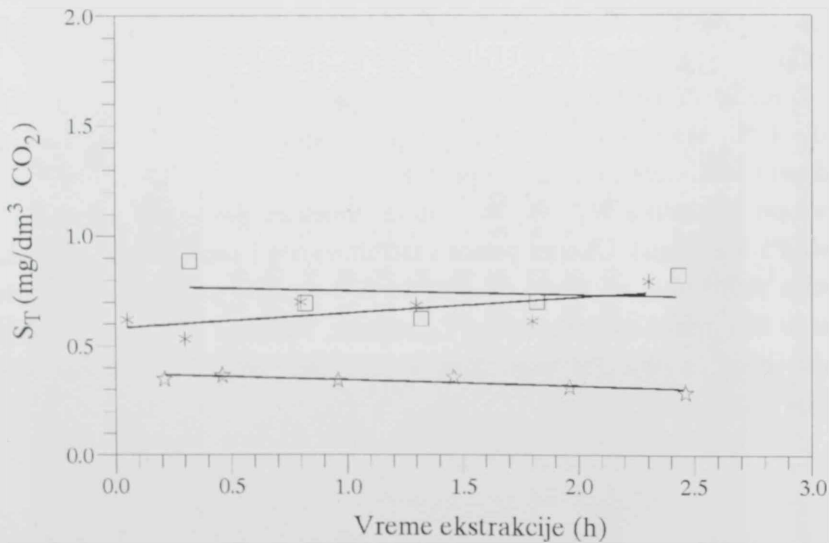
$$-\ln(1 - c_E/c_o) = -6,946 \cdot 10^{-2} + 0,1177 \tau \quad (10)$$

$$r = 0,9934$$

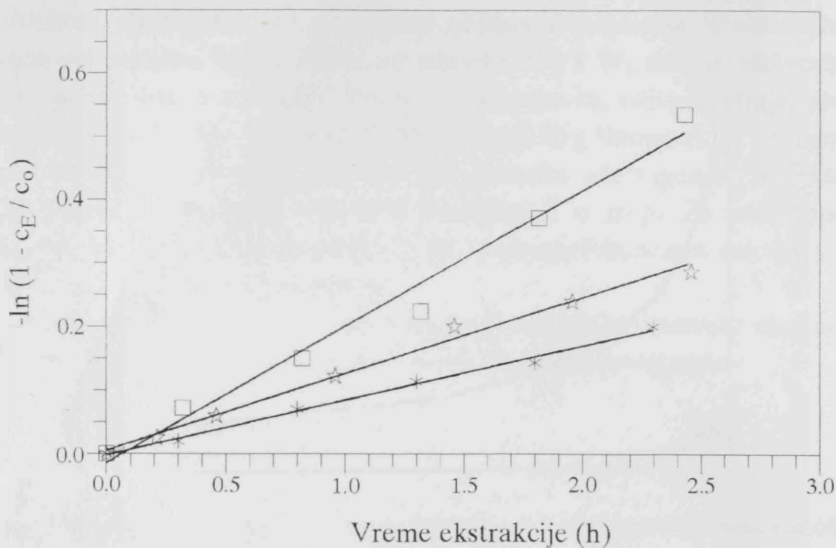
Grafički prikaz dobijenih jednačina je dat na slici 28. Prikazani rezultati ukazuju da se brzina ekstrakcije T može uspešno predstaviti analogno kinetici reakcije prvog reda. Najveća vrednost konstante brzine ekstrakcije  $0,2209 h^{-1}$  se dobija pri protoku ekstragensa  $W_2$ , pri čemu je ovaj protok selektovan kao najpovoljniji, odnosno optimalan za sva dalja ispitivanja ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom.



Slika 26. Rastvorljivost TE ( $S_{TE}$ ) u superkritičnom ugljendioksidu za protoke  $W_1$  (\*),  $W_2$  (□) i  $W_3$  (☆)



Slika 27. Rastvorljivost T ( $S_T$ ) u superkritičnom ugljendioksidu za protoke  $W_1$  (\*),  $W_2$  (□) i  $W_3$  (☆)



**Slika 28.** Zavisnost  $-\ln(1 - c_E/c_0)$  u funkciji vremena za različite protoke ugljendioksida:  $W_1$  (\*),  $W_2$  (□) i  $W_3$  (☆)

U tabeli 11 su dati prinosi komponeneta koji su ostvareni pri različitim protocima ekstragensa. Takođe su dati i prinosi zaostalih komponeneta u ekstrahovanom biljnom materijalu.

Iz rezultata datih u tabeli 11 se vidi da je prinos ekstrahovanog etarskog ulja od 40 do 47%, od prisutnog etarskog ulja u biljnom materijalu. Prinos ukupnih parafina pri najmanjem ispitivanom protoku  $W_1$  daleko je veći u odnosu na prinose ostvarene pri protocima  $W_2$  i  $W_3$ , što ima za posledicu povećanje prinosa TE (Slika 24, tabela P1 u Prilogu). Ukupni prinos ekstrahovanog i zaostalog n-tetradekana, pri ispitivanim protocima, se kreće od 649 do 670 mg/100 g. Primenom protoka  $W_1$  ostvaren je niži prinos ekstrahovanog L-mentola, odnosno kamfora i  $\beta$ -kariofilena primenom protoka  $W_2$ . Pri ekstrakciji primenom protoka  $W_1$  nije detektovana ekstrakcija fitola.

Tabela 11. Prinosi ekstrahovanih i zaostalih komponenata u biljnom materijalu pri različitim protocima ugljikoksida

Komponenta	Protok W <sub>1</sub>		Protok W <sub>2</sub>		Protok W <sub>3</sub>							
	Ekstrahovano drogu TE (%)	Zaostalo* na drogu TE (%)	Ekstrahovano drogu TE (%)	Zaostalo* na drogu TE (%)	Ekstrahovano drogu TE (%)	Zaostalo* na drogu TE (%)						
Kamfor	12,66	0,86	19,83	1,98	5,02	0,38	6,33	0,63	14,18	1,01	5,32	0,53
L-Mentol	45,88	3,11	76,13	7,61	73,85	5,66	17,00	1,70	69,26	4,92	13,58	1,36
n-Dodekan	42,94	2,91	27,11	2,71	25,09	1,92	17,94	1,80	25,12	1,78	17,64	1,76
Timol	174,88	11,84	545,27	54,53	389,08	29,84	533,84	53,38	198,11	14,07	464,37	46,44
n-Tetradekan	624,48	42,42	24,07	2,41	430,43	33,01	239,63	23,96	445,58	31,65	221,27	22,13
β-Kariofilen	26,84	1,82	4,30	0,43	17,75	1,36	12,20	1,22	20,05	1,42	12,42	1,24
2-Metildekan	18,28	1,24	3,61	0,36	11,63	0,89	5,62	0,56	11,69	0,83	5,07	0,51
n-Pentadekan	85,65	5,80	21,66	2,17	60,57	4,64	33,51	3,35	65,42	4,65	32,35	3,32
n-Heksadekan	73,33	4,96	27,64	2,76	52,66	4,11	29,80	2,98	58,42	4,15	29,78	2,98
n-Heptadekan	55,58	3,76	24,35	2,43	38,52	2,95	15,37	1,54	30,12	2,14	22,05	2,20
n-Oktadekan	30,40	2,06	14,17	1,42	20,07	1,54	10,95	1,09	22,49	1,60	11,69	1,17
Fitol	-	-	21,12	2,11	8,40	0,64	-	-	10,17	0,72	-	-
Sadržaj etarskog ulja (%; V/m)	0,925		1,050		0,950							

\* - Etarsko ulje dobijeno destilacijom pomoću vodene pare



### 3.3.2. Uticaj veličine čestica na superkritičnu ekstrakciju timijana

Stepeni usitnjenosti i srednji prečnici<sup>12</sup> čestica timijana koji su korišćeni u ispitivanjima su dati u tabeli 12. Mada je oblik čestica različit, usvojeno je da se kao model čestice koristi ekvivalentna sfera i njen prečnik izrazi sa  $d_{sr}$ .

**Tabela 12.** Stepeni usitnjenosti ( $d_0$ ,  $d_1$  i  $d_2$ ) i izračunati srednji prečnici ( $d_{sr}$ ) čestica timijana

$O_{sr}^*$ (mm)	$d_0$		$d_1$		$d_2$	
	Udeo, U (%)	$O_{sr}$ U/100 (mm)	Udeo, U (%)	$O_{sr}$ U/100 (mm)	Udeo, U (%)	$O_{sr}$ U/100 (mm)
7,000	0,089	0,00623	-	-	-	-
3,575	0,117	0,00418	-	-	-	-
2,575	27,148	0,69906	1,264	0,03255	-	-
1,400	64,989	0,90985	29,517	0,41324	4,923	0,06892
0,557	7,405	0,04128	42,379	0,23627	26,361	0,14696
0,237	0,084	0,00020	18,160	0,04313	44,102	0,10474
0,130	0,017	0,00002	5,819	0,00756	21,066	0,02739
0,050	0,151	0,00006	2,861	0,00143	3,548	0,00177
<b><math>d_{sr}</math> (mm)</b>		<b>1,66088</b>		<b>0,73418</b>		<b>0,34978</b>

\* -  $O_{sr}$  predstavlja srednji prečnik otvora dva susedna sita

Napomena: Odnos srednjih prečnika  $d_0 : d_1 : d_2 \equiv 4,75 : 2,10 : 1$

Prinosi totalnog ekstrakta (TE) i prinosi timola (T) dobijeni ekstrakcijom timijana, stepena usitnjenosti  $d_1$  i  $d_2$ , superkritičnim ugljendioksidom (100 bar; 40°C) su dati u tabeli 13. Prinosi za stepen usitnjenosti  $d_0$  su dati u Prilogu (Tabela P1, protok  $W_2$ ).

Korišćenjem timijana stepena usitnjenosti  $d_1$  nije postignuta kvantitativna ekstrakcija prisutnog etarskog ulja. U biljnom materijalu je nakon superkritične ekstrakcije zaostalo 217,96 mg/100 g, odnosno oko 28% prisutnog T. Nasuprot tome, pri ekstrakciji timijana stepena usitnjenosti  $d_2$  izvršena je potpuna ekstrakcija etarskog ulja. Dominantna komponenta u TE je najvažnija farmakološki aktivna supstanca, timol (37,29%). Sastav TE je analiziran GC-MS hromatografijom (Slika 29), a rezultati su dati u tabeli 15. S obzirom na ostvareni sadržaj T (779,80 mg/100g),

**Tabela 13.** Prinosi totalnog ekstrakta - TE (g/100 g timijana) i prinosi timola - T (mg/100 g timijana) timijana stepena usitnjenosti  $d_1$  i  $d_2$

Vreme (h)	$d_1$		$d_2$	
	TE	T	TE	T
0,25	-	-	0,3407	124,696
0,50	0,3523	88,137	0,8011	322,725
1,00	0,8176	263,599	1,3461	570,570
1,50	1,1865	369,141	1,6270	622,758
2,00	1,5108	486,085	1,8154	689,362
2,50	1,8824*	559,319	2,0910**	779,804

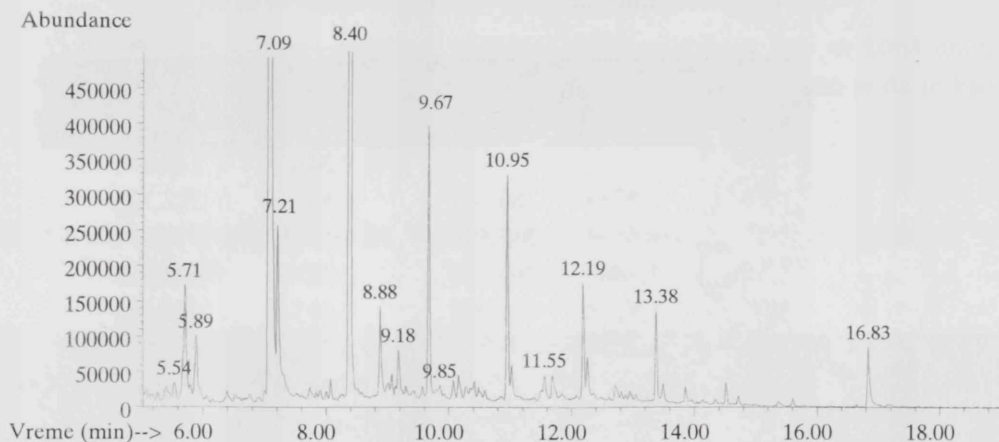
Destilacija droge nakon ekstrakcije superkritičnim CO<sub>2</sub>  
 Etarsko ulje\*: 0,55% (V/m)      Etarsko ulje: 0,00  
 Sadržaj timola: 39,63%

\* - Rezultati GC-MS analize su dati u tabeli 14.

\*\* - Rezultati GC-MS analize (Slika 29) su dati u tabeli 15.

**Tabela 14.** Rezultati analize totalnog ekstrakta i etarskog ulja

Komponenta	Ekstrahovano		Zaostalo	
	Sadržaj drogu (mg/100g)	u odnosu na TE (%)	u odnosu na drogu (mg/100g)	etarsko ulje (%)
Kamfor	10,28	0,55	3,10	0,56
L-Mentol	66,90	3,55	6,57	1,19
n-Dodekan	31,49	1,67	9,38	1,70
Timol	559,32	29,71	217,96	39,63
n-Tetradekan	543,26	28,86	156,89	28,52
$\beta$ -Kariofilen	25,66	1,36	11,63	2,11
2-Metildekan	14,06	0,75	3,30	0,60
n-Pentadekan	75,26	4,00	22,62	4,11
n-Heksadekan	68,03	3,61	19,99	3,63
n-Heptadekan	51,16	2,72	14,24	2,59
n-Oktadekan	28,12	1,49	7,60	1,38
Fitol	28,31	1,50	21,12	2,11



Slika 29. GC-hromatogram TE timijana (stepen usitnjenosti  $d_2$ )

može se smatrati da je on u potpunosti ekstrahovan iz biljnog materijala. Takođe se može zaključiti da je dobijeni ekstrakt po svom kvalitativnom i kvantitativnom sastavu najpribližniji etarskom ulju timijana. Nadalje, ekstrakt sadrži oko dva puta više n-tetradekana u odnosu na etarsko ulje dobijeno destilacijom pomoću vodene pare (Slika 21 i tabela 5). Što se tiče ostalih parafina, njihov prinos je takođe povećan, što direktno utiče na udele ovih komponenata u TE.

Na osnovu dobijenih rezultata i datih komentara, za dalja ispitivanja je selektovan stepen usitnjenosti timijana  $d_2$  ( $d_{sr} \cong 0,35$  mm).

**Tabela 15.** Rezultati analize TE (Uslovi ekstrakcije: 100 bar; 40°C; 2,5 h; stepen usitnjenosti d<sub>2</sub>)

Komponenta	Sadržaj u odnosu na	
	drogu (mg/100g)	TE (%)
Kamfor	10,18	0,49
L-Mentol	59,49	2,84
n-Dodekan	38,18	1,83
Timol	779,80	37,29
n-Tetradekan	555,39	26,56
β-Kariofilen	29,02	1,38
2-Metildekan	13,82	0,66
n-Pentadekan	78,54	3,76
n-Heksadekan	70,13	3,35
n-Heptadekan	49,66	2,37
n-Oktadekan	26,53	1,27
Fitol	28,98	1,39

### 3.3.3. Uticaj vremena na superkritičnu ekstrakciju timijana

Nakon odabranih uslova ekstrakcije (protok ugljendioksida  $W_2 = 97,725 \text{ dm}^3/\text{h}$ ; stepen usitnjenosti d<sub>2</sub>; pritisak 100 bar; temperatura 40°C) ispitana je kinetika ekstrakcije u toku 10 sati. Prinosi totalnog ekstrakta (TE) i prinosi timola (T) su dati u tabeli 16 i prikazani na slikama 30 i 31.

Za razliku od prinosa TE koji se vremenom povećava (Slika 30), prinos T se značajnije ne povećava nakon 2,5 sata ekstrakcije (Slika 31), što je u saglasnosti sa ranije donetim zaključkom. Udeo T u TE se tokom ekstrakcije smanjuje od 43,61% do 21,82% (Tabela 16).

Rezultati GC-MS analize sastava TE dobijenog nakon 10 sati ekstrakcije su dati u tabeli 17. Upoređujući vrednosti prinosa komponenata dobijenih nakon 10 sati (Tabela 17) i 2,5 sata ekstrakcije (Tabela 15) može se zaključiti da produženje vremena ekstrakcije ima za posledicu povećanje prinosa parafina u totalnom ekstraktu, odnosno da je za dobijanje ekstrakta koji je po svom kvalitativnom i kvantitativnom sastavu sličan etarskom ulju timijana, optimalno vreme ekstrakcije 2,5 sata.

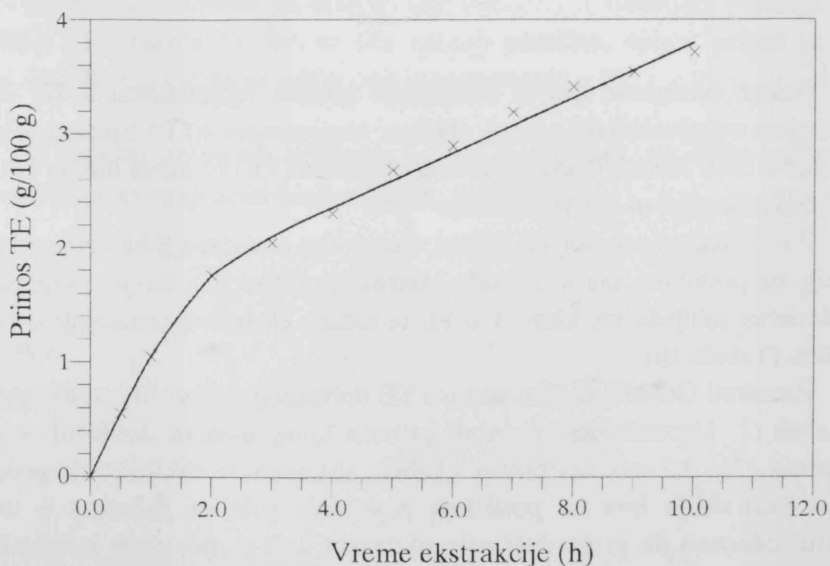


Tabela 16. Rezultati ispitivanja kinetike ekstrakcije timijana

Vreme (h)	$m_{rel}$	TE (%)	T (mg/100g)	T u TE (%)	$S_{TE} \times 10^2$	$\log S_{TE}$	$S_T$	$\log S_T$
0,5	1,935	0,5523	240,84	43,61	0,5652	-2,2478	2,4645	0,3917
1,0	3,87	1,0513	456,10	43,38	0,5379	-2,2693	2,3336	0,3680
2,0	7,74	1,7625	690,23	39,16	0,4509	-2,3459	1,7657	0,2469
3,0	11,61	2,0453	796,17	38,93	0,3488	-2,4574	1,3578	0,1328
4,0	15,48	2,2988	788,97	34,32	0,2940	-2,5316	1,0092	0,0040
5,0	19,35	2,6810	792,56	27,40	0,2743	-2,5617	0,8110	-0,0910
6,0	23,22	2,8922	801,23	27,70	0,2466	-2,6080	0,6832	-0,1654
7,0	27,09	3,1890	799,74	25,08	0,2331	-2,6325	0,5845	-0,2332
8,0	30,96	3,4127	805,17	23,59	0,2182	-2,6610	0,5149	-0,2882
9,0	34,83	3,5392	806,89	22,80	0,2012	-2,6964	0,4587	-0,3385
10,0	38,70	3,7145	810,34	21,82	0,1900	-2,7211	0,4146	-0,3824

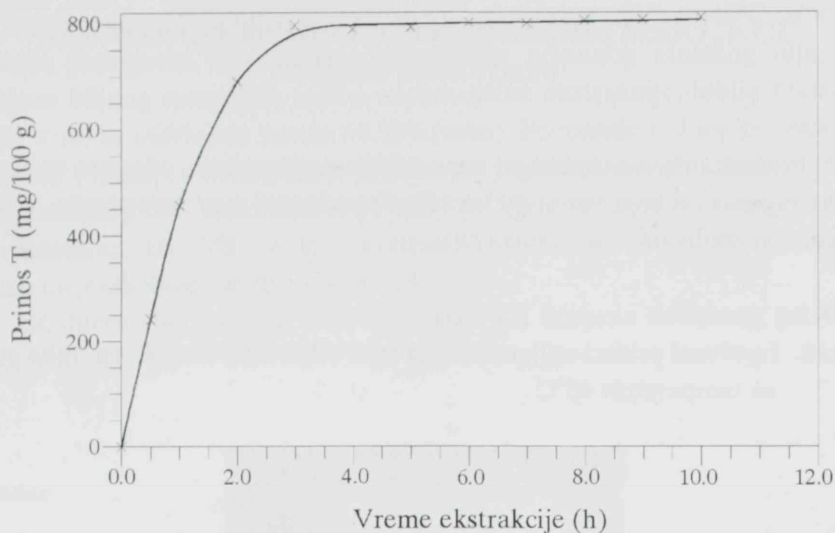
Napomena:  $m_{rel}$  - Relativna masa ugljendioksida (g CO<sub>2</sub>/g timijana)

S - Rastvorljivost TE (g/dm<sup>3</sup>) i T (mg/dm<sup>3</sup>) u superkritisnom CO<sub>2</sub>



Slika 30. Kinetika ekstrakcije timijana (Totalni ekstrakt)





Slika 31. Kinetika ekstrakcije timijana (Timol)

Tabela 17. Rezultati analize totalnog ekstrakta (Uslovi ekstrakcije: 100 bar; 40°C; 10 sati)

Komponenta	Sadržaj u odnosu na	
	drogu (mg/100g)	TE (%)
Kamfor	10,22	0,27
L-Mentol	36,22	0,96
n-Dodekan	34,95	0,94
Timol	810,34	21,82
n-Tetradekan	687,66	18,51
β-Kariofilen	32,65	0,88
2-Metildekan	22,88	0,62
n-Pentadekan	102,82	2,77
n-Heksadekan	93,38	2,51
n-Heptadekan	25,48	0,69
n-Oktadekan	38,15	1,03
Fitol	16,60	0,45

Za ispitivanje uticaja zapreminske mase, odnosno pritiska ugljendioksida, na prinose TE i prinose T, selektovano je vreme ekstrakcije od 2,5 sata.

### 3.3.4. Uticaj pritiska ugljendioksida na superkritičnu ekstrakciju timijana

Pritisak ugljendioksida pri superkritičnoj ekstrakciji, odnosno zapreminska masa ekstragensa od koje zavise dielektrična konstanta i moć rastvaranja, je ispitivan u intervalu od 80 do 400 bar (Tabela 18).

**Tabela 18.** Ispitivani pritisci ugljendioksida ( $p$ ) i odgovarajuće zapreminske mase ( $d$ ) na temperaturi 40°C

$p$ (bar)	$d$ (g/cm <sup>3</sup> )
80	0,1918
100	0,6302
150	0,7896
200	0,8450
400	0,9830

Prinosi TE i prinosi T dobijeni ekstrakcijom timijana ugljendioksidom pri različitim pritiscima su dati u tabeli 19.

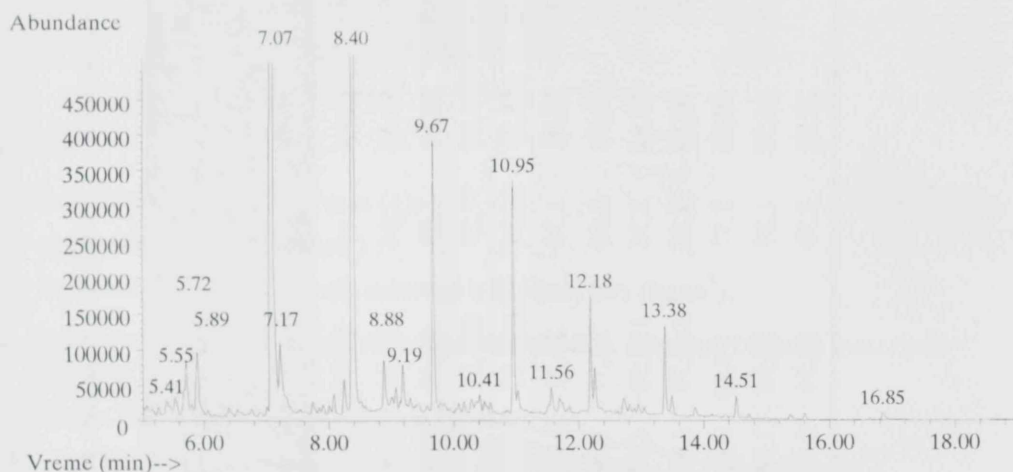
**Tabela 19.** Rezultati prinosa TE (g/100 g timijana) i prinosa T (mg/100 g timijana) na različitim pritiscima ugljendioksida

Vreme (h)	80 bar		100 bar		150 bar		200 bar		400 bar	
	TE	T	TE	T	TE	T	TE	T	TE	T
0,25	0,112	11,86	0,340	124,70	0,546	127,89	1,008	253,58	1,070	320,49
0,50	0,297	33,63	0,801	322,72	1,320	339,85	1,780	465,60	1,979	484,58
0,75	0,370	48,72	-	-	1,782	508,29	2,346	615,70	2,599	568,69
1,00	0,427	62,00	1,346	570,57	2,176	623,28	2,701	686,46	3,077	645,22
1,50	0,518	85,76	1,627	622,76	2,569	729,86	3,157	728,80	3,635	675,11
2,00	0,601	131,39	1,815	689,36	2,770	792,53	3,470	792,21	3,810	735,37
2,50	0,706	167,62	2,091	779,80	3,206	833,51	3,829	854,25	3,942	788,77

Primenom ugljendioksida male moći rastvaranja (80 bar; 40°C;  $d = 0,1918 \text{ g/cm}^3$ ) nije postignuta kvantitativna ekstrakcija prisutnog etarskog ulja, jer se destilacijom biljnog materijala nakon superkritične ekstrakcije dobija etarsko ulje (0,475%; V/m) sa sadržajem timola 69,59% (m/m). Povećanje radnog pritiska na 100 bar (Tabela 13, stepen usitnjenosti  $d_2$ ) ima za posledicu kvantitativnu ekstrakciju prisutnog etarskog ulja. Isti efekat se postiže i pri višim pritiscima.

Rezultati GC-MS analize ekstrakata timijana dobijenih pri različitim pritiscima ugljendioksida su dati u tabeli 20.

GC-hromatogram, koji ilustruje sastav TE timijana dobijenog pri 400 bar, prikazan je na slici 32.



Slika 32. GC-hromatogram TE timijana (400 bar)

Na osnovu rezultata datih u tabeli 20, vidi se da sadržaji komponenata u TE timijana rastu sa porastom radnog pritiska. Ova konstatacija se najbolje uočava pri praćenju sadržaja parafina. Ekstrakti dobijeni na pritiscima 200 bar i 400 bar su po svom sastavu veoma slični, i u poređenju sa totalnim ekstraktom dobijenim ekstrakcijom metilenhloridom (Tabela 6), imaju manji sadržaj parafina, koji je moguće povećati produženjem vremena ekstrakcije. Međutim, u cilju dobijanja ekstrakta koji je po sastavu sličan etarskom ulju timijana, treba za ekstrakciju primeniti ugljendioksid na nižim pritiscima, npr. 100 bar (Slika 29 i tabela 15).

**Tabela 20.** Rezultati analize komponentata u TJE timijana dobijenim pri različitim pritiscima

Komponenta	80 bar		100 bar		150 bar		200 bar		400 bar	
	Sadržaj drogu TJE (mg/100g) (%)	TJE (%)	Sadržaj drogu TJE (mg/100g)	TJE (%)	Sadržaj drogu TJE (mg/100g)	TJE (%)	Sadržaj drogu TJE (mg/100g)	TJE (%)	Sadržaj drogu TJE (mg/100g)	TJE (%)
Kamfor	3,74	0,53	10,18	0,49	21,96	0,68	24,05	0,63	25,46	0,65
L-Mentol	53,61	7,59	59,49	2,84	72,96	2,28	72,76	1,90	75,72	1,92
n-Dodekan	13,07	1,85	38,18	1,83	65,40	2,04	79,72	2,08	84,71	2,15
Timol	167,62	23,73	779,80	37,29	833,51	26,00	854,25	22,31	788,77	20,01
n-Tetradekan	209,90	29,72	555,39	26,56	1.095,87	34,18	1.437,29	37,54	1.533,95	38,92
β-Kariofilen	26,70	3,78	29,02	1,38	33,21	1,04	36,38	0,95	38,59	0,98
2-Metildekan	6,69	0,95	13,82	0,66	33,37	1,04	43,73	1,14	41,78	1,06
n-Pentadekan	31,18	4,41	78,54	3,76	156,53	4,88	202,90	5,30	207,14	5,25
n-Heksadekan	26,90	3,81	70,13	3,35	140,79	4,39	179,46	4,69	183,05	4,64
n-Heptadekan	13,73	1,94	49,66	2,37	99,89	3,12	127,58	3,33	129,72	3,29
n-Oktadekan	9,82	1,39	26,53	1,27	52,99	1,65	67,31	1,76	68,78	1,74
Fitol	-	-	28,98	1,39	11,54	0,36	-	-	14,90	0,38

### 3.3.5. Modelovanje superkritične ekstrakcije timijana

Reverchon i Sesti Osseo<sup>12</sup> su za modelovanje ekstrakcije bosiljka superkritičnim ugljendioksidom primenili bilansnu jednačinu za diferencijalni element ekstraktora, visine ( $d$  h), za slučaj konstantnih vrednosti protoka i zapremine mase ekstragensa:

$$uV \frac{\partial c}{\partial h} + \varepsilon V \frac{\partial c}{\partial t} + (1 - \varepsilon)V \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = 0 \quad (11)$$

$$(1 - \varepsilon)V \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} = -A_p K (\bar{c} - \bar{c}^*) \quad (12)$$

gde su:

- $\varepsilon$  - poroznost biljnog materijala (1);
- $V$  - zapremina ekstraktora ( $m^3$ );
- $c$  - koncentracija ekstraktivnih materija u fluidnoj fazi ( $kg/m^3$ );
- $\bar{c}$  - koncentracija ekstraktivnih materija u čvrstoj fazi, odnosno biljnom materijalu ( $kg/m^3$ );
- $u$  - brzina fluida, odnosno ekstragensa (m/s);
- $A_p$  - površina za prenos mase između čestice biljnog materijala i fluida ( $m^2$ );
- $K$  - ukupan koeficijent prenosa mase (m/s);
- $\bar{c}^*$  - koncentracija na međufaznoj površini čvrsto-fluid ( $kg/m^3$ );
- $h$  - visina sloja biljnog materijala u ekstraktoru (m);
- $t$  - vreme (s).

U cilju uprošćavanja parcijalnih diferencijalnih jednačina (11) i (12) uvedene su sledeće pretpostavke:

- ekstrakcija je uniformna duž punjenja ekstraktora, te se saglasno tome jednačine (11) i (12) mogu napisati u obliku običnih diferencijalnih jednačina i
- koeficijent spoljašnje difuzije se može zanemariti, pa se ukupni koeficijent prenosa mase ( $K$ ) svodi na koeficijent unutrašnje difuzije. Nadalje, izraz  $A_p K / (1 - \varepsilon) V$  u jednačini (12) je konstantan i može biti zamenjen recipročnim vremenom ( $1/t_i$ ), pri čemu je  $t_i$  vreme unutrašnje difuzije.



Na osnovu navedenih pretpostavki sledi:

$$\left(\frac{W}{\rho}\right) c + \varepsilon V \frac{dc}{dt} + (1 - \varepsilon)V \frac{d\bar{c}}{dt} = 0 \quad (13)$$

$$\frac{d\bar{c}}{dt} = -\frac{1}{t_i}(\bar{c} - \bar{c}^*) \quad (14)$$

gde je:

W - maseni protok fluida, odnosno ekstragensa ( $\text{kg}/\text{m}^2 \text{ s}$ );

$\rho$  - zapreminska masa fluida, odnosno ekstragensa ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ).

Jednačine (13) i (14) mogu biti rešene ako je poznata linearna ravnotežna zavisnost, odnosno ako je  $c = k_p \bar{c}^*$ , pri čemu je  $k_p$  - koeficijent ravnotežne raspodele ekstrakta između čvrste i fluidne faze. Za početne uslove,  $\bar{c} = \bar{c}_0$  i  $t = t_0$  ( $\bar{c}_0$  - polazna koncentracija u biljnom materijalu), uz zanemarivanje akumulacije ekstrakta u fluidnoj fazi u jednačini (13), dobijeno je sledeće rešenje:

$$\bar{c} = \bar{c}_0 \exp \left[ \frac{-k_p t}{\frac{(1 - \varepsilon)V\rho}{W} + k_p t_i} \right] \quad (15)$$

Uvodeći u jednačinu (15) normalizovani ekstrakcioni prinos, definisan kao:

$$Y = \frac{\bar{c}_0 - \bar{c}}{\bar{c}_0} 100 \quad (16)$$

jednačina (15) dobija sledeći oblik:

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp \left( \frac{-k_p t}{\frac{(1 - \varepsilon) V \rho}{W} + k_p t_i} \right) \right] \quad (17)$$

Uz pretpostavku da je  $(1 - \varepsilon) V \rho / W \ll k_p t_i$ , izraz na levoj strani imenioca se može zanemariti, pa je jednačina (17) u uprošćenom obliku:

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp \left( -\frac{t}{t_i} \right) \right] \quad (18)$$

U slučaju kada je unutrašnja difuzija jedini limitirajući faktor, jednačina (18) može biti korišćena kao model jednačina. Međutim, kada difuzija i fazna ravnoteža utiču na brzinu ekstrakcije, oba fenomena se moraju uzeti u obzir, te se stoga kao model koristi jednačina (15).

Vilermaux<sup>56</sup> je prikazao vezu između difuzionog vremena ( $t_i$ ) i koeficijenta unutrašnje difuzije ( $D$ ) za različite geometrije čestica i predložio relaciju:

$$t_i = \mu^* \frac{l^2}{D} \quad (19)$$

gde je:  $\mu^*$  - faktor oblika koji zavisi od geometrije čestice (1)

(za sfernu česticu njegova vrednost iznosi 3/5);

$l$  - karakteristična geometrijska veličina čestica (m):

$l = V_p / A_p$ ,  $V_p$  - zapremina ( $m^3$ ),  $A_p$  - površina čestice ( $m^2$ )

(za sfernu česticu:  $l = r/3$ ,  $r$  - srednji prečnik čestice (m)).

Na osnovu prethodnih jednačina izvršena je modifikacija<sup>57</sup> jednačine (18) koju su predložili Reverchon i Sesti Osseo. Polazeći od jednačine (18), uz pretpostavku da se  $t_i$  može smatrati konstantnom vrednošću, za definisani sistem i uslove ekstrakcije, dobijena je jednačina:

$$Z = a' t = -\frac{t}{t_i} \quad (20)$$

gde je:

$$Z = \ln \left( 1 - \frac{Y}{100} \right) \quad (21)$$

pri čemu je:

$Y$  - normalizovani prinos (%), definisan kao:

$$Y = \frac{Y_{\text{eks}}}{Y_{\text{max}}} 100 \quad (22)$$

$a'$  - konstanta koja u sebi sadrži  $t_i$ ;

$t$  - vreme ekstrakcije (h);

$Y_{\text{eks}}$  - prinos ekstrakta (g/100 g ili mg/100 g);

$Y_{\text{max}}$  - maksimalni prinos ekstrakta (g/100 g ili mg/100 g).

U cilju uprošćavanja jednačine (20), izvršeno je njeno proširenje konstantom  $b$ , tako da se dobija izraz<sup>57</sup>:

$$Z = a t + b \quad (23)$$

Konstante  $a$  i  $b$  u jednačini (23) se evaluiraju na osnovu eksperimentalnih podataka.

Uvođenjem izraza za  $Z$  u jednačinu (18):  $Y = 100 [1 - \exp Z]$ , dobija se konačni izraz:

$$Y = 100 [1 - \exp (a t + b)] \quad (24)$$

U cilju primene jednačine (18) na rezultate (Tabele 13 i P1 u Prilogu), ekstrakcije timijana ispitivanih stepena usitnjenosti, superkritičnim ugljendioksidom (100 bar, 40°C), izračunati su koeficijenti unutrašnje difuzije ( $D$ ; m<sup>2</sup>/s) totalnog ekstrakta i timola primenom jednačine<sup>58</sup> (pretpostavljeni oblik čestice je sfera\* ekvivalentnog prečnika  $d_{\text{sr}}$ ):

$$D = \frac{d_{\text{sr}}^2 \left( \log a_1 - \log \frac{q_i}{q_0} \right)}{0,434 b_1 t} \quad (25)$$

gde je:  $d_{\text{sr}}$  - srednji prečnik čestica (m);

$a_1 = 6/\pi^2$ ;  $b_1 = \pi^2$ ;

$q_0$  - ukupni sadržaj ekstraktivnih materija u biljnom materijalu;

$q_i$  - sadržaj ekstraktivnih materija zaostalih u biljnom materijalu nakon vremena  $t$  ( $q_i = q_0 - q_i'$ ;  $q_i'$  - sadržaj ekstrahovanih materija nakon vremena  $t$ )\*\*;

$t$  - vreme ekstrakcije (s).

---

\* U Prilogu (Poglavlje 5.1.) su date vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije dobijene na osnovu pretpostavke da usitnjeni biljni materijal ima oblik ploče i cilindra.

\*\* Vrednosti za  $q_0$  i  $q_i$  date su u tabeli u Prilogu (Tabela P2).

Izračunate vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije totalnog ekstrakta (TE) i unutrašnje difuzije timola (T), za ispitivane stepene usitnjenosti biljnog materijala, su primenjene za izračunavanje vremena unutrašnje difuzije ( $t_i$ ). Rezultati su dati u tabeli 21. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije (D) i vremena unutrašnje difuzije ( $t_i$ ) za TE i T opadaju sa povećanjem stepena usitnjenosti, odnosno smanjenjem srednjeg prečnika čestica biljnog materijala. Uvrštavanjem dobijenih vrednosti za  $t_i$  u jednačinu (18) dobijaju se jednačine čiji je grafički prikaz dat na slikama 33 i 34.

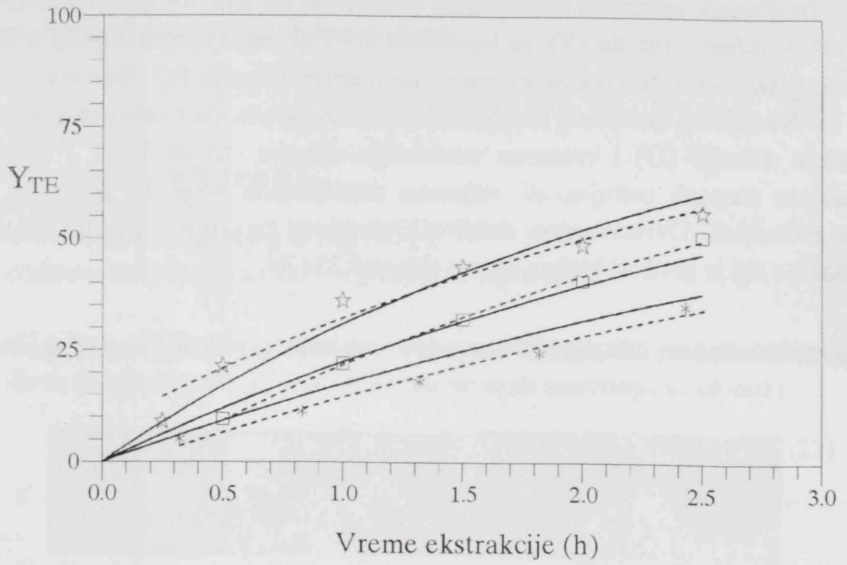
**Tabela 21.** Koeficijent difuzije (D) i vreme unutrašnje difuzije ( $t_i$ ) totalnog ekstrakta i timola za ispitivane stepene usitnjenosti timijana

Stepen usitnjenosti	Totalni ekstrakt		T i m o l	
	D, $10^{12}$ ( $m^2/s$ )	$t_i$ (s)	D $10^{12}$ ( $m^2/s$ )	$t_i$ (s)
$d_0$	9,7689	18.826	8,9430	20.564
$d_1$	2,5255	14.229	4,3749	8.214
$d_2$	0,8363	9.753	2,4862	3.281

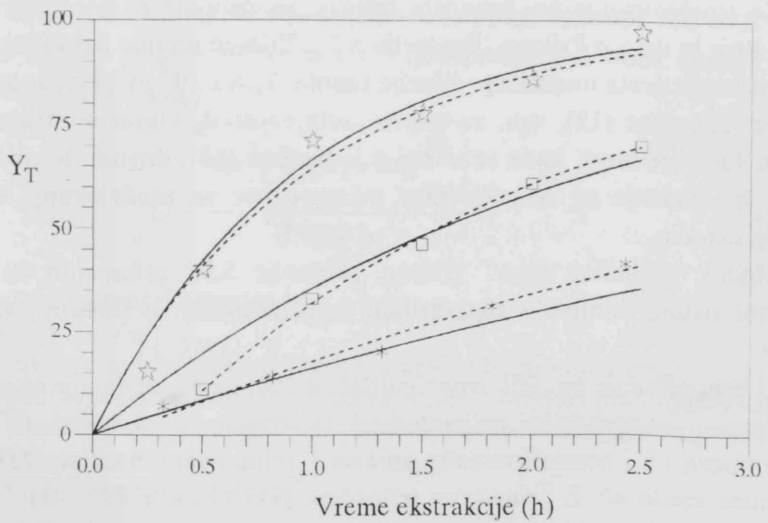
Za izračunavanja koeficijenta difuzije primenjena je i jednačina Sun-a i Chen-a<sup>59</sup>, koja je data u Prilogu (Poglavlje 5.2.). Primenom ove jednačine, dobijena je vrednost koeficijenta unutrašnje difuzije timola ( $2,68 \times 10^{-8} m^2/s$ ) za koju se dobija, na osnovu jednačine (19), npr. za stepen usitnjenosti  $d_2$ , vreme unutrašnje difuzije  $t_i = 0,30$  s. Ova vrednost, kada se uvrsti u jednačinu (18), dovodi do neadekvatnih rezultata, što ukazuje na nemogućnost primene iste za modelovanje ekstrakcije ispitivanog sistema.

Model "jedinične sfere" (Prilog, poglavlje 5.3.) primenjen na ispitivani ekstrakcioni sistem, timijan - superkritični ugljendioksid, se pokazao kao neadekvatan.

U cilju primene modifikovane jednačine (24) za modelovanje ekstrakcionog sistema timijan - superkritični ugljendioksid, izračunate su vrednosti (Y) normalizovanog prinosa TE i normalizovanog prinosa T primenom jednačine (22), a zatim i odgovarajuće vrednosti Z primenom jednačine (21) (Tabele 22 i 23). Na osnovu dobijenih vrednosti izračunati su koeficijenti  $a$  i  $b$  u jednačini (23) (Tabele 24 i 25; slike 35 i 36). Na osnovu dobijenih koeficijenta korelacije ( $r$ ) može se zaključiti da postoji visoka korelacija između veličine Z i vremena ekstrakcije ( $t$ ), kako za TE, tako i za T.



Slika 33. Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija)  
 Stepen usitnjenosti:  $d_0$  (\*);  $d_1$  (□);  $d_3$  (☆)



Slika 34. Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija)  
 Stepen usitnjenosti:  $d_0$  (\*);  $d_1$  (□);  $d_3$  (☆)

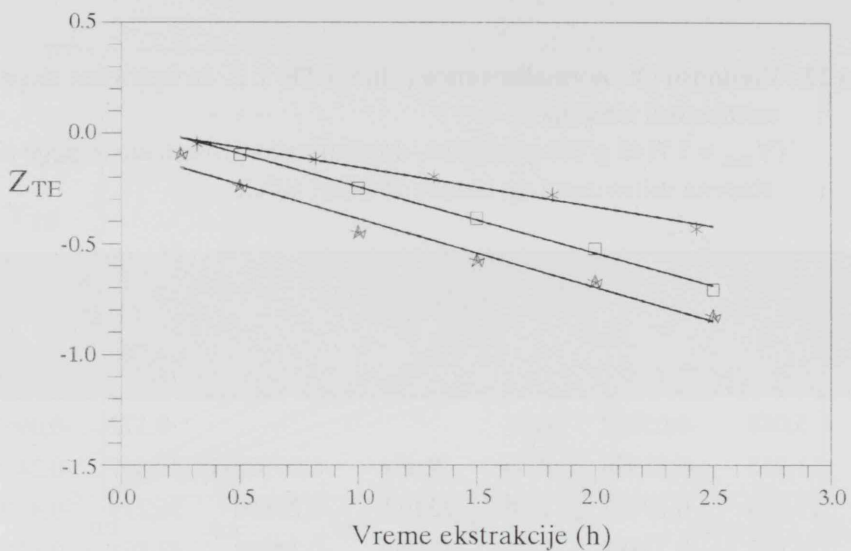


**Tabela 22.** Vrednosti (Y) normalizovanog prinosa TE i Z za ispitivane stepene usitnjenosti timijana  
 ( $Y_{\max} = 3,7145 \text{ g}/100 \text{ g}$  timijana, dobijen nakon 10 sati ekstrakcije timijana stepena usitnjenosti  $d_2$ ; Uslovi: 100 bar;  $40^\circ\text{C}$ )

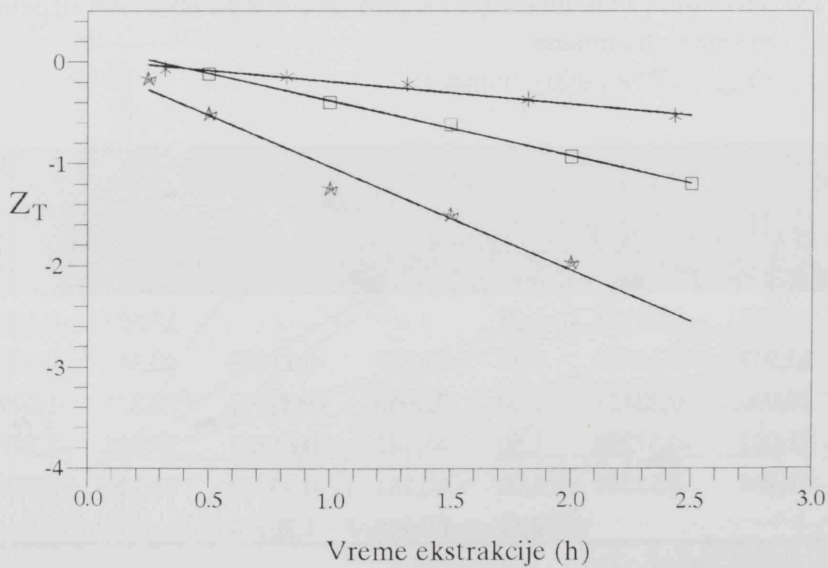
t (h)	$d_0$		t (h)	$d_1$		$d_2$	
	Y (%)	Z		Y (%)	Z	Y (%)	Z
0,32	5,088	-0,05222	0,25	-	-	9,172	-0,09620
0,82	11,253	-0,11938	0,50	9,484	-0,09965	21,567	-0,24292
1,32	17,903	-0,19727	1,00	22,011	-0,24860	36,239	-0,45003
1,82	24,337	-0,27888	1,50	31,942	-0,38482	43,801	-0,57628
2,43	35,106	-0,43241	2,00	40,673	-0,52211	48,873	-0,67086
			2,50	50,677	-0,70678	56,293	-0,82766

**Tabela 23.** Vrednosti (Y) normalizovanog prinosa T i Z za ispitivane stepene usitnjenosti timijana  
 ( $Y_{\max} = 800 \text{ mg}/100 \text{ g}$  timijana)

t (h)	$d_0$		t (h)	$d_1$		$d_2$	
	Y (%)	Z		Y (%)	Z	Y (%)	Z
0,32	6,942	-0,07195	0,25	-	-	15,587	-0,16945
0,82	13,907	-0,14975	0,50	11,017	-0,11673	40,341	-0,51652
1,32	20,090	-0,22427	1,00	32,950	-0,39973	71,321	-1,24901
1,82	31,092	-0,37240	1,50	46,143	-0,61883	77,845	-1,50710
2,43	41,484	-0,53587	2,00	60,761	-0,93549	86,170	-1,97835
			2,50	69,915	-1,20114	-	-



Slika 35. Zavisnost  $Z_{TE}$  od vremena ekstrakcije totalnog ekstrakta  
 Stepen usitnjenosti:  $d_0$  (\*);  $d_1$  (□);  $d_3$  (★)



Slika 36. Zavisnost  $Z_T$  od vremena ekstrakcije timola  
 Stepen usitnjenosti:  $d_0$  (\*);  $d_1$  (□);  $d_3$  (★)

**Tabela 24.** Vrednosti parametara  $a$  i  $b$  u jednačini (23) za totalni ekstrakt

Stepen usitnjenosti	$a$	$b$	$ r $
$d_0$	-0,17721	0,02179	0,9910
$d_1$	-0,29755	0,05394	0,9983
$d_2$	-0,30814	-0,07931	0,9865

**Tabela 25.** Vrednosti parametara  $a$  i  $b$  u jednačini (23) za timol

Stepen usitnjenosti	$a$	$b$	$ r $
$d_0$	-0,22142	0,02629	0,9885
$d_1$	-0,54092	0,15699	0,9989
$d_2$	-1,01245	-0,02101	0,9853

Na kraju, uvođenjem dobijenih izraza za  $Z$  u jednačinu (24), dobija se jednačina za izračunavanje normalizovanog prinosa TE, odnosno normalizovanog prinosa T (Tabela 26). Dobijene jednačine su grafički prikazane isprekidanim linijama na slikama 33 i 34.

**Tabela 26.** Modifikovana jednačina (24) za izračunavanje normalizovanog prinosa totalnog ekstrakta ( $Y_{TE}$ ) i normalizovanog prinosa timola ( $Y_T$ )

Stepen usitnjenosti	Jednačina
$d_0$	$Y_{TE} = 100 [1 - \exp(-0,17721 t + 0,02179)]$
	$Y_T = 100 [1 - \exp(-0,22142 t + 0,02629)]$
$d_1$	$Y_{TE} = 100 [1 - \exp(-0,29755 t + 0,05394)]$
	$Y_T = 100 [1 - \exp(-0,54092 t + 0,15699)]$
$d_2$	$Y_{TE} = 100 [1 - \exp(-0,30814 t - 0,07931)]$
	$Y_T = 100 [1 - \exp(-1,01245 t - 0,02101)]$

Radi upoređivanja jednačina Reverchon-a i Sesti Osseo-a (jednačina (18)) i modifikovane jednačine (24), statističkom obradom podataka izračunata je standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ ). Na osnovu rezultata datih u tabeli 27 se može zaključiti da modifikovana jednačina (24) u osnovi bolje fituje normalizovane prinose ekstrakcije totalnog ekstrakta i ekstrakcije timola za sva tri ispitivana stepena usitnjenosti biljnog materijala u odnosu na jednačinu (18). Ovim se potvrđuje valjanost modifikovane jednačine (24) koja može poslužiti kao korisno oruđe za modelovanje ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom, a i šire<sup>57</sup>.

**Tabela 27.** Standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ )\* ispitivanih modela ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom

Jednačina	$S_{Y,X}$					
	$d_0$		$d_1$		$d_2$	
	TE	T	TE	T	TE	T
Reverchon-Sesti Osseo (18)	3,480	3,578	2,068	4,527	3,645	4,727
Modifikovana (24)	1,165	1,984	0,716	0,997	2,945	4,893

\*

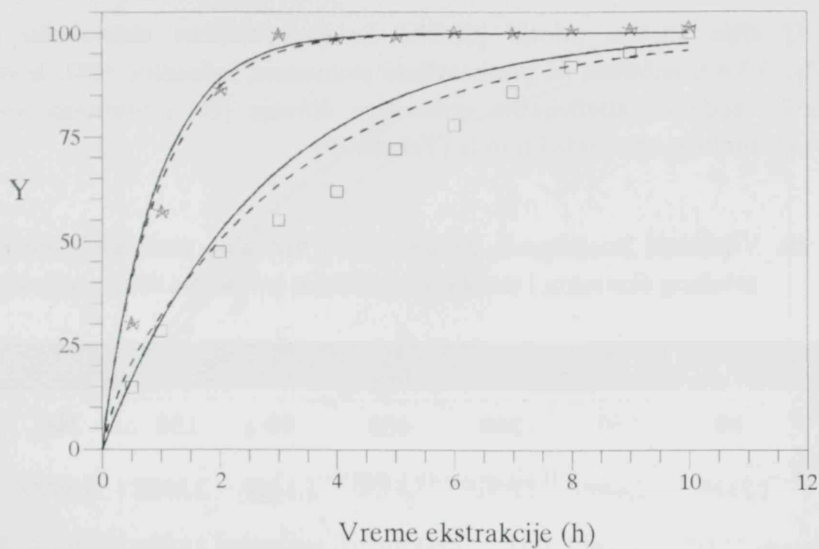
$$S_{Y,X} = \sqrt{\frac{\sum(Y_E - Y_i)^2}{n}} \quad (26)$$

gde je:  $Y_E$  - eksperimentalna vrednost;

$Y_i$  - izračunata vrednost;

$n$  - broj određivanja.

Ispitivanje uticaja vremena na prinos ekstrakcije TE i prinos ekstrakcije T, pri superkritičnoj ekstrakciji timijana, je vršeno tako što su dobijeni prinosi preračunati na normalizovani prinos ( $Y$ ), a za modelovanje sistema su primenjene prethodno izračunate vrednosti vremena unutrašnje difuzije  $t_i$  (Tabela 21) u jednačini (18), odnosno vrednosti parametara  $a$  i  $b$  (Tabele 24 i 25) u jednačini (24) za stepen usitnjenosti timijana  $d_2$ . Dobijeni rezultati su prikazani na slici 37, a vrednosti standardne greške regresije ( $S_{Y,X}$ ) za primenjene jednačine su date u tabeli 28.



Slika 37. Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovane prinose (Y): totalnog ekstrakta (□ - eksperimentalne vrednosti) i timola (★-eksperimentalne vrednosti)

Tabela 28. Standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ ) model jednačina pri ispitivanju uticaja vremena na superkritičnu ekstrakciju totalnog ekstrakta (TE) i timola (T)

Jednačina	$S_{Y,X}$	
	TE	T
Reverchon-Sesti Osseo (18)	8,189	4,877
Modifikovana (24)	6,061	4,210

Na osnovu dobijenih vrednosti standardne greške regresije (Tabela 28) može se zaključiti da obe jednačine dobro fituju normalizovani prinos T, dobijen ekstrakcijom timijana superkritičnim ugljendioksidom, pri ispitivanim uslovima. Međutim, modifikovana jednačina (24) bolje fituje normalizovani prinos TE u odnosu na jednačinu (18).



U cilju analize uticaja pritiska na superkritičnu ekstrakciju timijana (Poglavlje 3.3.4.), rezultati su predstavljeni primenom jednačine (18), korišćenjem izračunatih vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije ( $D$ ) i vremena unutrašnje difuzije ( $t_i$ ) totalnog ekstrakta i timola (Tabela 29).

**Tabela 29.** Vrednosti koeficijenta difuzije ( $D$ ) i vremena unutrašnje difuzije ( $t_i$ ) totalnog ekstrakta i timola pri različitim pritiscima ekstrakcije timijana

p (bar)	Totalni ekstrakt				Timol			
	80	150	200	400	80	150	200	400
$D \cdot 10^{12}$ ( $m^2/s$ )	1,9334	2,4499	2,8565	3,4550	1,1444	3,0312	3,8929	3,9684
$t_i$ (s)	4.219	3.329	2.855	2.361	7.127	2.691	2.095	2.055

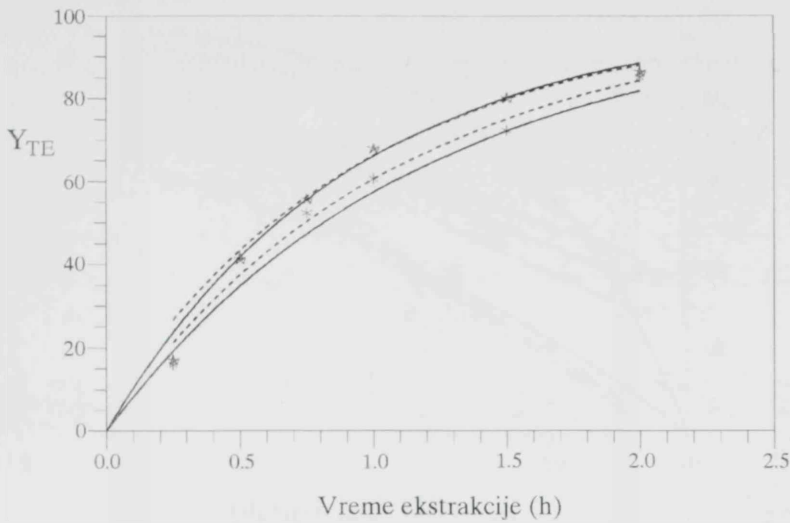
Na osnovu rezultata datih u tabeli 29, može se zaključiti da sa porastom radnog pritiska od 80 do 400 bar, raste koeficijent unutrašnje difuzije za totalni ekstrakt (od  $1,93 \times 10^{-12}$  do  $3,45 \times 10^{-12} m^2/s$ ) i timol (od  $1,14 \times 10^{-12}$  do  $3,97 \times 10^{-12} m^2/s$ ). Nasuprot tome, vreme unutrašnje difuzije se smanjuje.

Dobijene su jednačine za normalizovani prinos totalnog ekstrakta i timola, na osnovu vrednosti vremena unutrašnje difuzije, koje su grafički prikazane na slikama 38 i 39, odnosno 40 i 41.

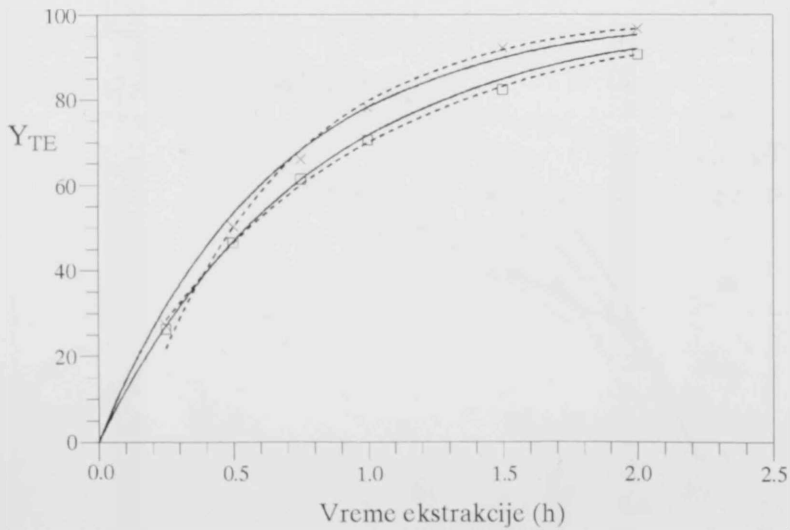
Radi primene modifikovane jednačine (24) (Slike 38-41) za modelovanje sistema ekstrakcije timijana superkritičnim ugljendioksidom, normalizovani prinosi ( $Y$ ) totalnog ekstrakta i timola, kao i veličina  $Z$ , su razmatrani kao u prethodnim slučajevima. Dobijene vrednosti su date u tabeli 30, a zavisnosti su prikazane na slikama 42 i 43.

**Tabela 30.** Vrednosti parametri  $a$  i  $b$  u jednačini (23) za totalni ekstrakt i timol

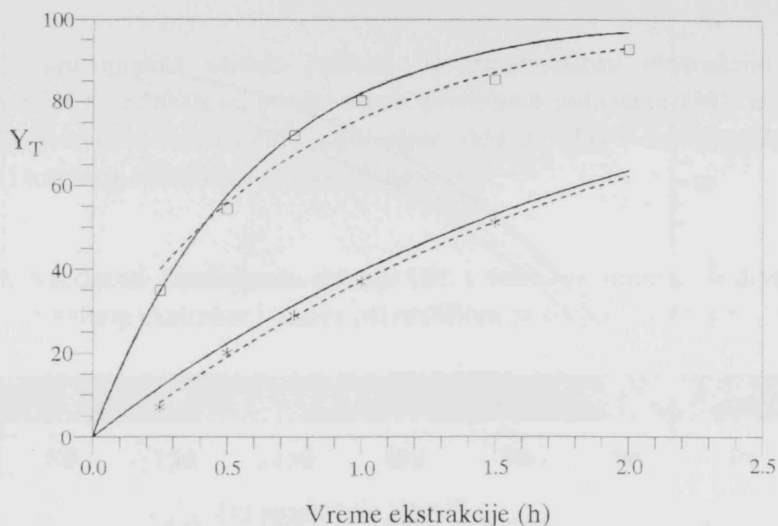
Pritisak (bar)	Totalni ekstrakt				Timol			
	80	150	200	400	80	150	200	400
$a$	-0,9208	-1,0336	-1,1566	-1,7981	-0,5073	-1,6150	-1,2259	-1,1646
$b$	-0,0086	-0,0517	-0,0448	0,2044	0,0419	0,2641	-0,2046	-0,3494
$ r $	0,9928	0,9944	0,9993	0,9986	0,9993	0,9991	0,9840	0,9866



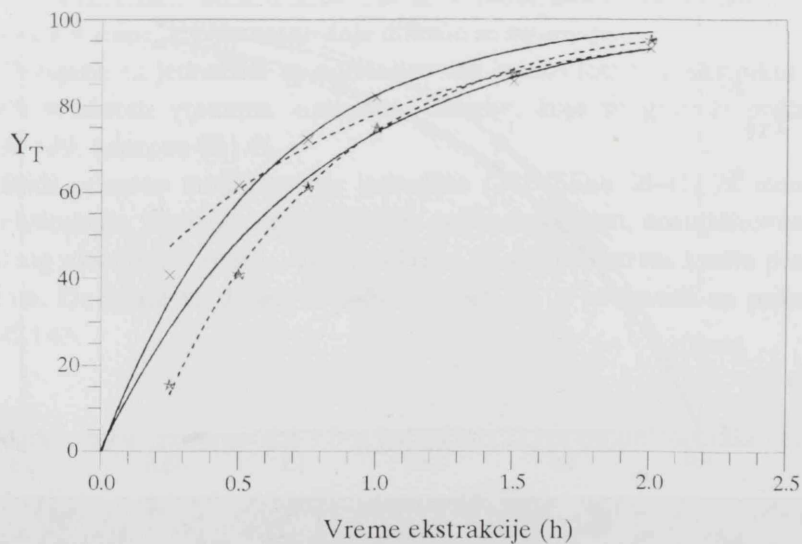
**Slika 38.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos ( $Y$ ) totalnog ekstrakta (\* -  $p = 80$  bar, ★ -  $p = 150$  bar; eksperimentalne vrednosti)



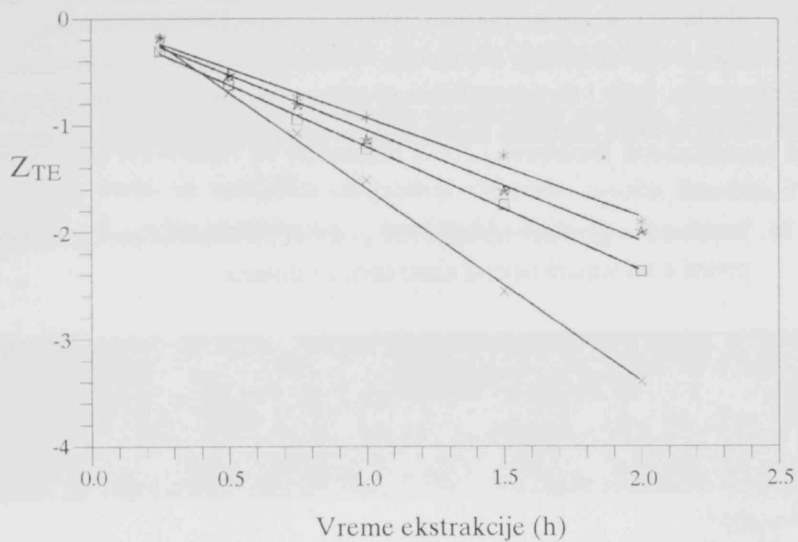
**Slika 39.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos ( $Y$ ) totalnog ekstrakta (□ -  $p = 200$  bar, × -  $p = 400$  bar; eksperimentalne vrednosti)



**Slika 40.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos ( $Y$ ) timola  
 (\* -  $p = 80$  bar,  $\square$  -  $p = 200$  bar; eksperimentalne vrednosti)



**Slika 41.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos ( $Y$ ) timola  
 (\* -  $p = 150$  bar,  $\times$  -  $p = 400$  bar; eksperimentalne vrednosti)



Slika 42. Zavisnost  $Z_{TE}$  od vremena ekstrakcije timijana  
 Eksperimentalne vrednosti:  
 \* - 80 bar; ★ - 150 bar; □ - 200 bar; × - 400 bar



Slika 43. Zavisnost  $Z_T$  od vremena ekstrakcije timijana  
 Eksperimentalne vrednosti:  
 \* - 80 bar; ★ - 150 bar; □ - 200 bar; × - 400 bar

Upoređivanjem jednačina (18) i (24), na osnovu vrednosti standardne greške regresije (Tabela 31), može se zaključiti da se primenom modifikovane jednačine u proseku postiže bolje fitovanje dobijenih vrednosti, kako za normalizovani prinos totalnog ekstrakta, tako i za normalizovani prinos timola, što preporučuje modifikovanu jednačinu (24) kao izuzetno atraktivnu za primenu na ispitivani sistem.

**Tabela 31.** Standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ ) model jednačina pri ispitivanju uticaja pritiska na superkritičnu ekstrakciju timijana

Pritisak (bar)	Standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ )									
	Totalni ekstrakt					Timol				
	80	100	150	200	400	80	100	150	200	400
<u>Jednačina</u>										
(18)	4,307	3,645	2,955	1,274	2,671	2,998	4,727	6,413	4,223	4,160
(24)	3,241	2,945	4,152	1,095	2,488	0,676	4,893	1,156	5,016	3,329

### 3.3.5.1. Rastvorljivost ekstrakta i timola u superkritičnom ugljendioksidu

Rastvorljivost ( $S$ ) totalnog ekstrakta i timola u zavisnosti od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ ; g  $CO_2$ /g timijana) može se izraziti jednačinom:

$$\log S = a_2 m_{rel} + b_2 \quad (27)$$

u kojoj su  $a_2$  i  $b_2$  koeficijenti.

Polazeći od jednačine (27), rezultati dobijeni ispitivanjem uticaja vremena na superkritičnu ekstrakciju timijana (Poglavlje 3.3.3., tabela 16), predstavljeni su preko rastvorljivosti totalnog ekstrakta ( $S_{TE}$ ; g/dm<sup>3</sup>  $CO_2$ ) i timola ( $S_T$ ; mg/dm<sup>3</sup>  $CO_2$ ) u obliku jednačina:

$$\log S_{TE} = -0,01304 m_{rel} - 2,26654 \quad (28)$$

$$r = -0,9699$$

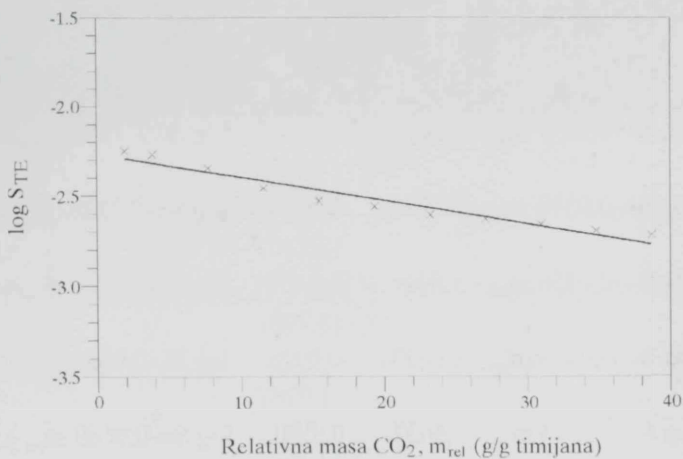
odnosno



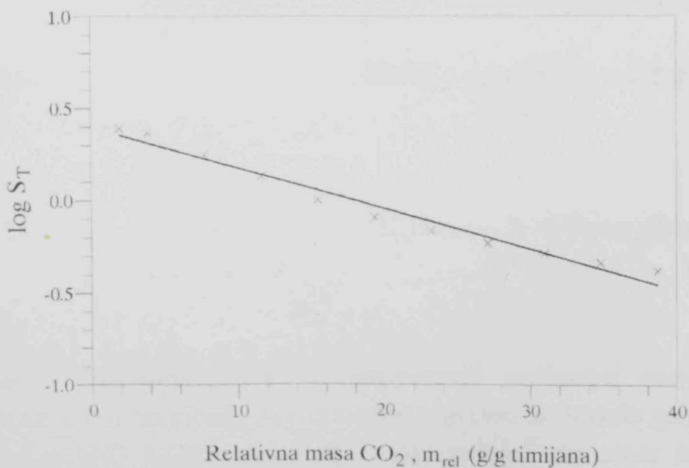
$$\log S_T = -0,02208 m_{rel} + 0,39881 \quad (29)$$

$$r = -0,9862$$

Na osnovu veoma malih vrednosti standardnih grešaka regresije ( $3,92 \times 10^{-2}$  za jednačinu (28) i  $4,43 \times 10^{-2}$  za jednačinu (29)) i vrednosti koeficijenata korelacije bliskih jedinici, može se zaključiti da postoji relativno visoka linearna korelacija između  $\log S$  i  $m_{rel}$ , a što je evidentno i sa slika 44 i 45.



Slika 44. Zavisnost  $\log S_{TE}$  od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ )



Slika 45. Zavisnost  $\log S_T$  od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ )

Rezultati uticaja pritiska ugljendioksida na ekstrakciju timijana (Poglavlje 3.3.4.), diskutovani preko rastvorljivosti totalnog ekstrakta i timola, dati su u tabeli 32.

**Tabela 32.** Jednačine zavisnosti rastvorljivosti totalnog ekstrakta i timola (S) od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ ) za različite pritiske ugljendioksida

Pritisak (bar)	Totalni ekstrakt	r  ( $S_{Y,X} \times 10^2$ )	Timol	r  ( $S_{Y,X} \times 10^2$ )
80	$\log S = -0,0337 m_{rel} - 2,5302$	0,9097 (4,535)	$\log S = 0,00833 m_{rel} - 0,5430$	0,9613 (4,437)
100	$\log S = -0,0310 m_{rel} - 2,0721$	0,9457 (3,286)	$\log S = -0,0328 m_{rel} + 0,5252$	0,8906 (5,163)
150	$\log S = -0,0356 m_{rel} - 1,8443$	0,9401 (3,798)	$\log S = -0,0316 m_{rel} + 0,5682$	0,8454 (5,881)
200	$\log S = -0,0498 m_{rel} - 1,6523$	0,9928 (1,776)	$\log S = -0,0583 m_{rel} + 0,7750$	0,9914 (2,263)
400	$\log S = -0,0514 m_{rel} - 1,6037$	0,9991 (0,657)	$\log S = -0,0689 m_{rel} + 0,8187$	0,9785 (4,282)

Na slici 46 je predstavljena zavisnost vrednosti  $\log S_{TE}$ , odnosno  $\log S_T$ , od zapreminske mase ugljendioksida ( $d_{CO_2}$ ), a izražena je kao:

$$\log S_{TE} = 0,8081 d_{CO_2} - 2,8483 \quad (30)$$

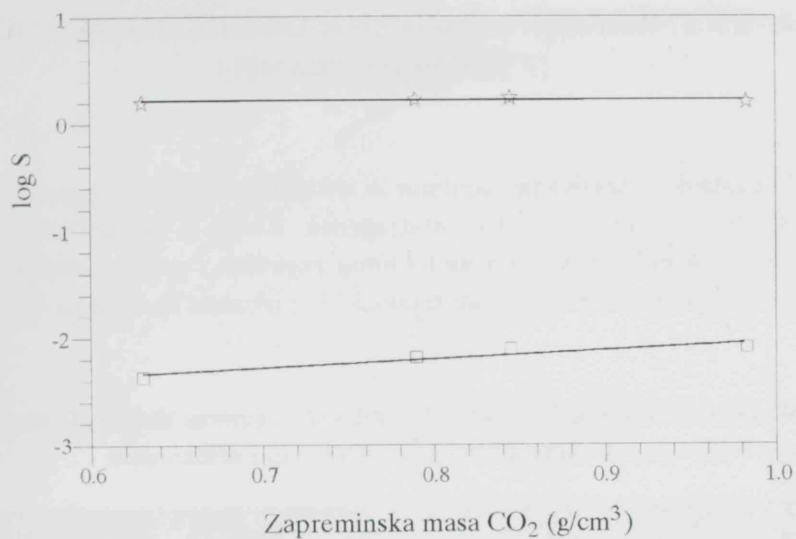
$$r = 0,9289$$

i

$$\log S_T = 0,0238 d_{CO_2} + 0,2021 \quad (31)$$

$$r = 0,9846$$

Dobijene jednačine, diskutovane u okviru ispitivanja zavisnosti rastvorljivosti totalnog ekstrakta, odnosno rastvorljivosti timola od relativne mase, pritiska i zapreminske mase ekstragensa, kao i jednačine (18) i (24) se mogu uspešno primeniti za modelovanje ekstrakcije timijana ugljendioksidom u superkritičnom stanju.



Slika 46. Zavisnost  $\log S_{TE}$  (□) i  $\log S_T$  (☆) od zapreminske mase  $CO_2$

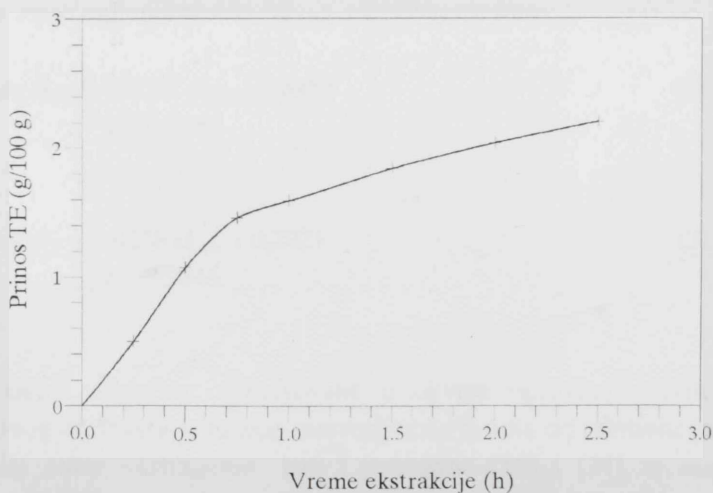
### 3.4. EKSTRAKCIJA TIMIJANA UGLJENDIOKSIDOM U TEČNOM STANJU

U nastavku istraživanja, ispitana je ekstrakcija timijana ugljendioksidom u tečnom stanju (65 bar; 23°C) kao ekstragensa. Kao i u prethodnom poglavlju, ekstrakcija je praćenja preko prinosa totalnog ekstrakta i prinosa timola. Rezultati ispitivanja kinetike ekstrakcije su dati u tabeli 33 i prikazani na slikama 47 i 48.

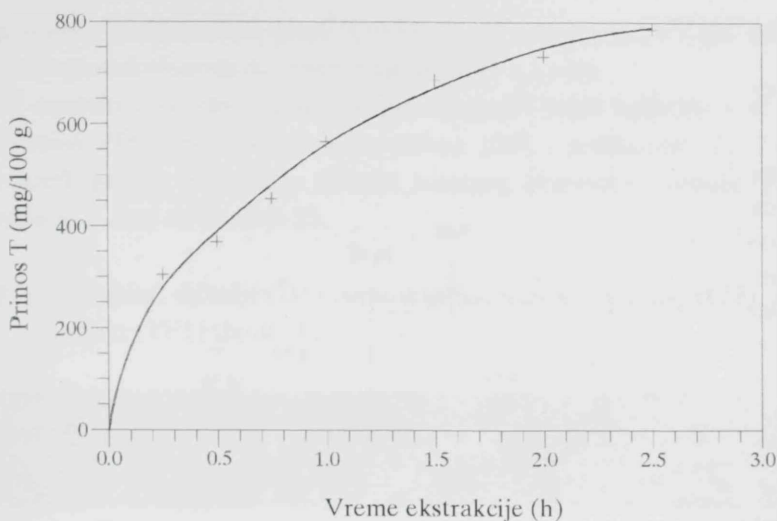
**Tabela 33.** Prinosi totalnog ekstrakta (TE; g/100 g) i prinosi timola (T; mg/100 g) dobijeni ekstrakcijom timijana tečnim ugljendioksidom

Vreme (h)	TE	T	T u TE (%)	$S_{TE} \times 10^2$	$\log S_{TE}$	$S_T$	$\log S_T$
0,25	0,4996	304,755	60,99	1,0225	-1,9903	6,2370	0,7950
0,50	1,0728	368,970	34,39	1,0978	-1,9595	3,7756	0,5770
0,75	1,4552	453,702	31,18	0,9927	-2,0032	3,0951	0,4907
1,00	1,5868	566,405	35,70	0,8119	-2,0905	2,8979	0,4621
1,50	1,8361	686,761	37,40	0,6263	-2,2032	2,3425	0,3697
2,00	2,0343	732,872	36,02	0,5204	-2,2836	1,8748	0,2730
2,50	2,1995	786,396	35,75	0,4501	-2,3466	1,6094	0,2067

Napomena: S - rastvorljivost



**Slika 47.** Kinetika ekstrakcije timijana (totalni ekstrakt) tečnim ugljendioksidom

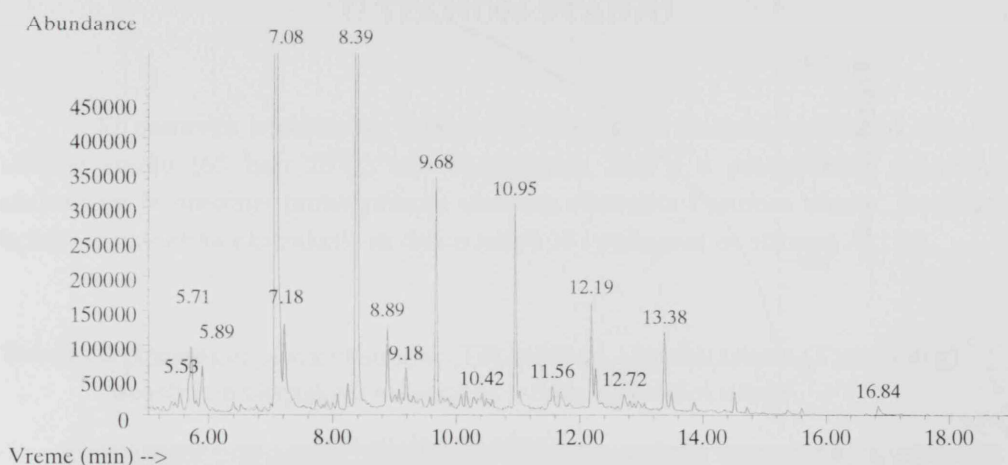


**Slika 48.** Kinetika ekstrakcije timijana (timol) tečnim ugljendioksidom

Na osnovu rezultata datih u tabeli 33 se vidi da udeo timola u totalnom ekstraktu tokom ekstrakcije opada od 60,99% do 35,75%. S obzirom na ranije utvrđeni sadržaj timola u timijanu (800 mg/100 g) može se zaključiti, na osnovu dobijenog sadržaja timola tečnim ugljendioksidom (786 mg/100 g), da je postignut maksimum njegove ekstrakcije za vreme od 2,5 sata. Takođe je dokazano da se destilacijom pomoću vodene pare već ekstrahovanog biljnog materijala, ne izdvaja etarsko ulje, što ukazuje da se pri ispitivanim uslovima ekstrakcije tečnim ugljendioksidom postiže kvantitativnost njegove ekstrakcije. Nadalje, za razliku od ekstrakata dobijenih superkričnim ugljendioksidom koji su na sobnoj temperaturi čvrstog agregatnog stanja, ekstrakt dobijen primenom tečnog ugljendioksida je tečan.

GC-MS analizom totalnog ekstrakta, dobijeni su rezultati koji su prikazani na slici 49 i dati u tabeli 34. Dobijeni ekstrakt timijana je u pogledu kvalitativnog i kvantitativnog sastava sličan totalnom ekstraktu (Tabela 22) dobijenom primenom ugljendioksida zapreminske mase  $0,6302 \text{ g/cm}^3$  (100 bar;  $40^\circ\text{C}$ ) i etarskom ulju timijana dobijenom destilacijom pomoću vodene pare (Tabela 5). Ipak se može reći, da se ekstrakt dobijen tečnim ugljendioksidom odlikuje nešto povećanim sadržajem n-tetradekana,  $\beta$ -kariofilena, n-pentadekana, n-heksadekana i n-oktadekana, i smanjenim sadržajem fitola. Upravo ovaj povećani sadržaj, pre svega parafina, ima za posledicu da je ekstrakt dobijen ugljendioksidom u superkričnom stanju sličniji etarskom ulju. Opšti je zaključak, da je za dobijanje ekstrakta timijana, koji je po kvalitativnom i kvantitativnom sastavu najbliži etarskom ulju dobijenom oficinalnim postupkom destilacije pomoću vodene pare, potrebno koristiti ugljendio-





**Slika 49.** GC-hromatogram ekstrakta timijana (totalni ekstrakt) dobijenog primenom tečnog ugljendioksida

**Tabela 34.** Rezultati analize totalnog ekstrakta timijana dobijenog primenom tečnog ugljendioksida

Komponenta	Sadržaj u odnosu na	
	drogu (mg/100g)	TE (%)
Kamfor	12,71	0,58
L-Mentol	53,78	2,44
n-Dodekan	37,04	1,68
Timol	786,40	35,75
n-Tetradekan	703,99	32,00
$\beta$ -Kariofilen	44,13	2,01
2-Metildekan	12,73	0,58
n-Pentadekan	104,35	4,74
n-Heksadekan	95,89	4,36
n-Heptadekan	70,34	3,20
n-Oktadekan	39,61	1,80
Fitol	9,51	0,43

ksid zapreminske mase  $0,6302 \text{ g/cm}^3$  (100 bar;  $40^\circ\text{C}$ ) protoka  $97,725 \text{ dm}^3/\text{h}$ , biljni materijal stepena usitnjenosti  $d_2$  i vreme ekstrakcije 2,5 sata.

Za modelovanje ekstrakcije sistema timijan - tečni ugljendioksid su primenjene jednačina (18), modifikovana jednačina (24) i jednačina (27). Izračunate vrednosti koeficijentata unutrašnje difuzije totalnog ekstrakta i timola, kao i parametara jednačina, date su u tabeli 35.

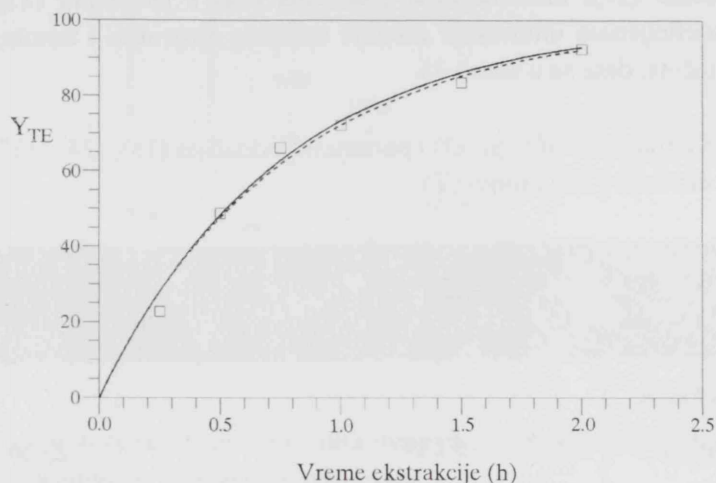
**Tabela 35.** Koeficijenti difuzije (D) i parametri jednačina (18), (24) i (27) za totalni ekstrakt (TE) i timol (T)

Jednačina (parametar)			r		Standardna greška regresije ( $S_{Y,X}$ )	
	TE	T	TE	T	TE	T
<u>Jednačina (18)</u>						
$D \cdot 10^{12} \text{ (m}^2/\text{s)}$	2,9925	3,1383			2,866	5,100
$t_i \text{ (s)}$	2.726	2.599				
<u>Jednačina (24)</u>						
a	-1,2662	-1,3272	0,9949	0,9929	2,955	4,804
b	-0,01334	-0,00778				
<u>Jednačina (27)</u>						
$a_2$	-0,04742	-0,05863	0,9808	0,9446	$2,780 \times 10^{-2}$	$5,997 \times 10^{-2}$
$b_2$	-1,9024	0,7290				

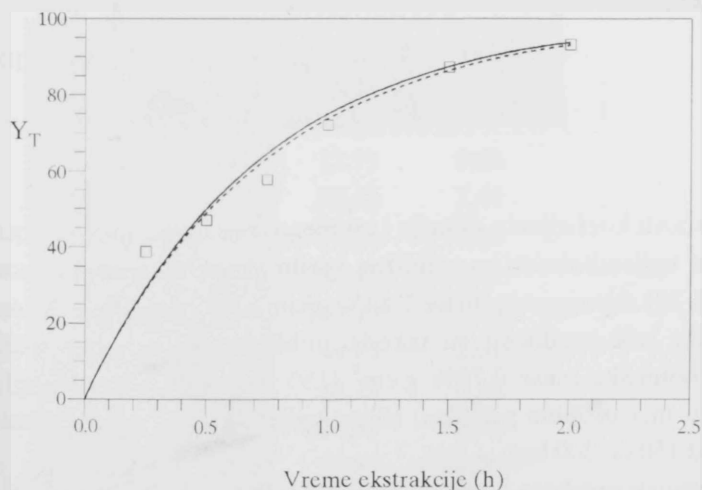
Vrednosti koeficijenta difuzije i vremena unutrašnje difuzije totalnog ekstrakta u tečnom ugljendioksidu su približne vrednostima u superkričnom ugljendioksidu (Tabela 29) zapreminske mase  $0,8450 \text{ g/cm}^3$  (200 bar;  $40^\circ\text{C}$ ). Kada je u pitanju difuzija timola, ove vrednosti su takođe približne, ali u superkričnom ugljendioksidu zapreminske mase  $0,7896 \text{ g/cm}^3$  (150 bar;  $40^\circ\text{C}$ ). Znači, ugljendioksid u tečnom stanju ima osobine približno slične ugljendioksidu u superkričnom stanju pri pritisku od 150 do 200 bar.

Na osnovu rezultata datih u tabeli 35 i prikazanih na slikama 50 i 51 se vidi da jednačina (18) nešto bolje fituje eksperimentalne rezultate normalizovanog prinosa totalnog ekstrakta u odnosu na jednačinu (24). Sa druge strane, kada je u pitanju normalizovani prinos timola, primenom modifikovane jednačine (24) se postiže bolje fitovanje rezultata u odnosu na jednačinu (18).

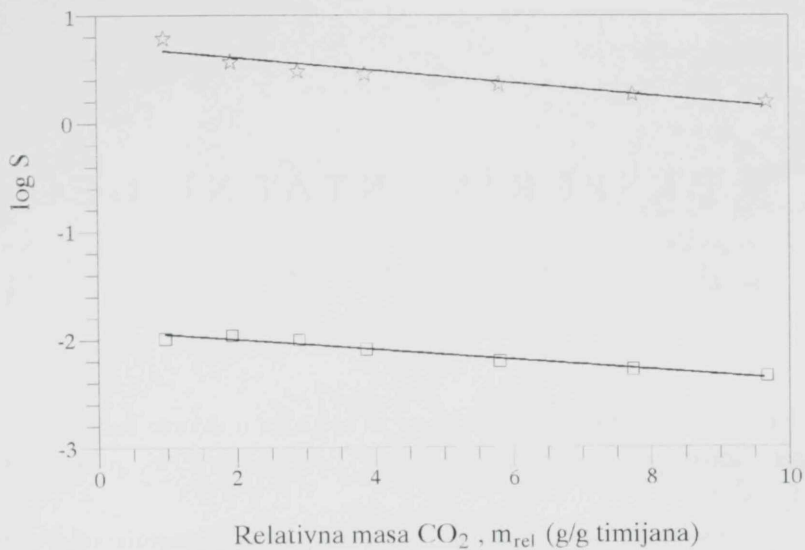
Zavisnost rastvorljivosti totalnog ekstrakta i timola od relativne mase ugljendioksida predstavljena jednačinom (27), prikazana je na slici 52.



**Slika 50.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos (Y) totalnog ekstrakta dobijen primenom tečnog ugljendioksida (□ - Eksperimentalne vrednosti)



**Slika 51.** Grafički prikaz jednačine Reverchon-a i Sesti Osseo-a (18) (puna linija) i modifikovane jednačine (24) (isprekidana linija) za normalizovani prinos (Y) timola dobijen primenom tečnog ugljendioksida (□ - Eksperimentalne vrednosti)



Slika 52. Zavisnost vrednosti log S od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ ) pri ekstrakciji timijana tečnim ekstragensom (□ - log S<sub>TE</sub>; ☆ - log S<sub>T</sub>)

## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

Timijan (*Thymus vulgaris* L.) koji je korišćen u ovome radu je poreklom iz okoline sela Sanad kod Čoke (Severni Banat) proizveden 1996. godine (proizvođač g. Lazar Oluški).

U radu su korišćeni kao standardi timol (Kemika, Zagreb) i karvakrol (Carl Roth KG, Karlsruhe, Germany). Kao rastvarači za HPLC određivanja su korišćeni acetonitril za hromatografiju (Merck, Darmstadt, Germany) i bidestilovana voda. Komercijalni ugljendioksid (Tehno-gas, Novi Sad) je korišćen za ekstrakciju. Sve ostale hemikalije su bile stepena čistoće p.a. ukoliko nije drugačije naglašeno.

Mlevenje biljnog materijala je izvršeno u električnom mlinu za kafu, a za ispitivanje granulometrijskog sastava usitnjenog biljnog materijala korišćen je set sita (Erweka, Germany). Oblik čestica biljnog materijala je posmatran primenom mikroskopa Carl Zeiss "Laboval-2" (Germany).

UV-spektri su snimljeni na aparatu 8452A Diode Array Spectrophotometer (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA). Za određivanje zapreminske mase etarskog ulja je korišćen aparat Calculating Digital Density Meter, Tip PAAR DMA 46 (Gratz, Austria). Ekstrakcija ugljendioksidom je vršena na uređaju za ekstrakciju pod visokim pritiskom (HPEP-High Pressure Extraction Plant, NOVA-Swiss, Effretikon, Switzerland), koji je modifikavan u laboratoriji za Hemiju i tehnologiju farmaceutskih proizvoda (Katedra za farmaceutsko inženjerstvo, Tehnološki fakultet, Novi Sad). Naime, postojeći separator je zamenjen novim, sa dodacima kojim je omogućeno jednostavnije merenje izdvojenog ekstrakta, tj. ekstrakt rastvoren u ugljendioksidu direktno se uvodi u staklenu kivetu.

Tečni hromatograf korišćen u ispitivanjima bio je Waters 600E Multysolvent Delivery System sa detektorom Waters 490 Programmable Multiwavelength Detector (Millipore Corporation, Waters Chromatography Division, Milford, MA, USA). Obrada rezultata je vršena pomoću mikroprocesora HP 3396 Series Integrator (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA). Za analizu etarskih ulja i estrakata korišćen je gasni hromatograf GCD HP G 1800 A (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA).



Filtriranje uzoraka i rastvarača pokretne faze za HPLC analizu je vršeno primenom 0,22  $\mu\text{m}$  Durapore filtera, odnosno 0,45  $\mu\text{m}$  Millex<sup>R</sup>-HV filtera (Waters, Millipore Corporation, Bedford, MA, USA). Degaziranje rastvarača pokretne faze je vršeno helijumom (10 minuta pri protoku od 100  $\text{cm}^3/\text{min}$  po rezervoaru pre početka rada, odnosno 15  $\text{cm}^3/\text{min}$  u toku analize). Ultrazvučno kupatilo (Branson Ultrasonic Cleaner, 50/60 Hz, Shelton, CONN., USA) je korišćeno za potpuno rastvaranje uzoraka. Injektovanje uzoraka je vršeno mikrošpicem od 10  $\mu\text{l}$  (Hamilton Microliter<sup>TM</sup> Syringes, Reno, Nevada, USA).

## 4.1. DOBIJANJE ETARSKOG ULJA I EKSTRAKATA TIMIJANA

### 4.1.1. Određivanje sadržaja etarskog ulja timijana

Izolacija i određivanje sadržaja etarskog ulja je vršena prema postupku koji propisuje jugoslovenska farmakopeja<sup>35</sup>: Droga (20,00 g) se prenese u balon zapremine 1000  $\text{cm}^3$ , doda voda (400  $\text{cm}^3$ ), u graduisanu cev aparature za određivanje sadržaja etarskog ulja<sup>41</sup> se unese voda, sadržaj balona zagreje do ključanja i destilacija vrši (brzina oko 2  $\text{cm}^3/\text{min}$ ) 2 sata. Nakon hlađenja (30 min) očita se zapremina izdvojenog etarskog ulja i sadržaj izračuna kao % (V/m;  $\text{cm}^3/100$  g timijana).

### 4.1.2. Ekstrakcija timijana metilenhloridom

Ekstrakcija droge organskim rastvaračem je vršena postupkom ekstrakcije sa povremenim ispuštanjem ekstrakta (ekstrakcija po Soxhlet-u): Droga (20,00 g) se unese u čauru (R=4 cm; L=14 cm), napravljenu od filter-papira i postavi u aparaturu za ekstrakciju. Zatim se u balon zapremine 500  $\text{cm}^3$  unese metilenhlorid (250  $\text{cm}^3$ ) i vrši se ekstrakcija (12 izmena rastvarača - sifoniranja) 6 sati. Dobijeni ekstrakt se podvrgava uparavanju (30°C) radi odstranjivanja rastvarača i suši u vakuum sušnici (50°C; 24 sata). Na osnovu mase ekstrakta izračuna se njegov prinos (%; g/100 g droge).

### 4.1.3. Ekstrakcija superkritičnim ugljendioksidom

Mlevenjem je pripremljen biljni materijal (droga) i ispitivana je ekstrakcija tri stepena usitnjenosti timijana, i to:

- $d_0$  (srednji prečnik čestica 1,66 mm);
- $d_1$  (srednji prečnik čestica 0,73 mm) i
- $d_2$  (srednji prečnik čestica 0,35 mm).

Droga ispitivanog stepena usitnjenosti (50,00 g) se unese u ekstraktor koji se potom zatvori i kroz drogu najpre propušta (5 min) ugljendioksid u gasovitom stanju. Zatim se ekstrakcija vrši na zadatom pritisku, temperaturi i protoku ugljendioksida (maksimalno odstupanje parametara u toku rada  $\pm 2,5\%$ ) određeno vreme. Uslovi separacije:  $p = 15 \pm 1$  bar;  $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Izlazna temperatura ugljendioksida pri kojoj je kalibrisan merač protoka je iznosila  $20^\circ\text{C}$ . Ekstrakcija se prekida zatvaranjem veze između ekstraktora i separatora i ispuštanjem ugljendioksida iz separatora. Izdvojena masa ekstrakta (u kivetu) se potom meri i izračunava prinos ekstrakcije. Radi ispitivanja kinetike ekstrakcije, ekstrakcija se nakratko prekida, radi merjenja izdvojenog ekstrakta, ponovo vrši do sledeće kinetičke tačke, kada se postupak merjenja i ekstrakcije nastavlja.

Sadržaj zaostalog etarskog ulja u drogi nakon superkritične ekstrakcije se određuje prema postupku jugoslovenske farmakopeje<sup>35</sup>.

## 4.2. ANALIZA ETARSKOG ULJA I EKSTRAKATA TIMIJANA

### 4.2.1. Analiza fenola timijana primenom HPLC

*Razdvajanje smeše standardnih uzoraka fenola.* Standardni rastvor sadrži: timol ( $1,24 \text{ mg/cm}^3$ ) i karvakrol ( $0,44 \text{ mg/cm}^3$ ) u etanolu koncentracije 95%. Od ovog rastvora se pripremaju rastvori koji sadrže određene mase standardnih fenola u  $10 \mu\text{l}$  rastvora (Slike 18 i 19), koji se injektuje u tečni hromatograf.

*Određivanje fenola.* Za određivanje su pripremljeni rastvori etarskog ulja ( $1,5 \text{ mg/cm}^3$ ) i ekstrakata ( $4 \text{ mg/cm}^3$ ) timijana u etanolu koncentracije 95%, od kojih se injektuje  $10 \mu\text{l}$ .

Uslovi razdvajanja i određivanja fenola u ispitivanim uzorcima etarskog ulja i ekstrakata, primenom HPLC metode, su detaljno opisani u poglavlju 3.1.1.

## 4.2.2. Analiza primenom GC-MS

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu etarskog ulja i ekstrakata timijana korišćeni su rastvori ispitivanih uzoraka u n-pentanu koncentracije 40-50  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ . Do momenta analize uzorci su čuvani na temperaturi od 4°C.

Uslovi hromatografske analize:

Kolona: HP-5 MS (30,0 m x 0,25 mm)

Temperaturni program: - Injektor 250°C

- Detektor 280°C

- Početna 50°C

- Porast 20°C/min do 130°C (1 min)

- Porast 9°C/min do 280°C (8,33 min)

Ukupno vreme analize: 30 min

Injektovana zapremina: 5  $\mu\text{l}$

Protok helijuma: 0,8  $\text{cm}^3/\text{min}$

Detektor: 45-425 D

Baza podataka: Wiley

## 5. PRILOG

### 5.1. Proračun koeficijenta difuzije (D) za oblik ploče i cilindra

Polazeći od jednačine (25) izračunati su koeficijenti difuzije totalnog ekstrakta (TE) i timola (T) za pretpostavljeni oblik ploče i cilindra biljnog materijala. U cilju upoređivanja dobijenih vrednosti odabran je stepen usitnjenosti timijana  $d_2$  (Tabela 21).

Vrednosti konstanti<sup>58</sup> u jednačini (25) za ploču:  $a_1 = 8/\pi^2$  i  $b_1 = \pi^2$ . Izračunate su vrednosti koeficijenta difuzije (D) za 0,5; 1,5 i 2,0 sata ekstrakcije, pri čemu je srednja vrednost  $1,1644 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>/s za totalni ekstrakt, odnosno  $6,0069 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>/s za timol.

Vrednosti konstanti u jednačini (25) za cilindar:  $a_1 = 0,6945$  i  $b_1 = 5,76$ . Izračunate su vrednosti koeficijenta difuzije (D) za 1,0; 1,5 i 2,0 sata ekstrakcije, pri čemu je srednja vrednost  $1,0580 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>/s za totalni ekstrakt, odnosno  $4,8278 \times 10^{-12}$  m<sup>2</sup>/s za timol.

### 5.2. Proračun koeficijenta difuzije za timol primenom Sun - Chen-ove jednačine

Sun i Chen<sup>59</sup> su za izračunavanje koeficijenta difuzije (D) predložili jednačinu:

$$D = 1,23 \cdot 10^{-14} \frac{T}{\mu^{0,796} V_c^{0,503}} \quad (P1)$$

gde je: T - temperatura (K);

$\mu$  - viskozitet rastvarača (Pas);

$V_c$  - kritična zapremina rastvorka (m<sup>3</sup>/kmol).

Dinamički viskozitet rastvarača ( $\mu$ ), u našem slučaju ugljendioksida, na pritisku 100 bar i temperaturi 40°C ( $T = 313,15$  K) iznosi  $242,1 \times 10^{-7}$  Pas<sup>60</sup>.

Izračunavanje kritične zapremine timola ( $V_{c,T}$ ) je izvršeno Lydersen-ovom metodom<sup>61</sup> primenom jednačine:

$$V_c = 40 + \Sigma\Delta_V \quad (P2)$$

gde je:  $\Delta_V$  - uticaj prisutnih atoma i grupa u jedinjenju (u našem slučaju timolu) na ukupnu kritičnu zapreminu ( $\text{cm}^3/\text{mol}$ )

Sledi da je za timol

$$\Sigma\Delta_{V,T} \cong 3 \left( \begin{array}{c} | \\ =\text{CH} \\ | \end{array} \right)_{\text{prsten}} + 3 \left( \begin{array}{c} | \\ =\text{C}- \\ | \end{array} \right) + 3 (-\text{CH}_3) + 1 (= \text{CH}) + 1 (-\text{OH}) \quad (P3)$$

odnosno

$$\Sigma\Delta_{V,T} = 3 \times 37 + 3 \times 36 + 3 \times 55 + 1 \times 36 + 1 \times 3 = 423 \text{ cm}^3/\text{mol} \quad (P4)$$

i

$$V_c = 40 + 423 = 463 \text{ cm}^3/\text{mol} \cong 0,463 \text{ m}^3/\text{kmol} \quad (P5)$$

Primenom jednačine (P1) dobija se koeficijent difuzije timola ( $D_T$ ):

$$D_T = 1,23 \cdot 10^{-14} \frac{313,15}{(242,1 \cdot 10^{-7})^{0,796} (0,463)^{0,503}} = 2,680 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s} \quad (P6)$$

Dobijena vrednost  $D_T$  od  $2,680 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$  je znatno veća od vrednosti  $D_T$  određenih na osnovu jednačine (25), te stoga Sun - Chen-ova jednačina nije mogla biti korišćena za ispitivani ekstrakcioni sistem.

### 5.3. Model “jedinične sfere”

Uprošćeni oblik jednačine modela “jedinične sfere” (“single-sphere” model)<sup>12</sup>:

$$Y = 100 \left[ 1 - \left( \frac{6}{\pi^2} \right) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left( - \frac{n^2 \pi^2 D t}{d_{sr}^2} \right) \right] \quad (P7)$$

gde je: Y - normalizovani prinos (%);

n = 20

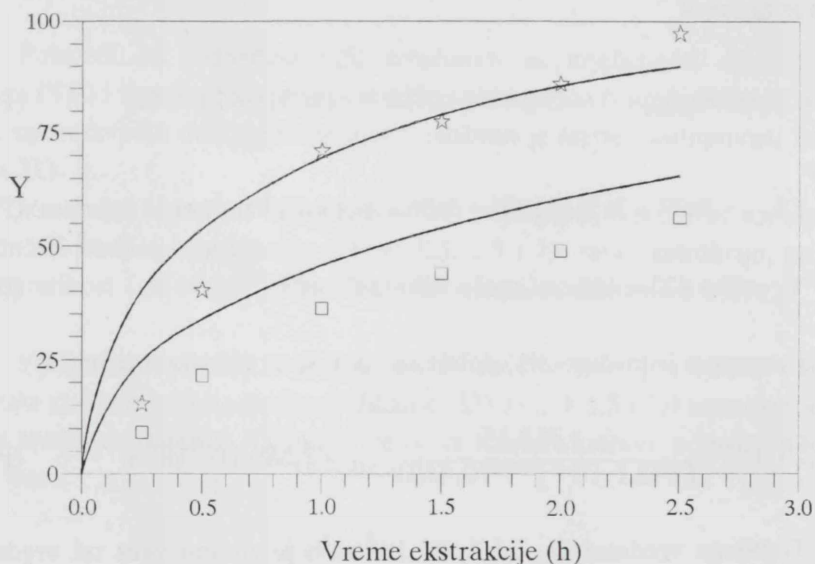
D - koeficijent difuzije ( $\text{m}^2/\text{s}$ );

t - vreme ekstrakcije (s) i

$d_{sr}$  - srednji prečnik čestice (m).



Na osnovu jednačine (P7), korišćenjem vrednosti koeficijenta difuzije totalnog ekstrakta i timola za stepen usitnjenosti  $d_2$  (Tabela 21), dobijene su jednačine zavisnosti normalizovanog prinosa od vremena ekstrakcije, koje su grafički prikazane na slici P1.



Slika P1. Grafički prikaz jednačine modela "jedinične sfere"

(□ - eksperimentalne vrednosti normalizovanog prinosa totalnog ekstrakta;  
 ☆ - eksperimentalne vrednosti normalizovanog prinosa timola)

Na osnovu izračunatih vrednosti standardne greške regresije za normalizovani prinos totalnog ekstrakta (11,592) i normalizovani prinos timola (11,913) može se zaključiti da se primenom jednačine (P7) ne može uspešno modelovati ekstrakcioni sistem timijan - superkritični ugljendioksid. Do istog zaključka se dolazi i analizom dijagrama prikazanih na slici P1.

**Tabela P1.** Rezultati ispitivanja kinetike ekstrakcije timijana za različite protoke ugljendioksida  $W_1$ ,  $W_2$  i  $W_3$

Protok $W_1$						
Vreme (h)	TE (g/100g)	T (mg/100g)	T u TE (%)	$S_{TE} \times 10^2$ (g/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$S_T$ (mg/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$-\ln(1-c_E/c_o)$
0	0	0	0	0	0	0
0,05	0,170	2,98	1,75	3,536	0,620	0,0037
0,30	0,539	15,32	2,84	1,868	0,531	0,0193
0,80	0,902	53,87	5,97	1,172	0,700	0,0697
1,30	1,114	85,60	7,68	0,891	0,684	0,1132
1,80	1,350	106,62	7,90	0,780	0,612	0,1430
2,30	1,477	174,88	11,84	0,668	0,791	0,2009

Protok $W_2$						
Vreme (h)	TE (g/100g)	T (mg/100g)	T u TE (%)	$S_{TE} \times 10^2$ (g/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$S_T$ (mg/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$-\ln(1-c_E/c_o)$
0	0	0	0	0	0	0
0,07	0,097	-	-	0,709	-	-
0,32	0,189	55,57	29,34	0,302	0,888	0,0720
0,82	0,418	111,26	26,59	0,261	0,694	0,1497
1,32	0,665	160,72	24,18	0,258	0,623	0,2243
1,82	0,904	248,74	27,51	0,254	0,699	0,3724
2,43	1,304	389,08	29,84	0,274	0,819	0,5359

Protok $W_3$						
Vreme (h)	TE (g/100g)	T (mg/100g)	T u TE (%)	$S_{TE} \times 10^2$ (g/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$S_T$ (mg/dm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> )	$-\ln(1-c_E/c_o)$
0	0	0	0	0	0	0
0,21	0,111	20,62	18,58	0,189	0,351	0,0261
0,46	0,344	47,27	13,74	0,267	0,367	0,0609
0,96	0,744	92,82	12,48	0,277	0,346	0,1233
1,46	1,125	146,33	13,01	0,275	0,358	0,2020
1,96	1,241	171,51	13,82	0,226	0,313	0,2413
2,46	1,408	198,11	14,07	0,205	0,288	0,2791

**Tabela P2.** Vrednosti  $q_0$  i  $q_i$  primenjavane u jednačini (25)

$$q_{0,TE} = 3,7145 \text{ g/100 g timijana}$$

$$q_{0,T} = 800 \text{ mg/100 g timijana}$$

$q_i$								
$d_0$			$d_1$			$d_2$		
Vreme (h)	TE	T	Vreme (h)	TE	T	Vreme (h)	TE	T
0,32	3,5255	774,43	0,50	3,3622	711,86	0,25	3,0331	675,30
0,82	3,2965	688,74	1,00	2,8969	536,40	0,50	2,9134	477,27
1,32	3,0495	639,28	1,50	2,5280	430,86	1,00	2,3684	229,43
1,82	2,8105	551,26	2,00	2,2037	313,91	1,50	2,0875	177,24
2,43	2,4105	410,92	2,50	1,8321	240,68	2,00	1,8991	110,64
						2,50	1,6235	20,20

Dobijene vrednosti  $q_0$  i  $q_i$  za različite pritiske ugljendioksida

Vreme (h)	80 bar		150 bar		200 bar		400 bar	
	TE	T	TE	T	TE	T	TE	T
0,25	0,5942	157,76	2,6600	705,62	2,8212	600,67	2,8712	468,28
0,50	0,4092	133,98	1,8860	493,66	2,0486	388,65	1,9625	304,19
0,75	0,3364	118,90	1,4236	325,22	1,4828	238,55	1,3425	222,08
1,00	0,2786	105,62	1,0296	210,23	1,1280	167,79	0,8647	143,55
1,50	0,1887	81,86	0,6370	103,65	0,6718	125,39	0,3062	113,66
2,00	0,1053	45,63	0,4352	40,98	0,3593	62,04	0,1316	53,40
$q_0$	<b>0,7063</b>	<b>167,62</b>	<b>3,2057</b>	<b>833,51</b>	<b>3,8290</b>	<b>854,25</b>	<b>3,9417</b>	<b>788,77</b>

Dobijene vrednosti  $q_0$  i  $q_i$  pri ekstrakciji timijana tečnim ugljendioksidom

Vreme (h)	TE	T
0,25	1,6999	481,65
0,50	1,1267	417,43
0,75	0,7443	332,70
1,00	0,6127	220,00
1,50	0,3534	99,64
2,00	0,1652	53,53
$q_0$	<b>2,1995</b>	<b>786,40</b>

## 6. ZAKLJUČCI

1. Za razdvajanje timola i karvakrola, u cilju njihovog određivanja, pogodan je metod tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) korišćenjem kolone NovaPak C<sub>18</sub> (Waters) i pokretne faze acetonitril - voda (50:50; V/V). Kvantitativna analiza ispitivanih fenola je izvršena na osnovu utvrđene funkcionalne zavisnosti površine pika i mase fenola. Razrađeni HPLC postupak se može uspešno primeniti za određivanje timola u etarskom ulju i ekstraktima timijana, i odlikuje se visokim stepenom reproduktivnosti određivanja timola ( $K_w=1,29\%$ ).
2. Za potpunu kvalitativnu i kvantitativnu analizu timijana, odnosno etarskog ulja i ekstrakata, pogodan je metod gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC-MS). Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su etarsko ulje i ekstrakt timijana složenog hemijskog sastava. Naime, etarsko ulje timijana dobijeno destilacijom pomoću vodene pare (1,75%; V/m) sadrži u najvećem procentu timol (50,06%; m/m) i n-tetradekan (16,11%). Takođe su prisutni i drugi parafini (oko 15%), kao i kamfor, L-mentol i dr. Nasuprot tome, metilenhloridni ekstrakt timijana (4,95%; m/m) kao dominantnu komponentu sadrži n-tetradekan (47,18%). Sadržaj timola u ovom ekstraktu je 16,11% (m/m). Ekstrakt sadrži etarsko ulje, koje se destilacijom pomoću vodene pare ne izdvaja u potpunosti (oko 63%) i koje se u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu razlikuje od etarskog ulja timijana dobijenog oficinalnim postupkom.
3. Ispitivanje ekstrakcije timijana primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju (100 bar; 40°C;  $d = 0,6302 \text{ g/cm}^3$ ; 2,5 sata) na ekstrakciju timijana stepena usitjenosti  $d_0$  (srednji prečnik čestica 1,66 mm) je praćeno preko sadržaja timola u totalnom ekstraktu.

Na osnovu rezultata ispitivanja uticaja protoka superkritičnog ugljendioksida, zaključeno je da je optimalni protok ekstragensa  $W_2 = 97,725 \text{ dm}^3/\text{h}$ . Kinetika



ekstrakcije timola u ispitivanom vremenskom intervalu ekstrakcije, pri odabranom protoku, se može kvantitativno predstaviti analogno jednačini koja predstavlja kinetiku reakcije prvog reda:

$$-\ln(1 - c_E/c_o) = -1,733 \cdot 10^{-2} + 0,2209 \tau \quad (9)$$

4. Primenom timijana stepena usitnjenosti  $d_2$  (srednji prečnik čestica 0,35 mm) izvršena je potpuna ekstrakcija etarskog ulja, sudeći na osnovu ostvarenog sadržaja timola (779,80 mg/100 g). Može se zaključiti da je dobijeni ekstrakt po svom kvalitativnom i kvantitativnom sastavu najpribližniji etarskom ulju timijana, sa timolom kao dominantnom komponentom (37,29%).
5. Ispitivanjem kinetike ekstrakcije timijana, pri najpovoljnijim uslovima superkritične ekstrakcije (protok  $W_2$ , stepen usitnjenosti  $d_2$ ), može se zaključiti da dolazi do povećanja prinosa totalnog ekstrakta (povećani prinos parafina), što se direktno odražava na smanjenje udela timola u dobijenom ekstraktu (21,82%).
6. Uticaj pritiska ugljendioksida na ekstrakciju timijana, u intervalu od 80 bar do 400 bar, je različit:  
Primenom ugljendioksida male moći rastvaranja (80 bar,  $d = 0,1918 \text{ g/cm}^3$ ) nije postignuta kvantitativna ekstrakcija etarskog ulja, jer se destilacijom biljnog materijala nakon superkritične ekstrakcije dobija etarsko ulje (0,475%; V/m) sa sadržajem timola 69,59% (m/m). Povećanje radnog pritiska na 100 bar ima za posledicu kvantitativnu ekstrakciju prisutnog etarskog ulja. Isti efekat se postiže i pri višim pritiscima. Ekstrakti dobijeni na pritiscima 200 bar i 400 bar su po svom sastavu veoma slični, i u poređenju sa metilenhloridnim ekstraktom imaju manji sadržaj parafina, koji je moguće povećati produženjem vremena ekstrakcije. Međutim, u cilju dobijanja ekstrakta koji je po sastavu sličan etarskom ulju timijana, treba za ekstrakciju primeniti ugljendioksid na nižim pritiscima, npr. 100 bar.



7. Za modelovanje ekstrakcije sistema timijan - superkritični ugljendioksid je primenjena jednačina Reverchon-a i Sesti Osseo-a:

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{t}{t_i}\right) \right] \quad (18)$$

koju smo modifikovali u oblik:

$$Y = 100 [1 - \exp(a t + b)] \quad (24)$$

Na osnovu sprovedenih ispitivanja uticaja stepena usitnjenosti biljnog materijala na prinose ekstrakcije može se zaključiti da vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije i vremena unutrašnje difuzije opadaju za totalni ekstrakt (od  $9,77 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  za stepen usitnjenosti  $d_0$  do  $0,84 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  za stepen usitnjenosti  $d_2$ , odnosno od 18.826 s za stepen usitnjenosti  $d_0$  do 9.753 s za stepen usitnjenosti  $d_2$ ) i timol (od  $8,94 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  za stepen usitnjenosti  $d_0$  do  $2,49 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  za stepen usitnjenosti  $d_2$ , odnosno od 20.564 s za stepen usitnjenosti  $d_0$  do 3.281 s za stepen usitnjenosti  $d_2$ ) sa povećanjem stepena usitnjenosti, odnosno smanjenjem prečnika čestica biljnog materijala. Modifikovana jednačina (24) bolje fituje normalizovane ekstrakcione prinose (Y) totalnog ekstrakta i timola u odnosu na polaznu jednačinu (18). Takođe, pri ispitivanju kinetike ekstrakcije timijana, jednačina (24) bolje fituje normalizovane prinose (Y) totalnog ekstrakta i timola u odnosu na jednačinu (18). Na osnovu rezultata ispitivanja uticaja pritiska na ekstrakciju timijana, može se zaključiti da sa porastom radnog pritiska koeficijent unutrašnje difuzije raste za totalni ekstrakt (od  $1,93 \times 10^{-12}$  za 80 bar do  $3,45 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  za 400 bar) i za timol (od  $1,14 \times 10^{-12}$  do  $3,97 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ ), dok se vreme unutrašnje difuzije smanjuje od 4.219 do 2.361 s, odnosno od 7.127 do 2.055 s. Primenom jednačine (24) se postiže bolje fitovanje dobijenih vrednosti za normalizovane prinose (Y) totalnog ekstrakta i timola u odnosu na polaznu jednačinu (18).

8. Sprovedena ispitivanja rastvorljivosti (S) totalnog ekstrakta i timola, u zavisnosti od relativne mase ugljendioksida ( $m_{rel}$ ), pokazuju da se ova zavisnost može izraziti jednačinom:

$$\log S = a_2 m_{rel} + b_2 \quad (27)$$

Dobijene su jednačine zavisnosti rastvorljivosti totalnog ekstrakta, odnosno timola u superkritičnom ugljendioksidu u zavisnosti od zapreminske mase ekstragenta:

$$\log S_{TE} = 0,8081 d_{CO_2} - 2,8483 \quad (30)$$

i

$$\log S_T = 0,0238 d_{CO_2} + 0,2021 \quad (31)$$

kojima se može uspešno izvršiti modelovanje ekstrakcije sistema timijan - superkritični ugljendioksid.

9. Primenom ugljendioksida u tečnom stanju (65 bar; 23°C) dobijen je ekstrakt sličan ekstraktu dobijenom primenom ugljendioksida u superkritičnom stanju na pritisku 100 bar, ali sa nešto većim sadržajem parafina. Pri ovim uslovima se postiže potpuna ekstrakcija etarskog ulja timijana.

Vrednosti koeficijenta unutrašnje difuzije i vremena unutrašnje difuzije totalnog ekstrakta i timola, pri ekstrakciji timijana tečnim ugljendioksidom, su približno iste sa vrednostima dobijenim pri ekstrakciji superkritičnim ugljendioksidom zapreminske mase 0,8450 g/cm<sup>3</sup> (200 bar; 40°C), odnosno zapreminske mase 0,7896 g/cm<sup>3</sup> (150 bar; 40°C). Jednačina (18) nešto bolje fituje eksperimentalne rezultate ekstrakcije totalnog ekstrakta tečnim ugljendioksidom odnosu na jednačinu (24), dok je fitovanje normalizovanog prinosa timola modifikovanom jednačinom (24) bolje u odnosu na jednačinu (18).

10. Radi dobijanja ekstrakta timijana koji je po kvalitativnom i kvantitativnom sastavu sličan etarskom ulju dobijenom destilacijom pomoću vodene pare, potrebno je za ekstrakciju koristiti optimalne uslove, odnosno ugljendioksid zapreminske mase 0,6302 g/cm<sup>3</sup> (100 bar; 40°C), biljni materijal stepena usitnjenosti d<sub>2</sub>, vreme ekstrakcije 2,5 sata i protok ekstragenta 97,725 dm<sup>3</sup>/h.

## 7. LITERATURA

1. Rizvi, S.S.H., Benado, A.L., Zollweg, J.A., Daniels, J.A.: Supercritical Fluid Extraction: Fundamental Principles and Modeling Methods, Food Technology - June, 55-65 (1986); Supercritical Fluid Extraction: Operating Principles and Food Applications, *Ibid.* July, 57-64 (1986).
2. Williams, D.F.: Extaction with Supercritical Gases (Review Article Number 5), Chemical Engineering Science 36 (11), 1769-1788 (1981).
3. Brogle, H.: CO<sub>2</sub> As a Solvent: Its Properties and Applications, Chemistry and Industry, 19 June, 385-390 (1982).
4. Blenford, D.E.: The Potential of Carbon Dioxide as an Extraction Solvent, ?, 207-216 (?)
5. Pekić, B.: Ekstrakcija lekovitog bilja gasovima pod pritiskom, X Kongres farmaceuta Jugoslavije, Zbornik radova I (Plenarni referati), Novi Sad, 151-166 (1988).
6. Brignole, E.A.: Supercritical Fluid Extraction, Fluid Phase Equilibria 29, 133-144 (1986).
7. Stahl, E., Schutz, E.: Extraktion der Kamillenblüten mit überkritischen Gasen, Arch. Pharm. (Weinheim) 311, 992-1001 (1978).
8. Reverchon, E., Senatore, F.: Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Chamomile Essential Oil and Its Analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, J. Agric. Food Chem. 42, 154-158 (1994).
9. Lack, E., Bunzenberger, G., Marr, R.: High Pressure -Extraction of Natural Products with CO<sub>2</sub>, 4th C.E.C., 815-822 (1984).
10. Quirin, K.-W., Gerard, D.: Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid naturreine Produkte umweltfreundlich hergestellt, Gordian 9, 156-159 (1986).
11. Ndiomu, D.P., Simpson, C.F.: Some Applications of Supercritical Fluid Extraction, Analytica Chimica Acta 213, 237-243 (1988).

12. Reverchon, E., Sesti Osseo, L.: Modelling the Supercritical Extraction of Basil Oil, Proc. 3rd Int. Symp. Supercritical Fluids Vol. 2, 189-196 (1994).
13. Kandiah, M., Spiro, M.: Extraction of Ginger Rhizome: Kinetic Studies with Supercritical Carbon Dioxide, International Journal of Food Science and Technology 25, 328-338 (1990).
14. Smith, R.M., Burford, M.D.: GLC of Supercritical Fluid Extracts of Essential Oils from the Medicinal Herbs, Feverfew, Tansy, and German Chamomile, Journal of Chromatographic Science 32, 265-269 (1994).
15. Calame, J.P., Steiner, R.: CO<sub>2</sub> Extraction in the Flavour and Perfumery Industries, Chemistry and Industry, 19 June, 399-402 (1982).
16. Kalra, H., Chung, S.Y.-K., Chen, C.-J.: Phase Equilibrium Data for Supercritical Extraction of Lemon Flavors and Palm Oils with Carbon Dioxide, Fluid Phase Equilibria 36, 263-278 (1987).
17. Mathias, P.M., Copeman, T.W., Prausnitz, J.M.: Phase Equilibria for Supercritical Extraction of Lemon Flavors and Palm Oils with Carbon Dioxide, Fluid Phase Equilibria 29, 545-554 (1986).
18. McHugh, M.A., Krukonis, V.J. in: Supercritical Fluid Extraction - Principles and Practice, Chapter 10: Processing Pharmaceuticals, Natural Products, Specialty Chemicals, and Waste Steams, Butterworth-Heinemann, pp.293-310 (1994).
19. Lee, A.K.K., Bulley, N.R., Fattori, M., Meisen, A.: Modelling of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Canola Oilseed in Fixed Beds, JAOCS 63 (7), 921-924 (1986).
20. Copella, S., Barton, P. in: Supercritical Fluids, Chapter 16: Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Lemon Oil, American Chemical Society, pp. 202-212 (1987).
21. Stahl, E., Gerard, D.: Hochdruck-Extraktion von Naturstoffen mit überkritischen und varflüssigten Gasen, Parfumerie und Kosmetik 63 (3), 117-125 (1982).
22. Quirin, K.-W., Gerard, D., Kraus, J: Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid - Gewinnung terpenarmer Aromaöle, ZFL 4, 260-264 (1987).



23. Quirin, K.-W., Gerard, D., Kraus, J.: Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid - Ein schonendes Verfahren zur Gewinnung hochwertiger fester Öle, *Fett Wissenschaft Technologie - Fat Science Technology* 89 (4), 139-142 (1987).
24. Quirin, K.-W., Gerard, D., Grau, H., Grau, G.: Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid - Eine ideale Methode zur Gewinnung hochwertiger ätherischer Öle, *Seifen-Ole-Fette-Wachse* 113 (15), 539-544 (1987).
25. Quirin, K.-W., Gerard, D.: Selektive Extraktion von ätherischen Ölen mit überkritischem CO<sub>2</sub>, *Lebensmittel- & Biotechnologie* 5, 251-254 (1988).
26. Reverchon, E., Della Porta, G., Senatore, F.: Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction and Fractionation of Lavender Essential Oil and Waxes, *J. Agric. Food Chem.* 43, 1654-1658 (1995).
27. Pekić, B., Zeković, Z., Tolić, A.: Investigation of the Extraction Kinetics of Camomile Flowers by Supercritical Carbon Dioxide, *J. Serb. Chem. Soc.* 59 (4), 249-254 (1994).
28. Pekić, B., Zeković, Z., Tolić, A.: Study of the Extraction of Camomile Flowers with Supercritical Carbon Dioxide, *Ibid.* 60 (5), 439-443 (1995).
29. Pekić, B., Zeković, Z., Tolić, A.: Dependence of the Camomile Flower Yield on the Carbon Dioxide Quantity During Isothermal Supercritical Extraction, *Ibid.* 62 (6), 531-533 (1997).
30. Pekić, B., Zeković, Z., Petrović, L., Tolić, A.: Behavior of (-)- $\alpha$ -Bisabolol and (-)- $\alpha$ -Bisabololoxides A and B in Camomile Flower Extraction with Supercritical Carbon Dioxide, *Separation Science and Technology* 30 (18), 3567-3576 (1995).
31. Tolić, A., Zeković, Z., Pekić, B.: Dependence of Camomile Flower Solubility on Carbon Dioxide Density at Supercritical Extraction, *Ibid.* 31 (13), 1889-1892 (1996).
32. Marjanović, N., Pekić, B., Petrović, L., Lepojević, Ž., Zeković, Z.: Određivanje različitih komponenata etarskog ulja kamilice (*Aetheroleum chamomillae*) primenom GC+MS, *Zbornik radova Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu* 23, 189-195 (1992).



33. Zeković, Z., Pekić, B., Lepojević, Ž., Petrović, L.: Chromatography in Our Investigations of Camomila (*Matricaria chamomilla* L.), *Chromatographia* 39 (9/10), 587-590 (1994).
34. Hilendarski medicinski kodeks N. 517 Prevod, Relja V. Katić, Beogradski izdavačko-grafički zavod, Beograd, str. 148, \*347 (1989).
35. *Pharmacopoea Jugoslavica, Editio quarta* (Ph. Jug. IV), Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd (1984).
36. Chevallier, A.: in "The Encyclopedia of Medicinal Plants", Dorling Kindersley Limited, London, p. 142 (1996).
37. Kišgeci, J., Adamović, D., Soldatović, M.: Sistematski prikaz privredno značajnih lekovitih, aromatičnih i začinskih biljaka i njihov izbor za gajenje u Vojvodini, *Bilten za hmelj, sirak i lekovito bilje*, Vol. 17 (49-50), str. 44, 71 (1985).
38. Pekić, B.: Hemija i tehnologija farmaceutskih proizvoda (alkaloidi i etarska ulja), Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu, str. 223 (1983).
39. The Merck Index, Tenth Edition, Merck & Co., Inc., Rahway, N. J., U.S.A., p. 978 (1983).
40. Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M.: *Plant Drug Analysis* (Translated by A. Scott), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, p.13 (1984).
41. *Deutsches Arzneibuch, 8 (DAB 8)*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi Verlag, Frankfurt/Main (1978).
42. Shapiro, S., Guggenheim, B.: The Action of Thymol on Oral Bacteria, *Oral Microbiol Immunol* 10, 241-246 (1995).
43. Lukić, P.: *Farmakognozija*, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu (1989).
44. Deighton, N., Glidewell, S.M., Deans, S.G., Goodman, B.A.: Identification by EPR Spectroscopy of Carvacrol and Thymol as the Major Sources of Free-Radicals in the Oxidation of Plant Essential Oils, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 63 (2), 221-225 (1993).

45. Pekić, B., Lepojević, Ž., Zeković, Z., Pekić, L.: Ispitivanje sadržaja etarskog ulja i fenolnih jedinjenja u nekim biljnim vrstama roda *Thymus* i *Satureja*, Zbornik radova Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu 22, 87-92 (1991).
46. Fehr, D., Stenzhorn, G.: Untersuchungen zur Lagerstabilität von Pfefferminzblättern, Rosmarinblättern und Thymian, Pharmazeutische Zeitung 124 (46), 2342-2349 (1979).
47. Van Den Broucke, C.O., Lemli, J.A.: Chemical Investigation of the Essential Oil of *Origanum compactum*, *Planta medica* 38, 264-266 (1980).
48. Pekić, B.: Hemija i osobine FITODIAROSTOP<sup>R</sup>-a, Savetovanje o enteropatiji prasadi, Novi Sad (1989).
49. Lješević, Ž., Avakumović, Đ., Marković, S., Janković, B., Sabo, D.: Naša iskustva u ispitivanju primene preparata FITO-DIARO-STOP u obliku praha na konverziju, prirast i zdravstveno stanje prasadi u periodu uzgoja od 6-30 kilograma telesne mase, *Veterinarski glasnik* 43 (3-4), 345-349 (1989); Naša iskustva u ispitivanju i lečenju kolibaciloze novorođene prasadi sa preparatom FITO-DIARO-STOP<sup>R</sup> (FDS), *ibid.* 43 (3-4), 339-343 (1989).
50. Teodorović, M., Srećković, A., Tot, G., Kajari, F., Dragić, Lj.: Ispitivanje efekta FITO-DIARO-STOPA<sup>R</sup> u lečenju i preveniranju proliva prasadi, *Veterinarski glasnik* 44 (8-9), 681-687 (1990).
51. Jackson, S.A.L., Hay, R.K.M.: Characteristics of Varieties of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) for Use in the UK: Oil Content, Composition and Related Characters, *Journal of Horticultural Science* 69 (2), 275-281 (1994).
52. Solinas, V., Oessa, C., Falchi Delitala, L.: High-performance Liquid Chromatographic Analysis of Carvacrol and Thymol in the Essential Oil of *Thymus capitatus*, *Journal of Chromatography* 219, 332-337 (1981).
53. Van Den Broucke, C.O., Lemli, J.A.: Pharmacological and Chemical Investigation of Thyme Liquid Extracts, *Planta medica* 41, 129-135 (1981).
54. Pekić, B., Lepojević, Ž., Zeković, Z.: Određivanje timola i karvakrola u etarskom ulju timijana (*Thymus vulgaris* L.) primenom HPLC, Zbornik radova Matice srpske za prirodne nauke 80, 17-22 (1991).
55. Sovova, H.: Usmeno obaveštenje.

56. Villermaux, J., *J. Chromatogr.*, Vol. 406, p. 11 (1987).
57. Pekić, B., Tolić, A., Lepojević, Ž., Zeković, Z.: Application of Our Modification of Reverchon-Sesti Osseo Equation to the Supercritical Extraction of Camomile Flower by Carbon Dioxide, 1<sup>st</sup> International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, Book of Abstracts (Volume I), PO420, p. 1654, June 1-4, Halkidiki, Greece (1998).
58. Ponomarev, V.D.: Ekstragirovanie lekarstvennogo syr'ya, *Medicina*, Moskva (1976).
59. Sun, C.K., Chen, H.: Tracer Diffusion in Dense Ethanol: A Generalized Correlation for Nonpolar and Hydrogen-Bonded Solvents, *AIChE J.* 32, 1367-1371 (1986).
60. Vukalovich, M.P., Altunin, V.V., *Thermophysical Properties of Carbon Dioxide*, Collet's Ltd., London, pp. 418-419 (1968).
61. Reid, R.C., Prausnitz, J.M., Sherwood, T.K.: *The Properties of Gases and Liquids*, 3<sup>rd</sup> Edition, McGraw-Hill Book Co., N.Y., Chapter Two: Pure-Component Constants, pp. 11-15 (1977).

## 8. SIMBOLI

- $a$ ,  $a$  - konstante  
 $A$  - površina poprečnog presaka ekstraktora  
 $A_p$  - površina za prenos mase između čestice biljnog materijala i fluida  
 $b$ ,  $b$  - konstante  
 $c$  - koncentracija ekstrakta u fluidnoj fazi  
 $\bar{c}$  - koncentracija ekstrakta u čvrstoj fazi  
 $c^*$  - koncentracija na međufaznoj površini čvrsto-fluid  
 $c_o$  - početna koncentracija  
 $c_E$  - koncentracija jedinjenja u ekstraktu  
 $D$  - koeficijent unutrašnje difuzije  
 $d$  - stepen usitnjenosti biljnog materijala  
 $d_{sr}$  - srednji prečnik čestice  
 $d$  - zapreminska masa ekstragensa  
 $\varepsilon$  - poroznost biljnog materijala  
 $h$  - visina sloja punjenja ekstraktora  
 $K$  - ukupni koeficijent prenosa mase  
 $k$  - konstanta brzine ekstrakcije  
 $l$  - karakteristična geometrijska veličina čestice  
 $m$  - masa  
 $m_{rel}$  - relativna masa  
 $\mu^*$  - faktor oblika koji zavisi od geometrije čestice  
 $P$  - interval pouzdanosti  
 $P$  - površina pika  
 $p$  - pritisak  
 $q_o$  - ukupni sadržaj ekstraktivnih materija u biljnom materijalu  
 $q_i$  - sadržaj ekstraktivnih materija zaostalih u biljnom materijalu nakon vremena  $t$   
 $\rho$  - zapreminska masa fluida  
 $S$  - rastvorljivost  
 $T$  - timol  
 $TE$  - totalni ekstrakt  
 $t$  ili  $\tau$  - vreme  
 $t_i$  - vreme unutrašnje difuzije  
 $t_R$  - retenciono vreme  
 $u$  - brzina fluida  
 $V$  - zapremina ekstraktora  
 $V_p$  - zapremina čestice  
 $W$  - protok  
 $W_A$  - prividna brzina  
 $W_M$  - maseni protok  
 $W_{MS}$  - specifični maseni protok  
 $W_{SA}$  - srednja prividna brzina  
 $Y$  - normalizovani prinos  
 $Y_{eks}$  - prinos ekstrakta  
 $Y_{max}$  - maksimalni prinos ekstrakta

## 9. BIOGRAFIJA



Zoran Zeković je rođen 2. aprila 1962. godine u Vrbasu. Tehnološki fakultet u Novom Sadu upisao je 1981. godine, a diplomirao 1986. godine na Odseku za hemijsko-prerađivačko i farmaceutsko inženjerstvo. Poslediplomske studije na smeru Primenjena hemija je završio 1993. godine odbranivši magistarski rad pod naslovom "Određivanje, ekstrakcija i hemijske transformacije flavonoida kamilice (*Matricaria chamomilla* L.)" za koji je dobio nagradu ICN Galenike 1994. godine.

Autor i koautor je 22 rada, od kojih 12 u vodećim časopisima međunarodnog značaja, kao i 12 naučnih saopštenja, 2 patenta i jednog poglavlja u monografskoj studiji "Kamilica (*Chamomilla recutita* L.)". Član je Srpskog hemijskog društva, Biohemijskog društva Vojvodine i član-saradnik Matice srpske.

Biografija je publikovana u enciklopedijama Marquis Who's Who in the World, USA, 14<sup>th</sup> Edition (1997), 15<sup>th</sup> Edition (1998), 16<sup>th</sup> Edition (1999), Marquis Who's Who in Science and Engineering, 4<sup>th</sup> Edition (1998-1999), International Biographical Centre (IBC), Cambridge, England - Dictionary of International Biography, 26<sup>th</sup> Edition (1998), 27<sup>th</sup> Edition (1999), International Who's Who of Intellectuals, 13<sup>th</sup> Edition (1998), 2000 Outstanding People of the 20<sup>th</sup> Century (1998). Takođe je nominovan od strane IBC za International Man of the Year 1997-1998.

Izabran je za asistenta Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu na predmetu Hemija i tehnologija farmaceutskih proizvoda 1989. godine, a od 1993. godine drži vežbe i na predmetu Tehnologija gotovih lekova.

