

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI  
FAKULTET  
NOVI SAD

Ana Vasić, dipl.ing.

# **Ekstrakcija i potencijalna primena sporednog proizvoda hajdučke trave i ploda šipka iz fabrike filter čaja**

**Doktorska disertacija**

Mentor: Prof. dr Senka Vidović

Novi Sad, 2019

## *Zahvalnica*

*Na pomoći pri izradi ovog rada, posebno se zahvaljujem mentoru dr Senki Vidović, na ukazanom poverenju, pruženom znanju i stručnim savetima, bez čijeg truda i zalaganja ovaj rad ne bi mogao biti realizovan.*

*Veliku zahvalnost na pomoći, korisnim savetima i sugestijama tokom izrade dela ove disertacije dugujem prof. dr Dragani Šoronji-Simović i Jani Zahorec.*

*Takođe, zahvaljujem se dr Jeleni Vladić, dr Branimiru Pavlić, Aleksandri Gavarić i dr Krunoslavu Aladić na nesebičnoj pomoći prilikom izvođenja eksperimentalnog rada, kao i na korisnim savetima i sugestijama u toku izrade disertacije.*

*Zahvaljujem se svojim dragim kolegama i kolegamicama iz Visoke tehnološke škole strukovnih studija u Šapcu, na razumevanju i podršci, tokom svih ovih godina.*

*Najveće HVALA mojim divnim roditeljima, predivnoj deci, sestri i prijateljima, koji su bili uz mene sve vreme, kao moja najveća podrška!*

*Ana*

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

|   |  |
|---|--|
| Redni broj:<br>RBR                              |  |
| Identifikacioni broj:<br>IBR                    |  |
| Tip dokumentacije:<br>TD                        | Monografska dokumentacija  |
| Tip zapisa:<br>TZ                               | Tekstualni štampani materijal  |
| Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):<br>VR          | Doktorska disertacija  |
| Ime i prezime autora:<br>AU                     | Ana Vasić  |
| Mentor (titula, ime, prezime,<br>zvanje):<br>MN | dr Senka Vidović, vanredni profesor  |
| Naslov rada:<br>NR                              | Ekstrakcija i potencijalna primena sporednog<br>proizvoda hajdučke trave i ploda šipka iz fabrike<br>filter čaja                       |
| Jezik publikacije:<br>JP                        | srpski   |
| Jezik izvoda:<br>JI                             | srp. / eng.  |
| Zemlja publikovanja:<br>ZP                      | Srbija   |
| Uže geografsko područje:<br>UGP                 | Vojvodina  |
| Godina:<br>GO                                   | 2019   |
| Izdavač:<br>IZ                                  | autorski reprint   |
| Mesto i adresa:<br>MA                           | Bulevar Cara Lazara 1, Novi Sad  |
| Fizički opis rada:<br>FO                        | broj poglavlja: 7 / stranica: 203 / slika: 28 /<br>tabela: 52 / referenci: 324 / priloga: 52 u vidu<br>slika i 4 priloga u vidu tabela |

|  |   |
|--|---|
| Naučna oblast:<br>NO                           | Tehnološko inženjerstvo   |
| Naučna disciplina:<br>ND                       | Farmaceutsko inženjerstvo   |
| Predmetna odrednica, ključne reči:<br>PO       | <i>Achillea millefolium</i> , <i>Rosa canina</i> L,<br>superkritična ekstrakcija, spray drying, instant<br>čaj, funkcionalna hrana  |
| UDK  |   |
| Čuva se:<br>ČU                                 | Biblioteka Tehnološkog fakulteta, Univerziteta u<br>Novom Sadu, Bulevar Cara Lazara 1, 21000<br>Novi Sad, Srbija  |
| Važna napomena:<br>VN                          | Nema  |
| Izvod:<br>IZ                                   | U okviru ove disertacije sprovedena su ispitivanja valorizacije biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao sporednih proizvoda nastalih u toku proizvodnje biljnog filter čaja, u smislu implementacije u nove proizvode, s obzirom na to da se radi o značajnoj količini biljnog sporednog proizvoda/otpada i da se pri tome radi o vrednoj sirovini koja i dalje sadrži određenu količinu značajnih bioaktivnih jedinjenja. Najpre je izvršena karakterizacija biljnog materijala, a zatim, primenom različitih tehnika, i njihova transformacija u biljne preparate-ekstrakte. U cilju pripreme biljnih preparata-ekstrakata, primenjene su tri ekstrakcione tehnike: klasična ekstrakcija-maceracija, sokslet ekstrakcija i ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom, a pored toga za transformaciju iz tečnog u suhu formu primenjena je tehnika sušenja sa raspršivanjem- <i>spray drying</i> . Primenom različitih metoda analize utvrđen je sastav dobijenih ekstrakata. Ispitana je, takođe, i mogućnost inkorporacije sporednog proizvoda kao i dobijenih biljnih preparata u nove proizvode, te je u tom smislu, pripremljen i ispitan instant čaj od suvog ekstrakta hajdučke trave, dok se biljna prašina ploda šipka uspešno iskoristila za dobijanje funkcionalnog hleba. |
| Datum prihvatanja teme od strane Senata:<br>DP | 29. 09. 2017.   |



|   |   |
|---|---|
| Datum odbrane:<br>DO  |   |
| Članovi komisije:<br>(ime i prezime / titula / zvanje /<br>naziv organizacije / status)<br>KO | Mentor: dr Senka Vidović, vanredni profesor,<br>Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu<br><br>Predsednik: dr Lidija Petrović, vanredni<br>profesor, Tehnološki fakultet Univerziteta u<br>Novom Sadu<br><br>Član: dr Stela Jokić, vanredni profesor,<br>Prehrambeno-tehnološki fakultet Univerziteta u<br>Osijeku<br><br>Član: dr Dragana Šoronja-Simović, vanredni<br>profesor, Tehnološki fakultet Univerziteta u<br>Novom Sadu<br><br>Član: dr Jelena Vladić, naučni saradnik,<br>Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu |

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES**

**KEY WORD DOCUMENTATION**

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Accession number:<br>ANO       |   |
| Identification number:<br>INO  |   |
| Document type:<br>DT           | Monograph documentation   |
| Type of record:<br>TR          | Textual printed material  |
| Contents code:<br>CC           | PhD Thesis  |
| Author:<br>AU                  | Ana Vasić   |
| Mentor:<br>MN                  | Senka Vidović, PhD, associate professor   |
| Title:<br>TI                   | Extraction and potential application of by-products of <i>Achillea millefolium</i> and <i>Rosa canina</i> L. fruit from the filter tea factory          |
| Language of text:<br>LT        | Serbian   |
| Language of abstract:<br>LA    | Serbian / English   |
| Country of publication:<br>CP  | Serbia  |
| Locality of publication:<br>LP | Vojvodina   |
| Publication year:<br>PY        | 2019  |
| Publisher:<br>PU               | Author's reprint  |
| Publication place:<br>PP       | Novi Sad  |
| Physical description:<br>PD    | chapters: 7 / pages: 203 / figures: 28 / tables: 52 / references: 324 / attachments: 52 in the form of pictures and 4 attachments in the form of tables |
| Scientific field<br>SF         | Technological Engineering   |

|                              |   |
|------------------------------|---|
| Scientific discipline<br>SD  | Pharmaceutical Engineering  |
| Subject, Key words<br>SKW    | <i>Achillea millefolium</i> , <i>Rosa canina</i> L,<br>supercritical extraction, spray drying, instant tea,<br>functional foods   |
| UC                           |   |
| Holding data:<br>HD          | Library of Faculty of Technology, University of<br>Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi<br>Sad, Serbia   |
| Note:<br>N                   | None  |
| Abstract:<br>AB              | <p>As part of this dissertation, the valorisation studies of herb dust of <i>Achillea millefolium</i> and <i>Rosa canina</i> L fruit, as by-products of plant filter tea production, were conducted in terms of implementation into new products, given that it is a large amount of plant by-product / waste, and that it is a valuable raw material that still contains a certain amount of significant bioactive compounds. First, the characterization of the plant material was performed, and then, using various techniques, their transformation into herbal preparations-extracts. In order to prepare herbal preparations-extracts, three extraction techniques were applied: classical extraction-maceration, soxhlet extraction, and supercritical carbon dioxide extraction, and in addition, the <i>spray-drying</i> technique was applied for the transformation from liquid to dry form. The composition of the obtained extracts was determined using various methods of analysis. The possibility of incorporating the by-product as well as the obtained herbal preparations into new products was also examined, therefore instant tea was prepared and tested from the dry extract of <i>A.millefolium</i>, while the herb dust of the <i>R.canina</i> L fruit was successfully used to obtain functional bread.</p> |
| Accepted on Senate on:<br>AS | 29 <sup>th</sup> September 2017   |
| Defended:<br>DE              |   |

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| <p>Thesis Defend Board:<br/>DB</p> | <p>Menthor: Senka Vidović, PhD, associate professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad</p> <p>President: Lidija Petrović, PhD, associate professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad</p> <p>Member: Stela Jokić, PhD, associate professor, Faculty of Food Technology, University of Osijek</p> <p>Member: Dragana Šoronja-Simović, PhD, associate professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad</p> <p>Member: Jelena Vladić, PhD, research associate, Faculty of Technology, University of Novi Sad</p> |
|------------------------------------|---|

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD  | 1  |
| 2. OPŠTI DEO   | 3  |
| 2.1. Prerada lekovitog bilja u pogonima fabrike filter čaja  | 3  |
| 2.2. Hajdučka trava  | 5  |
| 2.2.1. Opis biljne vrste   | 5  |
| 2.2.2. Stanište i sakupljanje  | 6  |
| 2.2.3. Biljna droga i biljni proizvodi/preparati   | 6  |
| 2.2.4. Hemijski sastav   | 9  |
| 2.1.5. Dejstvo i primena hajdučke trave i preparata od hajdučke trave                                | 16 |
| 2.3. Šipak   | 18 |
| 2.3.1. Opis biljne vrste   | 18 |
| 2.3.2. Stanište i sakupljanje  | 19 |
| 2.3.3. Biljna droga i biljni proizvodi/preparati   | 20 |
| 2.3.4. Hemijski sastav   | 21 |
| 2.3.5. Dejstvo i upotreba  | 27 |
| 2.4. Ekstrakcija   | 29 |
| 2.5. Superkrična ekstrakcija   | 30 |
| 2.5.1. Prednosti i nedostaci superkrične ekstrakcije i ekstrakcije superkričnim ugljen-<br>dioksidom | 35 |
| 2.6. <i>Spray drying</i>   | 38 |
| 2.6.1. Princip <i>spray drying</i> procesa   | 39 |
| 2.7. Inkorporacija biljnih proizvoda i preparata u nove funkcionalne proizvode                       | 44 |
| 2.7.1. Instant čaj   | 44 |
| 2.7.2. Hleb i pekarski proizvodi   | 45 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DEO   | 48 |
| 3.1. Hemikalije i reagensi   | 48 |
| 3.2. Aparati i uređaji   | 49 |
| 3.3. Biljni materijal  | 49 |
| 3.3.1. Veličina čestica biljnog materijala   | 50 |

|  |    |
|--|----|
| 3.3.2. Određivanje sadržaja vlage  | 50 |
| 3.3.3. Određivanje sadržaja etarskog ulja  | 50 |
| 3.4. Soxhlet ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka n-heksanom i metilen hloridom                                   | 51 |
| 3.5. Ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka superkritičnim ugljen-dioksidom   | 52 |
| 3.5.1. Određivanje sadržaja hlorofila i karotenoida  | 53 |
| 3.5.2. Gasno-hromatografska analiza ekstrakata biljne prašine hajdučke trave i šipka dobijenih superkritičnim ugljen-dioksidom | 55 |
| 3.5.2.1. GC/MS i GC/FID analiza aromatičnih jedinjenja   | 55 |
| 3.5.2.2. GC/MS analiza tokoferola  | 55 |
| 3.6. Konvencionalna čvrsto/tečna ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka etanolom                                    | 56 |
| 3.6.1. Određivanje sadržaja ukupnih fenola u etanolnim ekstraktima   | 57 |
| 3.6.2. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida u etanolnim ekstraktima   | 57 |
| 3.7. Sušenje ekstrakata primenom <i>spray drying</i> tehnike   | 58 |
| 3.7.1. Efikasnost procesa sušenja  | 59 |
| 3.7.2. Određivanje sadržaja vlage  | 59 |
| 3.7.3. Određivanje higroskopnosti  | 59 |
| 3.7.4. Određivanje protočnosti   | 59 |
| 3.7.5. Određivanje nasipne zapremine   | 60 |
| 3.7.6. Određivanje vremena rehidracije   | 60 |
| 3.7.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) morfologije prahova  | 60 |
| 3.7.8. Određivanje veličine čestica prahova pomoću mikroskopa  | 60 |
| 3.7.9. Prelamanje X-zraka (XRPD) prahova   | 61 |
| 3.7.10. Određivanje indeksa rastvorljivosti u vodi i indeksa apsorpcije vode   | 61 |
| 3.7.11. Određivanje kvašenja i hidrofilnosti   | 61 |
| 3.7.12. Određivanje sadržaja ukupnih fenola i flavonoida   | 62 |
| 3.7.13. Određivanje antioksidantne aktivnosti  | 62 |
| 3.8.1. Priprema biljnog instant čaja na bazi suvog ekstrakta biljne prašine hajdučke trave                                     | 63 |
| 3.8.2. Određivanje sadržaja vlage  | 64 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.8.3. Određivanje vremena rehidracije  | 65  |
| 3.8.4. Određivanje nasipne zapremine  | 65  |
| 3.8.5. Određivanje senzornih karakteristika pripremljenog instant čaja  | 65  |
| 3.9. Definisane karakteristika brašna i izrada hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka  | 66  |
| 3.9.1. Metode za definisanje reoloških karakteristika brašna  | 67  |
| 3.9.2. Postupak izrade hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka  | 69  |
| 3.9.3. Određivanje kvaliteta hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka  | 70  |
| 4. REZULTATI I DISKUSIJA  | 71  |
| 4.1. Karakterizacija biljnog materijala   | 72  |
| 4.2. Soxhlet ekstrakcija  | 73  |
| 4.2.1. Sadržaj hlorofila i karotenoida u biljnoj prašini i ekstraktima dobijenim primenom Soxhlet ekstrakcije                                   | 75  |
| 4.3. Ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom  | 78  |
| 4.3.1. Određivanje hlorofila i karotenoida  | 88  |
| 4.3.2. Rezultati gasno-hromatografske analize ekstrakata dobijenih primenom superkritične ekstrakcije ugljen-dioksidom                          | 93  |
| 4.3.2.1. Rezultati gasno-hromatografske analize aromatičnih komponenata   | 93  |
| 4.3.2.2. Rezultati gasno-hromatografske analize ugljovodonika i sterola   | 102 |
| 4.3.2.3. Rezultati gasno-hromatografske analize tokoferola  | 105 |
| 4.4. Konvencionalna Č/T ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave   | 109 |
| 4.5. Sušenje tečnog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine hajdučke trave primenom <i>spray drying</i> tehnike i karakterizacija dobijenog praha | 110 |
| 4.5.1. Rezultati karakterizacije suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave  | 111 |
| 4.5.1.1. Prinos i efikasnost procesa sušenja  | 111 |
| 4.5.1.2. Sadržaj vlage u suvim ekstraktima dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave   | 112 |
| 4.5.1.3. Higroskopnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave  | 114 |
| 4.5.1.4. Protočnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave   | 115 |
| 4.5.1.5. Nasipna zapremina suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave  | 116 |
| 4.5.1.6. Vreme rehidracije suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave  | 117 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.5.1.7. Morfologija prahova- suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave                                     | 118 |
| 4.5.1.8. Rezultati određivanja veličine čestica suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave                   | 120 |
| 4.5.1.9. Rezultati XRPD analize suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave                                   | 121 |
| 4.5.1.10. Indeks rastvorljivosti u vodi i indeks apsorpcije vode suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave  | 123 |
| 4.5.1.11. Kvašenje i hidrofilnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave                                 | 124 |
| 4.5.1.12. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u suvim ekstraktima dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave                  | 125 |
| 4.5.1.13. Sadržaj etarskog ulja i njegov hemijski sastav u suvim ekstraktima dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave       | 126 |
| 4.5.1.14. Antioksidativna svojstva suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave                          | 128 |
| 4.6. Karakterizacija instant čaja sa suvim ekstraktom dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave                        | 129 |
| 4.6.1. Rezultati analize fizičkih svojstava instant čaja sa suvim ekstraktom dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave | 130 |
| 4.6.2. Određivanje senzornih karakteristika   | 131 |
| 4.7. Funkcionalni hleb sa dodatkom biljne prašine ploda šipka   | 137 |
| 4.7.1. Uticaj dodatka biljne prašine ploda šipka na reološke osobine testa i kvalitet hleba                                   | 137 |
| 4.7.2. Reološke osobine testa sa dodatkom biljne prašine ploda šipka  | 138 |
| 4.7.3. Kvalitet hleba sa dodatkom biljne prašine ploda šipka  | 141 |
| 5. ZAKLJUČCI  | 147 |
| 6. LITERATURA   | 151 |
| 7. PRILOZI  | 179 |



# 1. UVOD

Lekovito bilje i preparati na bazi lekovitog bilja imaju sve veću primenu u raznim granama industrije. Pored sve većeg interesovanja farmaceutske i kozmetičke industrije za novim preparatima na bazi lekovitog bilja, interesovanje za proizvodima ovog tipa raste i u granama industrije kao što je prehrambena, usled zahteva da se sintetički i toksični aditivi u proizvodnji hrane što više je to moguće zamene sa prirodnim biljnim proizvodima odgovarajućih funkcionalnih karakteristika. U tom smislu, jasan je značaj, neophodnost i aktuelnost naučnih istraživanja u oblasti primene i prerade lekovitog bilja i proizvodnje novih preparata na bazi lekovitog bilja.

Hajdučka trava i šipak spadaju u red najzastupljenijih lekovitih biljaka na našim prostorima. Zahvaljujući svom hemijskom sastavu imaju veliki farmakološki značaj i široku primenu. Na našem tržištu se najčešće nalaze u obliku biljnog čaja.

Prilikom proizvodnje filter biljnog čaja, tačnije tokom mehaničke prerade biljnog materijala (sečenja, usitnjavanja i mlevenja) generiše se određena količina biljnog praha, čiji je prečnik čestica manji od veličina pora filter kesica, pa se iz tog razloga takav materijal ne može koristiti za proizvodnju ovakve forme finalnog proizvoda. Prema tome, ova biljna frakcija se odbacuje iz daljeg procesa proizvodnje kao sporedni proizvod. Međutim, i kao takav, ovaj biljni materijal i dalje sadrži značajnu količinu biološki važnih jedinjenja, zbog čega se može primeniti kao polazna sirovina za dobijanje čitavog niza novih biljnih preparata-ekstrakata.

Najčešće korišćene tehnike za izolovanje jedinjenja iz lekovitog bilja su klasične ekstrakcione tehnike koje često podrazumevaju primenu toksičnih rastvarača, što dalje vodi i njihovom prisustvu u finalnim proizvodima, čime se dobijaju proizvodi neodgovarajućeg kvaliteta. Pored toga nedostaci klasičnih tehnika ekstrakcije su i niska efikasnost procesa, kao i veliki utrošak energije i vremena. Iz tog razloga u savremenoj proizvodnji biljnih preparata-ekstrakata teži se sve više primeni savremenih ekstrakcionih tehnika koje su razvijene sa ciljem da smanje potrošnju u samom procesu proizvodnje i istovremeno povećaju prinos i kvalitet

proizvoda koji se dobija. Jedna od takvih tehnika ekstrakcije je ekstrakcija superkritičnim gasovima, pre svega ugljen-dioksidom, čija je najveća prednost smanjenje negativnog uticaja na životnu okolinu i proizvodnja kvalitetnog i bezbednog ekstrakta bez tragova i prisustva primenjenog rastvarača.

Zbog prethodno navedenog, osnovni cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bila je valorizacija sporednog proizvoda industrije biljnog čaja, i to sporednog proizvoda generisanog tokom prerade hajdučke trave i šipka. Mogućnost valorizacije ovakvog sporednog proizvoda od lekovitog bilja ispitana je kroz primenu klasične metode ekstrakcije u kombinaciji sa tehnikom enkapsulacije *spray drying* i primenom tehnike ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom. Primenom ovih tehnoloških postupaka relativno jeftina biljna sirovina bi se iskoristila za dobijanje visoko-vrednih novih proizvoda-ekstrakata koji bi mogli naći primenu u farmaceutskoj, kozmetičkoj ili prehrambenoj industriji. Takođe, pronalaženjem nove upotrebne vrednosti sporednog proizvoda iz fabrike filter čaja smanjili bi se postojeći finansijski troškovi nastali iz potrebe za adekvatnim odlaganjem ovakvog sporednog proizvoda čime bi se doprinelo unapređenju celokupne proizvodnje.

## 2. OPŠTI DEO

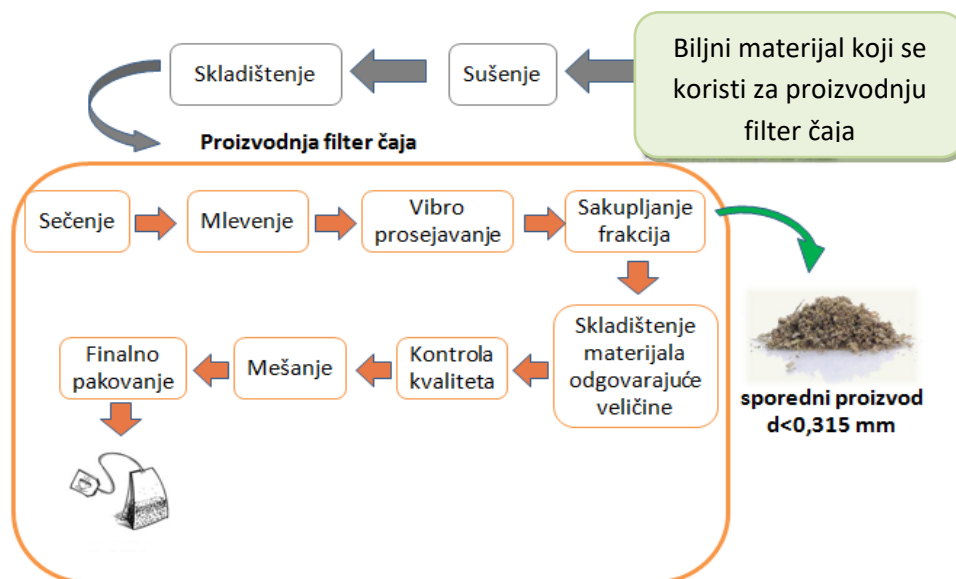
### 2.1. Prerada lekovitog bilja u pogonima fabrike filter čaja

Na teritoriji Srbije sakuplja se veliki broj biljnih vrsta lekovitog bilja koje se kao takve ili prerađene u formi biljnih proizvoda primenjuju u farmaceutskoj industriji i medicini, kako zvaničnoj tako i narodnoj. Srbija poseduje bogatu floru. Neke od biljaka koje su u Srbiji u širokoj upotrebi su: hajdučka trava (*Achillea millefolium* L.), kopriva (*Urtica dioica* L.), smilje (*Antennaria dioica* L.), čičak (*Articum lappa* L.), rusa (*Chelidonium majus* L.), dren (*Cornus mas* L.), kamilica (*Matricaria chamomilla*), nana (*Mentha piperita*), šipak (*Rosa canina*), matičnjak (*Melissa officinalis* L.), zova (*Sambucus nigra*) (Jančić, 1988).

S obzirom na to da se lekovito bilje na tržištu danas najčešće nalazi u obliku biljnog čaja, proizvodnja filter čajeva u Srbiji i regionu dobija sve više na značaju. Neke od kompanija koje se bave proizvodnjom filter biljnog čaja, kako za domaće tako i inostrano tržište, jesu "Fructus" iz Bačke Palanke, "Adonis" iz Sokobanje, "Macval" iz Novog Sad i IPLB "Dr Josif Pančić" iz Beograda.

U proizvodnji čaja u filter formi koriste se različite tehnološke operacije kao što su sušenje, sečenje, mlevenje, prosejavanje, a šema ovog tehnološkog procesa prikazana je na slici 1. Tokom navedenih operacija procesa proizvodnje, generiše se određena količina finog biljnog praha, od oko 10 do oko 40 %, u zavisnosti od biljne sirovine koja se prerađuje. Ovakav biljni materijal često se naziva herbalna prašina (Ramić i sar., 2015). Herbalna prašina se ne može koristiti za pakovanje u formu filter čaja s obzirom na to da je njen prečnik čestica manji od veličine pora filter kesice ( $<0,315$  mm). Prema tome, ova frakcija se odbacuje iz proizvodnje kao sporedni proizvod ili otpad, zavisno od biljne vrste. Iako u proizvodnji filter čaja dolazi do određene degradacije bioaktivnih jedinjenja u odnosu na polazni biljni materijal (Vidović i sar., 2013), ovaj sporedni proizvod i dalje sadrži značajnu količinu visoko-vrednih jedinjenja. Pored toga, ovakav materijal predstavlja i pogodnu sirovinu za čvrsto-tečnu (Č/T) ekstrakciju, jer je prečnik čestica ovakve biljne frakcije relativno mali čime se smanjuju ograničenja za prenos

mase iz čvrste u tečnu fazu. S obzirom na navedene činjenice, postoji sve veći interes za upotrebu herbalne prašine kao polazne sirovine za ekstrakciju biološki važnih jedinjenja i proizvodnju novih biljnih preparata-ekstrakata.



**Slika 1.** Šema tehnološkog procesa proizvodnje filter čaja

U Republici Srbiji u pogonima u kojima se prerađuje lekovito bilje za dalju upotrebu u proizvodnji biljnog čaja, nekoliko biljnih vrsta prerađuju se u većoj količini. To su: menta, kamilica, šipak, hajdučka trava, aronija, divlja jabuka, kopriva, majčina dušica, žalfija itd.

Kao što je prethodno navedeno, količina herbalne prašine proizvedene tokom prerade zavisi pre svega od biljne sirovine koja se prerađuje. Tako se tokom prerade herbe hajdučke trave generiše i do 30 % sporednog proizvoda u formi herbalne prašine, a tokom prerade ploda šipka oko 40 %. Takođe, iskustveni podaci proizvođača filter čaja od šipka ukazuju i na to da se frakcija nastala od prerade ploda šipka sastoji od oko 10 % perikarpa i od oko 90 % semena ploda šipka. S obzirom na to da se radi o značajnoj količini biljnog sporednog proizvoda/otpada i da se pri tome radi o vrednoj sirovini koja i dalje sadrži određenu količinu značajnih bioaktivnih jedinjenja, pronalaženje nove upotrebne vrednosti, odnosno novog tehnološkog postupka koji bi omogućio konvertovanje ovakvog materijala u novi visoko-vredni proizvod, itekako ima smisla.

## 2.2. Hajdučka trava

### 2.2.1. Opis biljne vrste

Hajdučka trava (*Achillea millefolium*) spada u najrasprostranjenije i najčešće korišćene lekovite biljke u svetu (Životić, 1979). Ova vrsta pripada rodu *Achillea*, porodici *Asteraceae*, redu *Asterales*, klasi *Magnoliopsida*, razdelu *Magnoliophyta* i carstvu *Plantae*. Porodici *Asteraceae* pripada još oko 115 biljnih vrsta (Mabberley, 1997), ali najveći farmakološki značaj među njima ima upravo *A. millefolium* (Nemeth, 2005; Si i sar., 2006).

Hajdučka trava je jedna od najranije poznatih lekovitih biljaka. Rod *Achillea* kome ova biljka pripada je dobio ime po heroju Trojanskog rata i Hironovom učeniku, Ahilu, koji je najpoznatijom biljkom ovog roda zaustavio krvarenje i iscelio teške rane Heraklovom sinu Telefusu. Prema novijim predanjima sa našeg područja, hajduci su finim prahom ove biljke posipali rane i na taj način ih lečili, pa otuda potiču imena po kojima je ova biljka poznata u našem narodu, hajdučica ili hajdučka trava. Ređe se čuju imena petrovsko cveće, ivanjsko cveće, sporiš, stolisnik i druga, koja su vezana za period cvetanja, ukus ili morfološke karakteristike (Mišan i sar., 2013).

Hajdučka trava je višegodišnja, zeljasta biljka, aromatičnog mirisa, sa puzećim rizomom (slika 2). Stabljika hajdučke trave je visine 20 do 80 cm i grana se samo u gornjem delu. Boja stabljike je svetlozelena ili crvenosmeđa. Listovi su trojno perasto deljeni na veliki broj sićušnih, linearnih režnjeva, po čemu je sama vrsta dobila jedan od narodnih naziva – stolisnik, ali i naučni – *millefolium* (*mill* – hiljadu, *folium* – list). Na vrhu su glavičaste cvasti, raspoređene u obliku štita i izgrađene su od dve vrste cvetova: jezičastih, raspoređenih po obodu i obojenih belo do ružičasto i cevastih, u središtu žuto obojenih. Kod mladih biljaka stablo i listovi su pokriveni dlakama, ali kasnije većina dlaka opada (Mišan i sar., 2013).

### 2.2.2. Stanište i sakupljanje

Kao samonikla višegodišnja biljka, hajdučka trava raste u celoj Evropi, ali i na ostalim kontinentima, pri različitim klimatskim, geografskim i temperaturnim uslovima. Raste na sušnim do umereno vlažnim livadama, često uz puteve na kamenitim mestima, zapuštenim staništima i šumskim čistinama, ali i oranicama i vinogradima. Zbog svojih lekovitih sastojaka, često se i gaji u baštama. Ima veliku sposobnost da se širi putem rizoma, zbog čega se u nekim područjima sadi radi kontrole erozije zemljišta na padinama i obroncima (Jančić, 2011).

Hajdučka trava se sakuplja tokom letnjih meseci, od juna do avgusta, kada je sunce najjače, jer tada ima najviše etarskog ulja. Prikuplja se odsecanjem vršnih delova biljaka dužine 20-25 cm, ili samo cvasti dužine 2 cm. Odsečeni delovi se vezuju u snopove i suše na promajnom mestu ili u sušnici na temperaturi 35-50 °C. Suva droga je aromatičnog mirisa, gorkog i malo slanog ukusa. Pošto stabljika ne sadrži lekovite sastojke, obično se upotrebljava samo list i cvet. Suva biljka se čuva u kesicama od jute, zaštićena od svetlosti, a rok trajanja suve hajdučke trave je oko 2 godine (Mišan i sar., 2013).

### 2.2.3. Biljna droga i biljni proizvodi/preparati

Upotreba hajdučke trave kao sirovine za proizvodnju farmaceutskih preparata, prema European Medicines Agency (EMA) (EMA/HMCP/290309/2009) navodi se u sledećim farmakopejama i ostalim zvaničnim dokumentima:

- European Pharmacopoeia 7th ed. (2010) Yarrow,
- Extra Pharmacopoeia Martindale XXV. Edition (Todd 1976),
- Herbal Medicines (Newal i sar. 1996), (Barnes i sar. 2007),
- WHO Monographs (Volume 4, 2009),
- ESCOP Monographs (Supplement 2009),
- Pharmacopoeia Hungarica Editio VI. Tomus III, 1967,
- Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (Kern 1969),
- German Commission E Monograph 1990,

- British Herbal Pharmacopoeia 1996 (dried aerial parts),
- British Herbal Compendium (dried aerial parts) (Volume 1, Bradley 1992).

Prema EMA, izveštaj EMA/HMCP/290309/2009, za proizvodnju biljnih preparata od hajdučke trave kao biljna sirovina, odnosno biljna droga, koriste se sveži ili osušeni nadzemni delovi biljke u sezoni cvetanja (*Millefolii herba*) (slika 2A) ili, celi ili isitnjeni cvetovi biljke (*Millefolii flos*) (slika 2B).



**Slika 2.** *Millefolii herba* (A) i *Millefolii flos* (B)

EMA (EMA/HMCP/290309/2009) navodi nekoliko biljnih preparata koji se pripremaju od hajdučke trave:

- Biljna sirovina od koje se priprema čaj (Augustin i sar., 1948; Todd, 1967; BHP, 1974; Racz i sar., 1984; Monografija nemačke komisije E, 1990; Blumenthal i sar., 1998; Wren, 1988; Bisset, 1994; Newal i sar., 1996; Hansel i sar., 1992; Bradley i sar., 1992),
- Ceđen sok (1:1) iz sveže biljke (Blumenthal i sar., 1998; Hansel i sar., 1992),
- Tečni ekstrakt (1:1), rastvarač etanol 25% (v/v) (Wren, 1988; Bradley, 1992; Newal i sar., 1996; BHP, 1974),
- Tinktura (1:5), rastvarač etanol 45% (v/v) (Bradley, 1992; Newal i sar., 1996; BHP, 1974).

Prema istom dokumentu, hajdučka trava se često primenjuje kombinovano sa vitaminima i mineralima ili sa nekim drugim biljnim sirovinama. Proizvodi koji kao sirovinu sadrže hajdučku

travu, a koji se nalaze na tržištu država članica EU, nalaze se u tabeli 1. (EMA/HMCP/290309/2009).

**Tabela 1.** Proizvodi koji se nalaze na tržištu država članica EU a koji sadrže hajdučku travu (EMA/HMCP/290309/2009)

| Aktivna supstanca, farmaceutski oblik   | Indikacije  | Doze i način primene   | Pravni status (Zemlja u kojoj se upotrebljava) |
|---|---|--|--|
| 20 g ekstrakta biljke hajdučka trava (1:5), 80 g etanola (29% V/V), upotrebljava se oralno      | Lečenje zapaljenskih poremećaja želuca i debelog creva.                               | Za oralnu upotrebu: 3x30 kapi dnevno u maloj količini tečnosti, pre jela             | Od 1995. (Mađarska)                            |
| 190 mg sprasene biljke hajdučka trava u formi obložene tablete                                  | Probavne smetnje, spazmolitičko delovanje   | Za oralnu upotrebu: 3x3-4 obložene tablete (odgovara 3x570-760 mg biljne supstance). | Od 1996. (Mađarska)                            |
| Tinktura hajdučke trave (1:5), ekstrakcioni rastvarač: etanol 31.5% V/V, upotrebljava se oralno | Digestivni problemi poput blagih spazama gastrointestinalnog trakta, gubitak apetita. | Za oralnu upotrebu: 4 puta dnevno 4.3 ml (=4.2 g) tečnosti koja sadrži 100% tinkture | Od 1976. je uspostavljena upotreba. (Nemačka)  |
| Iscedeni sok (1:0.650.85) iz sveže biljke hajdučka trava, upotrebljava se oralno                | Digestivni problemi poput blagih spazama gastrointestinalnog trakta, gubitak apetita. | Za oralnu upotrebu: 3 puta dnevno 5 ml tečnosti koja sadrži 100% iscedenog soka      | Od 1976. (Nemačka)                             |
| Iscedeni sok (1:0,840,93) iz sveže biljke hajdučka trava, upotrebljava se oralno                | Digestivni problemi poput blagih spazama gastrointestinalnog trakta, gubitak apetita. | Za oralnu upotrebu: 2 puta dnevno 10 ml tečnosti koja sadrži 100% iscedenog soka     | Od 1990. (Nemačka)                             |
| Biljka hajdučka trava   | Za simptomatski tretman blagih gastrintestinalnih tegoba i gubitka apetita.           | Za oralnu upotrebu: 1.5 g (1 kašičica)/250 ml vrele vode/15 minuta 2puta dnevno      | Od 1997. (Češka)                               |
|   | Za simptomatski tretman malih upala u ustima i grlu.                                  | Za oromukozalnu upotrebu: 3 to 4.5 g (2-3 kašičice)/250 ml                           |  |



|                                      |   |  |                             |
|--------------------------------------|---|--|-----------------------------|
|                                      |   | vrele vode/15 minuta.  |                             |
|                                      | Za lečenje malih inflamacija kože nekoliko puta dnevno (kao kupka ili obloga).  | Za topikalnu upotrebu: 3 to 4.5 g (2–3 kašičice)/250 ml vrele vode/15 minuta.        |                             |
| Biljka hajdučka trava kao biljni čaj | Tradicionalni biljni medicinski preparati za lečenje gubitka apetita i dispeptičnih tegoba (gastrointestinalne nelagodnosti). | Za oralnu upotrebu: 3.5 g biljke hajdučka trava u ½ čaše vrele vode 2–3 puta dnevno. | Više od 30 godina (Poljska) |
|                                      | Površinsko epidermalno oguljenje.   | Za topikalnu upotrebu: Infuze bi trebalo pripremiti na isti način.                   |                             |

#### 2.2.4. Hemijski sastav

Zbog svog hemijskog sastava, hajdučka trava se svrstava u red najčešće korišćenih lekovitih biljaka. S obzirom na širok spektar hemijskih jedinjenja koje ulaze u njen sastav, hajdučka trava predstavlja citogenetski, morfološki i hemijski polimorfni agregat (EMA/HMCP/290309/2009).

U hajdučkoj travi identifikovano je preko 120 hemijskih jedinjenja (Chandler i sar., 1982). Dominantne aktivne komponente hajdučke trave mogu se svrstati u nekoliko podgrupa:

- etarsko ulje, monoterpeni i seskviterpeni,
- fenolna jedinjenja,
- triterpeni i steroli,
- alkaloidi,
- minerali i vitamini, i
- ostala jedinjenja.

Farmakološki efekti ove biljke uglavnom potiču od esencijalnog ulja, proazulena i drugih seskviterpenskih laktona, kao i fenolnih jedinjenja kao što su dikafeoilhinske kiseline i flavonoidi (EMA/HMCP/290309/2009). Utvrđeno je da se ove komponente mogu naći u vrlo različitim količinama, u različitim delovima ove biljke (Blumenthal i sar., 2000; Benedek i Kopp, 2007). Hajdučka trava se ubraja u gorke droge, zbog visokog sadržaja gorkih materija i etarskog ulja, pa je iz tog razloga našla primenu u lečenju raznih oboljenja gastrointestinalnog trakta. Najznačajniji delovi hajdučke trave, posmatrajući sa medicinskog aspekta, su cvetni vrhovi koji sadrže etarsko ulje, koje ima antiinflamatorno i dezinficijentno dejstvo, pa se najčešće i primenjuje kao hemostatik, kod prehlade i skidanja visoke temperature (Baser i sar., 2002; Benedek i sar., 2008; Smelcerovic i sar., 2010). S toga, velika pažnja naučne i stručne javnosti upravo je i usmerena ka ispitivanju etarskog ulja, njegovih sastojaka i mogućih delovanja.

#### ❖ Etarsko ulje hajdučke trave, monoterpeni i seskviterpeni

Etarsko ulje hajdučke trave je tečnost tamno plave do zelenkaste boje, a razlika u boji potiče od prisutnog azulena. Gustina etarskog ulja je u intervalu od 0,896 do 0,932, a rastvara se u 90 % etanolu (Nowak i sar., 2010). Prema Evropskoj Farmakopeji (European Pharmacopeia 8<sup>th</sup>) ukupan sadržaj etarskog ulja u hajdučkoj travi ne sme biti manji od 0,20 %.

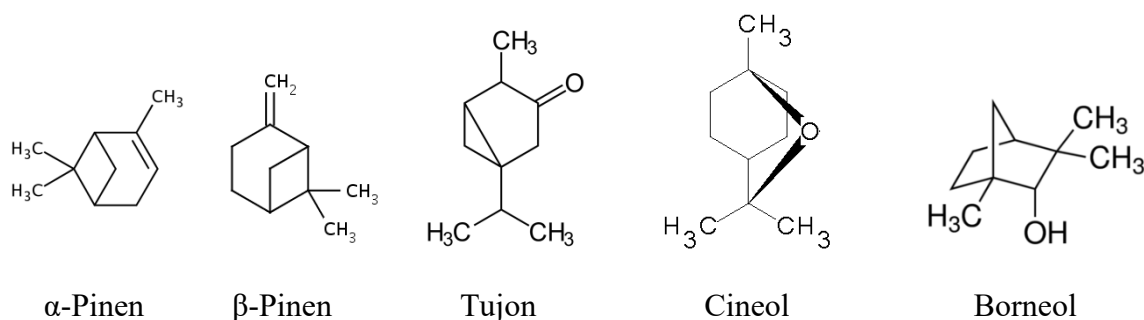
Uočeno je da su sadržaj i sastav etarskih ulja veoma raznoliki (tabela 2), i da zavise od mnogih faktora, poput mesta na kome su uzgajane biljke, uslova sredine, faze razvoja odnosno vremena sakupljanja biljke itd. (Rohloff i sar., 2000; Shutes, 2015; Chandler i sar., 1982).

**Tabela 2.** Sadržaj etarskog ulja hajdučke trave prema više istraživanja

| Sadržaj etarskog ulja (%) | Referenca               |
|---------------------------|-------------------------|
| 0,1 – 1,0                 | Baczek i sar., 2015     |
| 0,1 – 2,7                 | Rahimmalek i sar., 2009 |
| 0,08                      | Bošković i sar., 2005   |
| 0,16 – 0,22               | Giorgi i sar., 2005     |

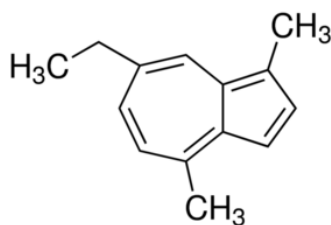
Etarsko ulje sadrži brojne komponente, uključujući borneol, bornil acetat (u tragovima), kamfor, 1,8-cineol, eukaliptol, limonen, sabinen, terpin-4-ol, terpineol i  $\alpha$ -tujone (monoterpeni), kariofilen (seskviterpen), ahilicin, ahilin, milefin i milefolid (seskviterpenski laktoni), azulen i hamazulen (derivat seskviterpenskih laktona) i izoartemizija keton. Relativni sastav komponenti varira u velikoj meri između vrsta *Achillea*, posebno sadržaj azulena, koji se smatra glavnom komponentom ulja (EMA/HMCP/290309/2009).

Anton (1979) kao glavne sastojke etarskog ulja hajdučke trave navodi mono- i seskviterpene, koje karakterišu različite farmakološke aktivnosti utvrđene kliničkim ispitivanjima (Anton, 1979). Po njemu među monoterpenskim sastojcima detektovanim u hajdučkoj travi, najznačajniji su  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, tujon, cineol, borneol i njihovi acetati. Njihove strukturne formule prikazane su na slici 3.



**Slika 3.** Strukturne formule najviše zastupljenih monoterpena u etarskom ulju hajdučke trave (Anton, 1979)

Najznačajniji seskviterpen etarskog ulja hajdučke trave je jedan od azulena – hamazulen (slika 4), koji može činiti i do 50 % sadržaja etarskog ulja (EMA/HMCP/290309/2009). Upravo, količina hamazulena koja je zastupljena u etarskom ulju determiniše njegovu boju (Nowak i sar., 2010). Hamazulen (1,4-dimetil-7-etil azulen, dimetil hulen) se dobija iz ahilicina preko hamazulenske kiseline. Ovaj seskviterpen karakteriše se antiinflamatornim svojstvima (Wrzeciono i Zapruto, 2001).



Slika 4. Strukturna formula hamazulena

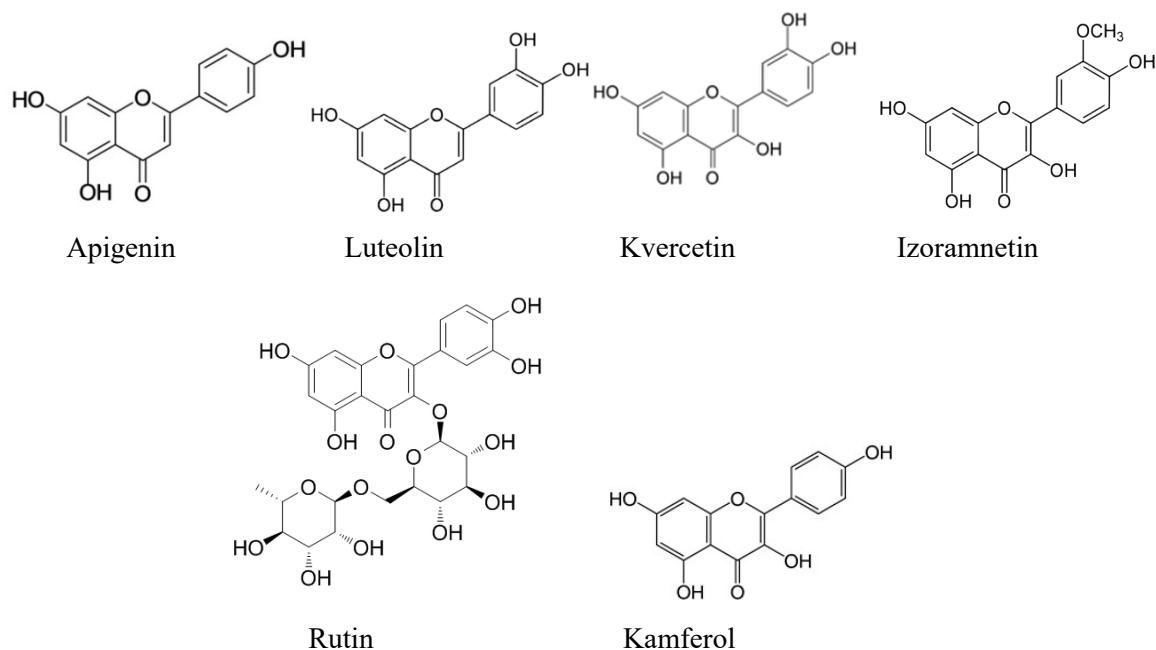
Sastavom i dominantnim komponentama etarskog ulja hajdučke trave bavila su se mnoga naučna istraživanja. Rezultati nekih od njih prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3. Dominantne komponente etarskog ulja hajdučke trave, izražene u procentima (%)

|                               | Ragažinskiene<br>i sar. (2005) | Nadim i sar.<br>(2011) | Chou (2013) | El-Kalamouni i<br>sar. (2017) | Judzentiene i<br>Mockute (2010) | Smelcerovic i<br>sar. (2010) |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| Kamfor                        | 18,0                           | -                      | 11,64       | 12,8                          | -                               | 5,9                          |
| Sabinen                       | 12,0                           | 17,58                  | -           | 6,7                           | -                               | 0,7                          |
| 1,8-cineol                    | 10,0                           | 13,04                  | 10,15       | 4,0                           | 11,9                            | 15,2                         |
| $\alpha$ -pinen               | 9,0                            | 6,28                   | -           | -                             | -                               | 2,6                          |
| $\beta$ -pinen                | -                              | 6,26                   | -           | -                             | 8,0-15,2                        | 2,0                          |
| Borneol                       | -                              | 12,41                  | -           | -                             | -                               | 21,1                         |
| Bornil acetat                 | -                              | 7,98                   | -           | -                             | -                               | 1,4                          |
| Linalil acetat                | -                              | -                      | 11,51       | -                             | -                               | -                            |
| Artemisia<br>keton            | -                              | -                      | 14,92       | -                             | -                               | -                            |
| Terpinen-4-ol                 | -                              | 6,17                   | -           | -                             | -                               | 4,8                          |
| $\alpha$ -terpineol           | -                              | -                      | -           | -                             | -                               | 5,3                          |
| Hamazulen                     | -                              | 5,28                   | -           | -                             | 2,7                             | -                            |
| Germakren –D                  | -                              | -                      | -           | 12,0                          | -                               | 0,4                          |
| (E)-nerolidol                 | -                              | -                      | -           | 7,3                           | 9,4-31,9                        | -                            |
| (E)-p-menta-<br>2,8-dien-1-ol | -                              | -                      | -           | 4,5                           | -                               | -                            |
| Kariofilen<br>oksid           | -                              | -                      | -           | -                             | 8,4-23,0                        | 3,0                          |
| Eudesmol                      | -                              | -                      | -           | -                             | 11,8-15,8                       | 6,0                          |

### ❖ Fenolna jedinjenja

Prema Bimbiraite i sar., 2008; Nemeth i Bernath, 2008; Gruenwald, 2000; Bisset i Wichtl, 2001; Glasl i sar., 2002, od fenolnih jedinjenja u hajdučkoj travi prisutni su: fenolne kiseline i njihovi derivati, zatim flavonoidi, tanini i kumarini. Od fenolnih kiselina, najznačajniji su derivati hlorogenske kiseline (Bimbiraite i sar., 2008) i derivati kafeinske kiseline (rozmarinska i cihorična kiselina) (Baczek i sar., 2015). Flavonoidi su najviše odgovorni za antioksidativno delovanje hajdučke trave, a najznačajniji među njima su apigenin, luteolin, kvercetin, izoramnetin, rutin i kamferol, prikazani na slici 5 (Glasl i sar., 2002; Bimbiraite i sar., 2008; Gruenwald, 2000; Bisset i Wichtl, 2001).



**Slika 5.** Najznačajniji flavonoidi prisutni u hajdučkoj travi

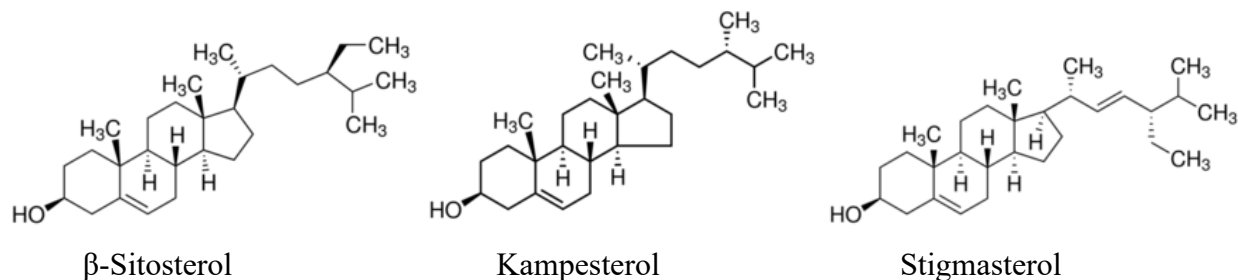
(Glasl i sar., 2002; Bimbiraite i sar., 2008; Gruenwald, 2000; Bisset i Wichtl, 2001)

Sadržaj fenolnih jedinjenja, u hajdučkoj travi i preparatima (ekstraktima) hajdučke trave, bio je predmet više naučnih istraživanja. Rezultati nekih od njih prikazani su u tabeli 4.

**Tabela 4.** Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i tanina u hajdučkoj travi i preparatima hajdučke trave

| Izvor                                  | Sadržaj tanina | Sadržaj ukupnih fenola                           | Sadržaj fenolnih kiselina | Sadržaj ukupnih flavonoida                    | Referenca   |
|--|----------------|--|---------------------------|---|---|
| Herba hajdučke trave                   |                | 0,47 – 1,41%                                     | 0,11 – 0,42%              | -   | Szymanski i sar., 2014  |
| Herba hajdučke trave                   |                | 63,06 g E cikorične kiseline /kg suve materije   | -                         | 12,92 g E cikorične kiseline/kg suve materije | Fraisse i sar., 2011  |
| Herba hajdučke trave                   | 0,38 – 0,9%    | -  | -                         | -   | Baczek i sar., 2015<br>Špinarova i Petrikova, 2003                    |
| Herba hajdučke trave                   | 3,0 – 4,0 %    | -  | -                         | -   | Kohlmunzer, 2013<br>Eghdami i Sadeghi, 2010<br>Blumenthal i sar, 2000 |
| Etanolni ekstrakt herbe hajdučke trave |                | 0,18 – 0,27µg E galne kiseline /mg suve materije | -                         | 0,0200 – 0,0326%                              | Arsić i sar., 2014  |
| Etanolni ekstrakt cveta hajdučke trave |                | 13,290 – 27,947 mg E galne kiseline /g           | -                         | -   | Benetis i sar., 2008  |
| Vodeni ekstrakt cveta hajdučke trave   |                | 74 mg E galne kiseline /g suve materije          | -                         | 673 µg/g ekstrakta                            | Keser i sar., 2013  |
| Vodeni ekstrakt lista hajdučke trave   |                | 78 mg E galne kiseline /g suve materije          | -                         | 2840 µg/g ekstrakta                           | Keser i sar, 2013   |

❖ Ostala jedinjenja identifikovana u hajdučkoj travi i preparatima od hajdučke trave



Slika 6. Strukturne formule  $\beta$ -sitosterola, kampesterola i stigmasterola

U hajdučkoj travi identifikovani su  $\beta$ -sitosterol (slika 6) i fitosterol, koji su uobičajeni kod biljaka (Gruenwald, 2000; Bisset i Wichtl, 2001).  $\beta$ -sitosterol se upotrebljava kod hiperholesterolemije, kao sredstvo koje smanjuje apsorpciju holesterola u crevima (Nowak i sar., 2010). Pored  $\beta$ -sitosterola, ostali steroli i triterpeni identifikovani u hajdučkoj travi su  $\alpha$ -amirin, stigmasterol, kampesterol, holesterol,  $\beta$ -amirin, taraksasterol i pseudotaraksasterol (Chandler, 1989).

Pored gore navedenih jedinjenja Blumenthal i sar. (2000) u hajdučkoj travi detektovali su jedinjenja iz grupe alkaloida i to: ahilein, ahilicin, betain i holin, dok su Lininger i sar. (2001) kao najznačajnije naveli betonicin, stahidrin i trigonelin (Lininger i sar., 2001). Za ahilein detektovan u hajdučkoj travi, eksperimentima je utvrđeno da poseduje hemostatična svojstva i da zahvaljujući njemu ekstrakt lista hajdučke trave usporava razvoj patogenih klica (Witchl, 1994). Ahilicin je identifikovan kao jedan od proazulena (Witchl, 1994). Betain je tercijarni amin (trimetil-glicin) koji je prisutan kod većine živih organizama. Već dugo se koristi kao dodatak hrani za životinje, a utvrđeno je i da smanjuje sadržaj masti kod svinja i živine (Wray-Cahen i sar., 2004).

U hajdučkoj travi identifikovani su sledeći minerali i vitamini: kalijum, natrijum, gvožđe, fosfor, sumpor, vitamin K, vitamin C i folna kiselina (Gruenwald, 2000; Blumenthal i sar., 2000; Bisset i Wichtl, 2001). Prema Mišan i sar., pored navedenih minerala u hajdučkoj travi kao najznačajnije mineralne soli zastupljene su magnezijumova i cinkova jedinjenja (Mišan i sar., 2013).

Ostala značajna jedinjenja identifikovana u hajdučkoj travi su:

- ✓ aminokiseline (alanin, histidin, leucin, lizin, asparagin i glutaminska kiselina) (Blumenthal i sar., 2000, Duke (1989) i Newall (1996)),
- ✓ masne kiseline (linoleinska, palmitinska, oleinska) i
- ✓ šećeri (dekstroza, glukoza, manitol, sukroza).

### **2.2.5. Dejstvo i primena hajdučke trave i preparata od hajdučke trave**

I narodna i zvanična medicina su sasvim jasno pokazali da se ova biljka ubraja u najznačajnije biljke po svojim lekovitim svojstvima. Hajdučka trava i ekstrakti hajdučke trave, zahvaljujući svom sastavu, imaju širok spektar dejstva i tradicionalno se koriste za lečenje mnogih oboljenja.

Hajdučka trava se od davnina koristila u narodnoj medicini (Tucakov, 1997). EMA (EMA/HMCP/290309/2009) navodi brojne primere tradicionalne upotrebe hajdučke trave i preparata dobijenih od ove biljke. Tako se hajdučka trava u Belgiji tradicionalno upotrebljava kao antipruriginozno sredstvo za dermatološke tretmane (Bradley, 1992). U Francuskoj, pored navedene upotrebe, hajdučka trava se tradicionalno koristi za simptomatsko lečenje poremećaja digestivnog trakta (Bradley, 1992). Kern i sar. (1969) navode da se u Nemačkoj hajdučka trava tradicionalno koristi kao aromatično, somatsko, adstringentno i holeretično sredstvo, za menstrualne probleme, krvareće hemoroide, kod hematoma, tuberkuloze pluća, kao diuretik i dijaforetik. Za spoljašnju upotrebu, koristi se za lečenje rana (Kern i sar., 1969). Za unutrašnju upotrebu, koristi se kod gubitka apetita i dispeptičnih tegoba, kao što su blagi spazmodični poremećaji gastrointestinalne oblasti (Hansel i sar., 1992). U Rumuniji se koristi za upalu mukozne membrane stomaka, gastričnog, duodenalnog čira, katara debelog creva. Spolja se upotrebljava za kupanje beba, kao i pacijenata sa ekcemima (Racz i sar., 1984). Tradicionalna upotreba hajdučke trave u Mađarskoj i Velikoj Britaniji su relativno iste i bazirane su na lečenje poremećaja digestivnog trakta i menstrualnih tegoba (Todd, 1967; Augustin i sar., 1948).

Generalno, hajdučka trava, njeni ekstrakti i dominantna jedinjenja poseduju:

- antiinflamatorno delovanje (Benedek i sar., 2008; Chandler, 1982; Evans, 2002; Newall, 1996; Miller 1998),



- antioksidativno delovanje (Candan i sar., 2003; Agar i sar., 2015),
- antimikrobno delovanje (Candan i sar., 2003; Stojanović i sar., 2005; Moskalenko, 1986),
- holeretičko i spazmolitičko delovanje (Benedek i sar., 2008),
- hepatoprotektivno i antispazmodičko delovanje (Yaesh i sar., 2006; Karamenderes i Apaydin, 2003),
- vazoprotektivno delovanje (Dall' Acqua i sar., 2011),
- antispermatoogeno delovanje (Montanari i sar., 1998; Innocenti i sar., 2007),
- antitumorsko delovanje (Tozyo i sar., 1994; Agar i sar., 2015) i
- antimalarijsko delovanje (Lehane i Saliba, 2008).

Naučna istraživanja koja u fokusu imaju ispitivanje hajdučke trave ili njenih preparata *in vivo* i/ili *in vitro* pokazuju raznovrsno delovanje ove biljne sirovine ili njenih preparata odnosno jedinjenja. Između ostalog, Lehane i Saliba (2008) su utvrdili da određeni flavonoidi, uobičajeno prisutni u hajdučkojtravi, smanjuju rast unutareritocitnih parazita malarije, čime je ustanovljena antimalarijska aktivnost ove biljke (Lehane i Saliba, 2008). Candan i sar. (2003) ispitivali su antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost etarskog ulja i metanolnih ekstrakata hajdučke trave, *in vitro*. Utvrđena je antimikrobna aktivnost etarskog ulja u slučaju *Candida albicans* i *Streptococcus pneumonia* (Candan i sar., 2003). Stojanović i sar. (2005) su, takođe, utvrdili *in vitro* antimikrobnu aktivnost hajdučke trave, ispitujući ekstrakte četiri različite vrste ove biljke (Stojanović i sar., 2005). Etanolni ekstrakti hajdučke trave pokazuju srednju antimikrobnu aktivnost na *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* i *Shigella flexneri* (Moskalenko 1986). Seskviterpenski laktoni iz hajdučke trave pokazuju hipotenzivnu aktivnost (PDR for herbal Medicines 2000). Takođe, potvrđeno je da su oni odgovorni i za antiinflamatorno delovanje hajdučke trave (Chandler 1982). Generalno, antiinflamatorna svojstva su povezana sa komponentama etarskog ulja hajdučke trave, pogotovo sa azulenima (Evans 2002; Newall 1996; Miller 1998).

## 2.3.Šipak

### 2.3.1.Opis biljne vrste

Šipak (*Rosa canina* L.), je u narodu poznata kao divlja ruža, rosa, đul, rusa trandafil. Šipak pripada rodu *Rosa*, porodici *Rosaceae*, redu *Rosales*, klasi *Magnoliopsida*, razdelu *Magnoliophyta* i carstvu *Plantae*. Porodica *Rosaceae* uključuje preko 100 vrsta široko rasprostranjenih u Evropi, Aziji, Srednjem Istoku i Severnoj Americi (Czyzowska i sar., 2015), od kojih se 21 vrsta nalazi u Srbiji (Vukićević, 1972). Ime roda *Rosa* je sanskritskog ili indogermanskog porekla, sa značenjem nežan; to je naziv za ružu i biljke sličnog cveta. Nazivi za šipak na drugim jezicima su: *Dog-rose* na engleskom, *Hunds-rose* na nemačkom, *rose, rosier* na francuskom i *roza* ili *šipovnik* na ruskom (Simonović, 1959; Tasić i sar. 2009).

Šipak je žbun do 2,5m visok, sa povijenim ili uspravnim granama. Bodlje su jake, srpasto povijene, na glavnim stablima skoro prave, na fertilnim granama brojne i uvek srpasto povijene. Listovi su neparno perasti, spiralno raspoređeni. Listića ima 7, ređe 5 ili 9, goli su i glatki, eliptični, testerastog oboda. Cvetovi su najčešće raspoređeni u cvastima, po 3-5. Cvetne drške su duge 15-25 (30) mm, najčešće jednake dužini ploda, obično bez žlezda i dlaka. Čašičnih listića ima 5, koji su sa donje strane kratko dlakavi, sa gornje većinom goli, širokolancetasti sa brojnim perastim dodacima, posle cvetanja povijeni i pripijeni uz plod, rano otpadaju. Kruničnih listića je 5, bledoružičasti su i kraći od čašičnih. Stubići obično nisu mnogo izvučeni, bledodlakavi su ili goli. Glavica žigova je okruglasta ili kupasta (Mišan i sar., 2013). Na slici 7. prikazani su perasto složen list sa zalistkom i cvet šipka.



Slika 7. List i cvet šipka

### 2.3.2. Stanište i sakupljanje

Posmatrano sa gledišta staništa, biljke roda *Rosa* rastu i razvijaju se u umerenim i subtropskim zonama severne hemisfere (Nađpal i sar., 2016). Generalno, ove biljke cvetaju u prirodnom okruženju, bez potrebe navodnjavanja ili hemijskog đubrenja (Ercisli, 2007). U Srbiji je rasprostranjena u ravničarskom, brdskom i planinskom regionu, svetlim listopadnim šumama, na šumskim proplancima i požarištima, po ivicama šuma, na livadama i pašnjacima, na različitim geološkim podlogama (silikatne stene, krečnjak, serpentin, peščar i dr.) i na raznim tipovima zemljišta (Vukićević, 1975; Sarić, 1989).

Šipak se bere krajem leta, kada nije potpuno zreo, ili zreo plod, dok je tvrd i sjajnonarandžaste boje, kakav je s početka jeseni (Kovačević, 2004). Veoma mala količina šipka se konzumira u svežem stanju (Nađpal i sar., 2016). Najveći deo šipka se suši i kao takav se čuva u jutanim ili natron vrećama na suvom mestu, zaštićen od sunčeve svetlosti, kako ne bi izgubio na kvalitetu.

Danas je sve više zastupljeno plantažno gajenje šipka, a ono što sadnice šipka čini pogodnim za ovakvo gajenje jeste činjenica da ne bira mnogo tlo na kome će rasti, kao ni nadmorsku visinu, pa se može gajiti na teritoriji čitave Srbije (Vukićević, 1975; Sarić, 1989).



Guimaraes i sar., 2010). Takođe, u poslednje vreme, upotrebljava se i kao sastojak probiotskih napitaka, raznih vrsta jogurta i supa (Demir i sar., 2014).

### 2.3.4. Hemijski sastav

Hemijski sastav ploda šipka, baš kao što je slučaj i sa hajdučkom travom, bio je tema velikog broja naučnih istraživanja. Tako su između ostalog Demir i sar. (2014) metodama gasne hromatografije i masene spektrometrije detektovali 52 isparljive komponente u plodu šipka, a one uključuju 10 alkohola, 10 aldehida, 2 ketona, 24 terpenoida, 2 estra itd. Prema Chrubasik i sar. (2008) ekstrakti ploda šipka sadrže fenolne kiseline, proantocijanidine, tanine, flavonoide, nezasićene i polinezasićene masne kiseline, fosfolipide, minerale, galaktolipide i karotenoide, dok ekstrakti lišća šipka sadrže alkaloidne, flavonoide, glikozide, saponine i isparljivo ulje (Mandade, 2011).

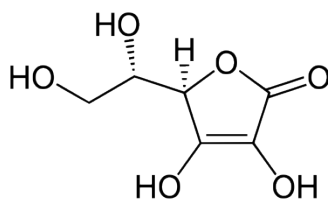
Plod šipka može biti okarakterisan kao sirovina sa visokim sadržajem fitonutritijenata i koja generalno sadži jedinjenja kao što su:

- vitamin C,
- fenolna jedinjenja,
- karotenoidi,
- hlorofili,
- esencijalne masne kiseline i tokoferoli,
- voćne kiseline,
- pektini i
- ostala jedinjenja (Mišan i sar., 2013; Baros i sar., 2011; Demir i sar., 2014; Ercisli, 2007).

#### ❖ Vitamin C

Prema navodima Kuznicka i Dziak, lekovita vrednost ploda šipka zavisi od sadržaja vitamina C i sadržaja flavonoida (Kuznicka i Dziak, 1987). Generalno, ova biljka se smatra značajnim prirodnim izvorima vitamina C (Erenturk i sar., 2005; Kobus i sar., 2005; Nowak,

2006). Prema zahtevima *Ph Eur* 7.0 plod šipka treba da sadrži najmanje 0,3 % vitamina C. Na slici 9. prikazana je strukturna formula vitamina C.



**Slika 9.** Vitamin C (askorbinska kiselina)

Sadržaj vitamina C u plodu i drugim delovima šipka prikazan je u tabeli 5.

**Tabela 5.** Sadržaj vitamina C u plodu i drugim delovima šipka

| Ispitivani izvor vitamina C        | Sadržaj vitamina C                                 | Reference                  |
|------------------------------------|--|----------------------------|
| Plod šipka                         | 262,09±1,87 mg/100g suvog šipka                    | Baros i sar., 2011         |
|                                    | 2365 mg/100g svežeg šipka                          | Demir i Ozcan, 2001        |
|                                    | 2712 mg/100g svežeg šipka                          |                            |
|                                    | od 112,2 do 360,22 mg/100g svežeg zamrznutog šipka | Roman i sar., 2013         |
|                                    | od 211 do 417,5 mg/100g svežeg zamrznutog šipka    | Novajan i sar., 2008       |
|                                    | 1252 mg/100g svežeg šipka                          | Jablonska-Rys i sar., 2009 |
|                                    | 643 mg/100g svežeg šipka                           | Rosu i sar., 2011          |
|                                    | 101,38±0,91 mg/100g suvog šipka                    | Demir i sar., 2014         |
| Lattice cveta šipka                | 72,18±5,67 mg/100g                                 | Baros i sar., 2011         |
| Seme šipka                         | 1798 µg/g semena                                   | Ilyasoglu i sar., 2014     |
| Ulje semena šipka                  | Vitamin C nije identifikovan                       | Ilyasoglu i sar., 2014     |
| Vodeni i metanolni ekstrakti šipka | od 0,56 do 3,73 mg/g                               | Nađpal i sar., 2016        |
| Šira                               | 1571±145 mg/L                                      | Czyzowska i sar., 2015     |
| Vino od šipka nakon fermentacije   | 653±25 mg/L  | Czyzowska i sar., 2015     |
| Vino od šipka nakon starenja       | 600±34 mg/L  | Czyzowska i sar., 2015     |

Najmanje ga ima u laticama cveta, a najviše u plodu, gde se, prema rezultatima naučnih istraživanja, sadržaj vitamina C kreće u opsegu od 101 do 2712 mg/100g. Razlike u sadržaju vitamina C mogu poticati od razlike u visini, vrsti, sorti, ekološkim faktorima i periodu žetve (Dogan i Kazankaya, 2006). Takođe, smanjenje sadržaja vitamina C u biljkama može biti posledica količine prisutnog kiseonika u okolini, količine svetlosti koju dobija biljka, varijacije u endogenim regulatorima rastenja biljke i temperature. Zamrznuti plod šipka ima niži sadržaj vitamina C nego svež plod - oko 30.1 % prema podacima iz literature (Ercisli, 2007). Osušen plod ove biljke ima još niži sadržaj vitamina C, što je direktno posledica dužeg vremena prerade i visoke temperature koja utiče na smanjenje sadržaja (Stralsjo i sar., 2003).

Na količinu vitamina C u ekstraktima šipka utiče način pripreme ekstrakata. Tako, ukoliko se farmaceutski preparati od ploda šipka pripremaju kao dekokte, ili se tokom pripreme rastvori hlade pre filtriranja, sadržaj vitamina C će biti veći (Nueleanu i sar., 2008).

#### ❖ Fenolna jedinjenja

Više naučnih studija kao dominantna fenolna jedinjenja ploda šipka navode flavonoide i to kvercetin i kamferol i njihove derivate (Adamczak, 2012; Gao i sar., 2000; Hvattum, 2002; Nowak, 2006; Mikulic-Petkovsek i sar., 2012). Chrubasik i sar. (2008) su ispitivali metanolne, etanolne i vodene ekstrakte ove biljne vrste, i ustanovili da između ostalih jedinjenja, sadrže fenolne kiseline, proantocijanidine, tanine, flavonoide. Nađpal i sar. su utvrdili da su u metanolnim i vodenim ekstraktima ploda šipka od fenolnih kiselina najzastupljenije galna i protokatehinska kiselina, a od flavonoida kvercitrin (derivat kvercetina), epikatehin i katehin, kao i da njihov sadržaj zavisi od vrste upotrebljenog rastvarača (Nađpal i sar., 2016). Grajzer i sar. su utvrdili da i hladno ceđeno ulje iz semena šipka, sadrži fenolne kiseline (metil ester *p*-kumarinske kiseline, vanilinska kiselina, siringinska kiselina, vanilin, kao i siringaldehid) (Grajzer i sar., 2015).

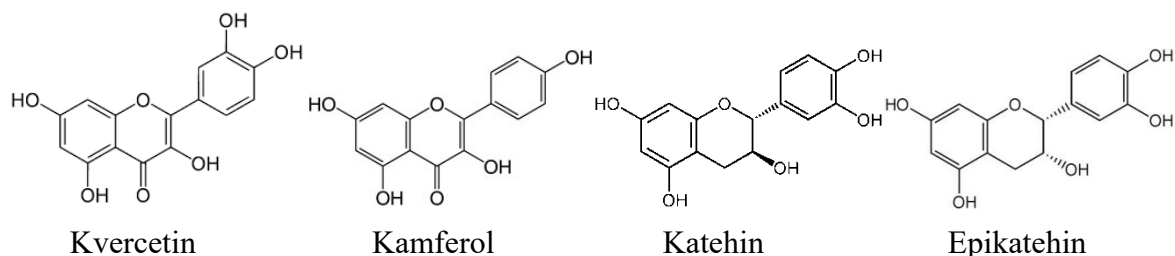
Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u plodu i drugim delovima šipka prikazan je u tabeli 6.

**Tabela 6.** Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u šipku

| Ispitivani izvor                 | Ukupni fenoli                  | Ukupni flavonoidi            | Reference              |
|----------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|
| Osušen šipak (biljka)            | 990 mg GAE/100g osušenog šipka | -                            | Nowak i sar., 2007     |
| Plod šipka                       | -                              | 41 mg QE/100g osušenog šipka | Adamczak i sar., 2012  |
|                                  | 199 mg GAE/100g svežeg šipka   | 2 mg/100mg osušenog šipka    | Fattahi i sar., 2012   |
|                                  | 818 mg GAE/100g svežeg šipka   | 400 mg QE/100g svežeg šipka  | Yoo i sar., 2008       |
|                                  | 102 mg/100g osušenog šipka     | -                            | Yilmaz i Ercisli, 2011 |
|                                  | 9600 mg/100g osušenog šipka    | -                            | Ercisli, 2007          |
| Seme šipka                       | 2554 µg/g semena               | 666 µg/g semena              | Ilyasoglu i sar., 2014 |
| Ulje semena šipka                | 215,4 µg/g semena              | 86,3 µg/g semena             | Ilyasoglu i sar., 2014 |
| Ekstrakti šipka                  | od 11,9 do 96,2 mg/g           | od 0,61 do 2,94 mg/g         | Nađpal i sar., 2016    |
|                                  | od 326 do 575 mg/100g          | od 101,3 do 163,3 mg/100g    | Roman i sar., 2013     |
|                                  | -                              | 104 mg/100g                  | Montazeri i sar., 2011 |
|                                  | -                              | 0,41 mg/mL                   | Ghazghazi i sar., 2010 |
| Šira                             | 9007±345 mg/L                  | 8700±345 mg/L                | Czyzowska i sar., 2015 |
| Vino od šipka nakon fermentacije | 3990±256 mg/L                  | 3740±253 mg/L                | Czyzowska i sar., 2015 |
| Vino od šipka nakon starenja     | 3456±134 mg/L                  | 3008±134 mg/L                | Czyzowska i sar., 2015 |

Na slici 10. prikazane su strukturne formule najzastupljenijih flavonoida u plodu šipka.

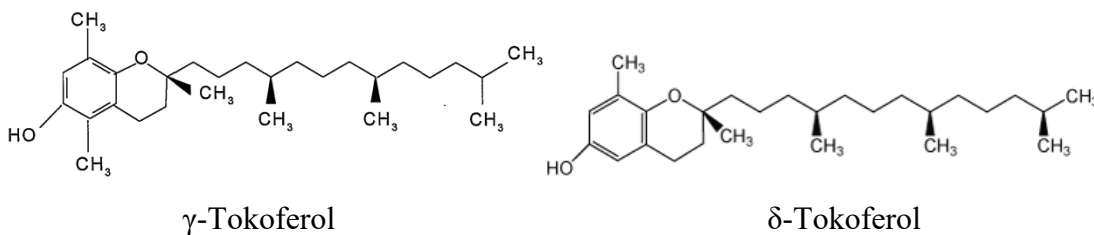




Slika 10. Strukturne formule kvercetina, kamferola, katehina i epikatehina

#### ❖ Nezasićene masne kiseline i tokoferoli

U semenu šipka je prisutno masno ulje (2 do 10 %) koje je bogato vitaminom E, što ga čini važnom komponentom ove biljke (Wichtl, 2002; PDR, 2007; Chrubasik i sar., 2008). Grajzer i sar. (2015) su utvrdili da hladno ceđeno ulje iz semena šipka sadrži značajnu količinu lipofilnih antioksidanata, posebno  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferola (slika 11). Fan i sar. (2014) su se takođe bavili analizom sadržaja tokoferola u plodu šipka pri čemu su utvrdili da sadržaj  $\alpha$ -tokoferola (vitamina E) u plodu šipka iznosi 5,84 mg/100g, sadržaj  $\beta$ -tokoferola 0,05 mg/100g,  $\gamma$ -tokoferola 1,34 mg/100g, dok je sadržaj  $\delta$ -tokoferola 0,14 mg/100g.



Slika 11. Strukturne formule  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferola

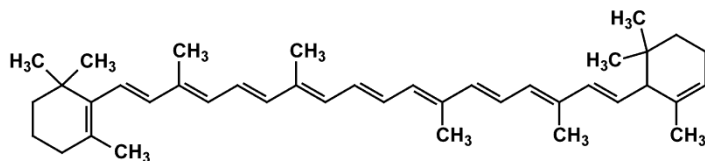
Pored tokoferola, ulje ekstrahovano iz semena šipka je značajan izvor nezasićenih masnih kiselina. Naime, prema podacima iz nekoliko naučnih istraživanja, među masnim kiselinama u ulju semena ploda šipka su najzastupljenije linoleinska (35,9-54,8 %),  $\alpha$ -linolenska (16,6-26,5 %) i oleinska kiselina (14,7-22,1 %) (Ilyasoglu, 2014; Ozcan, 2002; Szentmihalyi i sar, 2002; Zlatanov, 1999). Nešto drugačiji sadržaj masnih kiselina utvrdili su Murathan i sar. (2016) navodeći da je od zasićenih masnih kiselina najzastupljenija palmitinska (8,27 %), od

mononezasićenih oleinska kiselina (44,63 %), a od polinezasićenih linoleinska kiselina (27,97 %) (Murathan i sar., 2016).

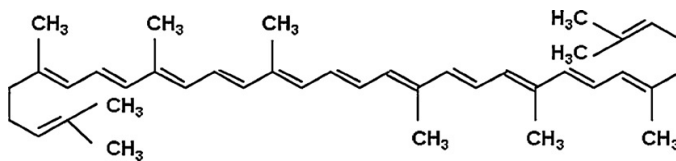
### ❖ Biljni pigmenti: karotenoidi i hlorofil

Karotenoidi su značajno zastupljeni u plodu šipka, a kao najviše zastupljeni navode se  $\beta$ -karoten, likopen, rubiksantin, zeaksantin i lutein (Fan i sar., 2014; Hodisan i sar., 1997; Innocenti, 2004). Sadržaj  $\beta$ -karotena u osušenom plodu šipka je 20 – 80 % u odnosu na ostale zastupljene karotenoide (Tozzi i sar., 2008; Hodisan i sar., 1997; Barros i sar., 2011).  $\beta$ -karoten se lako razlaže na svetlosti, toploti i vazduhu (O'Neil, 2006). Ovo može biti jedan od razloga zašto se prednost u ekstrakciji karotenoida iz šipka daje superkritičnoj ekstrakciji na sniženoj temperaturi (Tozzi i sar., 2008).

Na slici 12. prikazane su strukturne formule najzastupljenijih karotenoida u plodu šipka.



$\beta$ -karoten



Likopen

**Slika 12.** Strukturne formule  $\beta$ -karotena i likopena

Hlorofili, kao i karotenoidi, su biljni pigmenti, i najveću primenu nalaze u prehrambenoj industriji. Obično se ekstrahuju zajedno sa karotenoidima iz izvora u kojima su prisutni. Barros i sar. su istraživali plod šipka sa teritorije Portugala i utvrdili da je sadržaj hlorofila A iznosio 0,16 mg/100g suve materije, a sadržaj hlorofila B 0,22 mg/100g suve materije (Barros i sar., 2011).

### ❖ Ostala jedinjenja

Plod šipka sadrži i veliki broj drugih hemijskih jedinjenja, uključujući pektine, tanine i voćne kiseline (Tylor, 1993; Ziegler i sar., 1986). Od voćnih kiselina u plodu šipka najviše su zastupljene jabučna i limunska kiselina (Mišan i sar., 2013; Baros i sar., 2011; Demir i sar., 2014; Ercisli, 2007). U plodu šipka zastupljeni su monosaharidi/oligosaharidi, amino kiseline, mineralne materije (Mišan i sar., 2013; Baros i sar., 2011; Demir i sar., 2014; Ercisli, 2007). Od šećera prisutnih u plodu šipka, navode se invertni šećer i saharoza, a od mineralnih materija fosfor (P: 4860 ppm), kalijum (K: 5467 ppm), kalcijum (Ca: 2867 ppm), magnezijum (Mg: 1254 ppm), gvožđe (Fe: 27 ppm), bakar (Cu: 27 ppm), mangan (Mn: 56 ppm) i cink (Zn: 30 ppm) (Ercisli, 2007). Ilyasoglu (2014) u svom radu navodi da ulje semena šipka sadrži značajnu količinu sterola, od kojih su najznačajniji  $\beta$ -sitosterol (544 mg/100g), kampesterol (23,3 mg/100g) i stigmasterol (18,9 mg/100g). Njihove strukturne formule su prikazane u poglavlju 2.2.4. u kojem je obrađen hemijski sastav hajdučke trave (slika 6).

### 2.3.5. Dejstvo i upotreba

Upotreba šipka datira još iz vremena Hipokrata, ali je uloga ove biljke u profilaktičke svrhe dostigla vrhunac za vreme Drugog svetskog rata kada je sirup od šipka, izuzetno bogat vitaminom C, uveden u ishranu da bi se prevazišao nedostatak citrusnog voća i time sprečila pojava skorbuta (Haas, 1995). Njegova upotreba danas je raznovrsna, usled značajnih fitonutrijenata koji se nalaze u plodu šipka, semenu šipka, kao i u ulju semena. Zahvaljujući velikom sadržaju vitamina C, šipak je našao primenu u tradicionalnoj medicini, u prevenciji i lečenju širokog spektra bolesti uključujući pored prehlade i gripoznih stanja, i poremećaje/oboljenja poput dijabetesa, artritisa, išijasa, slabe periferne cirkulacije, poremećaja gastrointestinalnog, bubrežnog i urinarnog trakta (Chrubasik i sar., 2008). U Francuskoj, cvet šipka se koristi u narodnoj medicini, za lečenje skorbuta i hemoroida, kao anthelmintik i sredstvo za učvršivanje. U Bugarskoj se upotrebljava za lečenje bolesti gastrointestinalnog trakta, dok se u Rusiji preporučuje za lečenje bolesti pluća i infekcija gornjeg respiratornog trakta (Osinska, 2004). U tradicionalnoj kineskoj medicini se koristi lišće nekih *Rosa* vrsta u lečenju potkožnih

čireva i opekotina (Fenglin i sar., 2004). U regionalnom parku Etna, od cveta i lišća šipka se pripremaju preparati tipa dekokta, koji se koriste kod infekcija oka, za ispiranje (Tuttolomondo i sar., 2014).

U naučnim studijama utvrđeno je da plod šipka poseduje širok spektar bioloških delovanja, kao što su:

- antiinflamatorno delovanje (Deliorman i sar., 2007; Jager i sar., 2007; Wenzig i sar., 2008; Chrubasik i sar., 2008; Tuttolomondo i sar., 2014),
- antioksidativno delovanje (Baros i sar., 2010; Baros i sar., 2011; Egea i sar., 2010; Ozkan i sar., 2004; Grajzer i sar., 2015 ),
- antiproliferativno delovanje (Guimaraes i sar., 2014; Tumbas i sar., 2012),
- antidijabetsko delovanje (Chrubasik i sar., 2008; Kris-Etherton i sar., 1999; Ha i sar., 1989; Houseknecht i sar., 1998; Chahoud i sar., 2004; Andersson i sar., 2012),
- antimikrobno delovanje (Oyedemi i sar., 2016; Ozkan i sar. 2004; Horvath i sar., 2012; Živković i sar., 2015),
- antikancerogeno delovanje (Lu i sar., 2005; Macias-Sanchez i sar., 2010; Ganguly i sar., 1980; Liand i Tan, 1994; Ilić i sar., 2011; Ha i sar., 1989; Houseknecht i sar., 1998; Chahoud i sar., 2004; Piironen i sar., 2000),
- kardioprotektivno delovanje (Ganguly i sar., 1980; Ilić i sar., 2011; Ha i sar., 1989; Houseknecht i sar., 1998; Chahoud i sar., 2004; Andersson i sar., 2012).

Generalno, delovanje šipka je zasnovano na sinergističkoj aktivnosti C vitamina i drugih prisutnih vitamina sa, pre svega, flavonoidama i drugim fenolnim jedinjenjima (Ochmańska i sar., 2001; Padayatty i Levine, 2001; Kobus i sar., 2005; Adamczak, 2012).

Zbog blagotvornog delovanja primenjuje se i u terapiji artritisa (Sarić, 1989; Blumenthal, 2000; Varagić i Milošević, 2001; PDR, 2007; Chrubasik i sar., 2008), kao i u kozmetici i proizvodnji kozmetičkih preparata (Green i sar., 1994; Gollnick i sar., 1996; IFRA, 2017; Rothe i sar., 2011; Bremmer i sar., 2011; Rothe, 2011; Johnsen, 2004), za lečenje dermatoza i sličnih kožnih bolesti (Green i sar., 1994; Gollnick i sar., 1996).

## 2.4. Ekstrakcija

S obzirom na prirodu i sadržaj bioaktivnih jedinjenja koji se nalaze u herbi hajdučke trave i plodu šipka, može se pretpostaviti da bi herbalna prašina generisana tokom prerade ove dve biljne sirovine potencijalno mogla da se iskoristi kao polazna sirovina za dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem aromatičnih jedinjenja, masnih kiselina i tokoferola, ali i ekstrakata bogatih polifenolnim jedinjenjima. U tom smislu moguće je primeniti konvencionalne (Soxhlet ekstrakcija, maceracija, perkolacija, destilacija vodenom parom), ali i neke od savremenih tehnika ekstrakcije, kao što je ekstrakcija superkritičnim ugljen dioksidom, koje pri tome spadaju i u "zelene tehnologije". Odabir adekvatne ekstrakcione tehnologije zavisi na prvom mestu od strukture i hemijskog sastava sirovine koja se ekstrahuje, prirode bioaktivnih jedinjenja, a zatim i od zahteva kvaliteta ekstrakta koji se dobija, kao i cene primenjenog procesa.

Nedostaci konvencionalnih tehnika ekstrakcije su:

- dugo vreme ekstrakcije;
- velika potrošnja organskih rastvarača, vrlo često toksičnih (čija je cena uglavnom visoka, a odlaganje ima negativan uticaj na životnu sredinu) (Ramos i sar., 2002);
- nakon proizvodnje, ekstrakte je vrlo često potrebno koncentrovati i prečišćavati, usled male selektivnosti rastvarača, što poskupljuje proces proizvodnje;
- primenom ovih tehnika vrlo je teško očuvati stabilnost termolabilnih jedinjenja koja se u malom udelu nalaze u sirovini (Mustafa i Turner, 2011).

U cilju prevazilaženja navedenih nedostataka i unapređenja postupaka za ekstrakciju jedinjenja iz biljnog materijala, razvijene su savremene metode ekstrakcije poput mikrotalasne, ultrazvučne, ekstrakcije fluidima u subkritičnom i superkritičnom stanju. Savremene ekstrakcione tehnike su uglavnom razvijene u skladu sa principima "zelene" ekstrakcije (Chemat i sar., 2012). Cilj savremenih tehnologija ekstrakcije je da se postigne kompromis između ekonomskih i ekoloških zahteva, kao i da se obezbedi efikasna i brza proizvodnja bez neželjenih efekata na okolinu, uz dobijanje zdravstveno bezbednih proizvoda standardizovanog i visokog kvaliteta. Dalji zahtevi koji se nameću su povećana efikasnost ekstrakcije (prinos i selektivnost), redukcija i/ili eliminacija toksičnih rastvarača, kao i umerena potrošnja energije. U tom smislu, ekstrakcija

superkritičnim ugljen-dioksidom se svrstava u obećavajuću tehnologiju, jer obezbeđuje kvalitetan proizvod, uz potpuno uklapanje u koncept čistih i ekološki bezbednih procesa (Vladić, 2017).

## 2.5. Superkritična ekstrakcija

Superkritična ekstrakcija ili ekstrakcija superkritičnim fluidima predstavlja dobru alternativu konvencionalnim postupcima ekstrakcije zbog niza prednosti. Ova tehnologija počela je da se razvija u Nemačkoj (1979 god.) i doživela industrijsku primenu u prehrambenoj industriji (ekstrakcija kofeina iz zrna kafe i čaja, ekstrakcija hmelja). Dalji razvoj se odnosi na ekstrakciju biljnog materijala za potrebe farmaceutske i kozmetičke industrije (Filip, 2014). Do danas, fluidima u superkritičnom stanju ekstrahovan je veliki broj biljnih sirovina. Ovim postupkom, između ostalih, mogu se dobiti etarska i masna ulja, aromatične komponente, farmakološki aktivne supstance i komponente sa antioksidativnim i antibakterijskim dejstvom. U tabeli 7. dat je pregled primene superkritične ekstrakcije za izolovanje različitih komponenata iz prirodnih sirovina (Filip, 2014).

**Tabela 7.** Primeri primene superkritične ekstrakcije, u poslednjih desetak godina, za izolovanje različitih komponenata iz prirodnih sirovina (Filip, 2014)

| Biljni materijal              | Ekstrakt     | Reference   |
|-------------------------------|--------------|---|
| Seme celera                   | Etarsko ulje | Papamichail i sar., 2000  |
| <i>Ocimum basilicum</i>       | Etarsko ulje | Leal i sar., 2008   |
| Seme grožđa                   | Masno ulje   | Murga i sar., 2000  |
| <i>Rosmarinus officinalis</i> | Etarsko ulje | Ramirez i sar., 2005; Celiktas i sar., 2007; Babović i sar., 2009 |
| <i>Salvia officinalis</i>     | Etarsko ulje | Babović i sar., 2009  |
| <i>Thymus vulgaris</i>        | Etarsko ulje | Babović i sar., 2009  |
| <i>Hyssop officinalis</i>     | Etarsko ulje | Babović i sar., 2009  |
| <i>Mentha spicata</i>         | Etarsko ulje | Bimacr i sar., 2009   |
| Pšenična klica                | Masno ulje   | Gelmez i sar., 2009   |
| <i>Pistachia vera</i>         | Masno ulje   | Goli i sar., 2005   |
| <i>Origanum vulgare</i>       | Etarsko ulje | Cavero i sar., 2006   |
| Zrno soje                     | Masno ulje   | Jokić i sar., 2011  |
| Seme dinje                    | Masno ulje   | Nyam i sar., 2010   |
| Seme lana                     | Masno ulje   | Nikolovska i sar., 2008   |

|                           |              |                            |
|---------------------------|--------------|----------------------------|
| Seme paradajza            | Masno ulje   | Eller i sar., 2010         |
| Zeleni čaj                | Ekstrakt     | Chang i sar., 2010         |
| <i>Pimpinella anisum</i>  | Etarsko ulje | Rodrigues i sar., 2003     |
| Crvena paprika            | Oleorezin    | Duarte i sar., 2004        |
| <i>Juniperus communis</i> | Ulje         | Barjaktarović i sar., 2005 |

Superkritični fluid nema definisano stanje, već se njegove fizičko-hemijske karakteristike nalaze između karakteristika tečnosti i gasova. Upravo takvo stanje mu omogućava da bude pogodan rastvarač (Sahena i sar., 2009). Svaki fluid je okarakterisan kritičnom tačkom, koju definišu kritična temperatura i kritični pritisak (Brunner, 1984). Ukoliko se fluid nalazi na temperaturi iznad kritične, ne može da pređe u tečno stanje bez obzira na primenjeni pritisak (Sahena i sar., 2009; Xu i sar., 2011). Takođe, fluid ne može da pređe u superkritično stanje, bez obzira na stalno povećanje pritiska, ukoliko se nalazi na temperaturi nižoj od kritične temperature (Aladić, 2015). Gasovi pod pritiskom na temperaturi nižoj od kritične temperature prelaze u tečno stanje i imaju osobine rastvarača, dok na temperaturi iznad kritične prelaze u superkritično stanje, čime daju šire mogućnosti za ekstrakciju (Lepojević, 2000; Skala i sar., 2002). Superkritični fluidi se odlikuju velikom gustinom, bliskoj gustini tečnosti, što rezultuje velikom sposobnošću rastvaranja. S druge strane, poseduju veliku difuzivnost i mali viskozitet, kao gasovi, što doprinosi lakšoj penetraciji u materijal i rastvaranju (Sahena i sar., 2009; Filip, 2014).

Kao superkritični fluidi mogu se koristiti različiti gasovi (Brogle, 1982; Herrero i sar., 2006; Pourmortazavi i Hajimirsadeghi, 2007), a izbor gasa najviše zavisi od njegovih fizičko-hemijskih karakteristika i kritičnih parametara koji uslovljavaju njegovu sposobnost rastvaranja, zatim kompatibilnosti sa željenim proizvodom i sigurnosti pri korišćenju (Sovova i sar., 2001). 90-ih godina prošlog veka, objavljeno je nekoliko radova sa azot-suboksidom, kao superkritičnim fluidom. Ovaj fluid je smatran boljim rešenjem za polarna jedinjenja, zbog svog konstantnog dipolnog momenta. Nažalost, ovaj fluid je uzrokovao nasilne eksplozije kada je korišćen za uzorke koji su imali visok organski sadržaj, pa se iz tog razloga, upotrebljava isključivo kada je to apsolutno potrebno (Alexandrou i sar., 1992; Raynie, 1993). Etan, propan, etilen i dimetil etar su takođe preporučeni kao rastvarači za superkritičnu ekstrakciju, ali je utvrđeno da je sa aspekta sigurnosti bolji ugljen-dioksid, s obzirom da nije eksplozivan i zapaljiv (Favati i sar., 1991; Illes i sar., 1997). Voda (H<sub>2</sub>O) se često koristila kao superkritični fluid, ali zbog korozivne prirode pri

uslovima koji su potrebni (visoka temperatura i pritisak), ima ograničene praktične primene (Shaw i sar., 1991). Kada se kao superkritični fluidi koriste propan i butan, visoke koncentracije i čistoće, radni pritisak je mnogo niži, što je od izuzetnog značaja za proces, ali su ovo štetni gasovi jer su veoma zapaljivi, pa je njihova upotreba takođe ograničena (Ichim i sar., 2015). Herrero i sar. (2006) u tabeli 8. navode neke od rastvarača koji se primenjuju u superkritičnoj ekstrakciji, kao i njihove karakteristike.

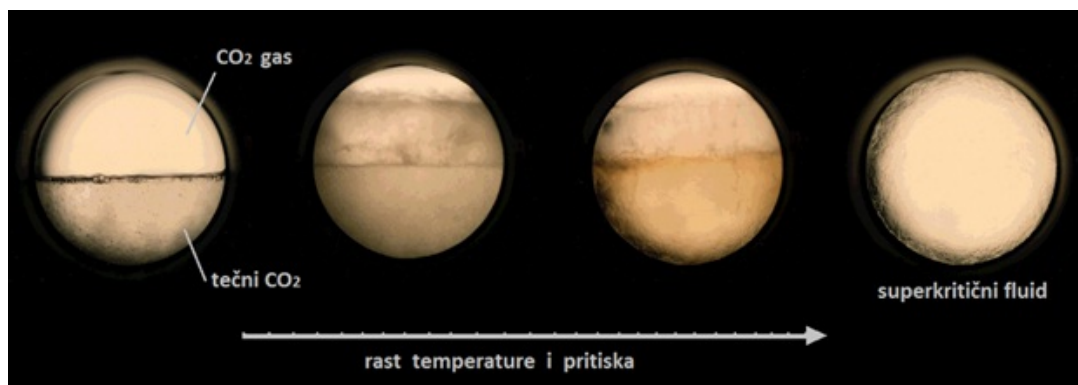
**Tabela 8.** Kritične karakteristike nekih od rastvarača koji se koriste u superkritičnoj ekstrakciji

| Rastvarač           | Kritična svojstva |                |                |  |
|---------------------|-------------------|----------------|----------------|--|
|                     | Temperatura (°C)  | Pritisak (atm) | Gustina (g/ml) | Rastvorljivost (cal <sup>-1/2</sup> cm <sup>-3/2</sup> ) |
| Ugljen-dioksid      | 31,2              | 72,9           | 0,470          | 7,5  |
| Etan                | 32,4              | 48,2           | 0,200          | 5,8  |
| Eten                | 10,1              | 50,5           | 0,200          | 5,8  |
| Metanol             | -34,4             | 79,9           | 0,272          | 8,9  |
| Azot-suboksid       | 36,7              | 71,7           | 0,460          | 7,2  |
| n-Buten             | -139,9            | 36,0           | 0,221          | 5,2  |
| n-Pentan            | -76,5             | 33,3           | 0,237          | 5,1  |
| Sumpor heksafluorid | 45,8              | 37,7           | 0,730          | 5,5  |
| Voda                | 101,1             | 217,6          | 0,322          | 13,5   |

Najčešće korišćen rastvarač u postupcima superkritične ekstrakcije (preko 90 %) je ugljen-dioksid, zbog niza prednosti u odnosu na ostale rastvarače (Damjanović i sar., 2003; Reverchon i De Marco, 2006; Reverchon i Senatore, 1992; Reverchon, 1997).

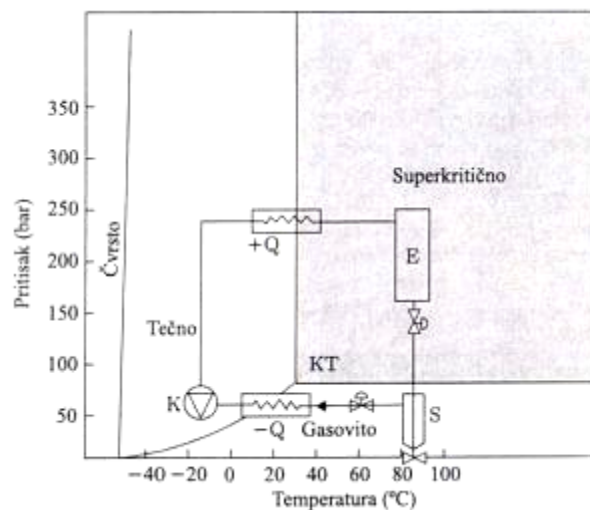
Ugljen-dioksid je gas koji na kritičnoj temperaturi (31,3 °C) i kritičnom pritisku (73,8 bar) prelazi u superkritično stanje u kome su tečna i gasovita faza izjednačene i formiraju novu homogenu fazu – superkritični fluid (Knežević, 2008). Na slici 13. prikazan je prelaz ugljen-dioksida u superkritično stanje (NASA, 2003).





**Slika 13.** Prelaz ugljen-dioksida u superkrično stanje (NASA, 2003)

Princip ekstrakcije ugljen-dioksidom u superkričnom stanju prikazan je na p-t dijagramu, na slici 14., na kome se vidi superkrična oblast u kojoj se odvija ekstrakcija, kao i oblast u kojoj se odvija separacija pri uslovima pritiska i temperature koji odgovaraju gasovitom stanju ugljen-dioksida (Lepojević, 2000).



**Slika 14.** Princip ekstrakcije superkričnim ugljen-dioksidom (Lepojević, 2000)

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

Generalno, rastvorljivost rastvorene supstance u rastvaraču zavisi od izbora superkričnog fluida i radnih parametara, pritiska i temperature (Bocevska i Sovova, 2007). Ovi parametri su direktno odgovorni za sastav ekstrakta i funkcionalnost komponenata (Diaz-Maroto

i sar., 2002). Povećanje pritiska utiče na povećanje gustine fluida i samim tim na povećanje prinosa ekstrakcije, koje ne mora uvek da bude prednost ekstrakcije, jer može da dođe do koekstrakcije pratećih jedinjenja koja su nepoželjna u finalnom proizvodu. Opšte pravilo je: što je veći pritisak, veća je moć rastvaranja, i manja selektivnost (Reverchon i De Marco, 2006). Sa porastom pritiska povećava se gustina superkritičnog ugljen-dioksida kao i rastvorljivost rastvorene supstance (Xu i sar. 2011). Sa druge strane, povećanje temperature dovodi do smanjenja gustine ugljen-dioksida, što kao posledicu ima smanjenje ukupnog prinosa (Da Silva i sar., 2016). Pored uticaja na ekstragens, temperatura predstavlja jedini parametar koji utiče na napon pare jedinjenja koje se ekstrahuje. Povećanjem temperature dolazi do povećanja napona pare lako isparljivih jedinjenja, a samim tim i njihove rastvorljivosti.

Biljni materijal koji se podvrgava ekstrakciji mora biti usitnjen do određenog stepena, odnosno mora biti sačinjen od čestica određene optimalne veličine. Smanjenjem veličina čestica povećava se njihova specifična površina, odnosno međufazna površina čvrsto-tečno, što povećava brzinu ekstrakcije. Sa druge strane, taj uticaj ne mora uvek imati pozitivan efekat, jer ukoliko je materijal previše usitnjen, sprečena je cirkulacija rastvarača, pri čemu je razdvajanje rastvarača i čvrstih čestica otežano (Sovilj, 2004). Stoga, pri izboru biljnog materijala, mora se voditi računa i o adekvatnoj usitnjenosti veličina čestice, kako bi ekstrakcija bila što efikasnija.

Protok ugljen-dioksida ne utiče na fizičko-hemijske osobine superkritičnog fluida, međutim ima direktan uticaj na fenomene prenosa mase, kao što su aksijalna disperzija, koeficijent konventivnog prenosa mase i akumulacija jedinjenja koja se ekstrahuju u superkritičnom fluidu (De Melo i sar., 2014). Povećanje protoka ugljen-dioksida dovodi do povećanja prenosa mase usled pomeranja koncentracionog gradijenta dovođenjem svežeg rastvarača. Međutim, u određenim slučajevima preveliko povećanje protoka može da dovede do smanjenja prinosa usled skraćanja vremena kontakta ekstragensa i biljnog materijala, kao i nedovoljnog vremena za unutrašnju difuziju. Dakle, ovaj parametar je takođe ključan za optimizaciju samog procesa superkritične ekstrakcije.

### 2.5.1. Prednosti i nedostaci superkritične ekstrakcije i ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom

Konvencionalne tehnike ekstrakcije uglavnom koriste visoke temperature, što može dovesti do destrukcije vrednih termolabilnih jedinjenja koja se nalaze u biljnoj sirovini koja se ekstrahuje. Takođe, upotreba organskih rastvarača u konvencionalnim tehnikama ekstrakcije može dovesti do "kontaminacije" dobijenog ekstrakta ostacima rastvarača (Zaidul i sar., 2006, 2007). Pored toga, konvencionalne tehnike ekstrakcije su vrlo često dugotrajne i zahtevaju rad na visokim temperaturama, što je energetski nepovoljno i veoma skupo.

Superkritična ekstrakcija ima niz prednosti u odnosu na konvencionalne tehnike ekstrakcije (Lang i Wai, 2001; King, 2002; Wang i Weller, 2006; Norhuda i Jusoff, 2009; Sahena i sar., 2009):

- kontrola moći rastvaranja superkritičnog fluida postiže se promenom pritiska i/ili temperature,
- razdvajanje ekstrakta od superkritičnog fluida je lako i brzo zbog mogućnosti regulisanja isparljivosti komponenata promenom pritiska i temperature,
- znatno bolje razdvajanje faza, koje nije moguće postići klasičnom ekstrakcijom,
- dodavanjem kosolvenata (metanola, etanola, vode i dr.) moguće je poboljšati rastvaranje i ekstrakciju polarnih komponenata čime se postiže veća selektivnost prilikom ekstrakcije,
- ekstrakcija termolabilnih komponenata sa minimalnim degradacijama, zbog rada na niskim temperaturama,
- nema zaostajanja rastvarača u dobijenom ekstraktu za razliku od upotrebe organskih rastvarača,
- Ugljen-dioksid je kao ekstragens ekološki prihvatljiv (GRAS, *Generally recognised as safe*), fiziološki bezopasan, netoksičan, nezapaljiv i ne izaziva probleme u procesnom inženjerstvu.

Nedostaci superkritične ekstrakcije u poređenju sa drugim postupcima ekstrakcije su:

- rad na relativno visokim pritiscima,
- veliki utrošak energije za komprimovanje gasova,
- znatni energetski troškovi za regeneraciju rastvarača,

- veliki investicioni troškovi za procesnu opremu i
- kompleksnost samog procesa ekstrakcije (Sahena i sar., 2009).

Radi preglednije i lakše komparacije superkritične ekstrakcije i konvencionalne ekstrakcije rastvaračima, Sahena i sar. (2009) su dali tabelarni prikaz prednosti i nedostataka obe ekstrakcione tehnike (tabela 9).

**Tabela 9.** Komparativni prikaz konvencionalne ekstrakcije i superkritične ekstrakcije (Sahena i sar., 2009)

| Konvencionalna ekstrakcija  | Superkritična ekstrakcija  |
|---|--|
| Prisustvo rastvarača u dobijenom ekstraktu je neizbežno. Preostali nivo rastvarača zavisi od vrste primenjenog rastvarača.  | Dobijeni ekstrakt je potpuno oslobođen od rastvarača.  |
| U dobijenim ekstraktima prisustvo teških metala se ne može izbeći i zavisi od rastvarača, metode reciklaže rastvarača, izvora sirovina, i materijala od koga su izgrađeni kontaktni delovi aparature.   | U dobijenom ekstraktu ne detektuju se teških metala, obzirom da u superkritičnom ugljen-dioksidu nisu rastvorljivi, čak i ako su prisutni u sirovini. Teški metali nisu prisutni ni u ugljen-dioskidu ni u opremi.   |
| U dobijenom ekstraktu sadržaj neorganskih soli se ne može izbeć.  | Dobijeni ekstrakt je potpuno oslobođen od neorganskih soli.  |
| Polarne supstance se rastvaraju zajedno sa lipofilnim materijama iz sirovine, zbog slabe selektivnosti rastvarača. Tokom procesa uklanjanja rastvarača, te polarne supstance formiraju polimere, koji dovode do promene boje ekstrakta i lošeg protoka. Sve ovo dovodi do toga da se ekstrakt razlikuje od osnovnih komponenti u sirovini.. | Ugljen-dioksid je visoko selektivan i ne postoji mogućnost da polarne supstance izgrade takve polimere kao u slučaju primene konvencionalnih tehnika ekstrakcije. Pored toga, radna temperature je samo 40 do 80 °C. |
| I polarne i nepolarne boje se ekstrahuju.   | Ekstrahuju se samo nepolarne boje.   |
| Uklanjanje rastvarača zahteva dodatne operacije čime se povećava cena koštanja procesa i smanjuje količina dobijenog korisnog materijala.   | Nisu potrebne dodatne operacije, i prinos dobijenog ekstrakta je veoma visok.  |

Prednosti i nedostaci superkritičnog ugljendiosa kao ekstragenta prikazani su u tabeli 10.

**Tabela 10.** Prednosti i nedostaci ugljen-dioksida kao superkritičnog fluida

| Prednosti CO <sub>2</sub> kao superkritičnog fluida  | Nedostaci CO <sub>2</sub> kao superkritičnog fluida                    |
|--|--|
| Netoksičan   | Mala moć rastvaranja polarnih jedinjenja i jedinjenja sa dugim lancima |
| Fiziološki inaktivan   | Relativno visok kritični pritisak                                      |
| Hemijski inertan   | Zbog potrebnog visokog pritiska, povećava se cena opreme               |
| Nezapaljiv   |  |
| Lako dostupan  |  |
| Niske cene   |  |
| Niskih vrednosti kritičnih parametara, pa se može vršiti ekstrakcija termički degradabilnih materija |  |
| Spada u tzv. "čiste tehnologije"   |  |
| Dobijeni proizvod ima dobar kvalitet i ne zahteva preradu  |  |

Prvi nedostatak superkritičnog ugljen-dioksida je taj što ima relativno malu moć rastvaranja polarnih jedinjenja i jedinjenja sa dugim lancima (Wang i sar., 2003), međutim ovaj nedostatak se može prevazići dodatkom kosolvenata (Pourmortazavi i Hajimirsadeghi, 2007; Herrero i sar., 2006; Zeković i sar., 2003). Polarni kosolventi imaju jak efekat na polarizaciju ugljen-dioksida, pa se njihovim dodatkom poboljšava ekstrakcija polarnih komponenata. Među najprihvatljivijim kosolventima za primenu u ekstrakciji superkritičnim ugljen-dioksidom su etanol i voda, ali se koriste i drugi. Na primer, dodatak 1 do 10 % metanola ili etanola ugljen-dioksidu širi njegov opseg ekstrakcije, uključujući više polarnih lipida. Kada se ekstrakcija izvodi sa superkritičnim ugljen-dioksidom koji sadrži 20 % etanola, više od 80 % fosfolipida je sačuvano iz ikre lososa (Tanaka i sar., 2004).

## 2.6. *Spray drying*

Tečni ekstrakti, dobijen primenom adekvatne ekstrakcione tehnike, mogu se transformisati u čvrsto odnosno praškasto stanje primenom nekoliko različitih tehnika sušenja. Na ovaj način dobijaju se koncentrovaniji, stabilniji i proizvodi jednostavniji za manipulaciju u industrijskim uslovima, jeftiniji u pogledu troškova transporta i skladištenja. Jedna od tehnika sušenja koja se najčešće primenjuje za dobijanje suvih ekstrakta u formi praha u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji jeste *spray drying*. Ova metoda je jednostavna, brza i efikasna, a prahovi dobijeni na ovaj način su dobrog kvaliteta (odgovarajućeg stepena vlage, gustine, veličine i raspodele veličine čestica itd.).

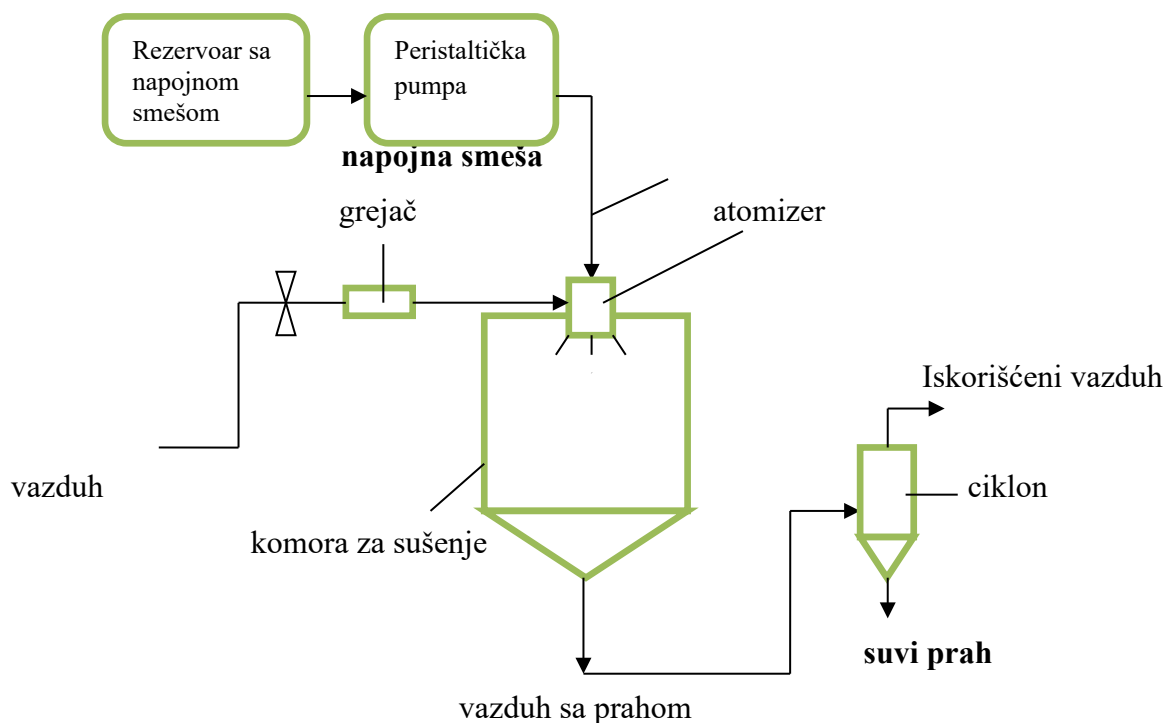
*Spray drying* tehnika ili sušenje sa raspršivanjem je jedna od najstarijih operacija kojom se tečni medijumi prevode u suhu, čvrstu materiju tokom samo jednog koraka proizvodnje (Oliveira, 2010). Prva značajna primena procesa sušenja sa raspršivanjem počinje još tokom 1920-tih u proizvodnji mleka i deterdženata, ali se ubrzo proširuje na proizvodnju mnoštva proizvoda prisutnih u našem svakodnevnom životu: hrane, kozmetičkih preparata, lekova, hemikalija, tkanina i elektronike (Rašković i sar., 2010). O tome koliko je ova tehnologija aktuelna svedoči i činjenica da se koristi u pogonu oko 20.000 industrijskih postrojenja širom sveta, i verovatno postoji dvostruko više laboratorijske i pilot opreme (Masters, 2004).

Ova tehnika predstavlja transformaciju čestica iz tečnog stanja u suve oblike, njihovim raspršivanjem u vreo medijum za sušenje. Tečni proizvodi koji se mogu sušiti na ovaj način su rastvori, suspenzije, disperzije ili emulzije. Osušeni proizvod može biti u obliku praška, granula ili aglomerata, u zavisnosti od fizičkih i hemijskih karakteristika tečnog materijala, dizajna opreme i procesnih uslova (Michael, 1993).

### 2.6.1. Princip *spray drying* procesa

Koncept procesa sušenja sa raspršivanjem je jednostavan: tečnost (rastvor, suspenzija, emulzija) se pumpa kroz raspršivač, formiraju se kapi tečnosti sa čvrstim komponentama i izlažu se pogodnoj struji gasa koja potpomaže isparavanje putem brzog masenog transfera tečnog nosača u gas. Kada se dovoljna količina tečne mase transformiše u paru, preostali čvrsti materijal u kapi formira pojedinačnu česticu koja se zatim odvaja iz struje gasa (Snyder i Lechuga-Ballesteros, 2008).

Šematski prikaz *spray drying* procesa, dat je na slici 15.



Slika 15. Šematski prikaz *spray drying* procesa

Tokom prevođenja tečnog ekstrakta u suvi ekstrakt primenom ove tehnike sušenja, dolazi do sledećih procesa:

- 1) raspršivanje, odnosno atomizacija napojne smeše,
- 2) kontakt kapljica i grejnog medijuma,

- 3) isparavanje rastvarača i
- 4) odvajanje čvrstih čestica od gasne faze.

Pre raspršivanja, obično se izvrši zagrevanje napojne smeše pri čemu se smanjuje njen viskozitet, što olakšava raspršivanje (Augsburger i Hoag, 2008).

### 1) Atomizacija napojne smeše

Prvi korak u procesu sušenja sa raspršivanjem je atomizacija ili raspršivanje napojne smeše. Vršiti se pomoću atomizera, koji raspršuje tečnost u vidu pojedinačnih kapi, i to je prvi faktor koji određuje veličinu osušenih čestica. Smatra se da veličina čestica finalnog proizvoda prvenstveno zavisi od inicijalne veličine kapi, a u manjoj meri od koncentracije rastvora i odnosa gustine rastvora i čestica (Miletić, 2013).

Dakle, atomizacija je proces kojim se tečnost dezintegriše u veliki broj finih kapljica. U idealnom slučaju, veličina svih kapljica trebalo bi da bude jednaka, dok je u praktičnim uslovima zadovoljavajuće i određeno odstupanje u raspodeli veličine manjeg broja kapljica (Rašković i sar., 2010).

Atomizer je jedan od najvažnijih delova svakog "spray dryer" uređaja i postoji nekoliko bitnih uslova koje on mora ispuniti (More Swati i sar., 2014):

1. Mora da raspršuje tečnost u male kapljice, koje moraju biti dobro raspoređene u uređaju, i dobro pomešane sa vrelim gasom;
2. Raspršene kapi ne smeju biti previše velikih veličina, da ne bi ostale neosušene, ali ni previše male, jer je kasnija upotreba produkta, u smislu rastvorljivosti, otežana. Takođe, male čestice se mogu previse isušiti i spaliti;
3. Mora da ujedno služi i za merenje, kontrolišući uslove pri kojima se materijal raspršuje u uređaju.

Pri izboru atomizera, važnu ulogu imaju osobine napojne smeše, karakteristike spreja i željene osobine konačnog, suvog proizvoda (Rašković i sar., 2010). Kod svih tipova atomizera, veličina kapljica se može menjati povećanjem ili smanjenjem energije atomizacije (povećanje energije atomizacije ima za posledicu smanjenje veličine kapljica). Za datu količinu energije, viskozitet i površinski napon napojne smeše utiču na veličinu kapljica (veće vrednosti ovih veličina rezultuju većim kapljicama spreja) (Gharsallaoui i sar., 2007; Haque i sar., 2015).



U najvećem broju slučajeva kao medijum za sušenje koristi se atmosferski vazduh. Tokom procesa atmosferski vazduh se uvodi kroz filtracioni sistem, a temperatura mu se reguliše prema unapred definisanim procesnim parametrima. Ukoliko je materijal koji se suši osetljiv na kiseonik ili je nestabilan, može se koristiti azot ili neki drugi inertni gasovi (Cal i Sollohub, 2010). Ulazna temperatura vazduha je izuzetno važan faktor u uklanjanju vlage iz proizvoda koji se suši. Performanse i efikasnost procesa sušenja zavise i od vlažnosti i temperature vazduha, koji se mogu kontrolisati i podešavati tokom procesa (Baker, 1997; Murugesan i Orsat, 2012).

## 2) Kontakt između kapi i medijuma za sušenje

Drugi korak procesa sušenja sa raspršivanjem definiše način na koji se raspršena tečnost i vazduh za sušenje dovode u kontakt. Ovaj kontakt se ostvaruje u komori za sušenje. Ulazni vazduh uvodi se u komoru za sušenje preko raspodeljivača vazduha, koji se obično sastoji od perforiranih ploča ili kanala sa zavojima, kojima se obezbeđuje jednak protok vazduha u svim pravcima. Da bi sušenje unutar komore bilo ujednačeno, raspodeljivač vazduha mora biti smešten na krovu komore za sušenje, a uređaj za atomizaciju u, ili u blizini, raspodeljivača vazduha. Na taj način postiže se trenutno i potpuno mešanje zagrejanog gasa za sušenje i atomizovanog oblaka kapljica (Rašković i sar., 2010).

Kretanje raspršenih kapljica klasifikuje se prema orijentaciji osnove komore za sušenje, i može biti: istostrujno, suprotnostrujno i mešovito (Haque i sar., 2015):

1. U istostrujnim dizajnima, smer kretanja napojne smeše i vazduha je isti. Ova vrsta sušenja je prioritetna za sušenje termosenzitivnih materijala, jer vlažni materijal dolazi u kontakt sa najsuvljim medijumom za sušenje (onim koji sadrži najmanje vlage), dok osušeni prah dolazi u kontakt sa medijumom za sušenje koji se postepeno hladi (Gharsallaoui i sar., 2007).
2. U suprotnostrujnim dizajnima, raspršene kapi i medijum za sušenje se kreću u suprotnim pravcima. U ovom procesu, najvreliji vazduh dolazi u kontakt sa česticama praha, što može uzrokovati nepovratno toplotno oštećenje proizvoda (Masters, 1997). Međutim, ovi dizajni su superiorni u pogledu toplotne i energetske ekonomičnosti (Haque i sar., 2015).

3. Mešoviti tok, kao kombinacija isto- i suprotnostrujnih metoda razvijena je radi iskorišćenja benefita oba procesa, to jest da bi se obezbedio odgovarajući kvalitet uz ekonomične troškove (Haque i sar., 2015).

### **3) Isparavanje rastvarača iz kapi**

Kada kapi napojne smeše dođu u kontakt sa vrelim vazduhom dešava se isparavanje rastvarača i nastaju suve čestice praha. Tokom isparavanja gradijent temperature i pritiska pare između kapi i gasovitog medijuma uspostavlja se na takav način da se prenos toplote odvija od medijuma za sušenje ka kapima, dok se transfer mase odvija iz kapi ka medijumu za sušenje. Kada medijum za sušenje i kapi dođu u međusobni kontakt, toplotni transfer uzrokuje povećanje temperature kapi dok se ne postigne konstantna vrednost, gde veći deo rastvarača isparava iz kapi. U ovom stanju brzina difuzije rastvarača iz unutrašnjosti ka površini kapi postaje gotovo konstantna i jednaka površinskoj brzini isparavanja. Konačno, kada čvrsti sadržaj u kapima/česticama poraste do određene vrednosti (što odgovara kritičnom sadržaju vlage), efektivna difuzija vlage se značajno smanjuje. Brzina sušenja rapidno se smanjuje kako se granica sušenja postepeno pomera ka unutrašnjosti čestica. Efektivna difuzija vlage i brzina sušenja postaju funkcija prirode i koncentracije čvrstog dela. Kada čvrste čestice napuste komoru za sušenje, njihova temperatura je slična izlaznoj temperaturi vazduha (Vidović i Vladić, 2017). U praksi čim vreo vazduh dođe u kontakt sa kapima napojne smeše, sušenje se odvija gotovo trenutno i dolazi do isparavanja sa površine svake kapi (Haque i sar., 2015). Ovo brzo isparavanje održava kapi hladnim dok se ne postigne suvo stanje. Obično je vreme sušenja reda veličine 5-100 s (Corrigan, 1995). Međutim, u dobro dizajniranim sistemima 15-30 s je uobičajeno vreme za prolazak čestice kroz zonu sušenja (Fogler i Kleinschmidt, 1938; Gharsallaoui i sar., 2007).

### **4) Separacija i sakupljanje praha**

Finalni korak u procesu sušenja raspršivanjem je sakupljanje praha. Ovo uključuje separaciju suvih čestica od medijuma za sušenje, što se najčešće postiže korišćenjem ciklona i vrećastog filtera koji je pozicioniran van komore za sušenje. Separacija čestica od medijuma za sušenje zavisi od gustine, veličine čestica i njihove brzine taloženja unutar ciklona (Haque i sar.,

2015). Efikasnost separacije zavisi i od dizajna samog ciklona, operativnih uslova, kao i raspodele veličina čestica ulaznog materijala (Vladić, 2017). Prednosti upotrebe ciklona su mehanička jednostavnost, visok stepen efikasnosti u sakupljanju praha i jednostavno čišćenje i pranje uređaja (Snyder i Lechuga-Ballesteros, 2008).

Kritični parametri sušenja sa raspršivanjem su (More Swati i sar., 2014 ):

1. Ulazna temperatura struje gasa: što je viša temperatura ulaznog vazduha, to je brže isparavanje vlage, ali više temperature mogu narušiti hemijsko-fizičke osobine toplotno osetljivih proizvoda (Michael, 1993);
2. Viskozitet: visok viskozitet ometa pravilno formiranje kapljica, što je viskozitet niži, manja energija i pritisak su potrebni za određenu formu raspršivanja;
3. Sadržaj čvrste materije: mora se voditi računa kada je visoko opterećenje čvrstim materijama (preko 30 %) za održavanje odgovarajuće atomizacije da bi se omogućilo pravilno formiranje kapi;
4. Površinski napon: dodatak male količine surfaktanta može značajno smanjiti površinski napon, što može rezultirati širim mlazom kod raspršivanja, manjom veličinom kapi i većom brzinom sušenja;
5. Temperatura medijuma za raspršivanje: kada je temperatura rastvora koji se raspršuje povećana, brže se može osušiti, s obzirom da unosi više energije u sistem;
6. Materijal mlaznice: u mnoge farmaceutske svrhe koriste se dodaci od nerđajućeg čelika. Međutim, mlaznice od volfram karbida su prilično dostupne, i otporne su na većinu abrazivnih i korozivnih supstanci iz sirovina.

## 2.7. Inkorporacija biljnih proizvoda i preparata u nove funkcionalne proizvode

Valorizacijom sporednog proizvoda industrije biljnog čaja, biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, relativno jeftina biljna sirovina primenjuje se za dobijanje visoko-vrednih proizvoda, na prvom mestu biljnih ekstrakata u tečnoj i suvoj formi. Jedan od takvih proizvoda je biljni instant čaj. Takođe, pored iskorišćenja za proizvodnju novih biljnih ekstrakata, biljna prašina određenih biljnih sirovina, odnosno vrsta, može biti upotrebljena bez dalje prerade, za proizvodnju prehrambenih proizvoda unapređenog kvaliteta. Jedan od takvih proizvoda je hleb sa dodatkom biljne prašine.

### 2.7.1. Instant čaj

Biljni instant čaj u čvrstom stanju jeste suvi ekstrakt određenog dela biljke, odnosno mešavina dva ili više suva ekstrakta različitih biljaka, kojima se mogu dodati aditivi u skladu sa propisom kojim se uređuje kvalitet i upotreba aditiva i aroma u hrani (Pravilnik o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda, 2012). Instant čaj, odnosno biljni instant čaj u čvrstom stanju, u pogledu kvaliteta treba da ispunjava sledeće uslove:

- da miris i ukus odgovaraju sirovini od koje su proizvedeni;
- da sadržaj vlage nije veći od 8 % m/m;
- da je rastvorljivost u vodi najmanje 95 % (Pravilnik o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda, 2012).

Biljni instant čaj može se dobiti primenom različitih metoda, a najčešće se koristi postupak granuliranja. Postoje dva postupka granuliranja koji se koriste u proizvodnji biljnih instant napitaka, i to suvi i vlažni postupak granuliranja.

Postupak vlažne granulacije, danas se najčešće koristi i obuhvata sledeće operacije:

- mlevenje supstanci u fini prah i njihovo mešanje,
- vlaženje praha rastvorom sredstva za vezivanje ili rastvaračem,
- potiskivanje navlažene mase kroz sito i

- sušenje i obrada granulata (Shanmugam, 2015).

Specijalne tehnike vlažne granulacije su:

- granulacije smeše pri visokom smicanju (*High shear mixture granulation*),
- granulacija u fluidizovanom sloju (*Fluid bed granulation*),
- oblikovanje sfernih čestica istiskivanjem (*Extrusion-spheronization*) i
- sušenje u fluidizovanom sloju (*Spray drying*) (Shanmugam, 2015).

Nedostaci postupka vlažne granulacije su cena koštanja, jer zahteva radnu snagu, vreme, opremu, energiju i prostor; nestabilnost osetljivih i termolabilnih supstanci zbog prisutne vlage; moguća nekompatibilnost između samih komponenata i teško kontrolisanje procesa (Shanmugam, 2015).

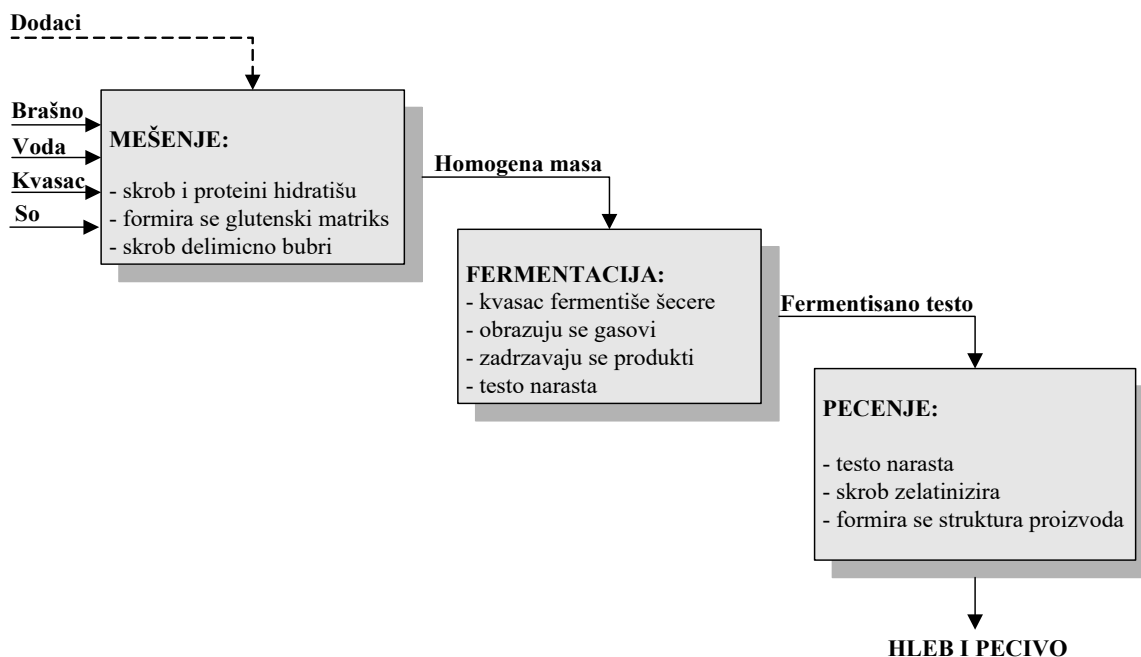
### 2.7.2. Hleb i pekarski proizvodi

Najveći deo svetskog stanovništva dnevne energetske potrebe zadovoljava prvenstveno iz ugljenih hidrata. Njihov najčešći izvor su žita, a za veći deo populacije pšenica je najvažnije žito za proizvodnju osnovnih životnih namirnica, zatim slede pirinač i kukuruz. Jedna od najčešćih primena žita jeste njihova primena za proizvodnju hleba i peciva. U sirovinskom sastavu različitih vrsta hleba nema značajnih razlika kada su u pitanju osnovne sirovine, ali su razlike evidentne u izboru dodatnih sirovina i dodataka (Lekić, 2010). U tehnologiji pekarskih proizvoda dodatne sirovine imaju ulogu u modifikaciji kvaliteta brašna (pekarski poboljšivači), postizanju funkcionalnih karakteristika proizvoda i poboljšanju njegove nutritivne vrednosti (Psodorov, 2006). U tehnologiji specijalnih vrsta pšeničnog hleba i peciva, pored brašna drugih žita (ovseno, kukuruzno, ražano i heljdino), koristi se i heljdino brašno, sirovine za poboljšanje nutritivne vrednosti (sojino brašno, pšenične mekinje, ovsene pahuljice), mleko i mlečni proizvodi, voće i proizvodi od voća, jestivo ulje, masti biljnog i životinjskog porekla i začini, konzervansi, arome i boje (prirodne i veštačke) (Lekić, 2010).

Poboljšanje senzorskog kvaliteta i trajnosti proizvoda, putem održanja svežine i sprečavanja mikrobiološkog kvara, uslovlila je primenu dodataka u pekarskim proizvodima u savremenom pekarstvu. Dodaci u pekarstvu imaju ulogu u korigovanju kvaliteta brašna i kvaliteta

hleba, usporavanju starenja sredine hleba i poboljšanju njegove nutritivne vrednosti (Psodorov, 2006).

Na sadašnjem stepenu razvoja pekarske industrije prednost imaju kombinovani dodaci. Namena i preporučena količina zavise od vrste i sadržaja aktivnih komponenti u smeši. Njihov uticaj se najbolje prati promenom reoloških pokazatelja testa, a krajnji efekat delovanja utvrđuje se na osnovu kvaliteta gotovog proizvoda (Bojat i sar. 1993).



**Slika 16.** Osnovne faze tehnološkog procesa izrade hleba i peciva (Psodorov, 2006)

Svim postupcima izrade hleba i peciva od kvasnog testa zajedničke faze su: mešenje, fermentacija i pečenje. U ovim fazama odigravaju se najznačajniji biohemijski i koloidni procesi (slika 16). Uprkos relativno jednostavnom sastavu, tokom izrade hleba i peciva neophodno je punu pažnju posvetiti njegovim reološkim osobinama, koje bitno uslovljavaju tehnološki proces i utiču na većinu parametara kvaliteta gotovog proizvoda. U svakoj fazi proizvodnog procesa, testo je izloženo nekom vidu naprezanja (Morgenstern i sar. 1999; Millar 2000; Dobraszczyk 2000). Deformacije koje nastaju kao rezultat pomenutih naprezanja mogu biti kako elastične tako i viskozne, jer testo poseduje osobine i čvrstih i tečnih tela, odnosno pripada grupi realnih

viskoelastičnih sistema (Salvador i sar. 2003). Posebna pažnja pri inkorporiranju funkcionalnih dodataka se posvećuje upravo izučavanju reoloških osobina testa koje bitno utiču na kvalitet gotovuih pekarskih proizvoda.

Kao i u ostalim granama prehrambene industrije tako i u savremenoj pekarskoj postoji konstantna težnja proizvodnje unapređenih proizvoda inkorporacijom novih prirodnih dodataka i preparata, te u tom smislu lekovito bilje i posebno biljni ekstrakti postaju sve zanimljiviji.

### 3. EKSPERIMENTALNI DEO

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije je urađen u laboratorijama Katedre za biotehnologiju i farmaceutsko inženjerstvo, Tehnološkog fakulteta Novi Sad, u laboratorijama Katedre za inženjerstvo ugljenohidratne hrane, Tehnološkog fakulteta Novi Sad, u SP laboratoriji, Bečej, kao i u Veterinarskom zavodu, Vinkovci, Hrvatska.

#### 3.1. Hemikalije i reagensi

U eksperimentalnom radu korišćeni su: Folin-Ciocalteu reagens, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•), ferihlorid, galna kiselina, katehin, karvakrol, linalool,  $\alpha$ -terpineol, eukaliptol, kamfor,  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol, maltodekstrin (Sigma Aldrich GmbH, Sternheim, Nemačka); etanol,  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Centrohema, Stara Pazova, Srbija); metilen hlorid (Zorka-Pharma, Šabac, Srbija); n-heksan (Fisher Chemical, Loughborough, UK); natrijum-karbonat (Betahem, Beograd, Srbija); natrijum-nitrit (Kemika, Zagreb, Hrvatska); metanol (J. T. Baker, Deventer, Holandija); petroletar, dietil etar, natrijum-hidroksid (Lach-Ner, Neratovice, Češka); komercijalni ugljendioksid ( $\geq 99\%$ ) (Messer Tehnogas, Novi Sad, Srbija); destilovana voda.

Za proizvodnju instant čaja primenjeni su dekstroza, kukuruzni i vodootopivi skrob, dok su za izradu funkcionalnog hleba upotrebljeni namensko brašno za kisela testa i domaću testeninu T-500, proizvođača "Danubius doo" iz Novog Sada, kuhinjska so proizvođača "Kristal doo" iz Beograda, sveži pekarski kvasac proizvođača "Vrenje" iz Beograda, kao komercijalni aditiv "Plavi tigar doo" iz Kragujevca.



### 3.2. Aparati i uređaji

Aparati i uređaji korišćeni u eksperimentalnom radu su:

- Uređaj za ekstrakciju ugljen-dioksidom u superkritičnom stanju (HPEP - High Pressure Extraction Plant) - NOVA Swiss, Effretikon, Švajcarska;
- *Spray dryer* komora za sušenje - Anhydro, Danska;
- Atomizer - Bosch, Nemačka;
- Peristaltička pumpa, magnetna mešalica - IKA Werke GmbH & Co. KG, Nemačka;
- Analitička vaga - Sartorius 2474, Nemačka;
- Spektrofotometar - Jenway 6300 VIS, Velika Britanija;
- Aparat za gasnu gromatografiju: GC 6890N, MS 5795; MS 5975C; 7697A Headspace sampler - Agilent, SAD;
- Set sita - Erweka, Nemačka;
- Uređaj za granuliranje instant čaja tipa FGS sa pogonskim elektromotorom AR - Erweka, Nemačka;
- Farinograf sa mesilicom, ekstenzograf i maturograf - Brabender, Duisburg, Nemačka;
- Laboratorijska peć - Chopin, Bolonja, Francuska.

### 3.3. Biljni materijal

Biljni materijal korišćen u ovoj doktorskoj disertaciji je sporedni proizvod i otpad nastao iz proizvodnje herbalnog filter čaja lokalnog proizvođača filter čaja "Fructus" Bačka Palanka. Ispitivana su dva proizvoda iz 2012. godine, herbalna prašina hajdučke trave (*A. millefolium*) i ploda šipka (*R. canina*). Sporedni proizvod u procesu proizvodnje filter čaja predstavlja materijal dobijen nakon sečenja, mlevenja, prosejavanja i frakcionisanja, a koji je neodgovarajuće veličine čestica biljnog materijala, odnosno veličine čestica manje od veličine pora filter kesice. Šema tehnološkog procesa proizvodnje filter čaja, kao i nastajanje sporednih proizvoda, detaljnije su opisani u poglavlju 2.1.

### 3.3.1. Veličina čestica biljnog materijala

Srednja veličina čestica polaznog materijala određena je prosejavanjem kroz set sita. Izmerena je masa biljnog materijala koja je zaostala na svakom situ nakon prosejavanja, i srednji prečnik čestica određen je pomoću jednačine:

$$\frac{100}{d} = \sum \left( \frac{m_i}{d_i} \right)$$

gde su:  $d$  - srednji prečnik čestica,  $m_i$  - maseni procenat  $i$ -te frakcije (%) a  $d_i$  - srednji prečnik  $i$ -te frakcije (mm) (Lepojević Ž., 2000). Za određivanje srednjeg prečnika usitnjenog biljnog materijala korišćen je set sita proizvođača Erweka.

### 3.3.2. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage u biljnom materijalu određen je gravimetrijski, iz razlike mase biljnog materijala pre i posle sušenja. Sadržaj je izražen u procentima (% m/m). Sušenje biljnog materijala rađeno je na 105 °C do konstante mase (*European Pharmacopeia 6th Edition*, 2007). Oba uzorka, biljna prašina ploda šipka i biljna prašina herbe hajdučke trave, su ispitana u tri ponavljanja.

### 3.3.3. Određivanje sadržaja etarskog ulja

Sadržaj etarskog ulja u ispitivanom biljnom materijalu određen je destilacijom pomoću vodene pare (Lepojević Ž.,2000; *Ph Jug IV*). Sadržaj etarskog ulja izražen je u procentima. Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja.

Prilikom određivanja sadržaja etarskog ulja u biljnom materijalu herbe hajdučke trave primenjen je metod koji podrazumeva određivanje sadržaja uz dodatak petroletra (Lepojević Ž., 2000).

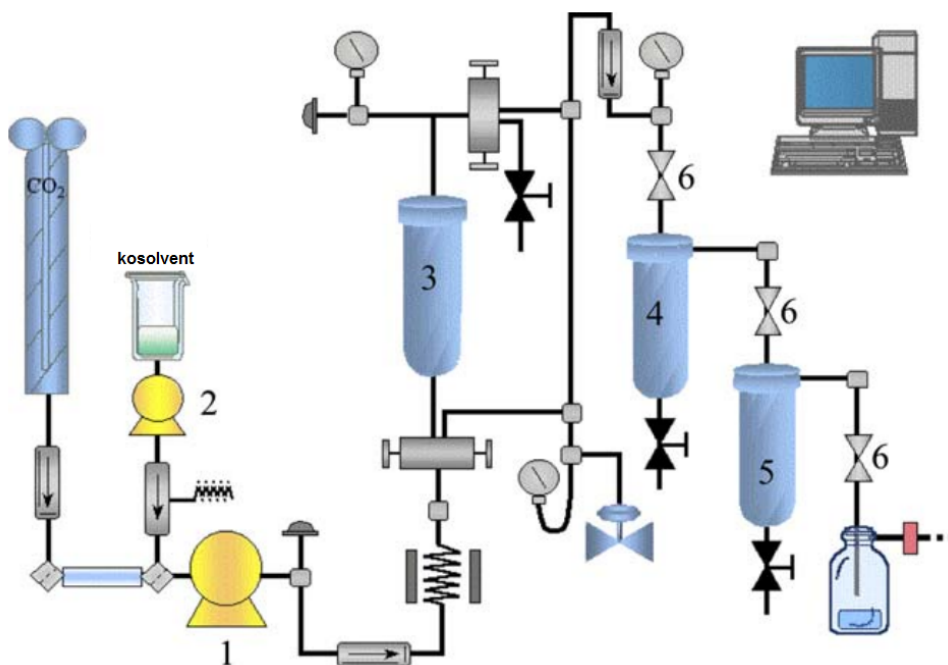
### **3.4. Soxhlet ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka n-heksanom i metilen hloridom**

Soxhlet ekstrakcijom su određeni sadržaji ukupnih masti u biljnoj prašini herbe hajdučke trave i ploda šipka. Precizno izmerena masa biljnog materijala preneti je u ekstrakcionu čauru koja je postavljena u Soxhlet ekstraktor na koji je vezan povratni hladnjak. U balon je zatim dodat ekstragens. Kao ekstragensi primenjeni su n-heksan i metilenhlorid. Vreme ekstrakcije iznosilo je 6 h. Nakon završene ekstrakcije rastvarač je uklonjen uparavanjem na rotacionom vakuum uparivaču do suva, a dobijeni ekstrakti su dalje sušeni na 40 °C tokom 24 h. Za tako dobijene suve ekstrakte određen je prinos ekstrakcije i izražen u procentima (%). Dalje, dobijenim ekstraktima određen je sadržaj hlorofila i karotenoida, a zatim ove vrednosti upoređene sa vrednostima dobijenim za ekstrakte istih mešavina dobijenih superkritičnom ekstrakcijom.

Biljni materijal primenjen u Soxhlet ekstrakciji sastojao se od čiste biljne prašine ploda šipka, čiste biljne prašine herbe hajdučke trave, kao iz njihovih mešavina. Mešavine su pripremljene sa sledećim udelom biljne prašine herbe hajdučke trave u biljnoj prašini ploda šipka: 0 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 % i 100 %. Iz čiste biljne prašine ploda šipka dobijen je jedan ekstrakt, iz čiste biljne prašine herbe hajdučke trave takođe je dobijen jedan ekstrakt, a iz mešavina ukupno devet ekstrakata. Nakon ekstrakcije dobijeni ekstrakti su preneti u staklene bočice, koje su zatvorene i skladištene na temperaturi od 4 °C, radi prevencije moguće degradacije.

### 3.5. Ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka superkritičnim ugljen-dioksidom

Ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom rađena je na laboratorijskom uređaju *High Pressure Extraction Plant*, čija je šema prikazana na slici 17 (Herrero i sar., 2006).



**Slika 17.** Šema laboratorijskog uređaja za ekstrakciju ugljen-dioksidom (Herrero i sar., 2006)

1) kompresor, 2) pumpa za kosolvent, 3) ekstraktor, 4) I separator, 5) II separator i 6) ventili

Superkritična ekstrakcija ugljen-dioksidom je rađena na dve temperature (40 i 60 °C) i na tri pritiska (100, 200 i 300 bar). Ekstraktor je napunjen sa ukupno 50 g biljnog materijala koji se ekstrahuje. Protok ugljen-dioksida (0,194 kg/h) i vreme ekstrakcije (5 h) su bili konstantni u svim eksperimentima. Odvajanje dobijenog ekstrakta od ugljen-dioksida rađeno je u separatoru na uslovima separatora 15 bar i 23 °C. U vremenskim intervalima od 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 i 5 h, praćena je kinetika ekstrakcije za sve ispitivane biljne sirovine.

Superkritična ekstrakcija, na navedenim uslovima, rađena je iz čiste biljne prašine ploda šipka, čiste biljne prašine herbe hajdučke trave, kao iz njihovih mešavina. Mešavine su

pripremljene sa sledećim udelom biljne prašine herbe hajdučke trave u biljnoj prašini ploda šipka: 20 %, 40 %, 60 %, 80 %. Iz čiste biljne prašine ploda šipka dobijeno je ukupno 6 ekstrakata, iz čiste biljne prašine herbe hajdučke trave takođe 6 ekstrakata, a iz mešavina je dobijeno ukupno 24 ekstrakta. Nakon ekstrakcije dobijeni ekstrakti su preneti u staklene bočice, koje su zatvorene i skladištene na temperaturi od 4 °C, radi prevencije moguće degradacije. Za sve ekstrakte određen je prinos ekstrakcije i izražen kao g/100g ekstrakta.

### 3.5.1. Određivanje sadržaja hlorofila i karotenoida

Hlorofil A, hlorofil B, hlorofili A + B i ukupan sadržaj karotenoida određeni su primenom spektrofotometrijskih analiza prema Vellburn-u (1994) i Dere-u i sar. (1998) sa malim modifikacijama. Sadržaj hlorofila i karotenoida određen je u biljnoj sirovini-biljnoj prašini kao i ekstraktima hajdučke trave i šipka koji su dobijeni primenom Soxhlet ekstrakcije. Priprema uzoraka bila je različita za ispitivani biljni materijal-biljnu prašinu i za biljne ekstrakte.

**Postupak određivanja sadržaja hlorofila i karotenoida u biljkama:** biljni materijal (0,5 g) pomešan je sa približno 15 mL dietil etra u epruveti, a zatim podvrgnut ultrazvučnoj ekstrakciji u trajanju od 3 min. Nakon toga, ekstrakt i čvrsta faza su odvojeni filtracijom, a zaostao čvrsti biljni materijal je ispiran rastvaračem za ekstrakciju dok se boja nije potpuno uklonila. Zatim je ekstrakt prenet u normalni sud, dodata je određena zapremina rastvarača do ukupne zapremine od 25 mL i ovaj rastvor je primenjen za merenje apsorbance.

**Postupak određivanja sadržaja hlorofila i karotenoida u ekstraktima:** odmereno je oko 100 mg ekstrakta dobijenog postupkom Soxhlet ekstrakcije, ili 100 mg ekstrakta koji je dobijen primenom superkritične ekstrakcije i pomešano sa dietil etrom u epruveti u odnosu 1:50 (v/v). Smeša je zatim tretirana ultrazvukom u ukupnom trajanju od 1 min u ultrazvučnom kupatilu, nakon čega je rađena homogenizacija u trajanju od 30 s, a zatim ponovo urađen ultrazvučni tretman u ultrazvučnom kupatilu. Dobijena smeša je centrifugirana u trajanju od 10 min na 3000 rpm (1100 g), a dobijeni supernatant dalje primenjen za merenje apsorbancije.

Poznato je da hlorofil A pokazuje maksimum apsorbance na 660 nm, hlorofil B na 642 nm, dok većina karotenoida ima maksimum apsorbance na 470 nm (Pavlić i sar., 2015). Ovi

podaci su primenjeni za merenje apsorbanci u ispitivanim uzorcima. Sadržaj analiziranih pigmenata u ispitivanim uzorcima izračunat je prema sledećim jednačinama:

$$\text{Chl A} = 9.93 \times A_{660} - 0.78 \times A_{642} \quad (1)$$

$$\text{Chl B} = 17.60 \times A_{642} - 2.81 \times A_{660} \quad (2)$$

$$\text{Chl A} + \text{B} = 7.12 \times A_{660} + 16.80 \times A_{642} \quad (3)$$

$$\text{TC} = (1000 \times A_{480} - 0.52 \times \text{Chl A} - 7.25 \times \text{Chl B}) / 226 \quad (4)$$

gde su Chl A, Chl B, Chl A + B i TC, hlorofil A, hlorofil B, hlorofili A + B i sadržaj ukupnih karotenoida u mg/mL, respektivno, a A480, A642 i A660 su apsorbance izmerene na 480, 642 i 660 nm, respektivno.

Sadržaji hlorofila i karotenoida u ekstraktima i biljnim materijalima izračunati su primenom sledeće jednačine:

$$m = (C \times V \times \text{DF}) / G \times 1,000 \quad (5)$$

gde je: m - sadržaj Chl A, Chl B, Chl A + B i TC u mg/g suvog biljnog materijala ili ekstrakta,

C - izračunata koncentracija Chl A, Chl B, Chl A + B i TC iz jednačina (1) - (4),

V - zapremina dietil etra koji se koristi za ekstrakciju (u mL),

DF - faktor razređivanja, a

G - inicijalna masa uzorka (suva biljka ili ekstrakt).

Da bi se obezbedile potpune informacije o prinosu hlorofila i karotenoida prinos je preračunat i izražen kao mg na 100 g suvog biljnog materijala (mg/100g DP) i mg po g ekstrakta (mg/g E).

### **3.5.2. Gasno-hromatografska analiza ekstrakata biljne prašine hajdučke trave i šipka dobijenih superkritičnim ugljen-dioksidom**

#### **3.5.2.1. GC/MS i GC/FID analiza aromatičnih jedinjenja**

Analiza uzoraka izvršena je pomoću GC/MS i GC/FID hromatografije. Za razdvajanje komponenti korišćen je gasni hromatograf GC 9890N, opremljen split/splitless injektorom, HP5MS kapilarnom kolonom (30m × 0,25 mm, 0,25 µm). Kvantifikacija supstanci izvršena je na osnovu standarda. Uzorci i rastvori referentnih standardnih supstanci su injektovani u zapremini od 5 µl, pri split odnosu 1:30. Kvantifikacija komponentata je urađena pomoću plameno-jonizujućeg detektora (FID), korišćenjem kalibracionog dijagrama za svaku pojedinačnu komponentu. Standardne supstance su rastvorene u metanolu pri čemu je dobijena serija rastvora koncentracija od 1 do 500 µg/mL. Minimalni koeficijent korelacije (r) za dobijene jednačine iznosio je 0,99. Uslovi rada GC/MS instrumenta: temperatura injektora 250 °C; linearni temperaturni režim od 60 do 150 °C (4 °C/min). Kao gas nosač korišćen je He (2mL/min). Uslovi rada GC/FID instrumenta: temperatura injektora 250 °C; linearni temperaturni režim od 60 do 150 °C (4 °C/min); temperatura detektora 300 °C.

Identifikacija organskih komponenti rađena je pomoću masenog spektrometra MS 5795, poređenjem masenog spektra jedinjenja dobijenog iz uzorka na odgovarajućem retencionom vremenu i masenog spektra iz baze podataka masenih spektara. Korišćene su biblioteke sa podacima masenih spektara Wiley 7n i NIST 05.

#### **3.5.2.2. GC/MS analiza tokoferola**

Uzorci za GC/MS analizu su dobijeni rastvaranjem 0,5 g uzorka u 50 mL KOH. Za analizu tokoferola koristi se Agilent 7890A GC opremljen sa Agilent 5975 MSD. Za ovu analizu GC-MS je opremljen kolonom HP-5MS (Agilent J&V 19091S-433) (30m x 0,25 mm ID, 0,25 µm). Temperatura injektora bila je 250 °C, bez deljenja uzorka (kompletno ubrizgan uzorak se uvodi u kolonu). Temperatura prenosne linije bila je 280 °C. Početna temperatura je iznosila 200

°C u trajanju od 3 min, a zatim je programirana kao 8 °C/min do 280 °C. Noseći gas bio je He. Uslovi masenog detektora (MS) su bili: skeniranje (45 do 450 amu, prag 100, temperatura izvora 250 °C, a detektora 150 °C). Injektovana zapremina uzorka bila je 1 µL. Identifikacija komponenti obavljena je na osnovu kompjuterskog poređenja sa NIST (Nacionalni institut za standard i tehnologiju) 2008 MS biblioteke. Kvantitativna analiza je obezbeđena na osnovu izrađenih kalibracionih krivih. Za izradu krivih kalibracije korišćena su standardna jedinjenja. Sve analize su izvedene u tri ponavljanja, a vrednosti dobijenih rezultata su prikazane kao njihova aritmetička sredina.

### **3.6. Konvencionalna čvrsto/tečna ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave i šipka etanolom**

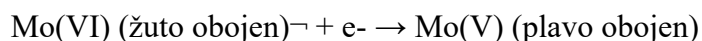
Ispitivani biljni materijal-biljna prašina ekstrahovan je sa 30, 50 i 70 % etanolom primenom maceracije. Vreme ekstrakcije iznosilo je 5 dana, a ekstrakcija je rađena na sobnoj temperaturi. Odnos droge i rastvarača u slučaju biljne prašine hajdučke trave iznosio je 1:10 i 1:5, dok je odnos droga rastvarač u slučaju ekstrakcije biljne prašine ploda šipka iznosio 1:5. Nakon isteka predviđenog vremena ekstrakcije, ekstrakti su odvojeni od iscrpljenog biljnog materijala filtriranjem. Na ovaj način dobijeno je 6 različitih ekstrakata iz biljne prašine herbe hajdučke trave i 3 ekstrakta iz biljne prašine ploda šipka. Nakon ekstrakcije dobijeni ekstrakti su preneti u staklene bočice, koje su zatvorene i skladištene na temperaturi od 4 °C, radi prevencije moguće degradacije.

Za sve ekstrakte određen je prinos ekstrakcije i izražen kao mg/mL. U dobijenim etanolnim ekstraktima su dalje određivani sadržaj ukupnih fenola i sadržaj ukupnih flavonoida.



### 3.6.1. Određivanje sadržaja ukupnih fenola u etanolnim ekstraktima

Određivanje sadržaja ukupnih fenola rađeno je metodom po Folin-Ciocalteu (Singelton i Rosi, 1965; Kahkonen i sar., 1999). Ova metoda zasniva se na spektrofotometrijskom određivanju sadržaja ukupnih fenola u reakcionoj smeši ispitivanog ekstrakta, destilovane vode, Folin-Ciocalteu reagensa (smeša fosformolibdatske i fosforvolframske kiseline) i 20 % rastvora natrijum-karbonata. Kod ovog određivanja stvara se kompleksan polimerni jon sa fosformolibdatskom ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) i fosforvolframskom ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) kiselinom. Ovaj reagens oksiduje polifenolne materije, a sam se redukuje u smešu volframoksida ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) i molibdenoksida ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). Rastvor postaje intezivno plave boje, a intenzitet obojenosti je srazmeran koncentraciji polifenolnih jedinjenja (González-Gómez D. i sar., 2010).



U 0,1 mL ekstrakta dodato je 7,9 mL destilovane vode, 0,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 1,5 mL 20 % natrijum-karbonata. Slepna proba je pripremljena na isti način dodavanjem 8 mL destilovane vode. Nakon inkubacije od sat vremena na sobnoj temperaturi izmerena je apsorbanca na talasnoj dužini od 750 nm. Za određivanje sadržaja ukupnih fenola primenjena je kalibraciona kriva standardnog rastvora galne kiseline.

Sadržaj ukupnih fenola u ispitivanim etanolnim ekstraktima izražen je u mg ekvivalenta galne kiseline po 1 mL ekstrakta (mg EGK/mL). Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja.

### 3.6.2. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida u etanolnim ekstraktima

Sadržaj ukupnih flavonoida u etanolnim ekstraktima određen je kolorimetrijskom metodom po Markham-u (1989). U 1 mL uzorka dodato je 4,0 mL destilovane vode i 0,3 mL 5 % Na-nitrita. Kao slepa proba primenjena je smeša u koju je umesto 1 mL uzorka dodato 1 mL destilovane vode. Smeša je inkubirana na sobnoj temperaturi 6 minuta. Nakon inkubacije u

reakcionu smešu je dodato 0,3 mL  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  i 5 minuta kasnije još 2 mL  $1\text{ mol/dm}^3$  NaOH. Dobijena smeša je dopunjena destilovanom vodom do ukupne zapremine od 10 mL. Absorbanca uzorka je izmerena na talasnoj dužini od 510 nm. Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja. Ukupan sadržaj flavonoida u analiziranim uzorcima izražen je kao mg ekvivalenta katehina po mL ekstrakta (mg EK/mL).

### 3.7. Sušenje ekstrakata primenom *spray drying* tehnike

Primenom tehnike *spray drying* osušeni su ekstrakti biljne prašine herbe hajdučke trave dobijeni metodom konvencionalne čvrsto-tečne ekstrakcije, a koji su u prethodnim eksperimentima pokazali najbolje karakteristike (ekstrakt biljne prašine herbe hajdučke trave dobijen primenom 50 % etanola, pri odnosu droga rastvarač 1:10).

Napojna smeša za sušenje pripremljena je mešanjem dobijenih ekstrakata i rastvora maltodekstrina (DE16). Za uzorak hajdučke trave, urađeno je sušenje bez dodatka maltodekstrina kao nosača, sa dodatkom 5 i 10 % maltodekstrina, i bez dodatka maltodekstrina uz prethodno uparavanje 40 % tečnog ekstrakta. Rastvor maltodekstrina je pripremljen rastvaranjem u destilovanoj vodi i neposredno je pre svakog sušenja dodat pripremljenim tečnim ekstraktima uz mešanje od 15 minuta. Smeša ekstrakta i rastvora maltodekstrina je konstantno tokom procesa mešana pomoću magnetne mešalice i grejana na temperaturi od 30 °C. Napojna smeša uvedena je u *spray drying* sistem pomoću peristaltičke pumpe (konstantnog protoka od 4,3 L/h).

Sušenje je sprovedeno u poluindustrijskom uređaju proizvođača Anhydro, Danska. U procesu sušenja brzina atomizera je iznosila 20.000 - 21.000 rpm. Ulazna temperatura vazduha je bila u opsegu 135-140 °C, dok je izlazna temperatura bila u opsegu 60-70 °C. Dobijeni prah-suvi ekstrakt je izdvojen iz struje vazduha pomoću ciklonske separacione metode. Nakon sakupljanja, suvi ekstrakt je skladišten u staklenoj ambalaži, u eksikatoru, do narednih analiza.

### 3.7.1. Efikasnost procesa sušenja

Efikasnost procesa sušenja se izražava kao procenat mase finalnog praha dobijenog u procesu sušenja u odnosu na masu čvrste materije (suvog ostatka), prethodno utvrđene u napojnoj smeši, odnosno tečnom ekstraktu.

### 3.7.2. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage u dobijenim suvim ekstraktima biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka određen je gravimetrijskim postupkom, prethodno opisanim u poglavlju 3.3.2. Rezultat je izražen u procentima (%). Analiza je urađena u tri ponavljanja.

### 3.7.3. Određivanje higroskopsnosti

Higroskopsnost je određena prema metodi Cai i Corke (2000), sa izvesnim modifikacijama. Uzorak suvog ekstrakta (približno 1 g, precizno izmeren) unet je u Petri šolju, a Petri šolja je unesena u eksikator u kome su prethodno postignuti sledeći uslovi: temperatura 23 °C i relativna vlažnost 70 % (obežbeđuje se pomoću rastvora natrijum-hlorida) (Vidović i sar., 2014). Higroskopsnost analiziranih suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka je merena nakon 90 minuta i 48 h i rezultat je izražen u procentima (%). Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja.

### 3.7.4. Određivanje protočnosti

Određivanje protočnosti ispitivanih suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka je zasnovano na merenju ugla formiranog između bočne površine i baze konusa koji se dobija kada se 10 g suvog ekstrakta sipa kroz levak sa određene visine na ravnu horizontalnu površinu, prema metodi opisanoj u radu Bhandari i sar. (1993). Dobijeni rezultati su izraženi u stepenima (°).

### 3.7.5. Određivanje nasipne zapremine

Nasipna zapremina ispitivanih suvih ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka je određena merenjem zapremine određene mase uzorka. 20 g suvog ekstrakta je preneseno u graduisanu menzuru zapremine 100 mL i potom izloženo vibraciji (2 min). Nakon toga, očitana je zapremina suvog ekstrakta i vrednost nasipne zapremine je izražena kao masa (u g) suvog ekstrakta po mL (Vladić, 2017). Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja.

### 3.7.6. Određivanje vremena rehidracije

Rehidracija suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka se određuje mešanjem 1 g suvog ekstrakta i 50 mL destilovane vode na sobnoj temperaturi i merenjem brzine rastvaranja ekstrakta. Smeša suvog ekstrakta i destilovane vode meša se u čaši od 100 mL na magnetnoj mešalici (890 o/min; magnet dimenzija 2x7 mm). Vreme koje je potrebno da se materijal potpuno rastvori u vodi naziva se vreme rehidracije, a rezultat se izražava u sekundama (s) (Goula i Adamopoulos, 2008).

### 3.7.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) morfologije prahova

Morfologija čestica dobijenih prahova je ispitana pomoću SEM (Hitachi S4700, Hitachi Scientific Ltd., Tokyo, Japan). Bio-Rad SC 502, VG Microtech, Uckfield, UK, je primenjen da indukuje električnu provodljivost na površini uzoraka. Pritisak vazduha je bio od 1,3 do 13 mPa.

### 3.7.8. Određivanje veličine čestica prahova pomoću mikroskopa

LEICA sistem za obradu i analizu slike (LEICA Q500MC, LEICA Cambridge Ltd., England) je primenjen za merenje raspodele veličine čestica čvrste disperzije. Veličinu je određena za 350 čestica po uzorku. Čestice su opisane njihovom dužinom, širinom, površinom, obimom i zaobljenošću.

### 3.7.9. Prelamanje x-zraka (XRPD) prahova

XRPD spektri su snimljeni pomoću BRUKER D8 difraktometarskog sistema sa X-zracima (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany) sa Cu K $\alpha$ 1 zračenjem ( $\lambda=1,5406\text{\AA}$ ) tokom intervala 5-30°/2. Uslovi merenja su bili sledeći: target, Cu; filter, Ni; napon, 40kV; validnost, 40mA; vremenska konstanta, 0,1s; ugaoni korak, 0,010. Pri određivanju stepena kristalnosti ispitivana je ukupna površina tri pika sa najvećim intenzitetom.

### 3.7.10. Određivanje indeksa rastvorljivosti u vodi i indeksa apsorpcije vode

Indeks rastvorljivosti u vodi (eng. *Water Solubility Index* - WSI) i indeks apsorpcije vode (eng. *Water Absorption Index* - WAI) su određeni prema metodi Phoungchandan i Sertwasana (2010). Određena masa suvog ekstrakta (2,5 g) i destilovane vode (30 mL) se energično promeša u kivetu za centrifugiranje, inkubira u vodenom kupatilu na temperaturi 30 °C (30 min) i centrifugira 15 minuta (3000 o/min). Supernatant se pažljivo odlije u prethodno precizno izmerenu Petri šolju i suši na 105 °C, preko noći, do konstantne mase.

Indeks rastvorljivosti u vodi predstavlja odnos mase osušenog čvrstog dela supernatanta i mase početnog suvog uzorka, izražen u procentima. Indeks apsorpcije vode predstavlja odnos mase čvrstih peleta zaostalih nakon centrifugiranja i mase početnog suvog uzorka, izražen u procentima (Vidović i sar., 2014). Ispitivanje je urađeno u tri ponavljanja.

### 3.7.11. Određivanje kvašenja i hidrofилnosti

Za proučavanje kvašenja i hidrofилnosti uzorka korišćen je OCA sistem kontaktnih uglova (Dataphysics OCA 20, Dataphysics Inc., GmbH, Germany). 0,15g praha je komprimovano pritiskom od 1t pomoću Specac hidraulične prese (Specac Inc., USA). Uglovi kvašenja su određeni nakon što je 4,3  $\mu\text{L}$  destilovane vode ispušteno na dobijenu presovanu površinu. Promena ugla vlaženja registrovana je u periodu od 1 do 25 s (najmanje 5 paralelnih merenja),

primenom OCA sistema. Primenjena je metoda po Wu (Wu, 1971), u kojoj se za merenje koriste dve tečnosti sa poznatim polarnim ( $\gamma_l^p$ ) i disperzionim ( $\gamma_l^d$ ) komponentama. Energija površine je zbir polarnih ( $\gamma^p$ ) i nepolarnih ( $\gamma^d$ ) komponenti, i izračunava se pomoću sledeće jednačine (Wu i Brzozowski, 1971):

$$(1+\cos\theta) \gamma_l = [4(\gamma_s^d \gamma_l^d) / \gamma_s^d + \gamma_l^d] + [4(\gamma_s^p \gamma_l^p) / \gamma_s^p + \gamma_l^p]$$

gde je  $\theta$  kontaktni ugao,  $\gamma_s$  je energija površine, a  $\gamma_l$  površinski napon tečnosti. Procenat polariteta se može izračunati iz  $\gamma^p$  i  $\gamma^d$  vrednosti:  $(\gamma^p/\gamma) \cdot 100$ . Rastvori korišćeni za merenje kontaktnog ugla su bili destilovana voda ( $\gamma^p = 50,2 \text{ mNm}^{-1}$ ,  $\gamma^d = 22,6 \text{ mNm}^{-1}$ ) i diiodometan ( $\gamma^p = 1,8 \text{ mNm}^{-1}$ ,  $\gamma^d = 49 \text{ mNm}^{-1}$ ).

### 3.7.12. Određivanje sadržaja ukupnih fenola i flavonoida

Radi određivanja sadržaja ukupnih fenola i ukupnih flavonoida u suvim ekstraktima biljne prašine herbe hajdučke trave, kao i njihove antioksidantne aktivnosti, prethodno je izvršena ekstrakcija polifenolnih komponenti, po proceduri opisanoj u studiji González-Gómez i sar. (2010) sa izvesnim modifikacijama. 2 g suvog ekstrakta je pomešano sa 20 mL metanola i mešano u šejkeru 24 h, na sobnoj temperaturi, zaštićeno od svetlosti. Profiltrirani ekstrakti su preneseni u staklenu ambalažu i skladišteni na tamnom i hladnom mestu.

Određivanje sadržaja ukupnih fenola i ukupnih flavonoida u suvim ekstraktima biljne prašine herbe hajdučke trave, izvršeno je prema postupcima prethodno opisanim u poglavljima 3.6.1. i 3.6.2.

### 3.7.13. Određivanje antioksidantne aktivnosti

Antioksidantna aktivnost suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave je određena primenom DPPH spektrofotometrijskog testa (Espin i sar., 2000). Metoda je zasnovana na praćenju promene boje ljubičasto obojenog rastvora stabilnog DPPH<sup>•</sup> radikala u redukovanu, žuto obojenu formu. Slobodni DPPH<sup>•</sup> radikal reaguje sa antioksidantnom komponentom, koja je donor vodonikovih atoma, pri čemu dolazi do redukcije (nastaje DPPH-H forma), odnosno ljubičasto

obojeni stabilni DPPH• radikal se transformiše u žuto obojenu neutralnu formu DPPH-H. Promena intenziteta boje je proporcionalna broju "uhvaćeni" radikala (Vladić, 2017).

Različite zapremine prethodno pripremljenih ekstrakata (na način opisan u prethodnom poglavlju, 3.7.8.) su pomešane sa metanolom (95 %) i 90 µM 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) da bi se dobile različite finalne koncentracije ekstrakata. Nakon 60 min inkubacije na sobnoj temperaturi, apsorbancija je merena na talasnoj dužini 517 nm. RSC (%) vrednost ("kapacitet hvatanja radikala"; eng. Radical Scavenging Capacity) je računata prema sledećoj formuli:

$$(\%) = 100 - (A_{\text{uzorka}} \times 100) / A_{\text{slupe probe}}$$

gde je:

$A_{\text{uzorka}}$  - apsorbancija uzorka

$A_{\text{slupe probe}}$  - apsorbancija slepe probe.

Antioksidantna aktivnost je izražena kao  $IC_{50}$  vrednost, što predstavlja koncentraciju ekstrakta potrebnu da se neutrališe 50 % DPPH radikala, u prethodno definisanim eksperimentalnim uslovima, a izračunata je iz jednačine linearne regresije. Dobijena  $IC_{50}$  vrednost se izražava kao mg/mL.

### **3.8.1. Priprema biljnog instant čaja na bazi suvog ekstrakta biljne prašine hajdučke trave**

Biljni instant čaj pripremljen je primenom postupka vlažne granulacije. Ovim postupkom napravljen je granulat na bazi suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave. Prva faza u dobijanju granulata podrazumeva homogenizaciju suvih pomoćnih komponenata formulacije (dekstroza, kukuruzni skrob) sa suvim ekstraktom biljne prašine hajdučke trave, u trajanju od 30 minuta. Nakon 30 minuta homogenizacije, dodatno fino usitnjavanje ovako dobijene smese rađeno je na uređaju za granuliranje tipa FGS proizvođača Erweka (Nemačka), koji se pokreće pogonskim elektromotorom AR 400 (Erweka). Uređaj je snabdeven oscilatornim rotorom pogodnim za proizvodnju vlažnog granulata. U ovom delu postupka primenjeno je sito veličine otvora 1,25 mm.

Na ovako pripremljenu smesu dodaje se sredstvo za vezivanje (rastvor vodootopivog i kukuruznog skroba) kako bi se dobilo tzv. "farmaceutsko testo". Nakon vlaženja homogenizovane mase za granuliranje smešom vodootopivog, kukuruznog skroba i vode, navlažena masa ("testo") se protiskuje kroz sito veličine otvora 3,15 mm. Dobijeni granulat sušen je na vazduhu 24 h. Nakon sušenja dobijeni granulat je još jednom usitnjen protiskivanjem kroz sito veličine otvora 1,25 mm.

Na ovaj način pripremljene su tri različite formulacije granulata sa suvim ekstraktom biljne prašine herbe hajdučke trave, kao i placebo granulata, koji ne sadrži suvi ekstrakt hajdučke trave. Sastav granulata prikazan je u tabeli 11.

**Tabela 11.** Sastav formulacija

| Sastav (%)                | Instant čaj sa 2% ekstrakta hajd. trave | Instant čaj sa 5% ekstrakta hajd. trave | Instant čaj sa 10% ekstrakta hajd. trave | Placebo granulata |
|---------------------------|---|---|--|-------------------|
| Dekstroza                 | 68                                      | 65                                      | 60                                       | 70                |
| Kukuruzni skrob           | 26                                      | 26                                      | 26                                       | 26                |
| Suvi ekstrakt hajd. trave | 2                                       | 5                                       | 10                                       | /                 |
| Vodootopivi skrob         | 2,8                                     | 2,8                                     | 2,8                                      | 2,8               |
| Kukuruzni skrob           | 1,2                                     | 1,2                                     | 1,2                                      | 1,2               |

### 3.8.2. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage u dobijenim biljnim instant čajevima određen je sušenjem oko 2 g instant čaja gravimetrijskim postupkom, prethodno opisanim u poglavlju 3.7.2. Ovim postupkom se određuje hemijski vezana (kristalna) i slobodna voda i drugi isparljivi sastojci droge (Raković, 2012). Sadržaj vlage u biljnim instant čajevima izražen je u procentima (%).



### 3.8.3. Određivanje vremena rehidracije

Postupak određivanja vremena rehidracije dobijenih instant čajeva opisan je u poglavlju 3.7.6., s tim što je za analizu u slučaju instant čaja pomešano oko 1 g materijala i 100 mL destilovane vode. Dobijeno vreme rehidracije je izraženo u sekundama (s).

### 3.8.4. Određivanje nasipne zapremine

Nasipna zapremina dobijenih biljnih instant čajeva je određena prema postupku opisanom u poglavlju 3.7.5. i njihove vrednosti izražene u mg ispitivanog uzorka po mL (mg/mL).

### 3.8.5. Određivanje senzornih karakteristika pripremljenog instant čaja

Ispitivanje senzornih karakteristika instant čaja predstavlja sopstveni doživljaj senzornih karakteristika ispitivanog proizvoda od strane dobrovoljaca-ispitanika koji učestvuju u ispitivanju. Pošto na senzorne karakteristike utiče životna dob ispitanika, u određivanju senzornih karakteristika učestvuje grupa od 50 žena nepušača starosti od 20 do 25 godina (Amerine i sar., 1965; Gilbert i Wysocki, 1987; Vidovic i sar., 2014).

U ovom ispitivanju primenjivani su test izgleda, test mirisa i test ukusa, sprovedeni po modifikovanoj proceduri opisanoj u studiji Sansone i sar. (2011). U prvom delu ispitivanja, volonterke su procenjivale da li je izgled ispitivanog uzorka prihvatljiv ili neprihvatljiv. U drugom delu, ispitanice su procenjivale prijatnost mirisa ocenom na skali od 0 do 10 u odnosu na standard, mirišući 15 cm duge linije biljnog instant čaja. Miris se ocenjivao kao izuzetno prijatan, prijatan, neprijatan ili izuzetno neprijatan. Kao standard se koristio vanilin šećer koji je u prethodnim istraživanjima ocenjen kao izuzetno prijatan i to najvišom ocenom 10. U trećem delu ispitivanja, volonterke su procenjivale prijatnost ukusa hladnog i toplog napitka instant čaja ocenom od 0 do 10 u odnosu na standard. Ukus se ocenjivao kao izuzetno prijatan, prijatan, neprijatan ili izuzetno neprijatan, takođe i kao slan, sladak, gorak, kiseo ili metalan. Kao standard za hladan napitak se koristio Fructus-instant čaj od brusnice, a za topli napitak se koristio

Fructus-čaj jagoda sa vanilom, koji su u prethodnim istraživanjima ocenjeni kao izuzetno prijatni i sa ocenom 10.

Hladni napitak pripremljen je rastvaranjem 2 g biljnog instant čaja u 200 mL vode na sobnoj temperaturi (25 °C), a topli napitak je pripremljen rastvaranjem iste količine biljnog instant čaja u 200 mL vode na temperaturi nešto nižoj od temperature ključanja.

### **3.9. Definisane karakteristika brašna i izrada hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka**

Za analizu mogućnosti primene biljne prašine ploda šipka za izradu hleba sa unapređenim osobinama, korišćeno je namensko brašno za kisela testa i domaću testeninu T-500, proizvođača "Danubius doo" iz Novog Sada, čije su hemijske i reološke karakteristike određene pomoću odgovarajućih metoda:

- 1) Sadržaj vlage u brašnu određen je sušenjem uzorka 90 minuta na 130 °C (Kaluderski, Filipović 1998);
- 2) Sadržaj pepela u brašnu određen je žarenjem uzorka 90 minuta na 900 °C (Kaluderski, Filipović 1998);
- 3) Sadržaj proteina (Kaluderski, Filipović 1998);
- 4) Sadržaj masti (Kaluderski, Filipović 1998).

Ostale sirovine korišćene u ovom eksperimentu su:

- kuhinjska so, komercijalni proizvod, proizvođač "Kristal" D.O.O., Beograd,
- sveži pekarski kvasac, proizvođač "Vrenje" iz Beograda,
- komercijalni aditiv "Plavi tigar" D.O.O., Puratos, Kragujevac,
- vodovodska voda za piće.

### 3.9.1. Metode za definisanje reoloških karakteristika brašna

Za izradu farinograma testo je zamešeno u Brabenderovom farinografu, Duisburg, Nemačka (slika 18) sa mesilicom za 300 g brašna po standardnom postupku (Kaluderski, Filipović, 1998).



Slika 18. Brabenderov farinograf

Sirovinski sastav testa je bio sledeći: brašno 300 g, so 2 % (na masu brašna), kvasac 2,5 % (na masu brašna). Dodatne sirovine dodate su prema planu eksperimenta pri čemu je deo brašna zamenjen biljnom prašinom ploda šipka (tabela 12).

Tabela 12. Plan eksperimenta

| Uzorak | Šipak (% na masu brašna) | Aditiv (% na masu brašna) |
|--------|--------------------------|---------------------------|
| 1      | 0                        | 0                         |
| 2      | 0                        | 0,2                       |
| 3      | 0                        | 0,4                       |
| 4      | 5                        | 0                         |
| 5      | 5                        | 0,2                       |
| 6      | 5                        | 0,4                       |
| 7      | 10                       | 0                         |
| 8      | 10                       | 0,2                       |
| 9      | 10                       | 0,4                       |

Za izradu ekstenzograma, nakon zamesa u Brabenderovom farinografu, odmerena su tri komadna testa po 150 g i okruglo oblikovani u homogenizeru ekstenzografa. Ekstenzografska određivanja izvedena su na Brabenderovom ekstenzografu, Duisburg, Nemačka (slika 19) po standardnom postupku (Kalušerski, Filipović, 1998). Nakon prve fermentacije, testo je ponovo oblikovano u homogenizeru Brabenderovog ekstenzografa.



**Slika 19.** Brabenderov ekstenzograf

Za izrada maturograma testo je izrađeno, odmereno po 150 g i okruglo oblikovano u homogenizeru ekstenzografa. Zatim je preneto u Brabenderov maturograf, Duisburg, Nemačka (slika 20) gde je u komori maturografa na temperaturi 30 °C fermentisalo 45 minuta, pri relativnoj vlažnosti od 85 %. Nakon fermentacije testo je okruglo oblikovano u homogenizeru ekstenzografa i fermentisalo narednih 15 minuta pri istim uslovima kao i kod prve fermentacije. Po završetku druge fermentacije, testo je postavljeno u posudu za završnu fermentaciju maturografa i registrovana maturografska kriva.



**Slika 20.** Brabenderov maturograf

### **3.9.2. Postupak izrade hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka**

U skladu sa planom eksperimenta (tabela 12.) testo je zamešeno u Brabenderovom farinografu. Nakon fermentacije u masi u termostatskoj komori na 30 °C testani komadi su okruglo oblikovani i ostavljeni 10 minuta na radnoj površini (intermedijarna fermentacija). Zatim je testo duguljasto oblikovano i postavljeno u podmazane kalupe za hleb. Završna fermentacija je na temperaturi 30 °C oko 60 minuta. Kraj završne fermentacije određen je iskustveno. Uzorci hleba su pečeni u laboratorijskoj peći Chopin oko 20 minuta na 250 °C.

Promene kvaliteta hleba u funkciji odabranih nezavisnih parametara praćene su na bazi rezultata određivanja fizičkih (masa hleba, zapremina i visina hleba) i hemijskih (sadržaj vlage, masti, pepela, proteina, sadržaj šećera i kiselinski stepen) karakteristika gotovog proizvoda.

### **3.9.3. Određivanje kvaliteta hleba sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka**

Kvalitet hleba ocenjen je organoleptički 24 h nakon pečenja, pri čemu su ocenjeni finoća strukture pora i elastičnost sredine. Opisne ocene pomenutih pokazatelja kvaliteta sredine hleba izražene su zbirnim numeričkim vrednostima, izbodovane po tabeli za bodovanje vrednosti sredine hleba (Kaluderski, Filipović 1998) i označene kao vrednosni broj sredine hleba – VBS (minimalan 0,0 maksimalan 7,0). Zapremina gotovog proizvoda određena je volumometrom punjenim prosom, metodom istiskivanja (AACC, 2000).

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

Za istraživanje u ovoj disertaciji su primenjena dva sporedna proizvoda nastala tokom proizvodnje herbalnog filter čaja, biljna prašina hajdučke trave i biljna prašina ploda šipka. Osnovni cilj istraživanja bio je valorizacija sporednih proizvoda hajdučke trave i šipka u industriji filter čaja, u smislu njihove inkorporacije u nove proizvode sa dodatom vrednošću. U tom cilju ispitana je mogućnost pripreme biljnih ekstrakta od biljne prašine hajdučke trave i ploda šipka, pri čemu je analizirana i njihova vrednost u pogledu bioaktivnih jedinjenja, kao i moguća upotrebna vrednost.

U prvom delu istraživanja, izvršena je karakterizacija biljnog materijala, u smislu veličine čestica, sadržaja vlage, sadržaja masti i sadržaja etarskog ulja.

Primenom Soxhlet ekstrakcije i primenom ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom dobijeni su ekstrakti od obe sirovine i u ovako dobijenim ekstraktima određen je sadržaj hlorofila i karotenoida. Ekstrakti dobijeni superkritičnom ekstrakcijom analizirani su primenom GC/MS analize i na ovaj način određen je sastav i koncentracija određenih aromatičnih jedinjenja, ugljovodonika, sterola i tokoferola.

Za ekstrakciju polarnih jedinjenja iz biljne prašine hajdučke trave primenjena je konvencionalna čvrsto/tečna ekstrakcija sa etanolom kao ekstragensom. Ovako dobijeni ekstrakti su transformisani u suve ekstrakte primenom tehnike sušenja sa raspršivanjem. Dobijeni suvi ekstrakti su analizirani u pogledu fizičkih karakteristika, određena je njihova antioksidativna aktivnost, kao i sadržaj fenola i flavonoida.

## 4.1. Karakterizacija biljnog materijala

U ispitivanom biljnom materijalu, biljnoj prašini herbe hajdučke trave i ploda šipka, određeni su srednja veličina čestica usitnjenog materijala, sadržaj vlage i sadržaj etarskog ulja. Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno (tabela 13).

**Tabela 13.** Karakteristike biljnog materijala

| Biljni materijal | Srednji prečnik čestica (mm) | Sadržaj vlage (%) | Sadržaj etarskog ulja (%) |
|------------------|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| Hajdučka trava   | 0,424                        | 9,024             | 0,561                     |
| Šipak            | 0,321                        | 6,635             | /                         |

Povećan sadržaj vlage u biljnoj sirovini-drogi može biti posledica nedovoljnog i neadekvatnog sušenja ili apsorpcije vlage iz vazduha, usled primene neadekvatnih uslova čuvanja-skladištenja. Povećan sadržaj vlage u drogi može prouzrokovati kvarenje i propadanje biljnog materijala i degradaciju aktivnih principa (World Health Organization, Quality control methods for herbal materials, Geneva, 2011). Iz tog razloga, veoma je značajno utvrditi sadržaj vlage u ispitivanom biljnom materijalu.

Sadržaj vlage u biljnom materijalu, prema zahtevima Farmakopeje, mora biti u granicama 7 – 16 %, a kreće se najčešće u opsegu 8 – 12 %. Herba hajdučke trave sa sadržajem vlage od 9,024 %, nalazi se u granicama koje propisuje Farmakopeja (*Ph. Jug. V*), dok je sadržaj vlage ploda šipka nešto ispod navedene granice. Prema Pravilniku o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda (Službeni glasnik RS 4/12), dozvoljen sadržaj vlage u biljnom čaju ploda šipka je najviše 11 %, dok je sadržaj vlage u biljnom čaju herbe hajdučke trave najviše 12 %. Sadržaj vlage, određen za oba uzorka, uzorak biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka su u skladu sa propisanim zahtevima.

Analiziran je sadržaj etarskog ulja u uzorku hajdučke trave. U biljnoj prašini ploda šipka sadržaj etarskog ulja nije analiziran jer ova biljna vrsta ne spada u grupu aromatičnih droga koje sadrže etarsko ulje. Sadržaj etarskog ulja u biljnoj prašini herbe hajdučke trave iznosio je 0,561 %, što je veća vrednost od mnogih koje su do sada utvrđene hemijskom analizom (neki od



literaturnih podataka su navedeni u tabeli 2). Takođe, dobijeni sadržaj etarskog ulja u ispitivanom uzorku ispunjava zahtev Evropske Farmakope (European Pharmacopeia 8<sup>th</sup>) u pogledu propisanog sadržaja etarskog ulja (ne sme biti manji od 0,20 %).

## 4.2. Soxhlet ekstrakcija

Soxhlet ekstrakcija se često primenjuje kao standardna tehnika za ekstrakciju lipida-masti iz različitih biljnih materijala. Soxhlet ekstrakcija, sa metilen hloridom i n-heksanom kao ekstragensom, primenjena je za pripremu ekstrakata iz biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka i njihovih mešavina. Prinosi ekstrakcije dobijeni primenom ove metode prikazani su u tabeli 14.

**Tabela 14.** Prinos Soxhlet ekstrakcije biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka

| Sastav smeše                    | Prinos (%)<br>n-heksan | Prinos (%)<br>metilen hlorid |
|---------------------------------|------------------------|------------------------------|
| 100 % šipak                     | 14,38±0,03             | <b>15,64±0,02</b>            |
| 80 % šipak, 20 % hajdučka trava | 10,61±0,01             | 15,07±0,02                   |
| 60 % šipak, 40 % hajdučka trava | 9,70±0,01              | 14,54±0,02                   |
| 40 % šipak, 60 % hajdučka trava | 9,31±0,01              | 11,77±0,01                   |
| 20 % šipak, 80 % hajdučka trava | 5,77±0,02              | 10,38±0,01                   |
| 100 % hajdučka trava            | <b>5,00±0,02</b>       | 10,92±0,01                   |

Najveći prinos ekstrakcije (15,64 %) dobijen je ekstrakcijom biljne prašine ploda šipka metilen-hloridom, dok je najniži prinos ekstrakcije (5,00 %) dobijen prilikom ekstrakcije biljne prašine herbe hajdučke trave n-heksanom. Szentmihaly i sar. su ostvarili prinos ekstrakcije od 4,85 % kada su masne komponente iz ploda šipka ekstrahovali primenom Soxhlet ekstrakcije sa n-heksanom kao ekstragensom (Szentmihalyi i sar., 2002). Primenom iste metode ekstrakcije i istog rastvarača, Celik i sar. (2010) su ostvarili prinos od 7,95 %, dok su Del Valle i sar. (2000) u svojim istraživanjima ostvarili prinos od 7,12 %.

Značajno veći sadržaj masnih komponenata u analiziranoj biljnoj prašini ploda šipka, 2-3 puta u odnosu na poznate literaturne podatke, može se objasniti činjenicom da se biljna prašina ploda šipka sastoji mahom, oko 90 % od semena ploda šipka (koji je nosioc masnih jedinjenja celokupnog ploda), dok je kod uzoraka analiziranih u literaturi u pitanju ceo plod, dakle sirovina sa značajno većim udelom perikarpa ploda šipka i ostalih delova ploda koji nisu bogati masnim komponentama. Pored toga, može se pretpostaviti i da je sirovina analizirana u ovoj disertaciji u pogledu ukupnih masnih jedinjenja kvalitetnija u odnosu na sirovine ispitivane u navedenim literaturnim navodima, što se može objasniti uticajem klimatskih uslova i specifičnosti terena sa koga je plod šipka sakupljen.

Prema podacima iz prethodne tabele, prinos ekstrakcije se smanjuje sa smanjenjem udela šipka u mešavini koja se ekstrahuje, u većini slučajeva, što ukazuje na to da je sirovina-biljna prašina ploda šipka dominantan nosilac masti u ovoj mešavini. Ovakvi rezultati su očekivani, s obzirom da plod šipka sadrži značajnu količinu masnog ulja (2 do 10 %) (Wichtl, 2002; PDR, 2007; Chrubasik i sar., 2008). Takođe, utvrđeno je da se primenom metilen-hlorida kao ekstragensa ostvaruju bolji rezultati-viši prinosi ekstrakcije u odnosu na rezultate dobijene primenom n-heksana. Pozitivan uticaj metilen-hlorida naročito je uočljiv u slučaju biljne prašine herbe hajdučke trave, kao i mešavina u kojima je upravo ova sirovina prisutna u većem udelu. Objašnjenje za to može biti veća selektivnost rastvarača usled razlike u dielektričnoj konstanti (dielektrična konstanta metilen hlorida iznosi  $\epsilon = 9,08$ , dok je dielektrična konstanta n-heksana  $\epsilon = 1,89$ ).

#### 4.2.1. Sadržaj hlorofila i karotenoida u biljnoj prašini i ekstraktima dobijenim primenom Soxhlet ekstrakcije

U ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka urađena je analiza sadržaja hlorofila i sadržaja karotenoida. Hlorofil je biljni pigment koji je najviše zastupljen u zelenim lisnatim delovima biljaka, pa se može očekivati da će najveći sadržaj ovog jedinjenja biti izmeren u smešama u kojim je hajdučka trava zastupljena u većem udelu. Nasuprot tome, karotenoidi se nalaze u semenu šipka koje je bogatom masnim uljem, te je očekivano da veći sadržaj karotenoida bude detektovan upravo u mešavini sa većim sadržajem biljne prašine ploda šipka.

U ovom delu eksperimentalnog rada sadržaj hlorofila i karotenoida određen je u biljnom materijalu (biljnoj prašini herbe hajdučke trave, biljnoj prašini ploda šipka i njihovim mešavinama), a zatim i u njihovim ekstraktima koji su prethodno dobijeni primenom Soxhlet ekstrakcije. Rezultati ukupnog sadržaja hlorofila i karotenoida u biljnoj prašini herbe hajdučke trave i ploda šipka i njihovim mešavinama, prikazani su u tabeli 15.

**Tabela 15.** Sadržaj hlorofila i karotenoida u biljnoj prašini herbe hajdučke trave i biljnoj prašini ploda šipka kao i u njihovim mešavinama

| Sastav smeše                  | Prinos (mg/100g suvog biljnog materijala) |                      |                      |                      |
|-------------------------------|---|----------------------|----------------------|----------------------|
|                               | Chl A                                     | Chl B                | Chl A + B            | TC                   |
| 100% hajdučka trava           | 1,221 ± 0,091                             | 0,220 ± 0,041        | 1,442 ± 0,069        | 0,411 ± 0,071        |
| 20% šipak, 80% hajdučka trava | <b>1,370 ± 0,059</b>                      | <b>0,452 ± 0,013</b> | <b>1,821 ± 0,101</b> | 0,591 ± 0,041        |
| 40% šipak, 60% hajdučka trava | 0,849 ± 0,042                             | 0,239 ± 0,029        | 1,091 ± 0,068        | <b>0,730 ± 0,079</b> |
| 60% šipak, 40% hajdučka trava | 0,631 ± 0,071                             | 0,121 ± 0,030        | 0,738 ± 0,032        | 0,442 ± 0,062        |
| 80% šipak, 20% hajdučka trava | 0,878 ± 0,089                             | 0,333 ± 0,021        | 1,212 ± 0,041        | 0,548 ± 0,032        |
| 100% šipak                    | 0,480 ± 0,033                             | 0,141 ± 0,012        | 0,619 ± 0,020        | 0,490 ± 0,088        |

Chl A – hlorofil A; Chl B – hlorofil B, Chl A + B – hlorofil A + B; TC – ukupni karotenoidi

Najveći sadržaj Chl A dobijen je za uzorak smeše sastavljene od 20 % ploda šipka i 80 % herbe hajdučke trave. U istoj mešavini detektovan je i najveći sadržaj Chl B, kao i najveći sadržaj Chl A + B, što je i očekivano s obzirom na to da su hlorofili pigmenti uglavnom prisutni u lisnatim delovima biljaka. Za uzorak čiste hajdučke trave su dobijeni nešto niži rezultati za sadržaje Chl A, Chl B i Chl A+B u poređenju sa uzorkom smeše sastavljene od 20 % ploda šipka i 80 % herbe hajdučke trave. Ovo se može objasniti potencijalno prisutnim hlorofilima i u biljnoj prašini ploda šipka, s obzirom na to da se ova sirovina ne sastoji samo od semena već i od ostalih delova samog ploda, samo u manjem udelu. U uzorku čistog šipka dobijene su najniže vrednosti sadržaja Chl A i Chl B (0,480 i 0,141 mg/100g suvog biljnog materijala). Slični rezultati su dobijeni u istraživanju koje se bavilo sadržaja hlorofila u zrelih plodovima šipka iz Portugala (0,16 i 0,22 mg/100g suvog biljnog materijala) (Barros i sar., 2011). Međutim, Barros i sar. su detektovali mnogo veći sadržaj  $\beta$ -karotena (97,77 mg/100g suvog biljnog materijala) u uzorku ploda šipka koji su analizirali, u poređenju sa sadržajem ukupnih karotenoida u biljnoj prašini ploda šipka (0,490 mg/100g suvog biljnog materijala). Ovo se može objasniti činjenicom da tokom proizvodnje filter čaja, biljni materijal prolazi kroz mnoge operacije prerade, kao što su sečenje, mlevenje i prosejavanje (Vidović i sar. 2013), što može prouzrokovati degradaciju nestabilnih jedinjenja kao što su pigmenti. U slučaju ukupnog sadržaja karotenoida, najveći prinos dobijen je u uzorku smeše sastavljene od 60 % herbe hajdučke trave i 40 % ploda šipka (0,730 mg/100g suvog biljnog materijala), dok je najmanji prinos ukupnog sadržaja karotenoida dobijen u uzorku čiste hajdučke trave (0,411 mg/100g suvog biljnog materijala).

Rezultati ukupnog sadržaja hlorofila i karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni Soxhlet ekstrakcijom sa metilen hloridom i n-heksanom kao ekstragensom iz biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka, kao i mešavine ovih biljnih sirovina, prikazani su u tabeli 16.

**Tabela 16.** Sadržaj hlorofila i karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni primenom Soxhlet ekstrakcije

| Sastav smeše                  | Sadržaj (mg/g ekstrakta) |                    |                    |             |                    |                    |                    |             |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|
|                               | Metilen hlorid           |                    |                    |             | n-heksan           |                    |                    |             |
|                               | Chl A                    | Chl B              | Chl A+B            | TC          | Chl A              | Chl B              | Chl A+B            | TC          |
| 100% hajdučka trava           | <b>1,499±0,085</b>       | <b>0,327±0,029</b> | <b>1,825±0,014</b> | 0,581±0,005 | <b>1,310±0,043</b> | <b>0,250±0,007</b> | <b>1,560±0,098</b> | 0,217±0,006 |
| 20% šipak, 80% hajdučka trava | 1,099±0,045              | 0,214±0,008        | 1,312±0,034        | 0,309±0,009 | 0,421±0,038        | 0,127±0,009        | 0,547±0,090        | 0,083±0,004 |
| 40% šipak, 60% hajdučka trava | 0,782±0,088              | 0,144±0,008        | 0,926±0,069        | 0,172±0,006 | 0,450±0,032        | 0,084±0,006        | 0,534±0,007        | 0,062±0,008 |
| 60% šipak, 40% hajdučka trava | 0,491±0,033              | 0,107±0,002        | 0,598±0,041        | 0,146±0,009 | 0,270±0,013        | 0,064±0,007        | 0,334±0,045        | 0,222±0,004 |
| 80% šipak, 20% hajdučka trava | 0,297±0,009              | 0,083±0,008        | 0,380±0,068        | 0,123±0,007 | 0,171±0,008        | 0,104±0,006        | 0,275±0,066        | 0,221±0,001 |
| 100% šipak                    | 0,040±0,027              | 0,055±0,001        | 0,095±0,015        | 0,073±0,002 | 0,023±0,010        | 0,022±0,006        | 0,045±0,033        | 0,210±0,008 |

Chl A – hlorofil A; Chl B – hlorofil B, Chl A + B – hlorofil A + B; TC – ukupni karotenoidi

U slučaju Soxhlet ekstrakcije sa oba ekstragensa, metilen-hloridom i n-heksanom, najviši sadržaj hlorofila dobijen je u ekstraktu koji je pripremljen iz biljne prašine hajdučke trave. Smanjenjem udela hajdučke trave u biljnim mešavinama približno linearno se smanjuje sadržaj Chl A, Chl B i Chl A + B u ekstraktima koji su iz ovih mešavina pripremljeni, najverovatnije zbog smanjenja udela delova biljke bogatih hlorofilom u biljnoj sirovini koja se ekstrahovala. Značajno veći sadržaj Chl A, Chl B i Chl A + B u detektovan je u ekstraktima koji su dobijeni ekstrakcijom pomoću metilen hlorida (1,499; 0,327 i 1,825 mg/g ekstrakta za Chl A, Chl B i Chl A + B, respektivno). Ovo se može objasniti činjenicom da je tačka ključanja metilen hlorida

prilično niska (39,8 °C), u poređenju sa n-heksanom (69 °C), što može prouzrokovati degradaciju termo-labilnih jedinjenja tokom dugotrajnih ekstrakcija na povišenoj temperaturi, kao što je ekstrakcija po Soxhletu. Budući da se hlorofili karakterišu kao termolabilna jedinjenja i jedinjenja osetljiva na različite faktore stresa (temperatura, kiseonik, svetlost) (Macias-Sanchez i sar., 2008), moguće je da je došlo do određene degradacije upravo ovih jedinjenja tokom ekstrakcije n-heksanom.

Soxlet ekstrakcijom sa ova dva ekstragensa dobili su se potpuno drugačiji sadržaji ukupnih karotenoida (TC) u ekstraktima. Sadržaj TC u ekstraktu koji je dobijen iz biljne prašine herbe hajdučke trave sa metilen hloridom i sa n-heksanom kao estragensom bio je najviši, sa tim što je TC dobijen sa n-heksanom niže vrednosti, gotovo duplo.

### **4.3. Ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom**

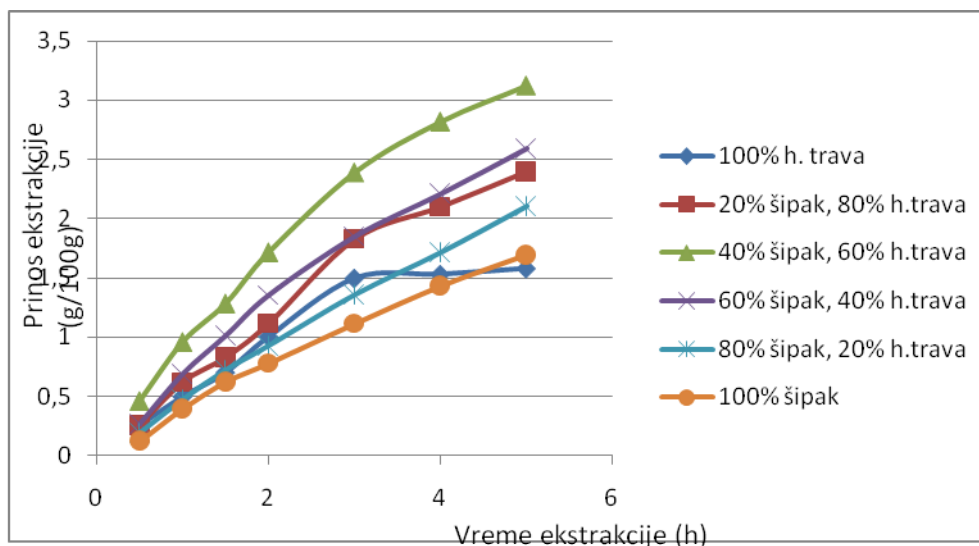
Superkritična ekstrakcija ili ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom spada u savremene metode ekstrakcije, koja se sve češće koristi zbog niza prednosti (poglavlje 2.5.1.). U naučnoj literaturi postoji nekoliko objavljenih radova u kojima je istraživana superkritična ekstrakcija herbe hajdučke trave i ploda šipka ugljen-dioksidom (Illes i sar., 1997; Bocevska i Sovova 2007; Tozzi i sar., 2008). Do sada nisu rađena istraživanja na temu ekstrakcije biljnih smeša hajdučke trave i šipka, niti su rađena istraživanja na biljnim prašinama ove dve sirovine, te je u tom smislu ovo prvo istraživanje tog tipa. Hajdučka trava i šipak predstavljaju potpuno različite biljne vrste, u smislu hemijskog sastava, sadrže potpuno različite vrste biljnih ulja, pa iz tog razloga i daju ekstrakte sa različitim hemijskim svojstvima. Prema dostupnim naučnim podacima poznato je da su ekstrakti hajdučke trave dobijeni superkritičnom ekstrakcijom ugljen-dioksidom bogati etarskim uljima i kutikularnim voskom (Bocevska i Sovova, 2007). Nasuprot tome, masno ulje šipka dobijeno ekstrakcijom superkritičnim ugljen-dioksidom ima visok sadržaj masnih kiselina, tokoferola i karotenoida i ima mnogo veći prinos ekstrakcije u odnosu na prinos koji se ostvaruje prilikom ekstrakcije hajdučke trave superkritičnim ugljen-dioksidom (Illes i sar., 1997; Tozzi i sar., 2008).

Ekstrakcija biljne prašine herbe hajdučke trave, biljne prašine ploda šipka i mešavine ova dva biljna materijala superkritičnim ugljen-dioksidom rađena je na pritisku od 100, 200 i 300 bara, pri temperaturi ekstrakcije od 40 i 60 °C. Prinos je izražen kao masa (u g) dobijenog ekstrakta po 100 g suvog biljnog materijala. Promena prinosa ekstrakcije praćena je u vremenskim intervalima i to nakon 0,5 h ekstrakcije, 1 h ekstrakcije 1,5 h, 2 h, 3 h, 4 h i 5 h. Rezultati prinosa ekstrakcije ispitivanih biljnih materijala superkritičnim ugljen-dioksidom dati su u tabelama 17, 18, 19, 20, 21 i 22.

**Tabela 17.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C

| Prinos g/100g (%) na 100 bar, 40 °C |                     |                               |                               |                               |                               |             |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| Sastav smeše (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak  |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |             |
| 0,5                                 | 0,256±0,081         | 0,251±0,079                   | 0,462±0,064                   | 0,268±0,081                   | 0,193±0,099                   | 0,120±0,101 |
| 1                                   | 0,497±0,037         | 0,616±0,068                   | 0,960±0,006                   | 0,690±0,035                   | 0,476±0,055                   | 0,396±0,077 |
| 1,5                                 | 0,701±0,013         | 0,826±0,033                   | 1,284±0,008                   | 1,013±0,003                   | 0,724±0,020                   | 0,622±0,006 |
| 2                                   | 1,002±0,001         | 1,113±0,005                   | 1,716±0,033                   | 1,355±0,009                   | 0,930±0,019                   | 0,780±0,007 |
| 3                                   | 1,494±0,034         | 1,827±0,039                   | 2,388±0,053                   | 1,850±0,011                   | 1,359±0,009                   | 1,114±0,009 |
| 4                                   | 1,527±0,038         | 2,101±0,090                   | 2,816±0,068                   | 2,210±0,066                   | 1,716±0,008                   | 1,432±0,011 |
| 5                                   | <b>1,577±0,046</b>  | 2,400±0,071                   | <b>3,120±0,091</b>            | 2,593±0,082                   | 2,106±0,025                   | 1,696±0,016 |

Najveći prinos ekstrakcije na pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C, a nakon 5 h ekstrakcije, dobijen je ekstrakcijom smeše sastava 40 % biljne prašine ploda šipka i 60 % biljne prašine herbe hajdučke trave (3,120 g ekstrakta/100 grama sirovine koja se ekstrahuje). Najmanji prinos ekstrakcije pri istim procesnim uslovima ostvaren je ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave (1,577 g/100g). Radi lakšeg uočavanja zavisnosti prinosa ekstrakcije od vremena ekstrakcije, na dijagramu 1. prikazana je kriva zavisnosti tj. promene prinosa ekstrakcije sa vremenom.



**Dijagram 1.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C

**Tabela 18.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 60 °C

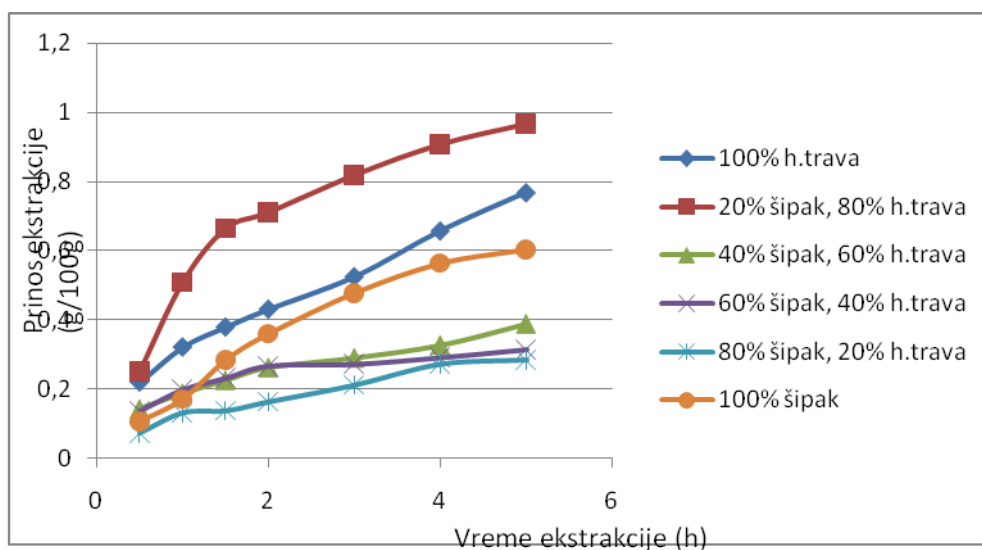
| Prinos g/100g (%) na 100 bar, 60 °C |                     |                               |                               |                               |                               |             |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| Sastav smeše (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak  |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |             |
| 0,5                                 | 0,219±0,041         | 0,251±0,011                   | 0,143±0,019                   | 0,137±0,023                   | 0,072±0,023                   | 0,105±0,036 |
| 1                                   | 0,321±0,023         | 0,509±0,003                   | 0,188±0,008                   | 0,198±0,011                   | 0,131±0,019                   | 0,170±0,029 |
| 1,5                                 | 0,379±0,003         | 0,665±0,005                   | 0,226±0,001                   | 0,231±0,005                   | 0,137±0,015                   | 0,283±0,004 |
| 2                                   | 0,431±0,009         | 0,712±0,015                   | 0,263±0,001                   | 0,266±0,004                   | 0,163±0,001                   | 0,359±0,007 |
| 3                                   | 0,525±0,015         | 0,820±0,023                   | 0,291±0,002                   | 0,271±0,003                   | 0,212±0,005                   | 0,477±0,012 |
| 4                                   | 0,658±0,023         | 0,909±0,033                   | 0,328±0,009                   | 0,290±0,011                   | 0,273±0,009                   | 0,563±0,022 |
| 5                                   | 0,769±0,065         | <b>0,968±0,035</b>            | 0,390±0,012                   | 0,313±0,019                   | <b>0,285±0,026</b>            | 0,603±0,037 |

Najveći prinos ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 60 °C dobijen je ekstrakcijom smeše koja se sastoji od 80 % biljne prašine herbe hajdučke trave i 20 % biljne prašine ploda šipka. Kada se za istu sirovinu uporedi prinos



ekstrakcije ostvaren nakon 5 sati ekstrakcije pri temperaturi ekstrakcije od 40 °C (2,400 g/100g) sa prinosom ostvarenim na temperaturi od 60 °C, jasno se vidi da povećanje temperature nije imalo pozitivan efekat na prinos, s obzirom na to da su na nižoj temperaturi ostvareni značajno veći prinosi. Isto je uočeno u slučaju svih ostalih ekstrahovanih sirovina (biljne prašine i njenih mešavina).

Na dijagramu 2. prikazana je kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 60 °C.



**Dijagram 2.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 60 °C

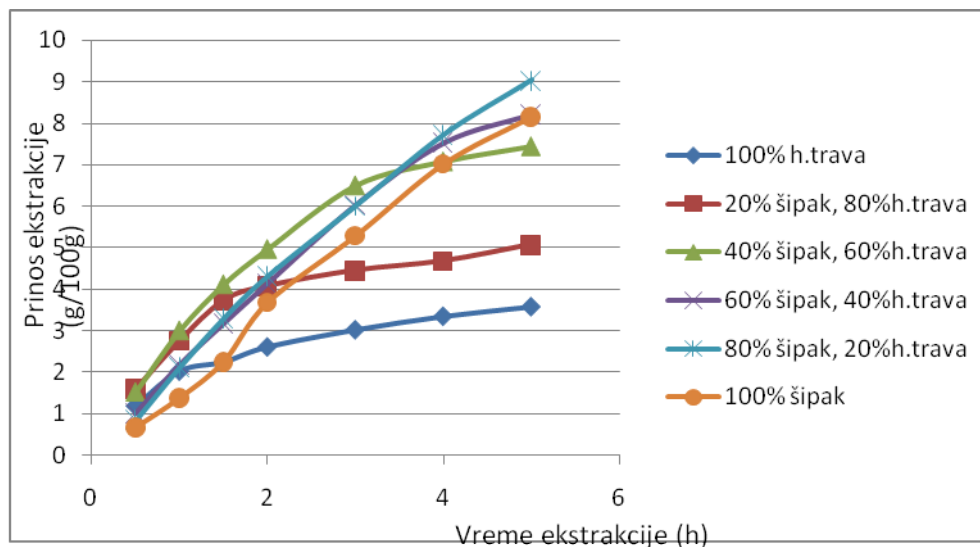
**Tabela 19.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C

| Prinos g/100g (%) na 200 bar, 40 °C |                     |                               |                               |                               |                               |             |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| Sastav smeše (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak  |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |             |
| 0,5                                 | 1,194±0,044         | 1,585±0,035                   | 1,517±0,017                   | 1,013±0,031                   | 0,833±0,030                   | 0,669±0,003 |
| 1                                   | 2,027±0,027         | 2,754±0,023                   | 3,001±0,011                   | 2,183±0,021                   | 2,116±0,021                   | 1,382±0,002 |
| 1,5                                 | 2,245±0,001         | 3,727±0,019                   | 4,114±0,001                   | 3,176±0,014                   | 3,292±0,012                   | 2,253±0,001 |

|   |                    |             |             |             |                    |             |
|---|--------------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|
| 2 | 2,606±0,003        | 4,076±0,006 | 4,965±0,003 | 4,139±0,003 | 4,309±0,009        | 3,678±0,019 |
| 3 | 3,017±0,005        | 4,454±0,020 | 6,499±0,034 | 6,030±0,013 | 6,004±0,011        | 5,284±0,017 |
| 4 | 3,340±0,016        | 4,682±0,027 | 7,078±0,052 | 7,523±0,019 | 7,717±0,012        | 7,014±0,021 |
| 5 | <b>3,570±0,026</b> | 5,079±0,015 | 7,444±0,059 | 8,213±0,024 | <b>9,033±0,009</b> | 8,146±0,009 |

Najveći prinos ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C dobijen je za uzorak smeše sastavljene od 80 % šipka i 20 % hajdučke trave (9,033 g/100g). Na ovim procesnim uslovima najmanji prinos ostvaren je ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave (3,570 g/100g). U slučaju svih ekstrahovanih sirovina (biljne prašine i mešavna biljnih prašina) uočljivo je veoma značajno i višestruko povećanje prinosa u odnosu na prinose ostvarene primenom nižeg pritiska od 100 bar. Dakle, uticaj pritiska kao procesnog parametra pri ekstrakciji ispitivanih biljnih sirovina, u opsegu pritiska od 100 do 200 bara, može se smatrati dominantnim.

Na dijagramu 3. prikazana je kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C.

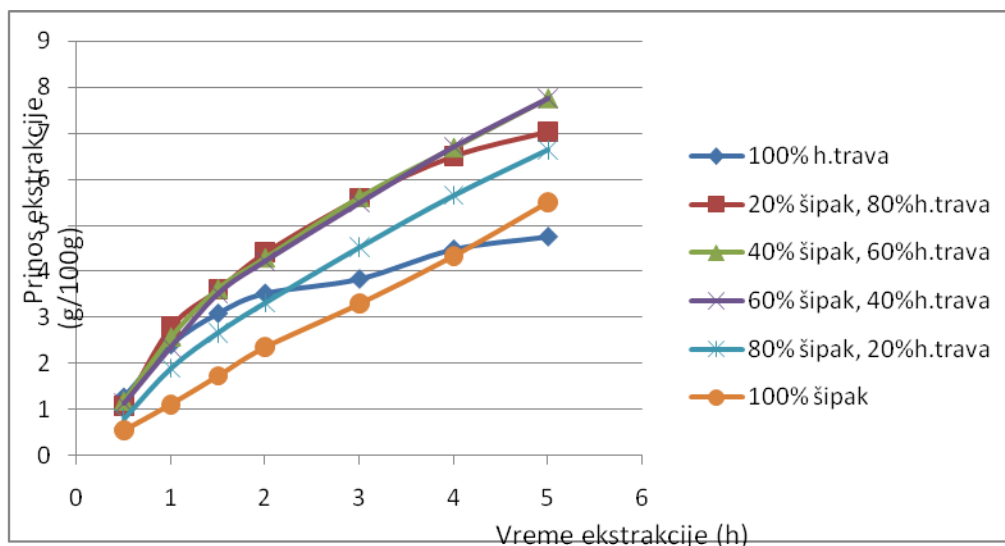


**Dijagram 3.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C

**Tabela 20.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C

| Prinos g/100g (%) na 200 bar, 60 °C |                     |                               |                               |                               |                               |             |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| Sastav smese (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak  |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |             |
| 0,5                                 | 1,263±0,017         | 1,061±0,001                   | 1,193±0,012                   | 1,134±0,011                   | 0,805±0,031                   | 0,545±0,037 |
| 1                                   | 2,406±0,007         | 2,796±0,007                   | 2,584±0,005                   | 2,369±0,001                   | 1,908±0,023                   | 1,115±0,019 |
| 1,5                                 | 3,085±0,001         | 3,597±0,014                   | 3,625±0,005                   | 3,521±0,003                   | 2,677±0,002                   | 1,732±0,011 |
| 2                                   | 3,519±0,001         | 4,399±0,004                   | 4,293±0,002                   | 4,227±0,001                   | 3,326±0,001                   | 2,354±0,09  |
| 3                                   | 3,832±0,001         | 5,580±0,019                   | 5,603±0,003                   | 5,488±0,009                   | 4,529±0,001                   | 3,298±0,08  |
| 4                                   | 4,476±0,019         | 6,494±0,02                    | 6,679±0,012                   | 6,704±0,010                   | 5,656±0,011                   | 4,336±0,013 |
| 5                                   | <b>4,751±0,009</b>  | 7,023±0,011                   | 7,746±0,014                   | <b>7,752±0,011</b>            | 6,648±0,012                   | 5,506±0,017 |

Najveći prinos ekstrakcije na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C (7,752 g/100g) dobijen je ekstrakcijom smeše sastava 60 % biljne prašine šipka i 40 % biljne prašine herbe hajdučke trave. Najmanji prinos ekstrakcije ostvaren je u slučaju ekstrakcije biljne prašine herbe hajdučke trave (4,751 g/100g). U slučaju ekstrakcije na 200 bar efekat temperature je bio dvojak, te je tako u slučaju ekstrakcije mešavina sa manjim udelom biljne prašine ploda šipka doveo do povećanja prinosa, dok je u slučaju višeg udela biljne prašine ploda šipka prinos smanjen, što se uočava i na dijagramu 4. koji prikazuje zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C.



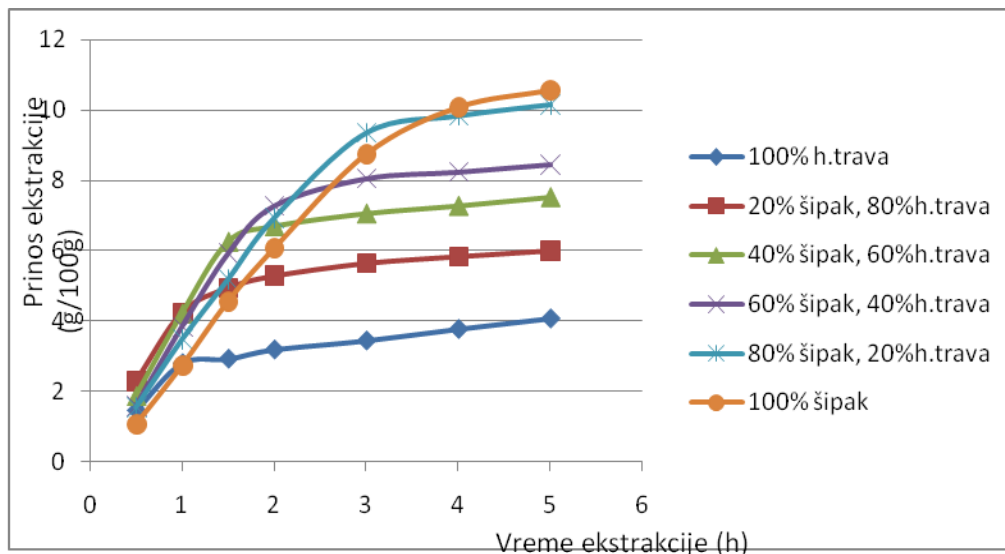
**Dijagram 4.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C

**Tabela 21.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 40 °C

| Prinos g/100g (%) na 300 bar, 40 °C |                     |                               |                               |                               |                               |                     |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| Sastav smese (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak          |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |                     |
| 0,5                                 | 1,450±0,019         | 2,286±0,011                   | 1,866±0,019                   | 1,575±0,012                   | 1,540±0,014                   | 1,059±0,001         |
| 1                                   | 2,792±0,009         | 4,241±0,005                   | 4,205±0,012                   | 3,829±0,001                   | 3,465±0,011                   | 2,729±0,002         |
| 1,5                                 | 2,919±0,002         | 4,942±0,003                   | 6,240±0,021                   | 5,906±0,009                   | 5,179±0,003                   | 4,560±0,011         |
| 2                                   | 3,181±0,001         | 5,283±0,019                   | 6,680±0,031                   | 7,260±0,004                   | 6,922±0,009                   | 6,069±0,019         |
| 3                                   | 3,436±0,08          | 5,643±0,021                   | 7,041±0,041                   | 8,038±0,004                   | 9,343±0,011                   | 8,757±0,021         |
| 4                                   | 3,763±0,011         | 5,836±0,031                   | 7,260±0,047                   | 8,224±0,011                   | 9,828±0,013                   | 10,093±0,020        |
| 5                                   | <b>4,063±0,021</b>  | 6,003±0,041                   | 7,506±0,053                   | 8,438±0,016                   | 10,148±0,018                  | <b>10,574±0,021</b> |

Najveći prinos ekstrakcije na pritisku od 300 bar i temperaturi od 40 °C dobijen je ekstrakcijom biljne prašine ploda šipka, najmanji ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke

trave. Na dijagramu 5. prikazana je kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 40 °C.

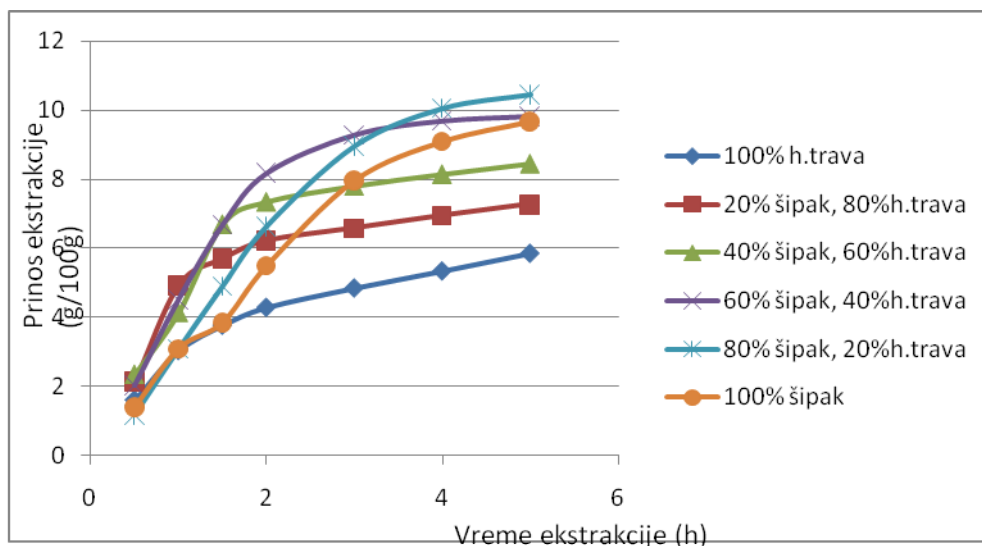


**Dijagram 5.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 40 °C

**Tabela 22.** Prinos ekstrakcije i promena prinosa ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C

| Prinos g/100g (%) na 300 bar, 60 °C |                     |                               |                               |                               |                               |             |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| Sastav smese (%)                    | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak  |
| Vreme (h)                           |                     |                               |                               |                               |                               |             |
| 0,5                                 | 1,597±0,009         | 2,118±0,011                   | 2,340±0,005                   | 2,026±0,012                   | 1,176±0,019                   | 1,386±0,019 |
| 1                                   | 3,026±0,002         | 4,926±0,005                   | 5,135±0,010                   | 4,522±0,009                   | 3,085±0,031                   | 3,089±0,011 |
| 1,5                                 | 3,761±0,001         | 5,699±0,003                   | 6,696±0,011                   | 6,678±0,011                   | 4,903±0,021                   | 3,844±0,009 |
| 2                                   | 4,278±0,001         | 6,222±0,009                   | 7,345±0,003                   | 8,173±0,001                   | 6,630±0,002                   | 5,488±0,007 |
| 3                                   | 4,840±0,007         | 6,589±0,001                   | 7,807±0,001                   | 9,280±0,001                   | 8,952±0,021                   | 7,966±0,011 |
| 4                                   | 5,334±0,010         | 6,952±0,012                   | 8,148±0,092                   | 9,684±0,021                   | 10,038±0,027                  | 9,092±0,013 |
| 5                                   | <b>5,846±0,011</b>  | 7,283±0,009                   | 8,454±0,016                   | 9,818±0,022                   | <b>10,438±0,002</b>           | 9,675±0,027 |

Najveći prinos ekstrakcije na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C dobijen je ekstrakcijom smeše sastavljene od 80 % biljne prašine ploda šipka i 20 % biljne prašine herbe hajdučke trave. Na dijagramu 6. prikazana je kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C.



**Dijagram 6.** Kriva zavisnosti prinosa od vremena ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C

Kada se uporede vrednosti prinosa za obe procesne temperature na pritisku od 300 bar, uočava se da je za sve uzorke, osim za uzorak biljne prašine ploda šipka, dobijen veći prinos ekstrakcije kada se temperatura ekstrakcije poveća na 60 °C, čime se može zaključiti da je povećanje temperature imalo uticaja na povećanje prinosa ekstrakcije na ovom pritisku ekstrakcije.

Ukupan prinos superkritične ekstrakcije biljne prašine herbe hajdučke trave, biljne prašine ploda šipka i mešavine ova dva biljna materijala prikazan je u tabeli 23.

**Tabela 23.** Ukupan prinos ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom biljne prašine herbe hajdučke trave, biljne prašine ploda šipka i mešavine ova dva biljna materijala

| Sastav smeše (%) | Prinos (%)          |                               |                               |                               |                               |                     |
|------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------|
|                  | 100% hajdučka trava | 20% šipak, 80% hajdučka trava | 40% šipak, 60% hajdučka trava | 60% šipak, 40% hajdučka trava | 80% šipak, 20% hajdučka trava | 100% Šipak          |
| 100 bar, 40 °C   | 1,577±0,046         | 2,400±0,071                   | 3,120±0,091                   | 2,593±0,082                   | 2,106±0,025                   | 1,696±0,016         |
| 200 bar, 40 °C   | 3,570±0,026         | 5,079±0,015                   | 7,444±0,059                   | 8,213±0,024                   | 9,033±0,009                   | 8,146±0,009         |
| 300 bar, 40 °C   | 4,063±0,021         | 6,003±0,041                   | 7,506±0,053                   | 8,438±0,016                   | 10,148±0,018                  | <b>10,574±0,021</b> |
| 100 bar, 60 °C   | 0,769±0,065         | 0,968±0,035                   | 0,390±0,012                   | 0,313±0,019                   | 0,285±0,026                   | 0,603±0,037         |
| 200 bar, 60 °C   | 4,751±0,009         | 7,023±0,011                   | 7,746±0,014                   | 7,752±0,011                   | 6,648±0,012                   | 5,506±0,017         |
| 300 bar, 60 °C   | <b>5,846±0,011</b>  | <b>7,283±0,009</b>            | <b>8,454±0,016</b>            | <b>9,818±0,022</b>            | <b>10,438±0,002</b>           | 9,675±0,027         |

Generalno se može zaključiti, na osnovu prikazanih rezultata, da je uticaj pritiska na ekstrakciju ispitivanih sirovina dominantan i pozitivan. Povećanje prinosa ekstrakcije sa povećanjem radnog pritiska naročito je izraženo kod uzoraka smeše u kojima je povećan udeo biljne prašine ploda šipka. Povećanje prinosa superkritične ekstrakcije pri povećanju pritiska je posledica direktnog povećanja gustine i moći rastvaranja ugljen-dioksida u superkritičnom stanju, kao i povećanja rastvorljivosti materijala koji se ekstrahuje (Guan i sar., 2007; Morita i Kajimoto, 1990; Bulgarevic i sar., 2002). Sličan efekat pritiska je uočen kod superkritične ekstrakcije herbe rtanjskog čaja (Vladić, 2017), herbe žalfije (Mičić i sar., 2011; Pavlić, 2017), semena herbe senfa (Arai sar., 2015), ulja zelene kafe (De Azevedo, 2008) ili ulja iz pšeničnih mekinja (Kwon

i sar., 2010). Uticaj temperature je uočljiv, ali ne tako dominantan kao uticaj pritiska. Takođe, povećanje temperature ne utiče uvek pozitivno na prinos ekstrakcije kao što je to slučaj sa pritiskom. Eggers (1996) i Salgin i sar. (2006) su utvrdili da je povećanje prinosa superkritične ekstrakcije semena suncokreta funkcija povećanja temperature pri konstantnom pritisku, ali samo pri vrednostima pritiska višim od 400 bara. Do sličnih rezultata su došli i Aladić i sar. (2015) u istraživanju koje se bavilo superkritičnom ekstrakcijom ulja konoplja iz semena konoplje. Bong i Loh (2013) su zaključili da kada se temperatura povećava, gustina ugljen-dioksida se smanjuje i nadjačava efekat povećanja moći rastvaranja superkritičnog ugljen-dioksida dobijenog povećanjem pritiska. Na ovaj način bi se moglo objasniti smanjenje prinosa na istom random pritisku a kada se temperatura ekstrakcije povećava na 60 °C.

#### **4.3.1. Sadržaj hlorofila i karotenoida u ekstraktima dobijenim superkritičnom ekstrakcijom ugljen-dioksidom**

Na osnovu literaturnih podataka i rezultata ispitivanja sirovog biljnog materijala može se pretpostaviti da se superkritičnom ekstrakcijom mešavine biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka mogu dobiti ekstrakti koji u sebi sadrže visoke koncentracije različitih bioaktivnih jedinjenjima, pre svega jedinjenjima koja potiču iz etarskog ulja hajdučke trave i jedinjenja koja su dominantna u masnom ulju šipka. Obe sirovine sadrže određenu količinu pigmenata, hlorofila i karotenoida, te je i ova jedinjenja opravdano očekivati u ovakvim složenim biljnim proizvodima i smešama. Ukupan sadržaj hlorofila i karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine ili mešavine biljnih prašina herbe hajdučke trave i ploda šipka, pri različitim pritiscima i temperaturama, prikazan je u tabeli 24. Prilikom superkritične ekstrakcije na pritisku od 100 bar i temperaturi od 60 °C ukupan prinos ekstrakcije bio je veoma nizak, zbog čega ovi ekstrakti nisu dalje analizirani, te tako nije analiziran ni sadržaj karotenoida i hlorofila u njima.



**Tabela 24.** Ukupan sadržaj hlorofila i karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine ili smeša biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka pri različitim uslovima

| Uslovi superkritične ekstrakcije |               |  | Sastav smeše (%)       | Sadržaj (mg/g ekstrakta) |             |             |             |
|----------------------------------|---------------|--|------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>p</i> (bar)                   | <i>T</i> (°C) | <i>P</i> CO <sub>2</sub> (g/c m <sup>3</sup> ) |                        | Chl A                    | Chl B       | Chl A + B   | TC          |
| 100                              | 40            | 0,629  | 100% h.trava           | 0,106±0,001              | 0,019±0,006 | 0,125±0,008 | 0,165±0,009 |
|                                  |               |  | 20% šipak, 80% h.trava | 0,030±0,003              | 0,028±0,010 | 0,057±0,007 | 0,055±0,010 |
|                                  |               |  | 40% šipak, 60% h.trava | 0,033±0,002              | 0,026±0,005 | 0,060±0,008 | 0,058±0,009 |
|                                  |               |  | 60% šipak, 40% h.trava | 0,044±0,008              | 0,066±0,006 | 0,111±0,002 | 0,047±0,007 |
|                                  |               |  | 80% šipak, 20% h.trava | 0,031±0,004              | 0,043±0,008 | 0,074±0,010 | 0,037±0,007 |
|                                  |               |  | 100% šipak             | 0,024±0,007              | 0,033±0,006 | 0,057±0,009 | 0,028±0,003 |
| 200                              | 40            | 0,840  | 100% h.trava           | 0,132±0,008              | 0,058±0,003 | 0,190±0,003 | 0,197±0,006 |
|                                  |               |  | 20% šipak, 80% h.trava | 0,096±0,006              | 0,018±0,001 | 0,114±0,004 | 0,178±0,009 |
|                                  |               |  | 40% šipak, 60% h.trava | 0,032±0,008              | 0,001±0,001 | 0,033±0,003 | 0,131±0,005 |
|                                  |               |  | 60% šipak, 40% h.trava | 0,034±0,010              | 0,024±0,001 | 0,058±0,007 | 0,144±0,006 |
|                                  |               |  | 80% šipak, 20% h.trava | 0,013±0,006              | 0,009±0,001 | 0,022±0,001 | 0,074±0,001 |
|                                  |               |  | 100% šipak             | 0,003±0,002              | 0,009±0,001 | 0,011±0,004 | 0,077±0,001 |
| 200                              | 60            | 0,724  | 100% h.trava           | 0,260±0,010              | 0,030±0,001 | 0,290±0,002 | 0,210±0,003 |
|                                  |               |  | 20% šipak, 80% h.trava | 0,063±0,006              | 0,006±0,001 | 0,069±0,002 | 0,104±0,005 |
|                                  |               |  | 40% šipak, 60% h.trava | 0,055±0,002              | 0,033±0,001 | 0,088±0,005 | 0,100±0,004 |
|                                  |               |  | 60% šipak, 40% h.trava | 0,032±0,004              | 0,021±0,001 | 0,053±0,001 | 0,066±0,003 |
|                                  |               |  | 80% šipak, 20%         | 0,031±0,003              | 0,032±0,003 | 0,063±0,003 | 0,057±0,003 |

|     |    |       |                           |                         |                         |                         |                         |
|-----|----|-------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|     |    |       | h.trava                   | 08                      | 02                      | 02                      | 02                      |
|     |    |       | 100% šipak                | 0,010±0,0<br>01         | 0,004±0,0<br>01         | 0,014±0,0<br>03         | 0,055±0,0<br>03         |
| 300 | 40 | 0,910 | 100% h.trava              | 0,447±0,0<br>06         | 0,083±0,0<br>01         | 0,529±0,0<br>07         | 0,408±0,0<br>10         |
|     |    |       | 20% šipak, 80%<br>h.trava | 0,248±0,0<br>02         | 0,021±0,0<br>02         | 0,269±0,0<br>04         | 0,306±0,0<br>05         |
|     |    |       | 40% šipak, 60%<br>h.trava | 0,146±0,0<br>07         | 0,018±0,0<br>02         | 0,181±0,0<br>07         | 0,209±0,0<br>07         |
|     |    |       | 60% šipak, 40%<br>h.trava | 0,160±0,0<br>07         | 0,033±0,0<br>04         | 0,192±0,0<br>08         | 0,261±0,0<br>06         |
|     |    |       | 80% šipak, 20%<br>h.trava | 0,112±0,0<br>04         | 0,062±0,0<br>01         | 0,174±0,0<br>02         | 0,241±0,0<br>04         |
|     |    |       | 100% šipak                | 0,031±0,0<br>08         | 0,009±0,0<br>01         | 0,039±0,0<br>01         | 0,155±0,0<br>08         |
| 300 | 60 | 0,830 | 100% h.trava              | <b>0,648±0,0<br/>07</b> | <b>0,107±0,0<br/>01</b> | <b>0,755±0,0<br/>06</b> | <b>0,455±0,0<br/>06</b> |
|     |    |       | 20% šipak, 80%<br>h.trava | 0,253±0,0<br>06         | 0,020±0,0<br>01         | 0,273±0,0<br>03         | 0,249±0,0<br>02         |
|     |    |       | 40% šipak, 60%<br>h.trava | 0,239±0,0<br>03         | 0,038±0,0<br>02         | 0,277±0,0<br>09         | 0,253±0,0<br>07         |
|     |    |       | 60% šipak, 40%<br>h.trava | 0,115±0,0<br>08         | 0,017±0,0<br>03         | 0,132±0,0<br>08         | 0,179±0,0<br>08         |
|     |    |       | 80% šipak, 20%<br>h.trava | 0,061±0,0<br>04         | 0,015±0,0<br>01         | 0,076±0,0<br>10         | 0,187±0,0<br>03         |
|     |    |       | 100% šipak                | 0,015±0,0<br>03         | 0,018±0,0<br>04         | 0,033±0,0<br>03         | 0,196±0,0<br>03         |

Chl A – hlorofil A; Chl B – hlorofil B, Chl A + B – hlorofil A + B; TC – ukupni karotenoidi

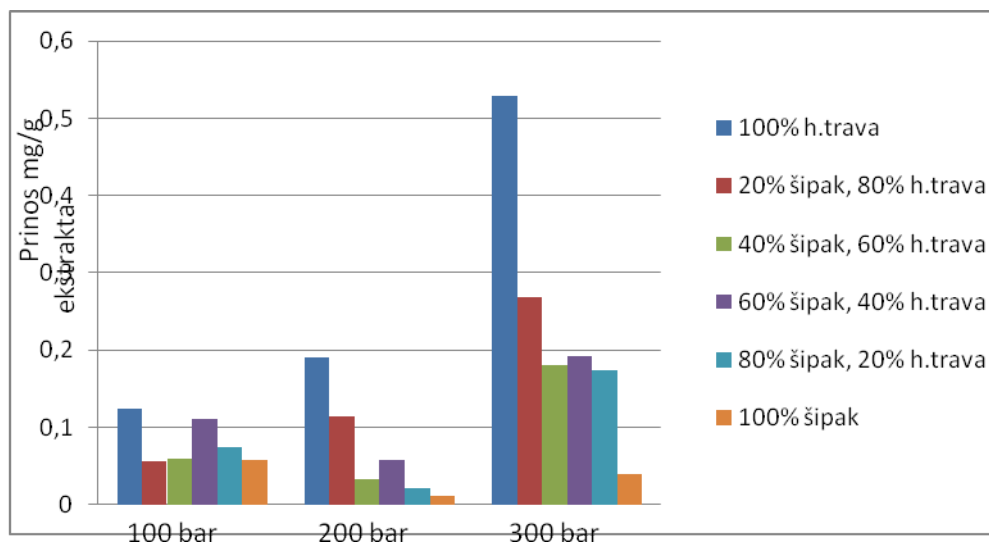
Najviši sadržaj Chl A, Chl B i Chl A + B je određen u ekstraktima koji su dobijeni superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave na pritisku od 300 bara i temperaturi od 60 °C, odnosno primenom ugljen-dioksida gustine 0,830 g/cm<sup>3</sup>. Prinosi hlorofila i karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni pomoću superkritične ekstrakcije su znatno viši od sadržaja hlorofila i karotenoida u suvim biljnim smešama. Međutim, sadržaj hlorofila u ekstraktima dobijenih pomoću superkritičnog ugljen-dioksida, na navedenim uslovima, (0,648; 0,107 i 0,755 mg/g ekstrakta, respektivno) je značajno niži (približno dva do tri puta) u poređenju sa sadržajem Chl A, Chl B i Chl A + B u ekstraktima koji su dobijeni primenom Soxhlet

ekstrakcije sa metilen hloridom kao ekstragensom (1,499; 0,327 i 1,825 mg/g ekstrakta, respektivno).

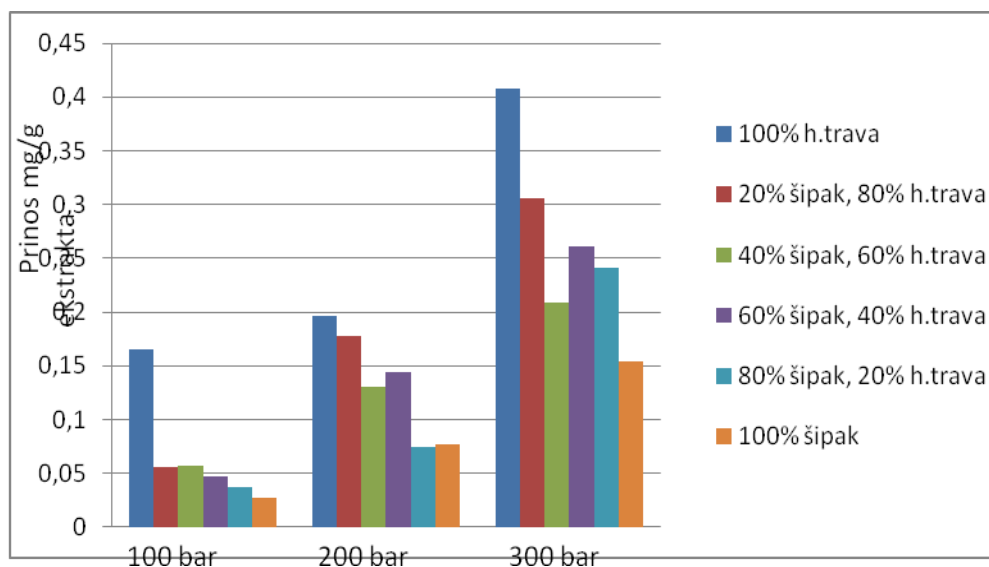
Najviši sadržaj karotenoida određen je, takođe, u ekstraktu koji je dobijen superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave na pritisku od 300 bara i temperaturi od 60 °C (0,455 mg/g ekstrakta), što je u skladu sa literaturnim podacima. Naime, prema istraživanju Macias-Sanchez i sar. karotenoidni pigmenti se obično ekstrahuju pri višim pritiscima (300-450 bar) i umerenim temperaturama (40-60 °C) (Macias-Sanchez i sar. 2005; Macias-Sanchez i sar., 2008, 2010). U skladu sa tim, najniži rezultati za sadržaj karotenoida u ekstraktima koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka i njihovih mešavina, detektovani su upravo u ekstraktima dobijenim na najnižim pritiscima, pri pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C.

I hlorofili i karotenoidi pokazuju slično ponašanje u superkritičnom ugljen-dioksidu. Upravo zbog toga najveći sadržaji Chl A+B i sadržaji karotenoida detektovani su u ekstraktima koji su dobijeni primenom ugljen-dioksida gustine od 0,830 g/cm<sup>3</sup> (300 bara i 60 °C), što znači da se rastvorljivost ovih jedinjenja povećava sa povećanjem pritiska i temperature.

Iz dobijenih rezultata, jasno je da je na sadržaj ukupnih hlorofila i karotenoida najveći uticaj imao pritisak, što se najbolje može prikazati dijagramski. Na dijagramu 7. prikazan je sadržaj Chl A+B (prinos u mg/g ekstrakta) biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, u zavisnosti od pritiska (100, 200 i 300 bar), kada je radna temperatura bila konstantna (40 °C), a na dijagramu 8. sadržaj ukupnih karotenoida, za iste ekstrakte, pri istim uslovima.



**Dijagram 7.** Dijagram zavisnosti sadržaja Chl A+B od radnog pritiska na kome se vršila superkritična ekstrakcija biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, i njihovih mešavina



**Dijagram 8.** Dijagram zavisnosti sadržaja karotenoida od radnog pritiska na kome se vršila superkritična ekstrakcija biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, i njihovih mešavina

Na dijagramima je jasno uočljivo da su se sa povećanjem pritiska, povećavali i sadržaji Chl A+B i sadržaji karotenoida, kako je i ranije navedeno.

### 4.3.2. Rezultati gasno-hromatografske analize ekstrakata dobijenih primenom superkritične ekstrakcije ugljen-dioksidom

Superkritični ekstrakti dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, analizirani su primenom GC/MS i GC/FID metoda analize, a u cilju određivanja njihovog hemijskog sastava. Na ovaj način je izvršena identifikacija i kvantifikacija odabranih aromatičnih jedinjenja, ugljovodonika i sterola prisutnih u ekstraktima.

#### 4.3.2.1. Rezultati gasno-hromatografske analize aromatičnih komponenata

GC/MS analiza aromatičnih jedinjenja i GC FID analiza odabranih aromatičnih jedinjenja je urađena u SP laboratoriji, Bečej (Srbija), a dobijeni rezultati kvalitativnog i kvantitativnog sastava ekstrakata su prikazani u tabelama (Tabela 25 – 29). Hromatografski prikazi dobijenih rezultata su dati u poglavlju Prilozi (Slika P1 – Slika P34). Kao i u slučaju analize pigmenata ekstrakti biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, i njihovih mešavina, dobijeni primenom superkritičnog ugljen-dioksida na 100 bar i 60 °C nisu analizirani zbog veoma malog prinosa ekstrakcije ostvarenog na ovim procesnim uslovima.

**Tabela 25.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C (relativni udeo, %)

| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |   |  |  |  |  |                                |
|----------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| T 40°C, p 100bar                 |   |  |  |  |  |                                |
| Naziv komponente                 | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| p-Cimen                          | 0,32                                    | 0,30   | 0,19   | n.i.   | 0,42   | n.i.                           |
| Eukaliptol                       | 7,59                                    | 8,26   | 6,33   | 5,42   | 9,66   | n.i.                           |

|                    |      |      |      |      |      |      |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| $\gamma$ -Terpinen | 1,37 | 1,24 | 1,05 | 0,68 | 1,41 | n.i. |
| Linalol            | 1,01 | 0,90 | 0,76 | n.i. | 0,52 | n.i. |
| Kamfor             | 9,47 | 7,64 | 7,18 | 5,9  | 7,67 | n.i. |
| Borneol            | 5,73 | 4,06 | 4,23 | 2,95 | 3,88 | n.i. |
| 4-terpineol        | 0,84 | 0,61 | 0,79 | 0,91 | n.i. | n.i. |
| $\alpha$ -Terpinen | 3,71 | 3,02 | 1,24 | n.i. | n.i. | n.i. |
| Karvakrol          | 0,91 | 0,71 | 0,72 | n.i. | n.i. | n.i. |
| Trans Kariofilen   | 0,87 | 1,00 | 1,02 | 5,84 | n.i. | n.i. |

**Tabela 26.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C (relativni udeo, %)

| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |   |  |  |  |  |                                |
|----------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| T 40°C, p 200bar                 |   |  |  |  |  |                                |
| Naziv komponente                 | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| p-Cimen                          | 0,38                                    | 0,49   | 0,91   | 0,73   | n.i.   | n.i.                           |
| Eukaliptol                       | 10,88                                   | 10,56  | 16,11  | 14,69  | n.i.   | n.i.                           |
| $\gamma$ -Terpinen               | 1,52                                    | 1,66   | 2,59   | 2,42   | 1,20   | n.i.                           |
| Linalol                          | 0,48                                    | 0,75   | 0,66   | 1,07   | 2,20   | n.i.                           |
| Kamfor                           | 10,55                                   | 8,33   | 9,43   | 9,27   | 18,90  | n.i.                           |
| Borneol                          | 5,03                                    | 3,51   | 3,62   | 4,25   | 1,87   | n.i.                           |
| 4-terpineol                      | 0,55                                    | 0,48   | 0,52   | 0,67   | n.i.   | n.i.                           |
| $\alpha$ -Terpinen               | 1,72                                    | 0,95   | 1,05   | 1,11   | n.i.   | n.i.                           |
| Karvakrol                        | 0,74                                    | 0,63   | 0,63   | n.i.   | 7,22   | n.i.                           |
| Trans Kariofilen                 | 0,88                                    | 0,43   | 1,06   | 1,12   | n.i.   | n.i.                           |
| Geraniol                         | n.i.                                    | 0,16   | n.i.   | n.i.   | 13,67  | n.i.                           |

**Tabela 27.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 40 °C (relativni udeo, %)

| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |   |  |  |  |  |                                |
|----------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| T 40°C, p 300bar                 |   |  |  |  |  |                                |
| Naziv komponente                 | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| p-Cimen                          | 0,80                                    | 0,72   | 0,48   | 0,48   | 0,84   | n.i.                           |
| Eukaliptol                       | 13,31                                   | 11,39  | 7,81   | 7,62   | 13,86  | n.i.                           |
| γ-Terpinen                       | 1,73                                    | 1,77   | 1,28   | 1,19   | 1,48   | n.i.                           |
| Linalol                          | 0,72                                    | 0,54   | 0,86   | 0,53   | 0,59   | n.i.                           |
| Kamfor                           | 10,07                                   | 7,65   | 8,61   | 6,41   | 10,44  | n.i.                           |
| Borneol                          | 4,39                                    | 3,32   | 4,81   | 3,13   | 5,92   | n.i.                           |
| 4-terpineol                      | 0,84                                    | 0,48   | 0,79   | 0,53   | n.i.   | n.i.                           |
| α-Terpinen                       | 1,44                                    | 1,19   | 2,35   | 1,22   | n.i.   | n.i.                           |
| Karvakrol                        | 0,79                                    | 0,51   | 1,21   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |
| Trans Kariofilen                 | 0,77                                    | 0,43   | 1,26   | 0,81   | n.i.   | n.i.                           |
| Geraniol                         | n.i.                                    | 0,14   | n.i.   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |

**Tabela 28.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda špka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C (relativni udeo, %)

| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |   |  |  |  |  |                                |
|----------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| T 60°C, p 200bar                 |   |  |  |  |  |                                |
| Naziv komponente                 | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| p-Cimen                          | 0,34                                    | 0,62   | 0,69   | 0,76   | 1,24   | n.i.                           |
| Eukaliptol                       | 8,11                                    | 11,13  | 12,13  | 14,22  | 23,39  | n.i.                           |
| γ-Terpinen                       | 1,52                                    | 1,63   | 1,88   | 2,53   | 3,45   | n.i.                           |
| Linalol                          | 0,83                                    | 0,96   | 0,33   | 0,43   | 0,71   | n.i.                           |
| Kamfor                           | 8,27                                    | 8,77   | 7,61   | 8,87   | 13,09  | n.i.                           |
| Borneol                          | 3,77                                    | 4,03   | 2,72   | 3,91   | 3,91   | n.i.                           |
| 4-terpineol                      | 0,73                                    | 0,64   | 0,39   | 0,75   | n.i.   | n.i.                           |
| α-Terpinen                       | 1,93                                    | 1,56   | 0,57   | 0,62   | n.i.   | n.i.                           |
| Karvakrol                        | 0,73                                    | 0,73   | 0,46   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |
| Trans Kariofilen                 | 0,81                                    | 0,43   | 0,63   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |
| Geraniol                         | n.i.                                    | 0,20   | n.i.   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |



**Tabela 29.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C (relativni udeo, %)

| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |   |  |  |  |  |                                |
|----------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| T 60°C, p 300bar                 |   |  |  |  |  |                                |
| Naziv komponente                 | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| p-Cimen                          | 0,39                                    | 0,65   | 0,58   | 0,54   | 1,74   | n.i.                           |
| Eukaliptol                       | 9,91                                    | 10,99  | 11,63  | 10,82  | 21,28  | n.i.                           |
| γ-Terpinen                       | 1,66                                    | 1,86   | 1,97   | 1,85   | 1,83   | n.i.                           |
| Linalol                          | 0,99                                    | 0,89   | 0,60   | 0,69   | 1,14   | n.i.                           |
| Kamfor                           | 8,19                                    | 8,18   | 7,84   | 6,63   | 11,76  | n.i.                           |
| Borneol                          | 4,12                                    | 3,38   | 3,40   | 3,23   | 4,43   | n.i.                           |
| 4-terpineol                      | 0,80                                    | 0,57   | 0,59   | 0,44   | n.i.   | n.i.                           |
| α-Terpinen                       | 1,59                                    | 1,13   | 0,97   | 0,37   | n.i.   | n.i.                           |
| Karvakrol                        | 0,67                                    | 0,65   | 0,73   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |
| Trans Kariofilen                 | 1,22                                    | 0,55   | 0,68   | 0,81   | n.i.   | n.i.                           |
| Geraniol                         | n.i.                                    | 0,17   | n.i.   | n.i.   | n.i.   | n.i.                           |

Gasno-hromatografskom analizom superkritičnih ekstrakata, dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka i njihovih mešavina, detektovano je 11 aromatičnih komponenti, od kojih su u najvećem relativnom procentu zastupljeni **eukaliptol, kamfor i borneol**. Dominantna komponenta u ekstraktima bila je eukaliptol. U manjem procentu (< 3 %) identifikovani su **α- i γ-terpinen**, dok su aromatične komponente pronađene uglavnom u udelu manjem od 1 % **p-cimen, linalol, 4-terpineol, karvakrol, trans kariofilen i geraniol**. Identifikovani monoterpeni i seskviterpeni su zastupljeni u različitim udelima, u zavisnosti od uslova superkritične ekstrakcije, kao i od udela herbe hajdučke trave, odnosno ploda šipka u biljnoj mešavini.

Tri dominantna jedinjenja detektovana u dobijenim superkritičnim ekstraktima imaju dokazano biološko delovanje ili već definisanu primenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj proizvodnji. Eukaliptol ili 1,8-cineol, kako se drugačije naziva, je monoterpenski oksid. Njegovo dejstvo je antibakterijsko i mukolitičko, a deluje i kao ekspektorans, antiseptik i dezinficijens (Knox i sar., 2011). Kamfor je, po hemijskom sastavu, biciklični terpenski keton, a može se redukovati u izoborneol pomoću natrijum-borohidrida. Zbog svog karakterističnog mirisa, koristi se kao začim, najčešće u indijskoj kuhinji, ali i u medicinske svrhe. Deluje antiseptično, primenjuje se kod reumatskih bolova, mialgija i neuralgija (Li i sar., 2010). Borneol je zasićeni alkohol, karakterističnog mirisa na kamfor. Postoji u slobodnom obliku, ili u obliku estra, a upotrebu je našao u industriji parfema (Nowak i sar., 2010). Jedinjenja koja su dobijenim ekstraktima detektovana u najvećem udelu, a to su pre svega eukaliptol, kamfor i borneol, mogu uticati na njihovu potencijalnu primenu, u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji.

Kao što je navedeno, u nešto manjem procentu u dobijenim ekstraktima identifikovani su  $\alpha$ - i  $\gamma$ -terpinen. Terpineni predstavljaju izomere terpena. Razlikuju se  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ - terpineni, u zavisnosti od položaja dvostruke veze. To su aromatizovane supstance koje se najčešće koriste u aromaterapiji, gde svojim aromatičnim mirisom pozitivno deluje na nervni sistem, smiruje nervnu napetost i migrene, otklanja mentalni umor i nesanicu. Takođe se koristi za aromatizaciju farmaceutskih proizvoda, a u parfimeriji za izradu parfema i kozmetičkih proizvoda, upravo zbog prijatnog mirisa (Kohlmunzer, 1998; Malinka, 1999). Pored navedenih delovanja, ove supstance ispoljavaju još i insekticidno i fungicidno delovanje (Keita i sar., 2000; Rai i sar., 1999), kao i antibakterijsko delovanje, kod oralnih bolesti (Takarada, 2004; Catalán, 2007).

Ostala jedinjenja prisutna u ekstraktima u procentu uglavnom manjem od 1% imaju različita delovanja i primenu. Kariofileni su seskviterpeni i izomeri karbonata, koji imaju antikancerogeno dejstvo (Gertsch i sar., 2008). Karvakrol je, po hemijskom sastavu, monoterpenski fenol. Poznat je kao jedan od najmoćnijih prirodnih antiseptika, a utvrđeno je da ima i antibakterijsko, antioksidativno i antikancerogeno delovanje (Mehdi i sar., 2011). Geraniol je monoterpenoid (derivat terpena) i alkohol, značajan za biosintezu nekih drugih terpena (npr. mircen i ocimen) (Eggersdorfer, 2000). U kiselim rastvorima, konvertuje se u ciklični terpen  $\alpha$ -terpineol (Stork i sar., 1974). Zbog karakterističnog mirisa, geraniol je našao upotrebu u industriji parfema, ali i kao sastavni deo preparata za zaštitu protiv ujeda insekata (Barnard i Xue, 2004).

Linalol je prirodni terpenški alkohol, prisutan u mnogim cvetajućim i začinskim biljkama, a njegova primena je bazirana na prijatnom mirisu (Lewinshon i sar., 2001).

Ekstrakti koji su dobijeni primenom superkritičnog ugljen-dioksida nakon GC/MS analize analizirani su primenom GC FID metode analize, a dobijeni rezultati su izraženi u g/100g (tabela 30). Primenom ove metode analize precizno je određen sadržaj eukapliptola i kamfora.

**Tabela 30.** Rezultati GC FID analize odabranih aromatičnih jedinjenja u superkritičnim ekstraktima koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, superkritičnim ugljen-dioksidom na različitim pritiscima i temperaturama (g/100g)

| Procesni parametri i kvantifikovane komponente                             | Prinos (g/100g)                         |  |  |  |  |                                |
|--|---|--|--|--|--|--------------------------------|
|  | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| <b>100 bar, 40°C, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,629g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Eukaliptol   | 1,51                                    | 1,49   | 1,04   | 0,07   | 0,15   | <0,1                           |
| Kamfor   | 3,02                                    | 2,04   | 1,29   | 0,41   | 0,19   | <0,1                           |
| $\gamma$ - terpinen  | 0,17                                    | 0,13   | 0,21   | <0,1   | 0,113  | <0,1                           |
| Linalol  | 0,10                                    | 0,11   | 0,11   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| $\alpha$ - terpineol   | 0,14                                    | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| Metil kavikol  | 0,15                                    | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| Karvakrol  | 0,12                                    | 0,08   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| <b>200 bar, 40°C, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,840g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Eukaliptol   | 1,25                                    | 1,01   | 0,69   | 0,34   | 0,15   | <0,1                           |
| Kamfor   | 2,50                                    | 1,24   | 0,71   | 0,39   | 0,19   | <0,1                           |
| $\gamma$ - terpinen  | 0,13                                    | 0,18   | 0,14   | 0,191  | 0,182  | <0,1                           |
| Linalol  | 0,19                                    | 0,10   | 0,07   | <0,1   | 0,152  | <0,1                           |
| $\alpha$ - terpineol   | 0,42                                    | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| Metil kavikol  | 0,13                                    | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| Karvakrol  | 0,11                                    | 0,07   | <0,1   | <0,1   | <0,1   | <0,1                           |
| <b>300 bar, 40°C, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,910g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |

|  |      |      |      |       |       |      |
|--|------|------|------|-------|-------|------|
| Eukaliptol   | 1,51 | 0,98 | 0,73 | 0,27  | 0,18  | <0,1 |
| Kamfor   | 1,90 | 1,03 | 0,69 | 0,31  | 0,18  | <0,1 |
| $\gamma$ - terpinen  | 0,29 | 0,17 | 0,12 | 0,123 | 0,112 | <0,1 |
| Linalol  | 0,18 | 0,09 | 0,07 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| $\alpha$ - terpineol   | 0,25 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Metil kavikol  | 0,19 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Karvakrol  | 0,08 | 0,07 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| <b>200 bar, 60°C, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,724g/cm<sup>3</sup></b> |      |      |      |       |       |      |
| Eukaliptol   | 1,56 | 1,01 | 0,77 | 0,26  | 0,22  | <0,1 |
| Kamfor   | 3,52 | 1,17 | 0,88 | 0,25  | 0,25  | <0,1 |
| $\gamma$ - terpinen  | 0,11 | 0,17 | 0,13 | 0,212 | 0,112 | <0,1 |
| Linalol  | 0,15 | 0,10 | 0,08 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| $\alpha$ - terpineol   | 0,42 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Metil kavikol  | 0,18 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Karvakrol  | 0,12 | 0,08 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| <b>300 bar, 60°C, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,830g/cm<sup>3</sup></b> |      |      |      |       |       |      |
| Eukaliptol   | 1,35 | 1,29 | 0,76 | 0,23  | 0,18  | <0,1 |
| Kamfor   | 2,02 | 1,21 | 0,74 | 0,29  | 0,19  | <0,1 |
| $\gamma$ - terpinen  | 0,18 | 0,24 | 0,13 | 0,111 | 0,112 | <0,1 |
| Linalol  | 0,15 | 0,13 | 0,07 | <0,1  | 0,112 | <0,1 |
| $\alpha$ - terpineol   | 0,52 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Metil kavikol  | 0,11 | <0,1 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |
| Karvakrol  | 0,11 | 0,11 | <0,1 | <0,1  | <0,1  | <0,1 |

Najviši prinos eukaliptola (1,56 g/100g) je određen u ekstraktu koji je dobijen ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave na pritisku od 200 bara i temperaturi od 60 °C, dok je najniži prinos eukaliptola (<0,1 g/100g) određen u ekstraktu koji je dobijen ekstrakcijom biljne prašine ploda šipka, superkritičnim ugljen-dioksidom na svim radnim pritiscima i svim radnim temperaturama, što ukazuje da je sastav smeše imao najveći uticaj na prinos. Analizom dobijenih rezultata može se zaključiti da se koncentracija eukaliptola u dobijenim ekstraktima smanjuje sa smanjenjem udela hajdučke trave u sirovini koja se ekstrahuje.

U slučaju kamfora došlo se do sličnih zaključaka. Najviši prinos kamfora (3,52 g/100g) određen je u ekstraktu koji je dobijen iz biljne prašine herbe hajdučke trave primenom superkritičnog ugljen-dioksida na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C. Najniži prinos (<0,1 g/100g) je određen u ekstraktima koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine ploda šipka, superkritičnim ugljen-dioksidom na svim radnim pritiscima i svim radnim temperaturama. Baš

kao i u slučaju eukaliptola možemo zaključiti da se prinos kamfora povećavao sa povećanjem udela hajdučke trave u sirovini koja se ekstrahuje, što je i očekivano s obzirom na to da u plodu šipku ove aromatične komponente nisu prisutne.

Kada uporedimo dobijene prinose eukaliptola i kamfora u našim istraživanjima sa rezultatima drugih istraživanja, uviđamo sličnost sa rezultatima koji su dobili Falconieri i sar. (2011) u svojim istraživanjima ispitujući ekstrakte herbe hajdučke trave dobijene superkritičnom ekstrakcijom ugljen-dioksidom na pritisku od 90 bar i temperaturi od 40 °C. U ovom istraživanju dobijeni sadržaj eukaliptola iznosio 1,0 %, a kamfora 3,3 %. Značajno veći sadržaj ove dve komponente u svom istraživanju su detektovale Bocevska i Sovova (2003), ali u istraživanju gde je kao sirovina koja se iskstrahuje primenjen cvet hajdučke trave. U ovom istraživanju sadržaj eukaliptola od 9,59 % detektovan je u ekstraktu koji je dobijen primenom superkritičnog ugljen-dioksida na 100 bara i 40 °C (gustina rastvarača 0,629 g/cm<sup>3</sup>), a 12,47 % kada su uslovi procesa bili 100 bar i 60 °C (gustina rastvarača 0,290 g/cm<sup>3</sup>). Zaključak ovog istraživanja je bio da povećanje temperature za 20 °C i značajno izmenjena gustina rastvarača dovode do povećanja sadržaja eukaliptola u etarskom ulju hajdučke trave. Rezultati našeg istraživanja su pokazali da gustina superkritičnog ugljen-dioksida nije značajno uticala na sadržaj eukaliptola, ili kamfora u dobijenim ekstraktima, s obzirom na to da su najveći prinosi (1,56 g/100g za eukaliptol odnosno 3,52 g/100g za kamfor) dobijeni iz biljne prašine herbe hajdučke trave primenom superkritičnog ugljen-dioksida na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C, kada je gustina rastvarača 0,724 g/cm<sup>3</sup>.

#### 4.3.2.2. Rezultati gasno-hromatografske analize ugljovodonika i sterola

Pored analize prisustva i sadržaja odabranih aromatičnih jedinjenja u superkritičnim ekstraktima koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, u istim ekstraktima je urađena kvalitativna i kvantitativna analiza i drugih jedinjenja kao što su: ugljovodonici, steroli i tokoferoli. Ovaj deo hemijskih analiza superkritičnih ekstrakata je urađen u Veterinarskom zavodu Vinkovci (Hrvatska).

Radi bolje preglednosti i lakšeg razumevanja, rezultati su prikazani u tabeli 31., a kompletne analize su date u tabelama P35-P39, u poglavlju Prilozi.

Steroli ili steroidni alkoholi su prekursori terpenoida. Prirodno se javljaju u biljkama, životinjama i gljivama. Biljni steroli se zovu fitosteroli, i najčešće se nalaze u biljnim uljima, orašastim plodovima i mahunarkama (Bolton i sar., 2008). Prema literaturnim podacima, u hajdučkoj travi su identifikovani  $\beta$ -sitosterol i fitosterol, koji su uobičajeni kod biljaka (Gruenwald, 2000; Bisset i Wichtl, 2001).  $\beta$ -sitosterol je najvažniji među više od 40 poznatih biljnih sterola. Ne može se sintetisati u organizmu, pa se mora unositi putem ishrane. Nalazi se u biljnim uljima, poput soje, kikirikija i avokada. Utvrđeno je da smanjuje holesterol, pa se najviše i koristi u te svrhe (Nowak i sar., 2010). Pored  $\beta$ -sitosterola, najčešće zastupljeni steroli u hajdučkoj travi su stigmasterol i  $\alpha$ -sitosterol (Chandler, 1989). Fitosteroli koji se nalaze u ulju semena šipka, sitosterol, sitostanol i kampesterol, pored smanjenja holesterola u krvi (Batta i sar., 2006), mogu delovati i odbrambeno protiv nekoliko tipova kancera (Piironen i sar., 2000), što je još jedan od razloga za ispitivanje relativnih udela ovih komponenti u ekstraktima.

**Tabela 31.** Rezultati GC/MS analize superkritičnih ekstrakata koji su dobijeni ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na različitim uslovima pritiska i temperature

| Relativni udeo komponente u ekstraktu (%)                                     |   |  |  |  |  |                                |
|---|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| Naziv komponente i procesni parametri   | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| <b>T 40°C, p 100bar, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,629g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Ugljovodnici  | 73,52                                   | <b>74,67</b>   | 70,21  | 70,73  | 67,58  | 63,91                          |
| Steroli   | 5,83                                    | <b>4,28</b>  | 6,09   | 7,18   | 8,96   | 9,40                           |
| Tokoferoli  | 0,68                                    | 0,97   | 0,91   | 2,47   | 3,25   | 1,59                           |
| <b>T 40°C, p 200bar, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,840g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Ugljovodnici  | 65,27                                   | 70,89  | 52,5   | 62,87  | 45,0   | 42,96                          |
| Steroli   | 9,89                                    | 9,48   | 7,33   | 11,15  | 15,18  | 29,64                          |
| Tokoferoli  | 0,79                                    | 0,77   | 2,43   | 5,09   | 7,58   | 16,16                          |
| <b>T 40°C, p 300bar, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,910g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Ugljovodnici  | 70,52                                   | 70,88  | 51,47  | 54,88  | 51,67  | 35,52                          |
| Steroli   | 10,09                                   | 8,65   | 9,33   | 12,65  | 17,32  | 28,43                          |
| Tokoferoli  | 0,89                                    | 1,79   | 2,92   | 4,65   | 9,18   | 13,25                          |
| <b>T 60°C, p 200bar, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,724g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Ugljovodnici  | 60,59                                   | 44,14  | 17,36  | 20,20  | <b>15,57</b>   | 23,53                          |
| Steroli   | 10,39                                   | 9,02   | 9,98   | 11,43  | 22,01  | <b>35,91</b>                   |
| Tokoferoli  | 0,73                                    | 1,66   | 3,75   | 5,36   | 7,78   | 13,06                          |
| <b>T 60°C, p 300bar, <math>\rho(\text{CO}_2)</math> 0,830g/cm<sup>3</sup></b> |   |  |  |  |  |                                |
| Ugljovodnici  | 64,60                                   | 37,85  | 34,35  | 32,42  | 20,72  | 17,52                          |
| Steroli   | 10,28                                   | 7,96   | 11,82  | 13,86  | 26,43  | 29,14                          |
| Tokoferoli  | 0,87                                    | 2,21   | 4,29   | 6,89   | 10,94  | 15,58                          |

Relativni sadržaj ukupnih sterola u superkritičnim ekstraktima biljne prašine i njihovih mešavina kreće se u opsegu od 4,28 do 35,91 %. Najviši relativni sadržaj ukupnih sterola dobijen je u ekstraktu biljne prašine ploda šipka, dobijenog superkritičnom ekstrakcijom pri temperaturi

od 60 °C i pritisku od 200 bar. Od sterola, u ispitivanim superkritičnim ekstraktima, identifikovani su kampesterol, stigmasterol i  $\gamma$ -sitosterol, pri čemu je najzastupljeniji bio  $\gamma$ -sitosterol. Najveći relativni procenat  $\gamma$ -sitosterola, imali su superkritični ekstrakti dobijeni iz biljne prašine ploda šipka, pri svim radnim pritiscima i temperaturama na kojima se izvodila superkritična ekstrakcija. Najveća vrednost relativnog udela  $\gamma$ -sitosterola određena je u ekstraktu koji je dobijen iz biljne prašine ploda šipka primenom superkritičnog ugljen-dioksida na pritisku od 200 bar i temperaturi od 60 °C (34,93 %); u istom ekstraktu je takođe identifikovana i najveća vrednost relativnog udela ukupnih sterola (35,91 %) pri istim uslovima superkritične ekstrakcije.

Relativni sadržaj ukupnih ugljovodonika u superkritičnim ekstraktima biljne prašine i njihovih mešavina kreće se u opsegu od 15,57 do 74,67 %. Najveći relativni procenat ugljovodonika određen je u superkritičnim ekstraktima dobijenim pri pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C, za sve ispitivane biljne mešavine, čime se može zaključiti da su radni uslovi pri kojima se izvodila superkritična ekstrakcija imali značajnu ulogu na udeo ovih komponenata u ekstraktima. Najveći relativni udeo ugljovodonika, kada se superkritična ekstrakcija izvodila na temperaturi od 40 °C, pri svim radnim pritiscima, određen je u ekstraktu koji je dobijen iz biljne smeše 80 % biljne prašine herbe hajdučke trave i 20 % biljne prašine ploda šipka. Kada je u pitanju analiza ekstrakata koji su dobijeni superkritičnom ekstrakcijom na temperaturi od 60 °C, najveći relativni udeo ugljovodonika je detektovan u ekstraktu dobijenom iz biljne prašine herbe hajdučke trave. Na osnovu dobijenih rezultata, možemo zaključiti da je na relativni udeo ovih komponenata u superkritičnim ekstraktima, pored uslova na kojima se superkritična ekstrakcija izvodila, veliki uticaj imao i sastav mešavina od kojih su dobijeni superkritični ekstrakti. Do sličnih zaključaka su došli i Gudaityte i Venskutonis (2007) analizirajući gasno-hromatografskom metodom ekstrakte hajdučke trave dobijene hidrodestilacijom cveta i lišća više hemotipova hajdučke trave, sa različitih lokacija u Litvaniji. Ekstrakti dobijeni hidrodestilacijom lišća hajdučke trave imali su veći procenat alifatičnih ugljovodonika nego ekstrakti dobijeni hidrodestilacijom cveta ove biljke. Dalje, Rustayian i sar. (2011) su izvršili gasno-hromatografsku analizu ekstrakata cveta vrste hajdučke trave (*Achillea nobilis*) dobijenih hidrodestilacijom, i utvrdili da je sastav etarskog ulja različit u zavisnosti od mesta uzgoja biljke, pri čemu je relativni udeo ugljovodonika u etarskom ulju uzorka iznosio oko



50%. U oba ispitivanja, utvrđeno je da su dobijene razlike u relativnom udelu ugljovodonika poticale od različitih tipova i različitih uslova pri kojima se biljka gajila.

Od ugljovodonika koji su identifikovani u superkritičnim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka i za koje su određeni relativni procenti, najviše su bili zastupljeni alifatični ugljovodonici, i to eikozan, dokozaan, tetrakozan, tetradekan, heptadekan i oktadekan. Alifatični ugljovodonici, najveću ulogu imaju kao rastvarači u raznim granama industrije, ali većina ovih rastvarača predstavljaju smeše, najčešće heterogene prirode, pa njihov sastav često nije potpuno poznat (Von Oettingen, 1942). Pored uloge rastvarača, ova jedinjenja su našla primenu u farmaceutskoj i hemijskoj industriji, kao anestetici, herbicidi, hemijski intermedijari, jedinjenja za gašenje požara i sredstva za čišćenje metala (Roy i sar., 2001; ILO Encyclopaedia, 2011). Međutim, proizvodnja i upotreba alifatičnih ugljovodonika uključuje ozbiljne potencijalne zdravstvene probleme: kancerogenost i mutagenost, efekte na nervni sistem i povrede vitalnih organa, posebno jetre (ILO Encyclopaedia, 2011).

#### 4.3.2.3. Rezultati gasno-hromatografske analize tokoferola

U dobijenim superkritičnim ekstraktima, pored gore dve navedene grupe jedinjenja, detektovani su i tokoferoli i to su  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol (Tabela 31). Najveći relativni procenat ukupnih tokoferola detektovan je u ekstraktu koji je dobijen iz biljne prašine ploda šipka primenom superkritičnog ugljen-dioksida na pritisku od 200 bar i temperaturi od 40 °C (16,6 %) . U ekstraktima dobijenim iz biljne prašine ploda šipka, generalno detektovan je najveći relativni procenat tokoferola pri svim radnim pritiscima i temperaturama, izuzev kada se superkritična ekstrakcija izvodila pri temperaturi od 40 °C i pritisku od 100 bar, gde je najveći relativni procenat tokoferola detektovan u ekstraktu dobijenom iz smeše 80 % biljne prašine ploda šipka i 20 % biljne prašine herbe hajdučke trave (3,25 %).

Kao što se može uočiti iz prethodno iznetih rezultata, ekstrakti koji su dobijeni ekstrakcijom sporednog proizvoda herbe hajdučke trave i ploda šipka superkritičnim ugljen-dioksidom sadrže tokoferole i to u opsegu od 0,68 do 16,16 %. Kvantitativna GC/MS analiza pojedinačnih i ukupnih tokoferola je urađena u Veterinarskom zavodu, Vinkovci, Hrvatska, a dobijeni rezultati su dati u tabeli 32, izraženi kao mg jedinjenja po L ekstrakta.

U svim ekstraktima bez obzira na uslove superkritične ekstrakcije, dominirao je  $\alpha$ -tokoferol, dok  $\gamma$ -tokoferol nije bio prisutan u ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave i ekstraktima dobijenim iz smeše 80% biljna prašina herbe hajdučke trave i 20 % biljna prašina ploda šipka, pri svim primenjenim pritiscima i temperaturama, kao i u ekstraktu dobijenom iz smeše 40 % biljna prašina ploda šipka i 60 % biljna prašina herbe hajdučke trave pri pritisku od 100 bar i temperaturi od 40 °C (Tabela 32). Na osnovu ovoga može se zaključiti da identifikovan  $\gamma$ -tokoferol u ekstraktima, pri uslovima na kojima se vršila superkritična ekstrakcija, zapravo dominantno potiče iz biljne prašine ploda šipka.

Najveći prinos  $\alpha$ -tokoferola (776,84 mg/L), kao i najveći ukupni prinos tokoferola (1332,68 mg/L) identifikovan je u ekstraktu koji je dobijen superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine ploda šipka na pritisku od 200 bara i temperaturi od 60 °C. Poređenjem sa dobijenim prinosom na istom pritisku, a pri nižoj temperaturi (40 °C), uočen je pozitivan uticaj temperature, s obzirom na to da je povećanjem temperature povećan prinos za čak oko 46%. Manje značajan rast  $\alpha$ -tokoferola dobijen je povećanjem temperature sa 40 na 60 °C za radni pritisak od 300 bara. Pozitivan efekat temperature na ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola utvrđen je u ranijim istraživanjima (Mendiola i sar., 2008; Bong i Loh, 2013; Imsanguan i sar., 2008). Povećanjem temperature smanjuje se viskoznost i povećava difuzivnost čime se povećava rastvorljivost rastvarača (Herrero i sar., 2006).

Utvrđeno je da se tokoferoli lako ekstrahuju pomoću superkritične ekstrakcije pri nižim pritiscima, što može predstavljati benefit ove metode. Sličan efekat pritiska uočili su Liu i sar. (2012), analizirajući sastav ekstrakata ulja semena nara dobijenih superkritičnom ekstrakcijom. Rezultati njihovog istraživanja su pokazali da je najveći sadržaj ukupnih tokoferola dobijen na pritisku od 150 bar, temperaturi od 50 °C i trajanju ekstrakcije od 2 h i da se prinos smanjivao sa dodatnim povećanjem pritiska (Liu i sar., 2012).

**Tabela 32.** Kvantitativna GC/MS analiza pojedinačnih i ukupnih tokoferola u ekstraktima koji su dobijeni superkritičnom ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave i ploda šipka, kao i njihovih mešavina, ugljen-dioksidom na različitim uslovima pritiska i temperature

| Prinos (mg/L)                         |   |  |  |  |  |                                |
|---------------------------------------|---|--|--|--|--|--------------------------------|
| Naziv komponente i procesni parametri | Ekstrakt dobijen iz 100% hajdučke trave | Ekstrakt dobijen iz mešavine 20% šipak, 80% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 40% šipak, 60% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 60% šipak, 40% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz mešavine 80% šipak, 20% hajdučka trava | Ekstrakt dobijen iz 100% šipak |
| <b>T 40°C, p 100 bar</b>              |   |  |  |  |  |                                |
| α-tokoferoli                          | <b>584,49</b>                           | 574,35   | 456,66   | 463,00   | 444,48   | 396,71                         |
| γ- tokoferoli                         | n.i.                                    | n.i.   | n.i.   | 309,81   | 366,42   | 379,76                         |
| Ukupni tokoferoli                     | 584,49                                  | 574,35   | 456,66   | 772,81   | <b>811,90</b>  | 776,46                         |
| <b>T 40°C, p 200 bar</b>              |   |  |  |  |  |                                |
| α-tokoferoli                          | <b>474,57</b>                           | 317,51   | 301,04   | 383,80   | 354,40   | 410,79                         |
| γ- tokoferoli                         | n.i.                                    | n.i.   | 302,98   | 306,50   | 281,28   | 300,60                         |
| Ukupni tokoferoli                     | 474,57                                  | 317,51   | 604,02   | 690,30   | 635,68   | <b>711,39</b>                  |
| <b>T 40°C, p 300 bar</b>              |   |  |  |  |  |                                |
| α-tokoferoli                          | <b>494,08</b>                           | 418,66   | 374,37   | 325,47   | 332,34   | 371,69                         |
| γ- tokoferoli                         | n.i.                                    | n.i.   | 337,27   | 312,18   | 299,07   | 243,85                         |
| Ukupni tokoferoli                     | 494,08                                  | 418,66   | <b>711,64</b>  | 637,65   | 631,41   | 615,54                         |
| <b>T 60°C, p 200 bar</b>              |   |  |  |  |  |                                |
| α-tokoferoli                          | 430,18                                  | 530,22   | 373,90   | 347,30   | 503,73   | <b>776,84</b>                  |
| γ- tokoferoli                         | n.i.                                    | n.i.   | 339,86   | 302,32   | 363,10   | 555,84                         |
| Ukupni tokoferoli                     | 430,18                                  | 530,22   | 713,76   | 649,62   | 866,83   | <b>1.332,68</b>                |
| <b>T 60°C, p 300 bar</b>              |   |  |  |  |  |                                |
| α-tokoferoli                          | 399,08                                  | <b>415,40</b>  | 243,73   | 351,90   | 410,16   | 377,16                         |
| γ- tokoferoli                         | n.i.                                    | n.i.   | 234,40   | 300,2  | 368,00   | 333,06                         |
| Ukupni tokoferoli                     | 399,08                                  | 415,40   | 478,13   | 652,02   | <b>778,16</b>  | 710,22                         |

Tokoferoli i tokotrienoli su klasa hemijskih jedinjenja koja se sastoji od metilisanih fenola, a javljaju se u alfa, beta, gama i delta formama, koje su određene brojem i pozicijom metil grupa. Spadaju u liposolubilne vitamine, imaju vitaminsku aktivnost, i nazivaju se vitamin E. Njihova najvažnija uloga je antioksidantna, a mogu imati i ulogu u funkcionisanju mišića (Iang i sar., 2001). Tokoferoli zbog svog dugog bočnog lanca i aromatičnih prstenova su apolarni molekuli, s toga su dobro rastvorljivi u n-heksanu i superkritičnom ugljen-dioksidu (Vagi i sar., 2007).

Prema istraživanjima Piironena i sar., u šipku su identifikovani  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -tokoferol, kao i  $\delta$ -tokotrienol u tragovima (Piironen i sar., 2015). U ovoj studiji  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol, su detektovani u značajnim količinama, dok su  $\beta$ -tokoferol, kao i  $\delta$ -tokotrienol detektovani u tragovima, u količini koja je bila nedovoljna za njihovu kvantifikaciju. Grajzer i sar. (2015) su utvrdili da hladno ceđeno ulje iz semena šipka, pored navedenih nezasićenih masnih kiselina, sadrži značajnu količinu lipofilnih antioksidanata, posebno  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferola (slika 13). Fan i sar. (2014) su se takođe bavili analizom sadržaja tokoferola u plodu šipka pri čemu su utvrdili da sadržaj  $\alpha$ -tokoferola (vitamina E) u plodu šipka iznosi 5,84 mg/100g, sadržaj  $\beta$ -tokoferola 0,05 mg/100g,  $\gamma$ -tokoferola 1,34 mg/100g, dok je sadržaj  $\delta$ -tokoferola 0,14 mg/100g.

U svojstvu bioaktivnih jedinjenja tokoferoli su analizirani i u ekstraktima dobijenih iz nekih drugih sirovina, npr. sporedno proizvodu iz prerade paradajza. Vagi i sar. (2007) su analizirajući sporedne proizvode paradajza nastale u procesu industrijske prerade ovog povrća, utvrdili da su u uzorcima generisanim iz ove prerade prisutni  $\alpha$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokoferoli i  $\gamma$ -tokotrienol. Najviši prinos tokoferola u superkritičnoj ekstrakciji ovakvog biljnog materijala ostvaren je na pritisku od 300 bar i temperaturi od 60 °C (5956  $\mu$ g/g ekstrakta, od čega je prinos  $\alpha$ -tokoferola iznosio 4118  $\mu$ g/g ekstrakta). Nešto niže vrednosti prinosa dobijene su superkritičnom ekstrakcijom na pritiscima od 380 i 460 bar, ali pri istoj temperaturi (60 °C), dok su prinosi tokoferola bili znatno smanjeni kada se radna temperatura smanjila na 40 °C, odnosno povećala na 80 °C. Zaključak ovakvih rezultata analize je da pritisak ima snažniji uticaj na prinos ovih jedinjenja od temperature ( Vagi i sar., 2007).

#### 4.4. Konvencionalna Č/T ekstrakcija biljne prašine hajdučke trave

U cilju ekstrakcije polarnih jedinjenja iz biljne prašine herbe hajdučke trave i u cilju pripreme novih biljnih preparata iz ove biljne sirovine, izvršena je konvencionalna čvrsto/tečna ekstrakcija, kao odabran metod ekstrakcije, primenom etanola kao ekstragensa. Radi procene efikasnosti ove tehnike ekstrakcije i radi odabira odgovarajućih uslova ekstrakcije (koncentracija ekstragensa) analizirani su, pri definisanim ulaznim parametrima, sledeći izlazni parametri: prinos ekstrakcije, efikasnost filtracije, sadržaj ukupnih fenola i sadržaj ukupnih flavonoida u dobijenim ekstraktima. Na osnovu analize dobijenih rezultata, određena je optimalna koncentracija etanola koja se može primeniti kao efikasan rastvarač za ekstrakciju ove biljne sirovine.

Metoda konvencionalne Č/T ekstrakcije nije primenjena na biljnu prašinu ploda šipka, s obzirom na to da su dominantne komponente ove biljne sirovine masna jedinjenja, te da sirovina sadrži svega 10 % perikarpa iz koga bi se potencijalno mogle izekstrahovati polarne komponente poput fenola, što nije dovoljno opravdana količina za primenu ovakvog postupka ekstrakcije.

Za ekstrakciju iz biljnog materijala biljna prašina herbe hajdučke trave, primenjen je odnos droga rastvarač 1:10, a kao ekstragens je korišćen 30, 50 i 70 % etanol. Ovako dobijeni ekstrakti označeni su kao EA30, EA50 i EA70. Ekstrakcija je rađena na sobnoj temperaturi, na tamnom mestu, u trajanju od 5 dana (oficinalni postupak koji propisuje *Ph. Jug. IV* za većinu biljnih droga). Nakon ekstrakcije, izvršena je filtracija i tečni ekstrakt je skladišten na tamnom mestu do sušenja. Za dobijene ekstrakte, određen je prinos ekstrakcije, sadržaj ukupnih fenola i ukupnih flavonoida, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 33.

**Tabela 33.** Prinos ekstrakcije i sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u etanolnim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine hajdučke trave

| Uzorak | Prinos ekstrakcije (mg/mL) | Efikasnost filtracije (%) | Sadržaj ukupnih fenola (mg EGK/mL) | Sadržaj ukupnih flavonoida (mg EK/mL) | Udeo ukupnih flavonoida u fenolima (%) |
|--------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--|
| EA30   | 27,095±0,002               | 58,50±0,01                | 2,635±0,002                        | 1,615±0,011                           | 61,29±0,01                             |
| EA50   | 28,380±0,002               | 63,00±0,01                | 3,605±0,001                        | 2,202±0,008                           | 61,08±0,01                             |
| EA70   | 24,880±0,008               | 64,70±0,01                | 2,490±0,002                        | 1,916±0,010                           | 76,95±0,01                             |

Iz tabele 33. može se videti da je za ekstrakt kada je ekstragens bio 50 % etanol, dobijen najviši prinos ekstrakcije, najveći sadržaj ukupnih fenola, kao i ukupnih flavonoida u ekstraktu. Efikasnost filtracije je bila najviša za ekstrakt dobijen korišćenjem 70 % etanola kao ekstragensa, ali razlog zašto je ovaj ekstragens odbačen jeste i taj što se za sušenje na Spray drier uređaju iz bezbednosnih razloga preporučuje sušenje ekstrakata sa manjim sadržajem etanola.

Na osnovu svega navedenog, utvrđeno je da se za dalju analizu, za dobijanje suvih ekstrakata metodom sušenja raspršivanjem, koristi tečni ekstrakt dobijen ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave sa 50 % etanolom, kao ekstragensom.

#### **4.5. Sušenje tečnog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine hajdučke trave primenom *spray drying* tehnike i karakterizacija dobijenog praha**

U prehrambenoj i farmaceutskoj proizvodnji sve češće se biljni preparati upotrebljavaju u formi proizvoda u prahu (suvog ekstrakta). Prednosti ovakve forme proizvoda su brojne: smanjuje se zapreminska masa proizvoda čime se smanjuju troškovi transporta, pakovanja i skladištenja, doziranje i manipulacija su jednostavniji, produžena je stabilnost proizvoda, veća koncentracija bioaktivnih jedinjenja, jednostavnija inkorporacija u finalni proizvod i dr. Suvi biljni ekstrakti se mogu proizvesti različitim metodama, međutim zbog jednostavnosti i efikasnosti jedna od najprimenljivijih tehnika za dobijanje ovakve praškaste forme proizvoda, danas je sušenje sa raspršivanjem-*spray drying*.

U cilju optimalnog iskorišćenja biljnog sporednog proizvoda-biljne prašine herbe hajdučke trave ova tehnika sušenja primenjena je kako bi se omogućila proizvodnja suvog ekstrakta herbe hajdučke trave i to transformacijom odabranog tečnog ekstrakta, prethodno proizvedenog konvencionalnom tehnikom čvrsto-tečne ekstrakcije, u suhu praškastu formu. Prilikom sušenja, radi povećanja efikasnosti proizvoda i radi proizvodnje suvog ekstrakta odgovarajućih karakteristika, kao agens za sušenje primenjen je maltodekstrin (MD) u različitim koncentracijama (5 % i 10 %). Pored toga ispitana je mogućnost proizvodnje suvih ekstrakata bez

dotatka MD u tečnom ekstraktu i bez dodatka MD nakon povećanja koncentracije suvog ostatka u tečnom ekstraktu.

#### **4.5.1. Rezultati karakterizacije suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave**

##### **4.5.1.1. Prinos i efikasnost procesa sušenja**

Za proizvodnju suvog ekstrakta iz biljne prašine herbe hajdučke trave primenjen je tečni ekstrakt dobijen ekstrakcijom biljne prašine herbe hajdučke trave sa 50 % etanolom, kao ekstragensom, pri čemu je odnos droge i rastvarača bio 1:10. Pored ovakvog tečnog ekstrakta za proizvodnju suvog ekstrakta herbe hajdučke trave primenjen je i tečni ekstrakt koji je koncentrovan uparavanjem i to do koncentracije suvog ostatka od 31,94 mg/mL. Nakon pripreme tečnih ekstrakata primenjen je postupak sušenja sa raspršivanjem, pri čemu je sušenje u slučaju prvog ekstrakta (ekstrakta niže koncentracije suvog ostatka) rađeno bez dodatka agensa, sa dodatkom 5% MD i sa dodatkom 10% MD. Sušenje u slučaju koncentrovanog ekstrakta (ekstrakta sa višom koncentracijom suvog ostatka) je rađeno bez dodatka agensa. Rastvor MD je pripreman rastvaranjem u destilovanoj vodi i neposredno pre svakog sušenja je dodat tečnom ekstraktu herbe hajdučke trave. Tako pripremljena homogenizovana smeša je konstantno tokom procesa mešana pomoću magnetne mešalice i grejana na temperaturi 30 °C. Svi suvi ekstrakti su dobijeni pod istim uslovima sušenja. Uvođenje napojne smeše u *spray drying* sistem je obezbeđeno pomoću peristaltičke pumpe (protok 4,3 L/h). Brzina atomizera je iznosila 20.000 - 21.000 rpm. Ulazna temperatura vazduha je bila u opsegu 135-140 °C, dok je izlazna temperatura bila u opsegu 60-70 °C. Prah je separatisan iz struje vazduha pomoću ciklonske separacione metode.

Za procenu procesa sušenja potrebno je odrediti efikasnost sušenja. Prema literaturnim podacima, ukoliko je efikasnost sušenja 50 % ili veća, proces sušenja raspršivanjem se može smatrati uspešnim i efikasnim (Bhandari i sar., 1997). Prema Vidović i sar. (2014) poželjan je maksimalan prinos na svim proizvodnim nivoima, pa su od velike važnosti analiza prinosa i

efikasnosti proizvodnje, kao i analiza mogućih pojava kao što su lepljivost i zaostajanje slojeva ekstrakta na zidovima komore za sušenje.

U slučaju proizvodnje suvih ekstrakata herbe hajdučke trave sa dodatkom 5 i 10 % MD, kao i bez dodatka agensa, za oba tečna ekstrakta, nije uočen fenomen lepljivosti kao ni fenomen zaostajanja ekstrakta u slojevima na zidovima komore. Efikasnost ispitivanih procesa za sva četiri uzorka data je u tabeli 34.

**Tabela 34.** Efikasnost procesa sušenja ekstrakata dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti      | Bez dodatka MD | 5% MD      | 10% MD     | Bez MD, koncentrovani ekstrakt |
|----------------|----------------|------------|------------|--------------------------------|
| Efikasnost (%) | 71,47±0,01     | 67,19±0,06 | 70,99±0,01 | 55,62±0,08                     |

Efikasnost procesa sušenja za sve uzorke je bila prilično visoka. Približno jednaka efikasnost dobijena je u slučaju sušenja ekstrakta niže koncentracije suvog ostatka i to bez dodatka agensa i sa dodatkom 5 i 10 % MD. U slučaju ekstrakta više koncentracije suvog ostatka koji je dobijen bez dodatka agensa, efikasnost procesa sušenja bila je znatno niža (55,62 %) u odnosu na efikasnost koja je ostvarena sušenjem ekstrakata sa nižom koncentracijom suvog ostatka. Ipak, s obzirom na to da je efikasnost veća od 50 % i ovaj proces sušenja može se smatrati efikasnim. Niža efikasnost ovog procesa sušenja najverovatnije je uzrokovana upravo višom koncentracijom suvog ostatka.

#### **4.5.1.2. Sadržaj vlage u suvim ekstraktima dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave**

Sadržaj vlage je dominantan faktor koji utiče na stabilnost suvih ekstrakata, fizički i reološki, pošto je mala količina vode dovoljna da smanji temperaturu staklavosti ( $T_g$ ) toliko da se poveća pokretljivost matriksa tokom skladištenja (Bhandari i Hartel, 2005), što se odražava negativno na kvalitet praha. Nizak sadržaj vlage u suvim ekstraktima je poželjan, jer se na taj način sprečava aglomeracija čestica i zadržavaju se dobre protočne osobine prahova (Da Silva i



sar., 2013). Povećanje sadržaja vlage može da utiče i na stabilnost i trajnost proizvoda, s obzirom na to da povećan sadržaj vode u proizvodu može dovesti do povećanog razvoja mikroorganizama i mikrobiloške kontaminacije (Da Silva i sar., 2013). Sadržaj vlage u ispitivanim suvim ekstraktima herbe hajdučke trave je prikazan u tabeli 35.

**Tabela 35.** Sadržaj vlage u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti   | Sadržaj vlage (%) |
|---|-------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 7,22±0,01         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 6,40±0,02         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 7,68±0,01         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tecnog ekstrakta | 6,10±0,03         |

Za sve uzorke sadržaj vlage je bio sličan, bez obzira na dodatak agensa i njegovu koncentraciju u ekstraktu. Prema ranijim istraživanjima, za farmaceutske proizvode u formi praha, uključujući ekstrakte osušene metodom sušenja sa raspršivanja, adekvatnim se smatraju vrednosti sadržaja vlage niže od 5 % (v/v). Kako je određeni sadržaj vlage u svim uzorcima bio veći od 5 %, ovako dobijeni suvi ekstrakti se ne mogu primeniti u farmaceutskoj industriji, ali se mogu primeniti efikasno za proizvodnju raznih prehrambenih proizvoda i funkcionalnih proizvoda u prehrambenoj industriji. Jedan od takvih proizvoda je biljni instant čaj, za čiju proizvodnju se, prema Pravilniku o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda (Sl. glasnik RS, br. 4/2012), može iskoristiti suvi ekstrakt herbe hajdučke trave čiji sadržaj vlage ne prelazi 8 %. U skladu sa navedenim, u ove svrhe mogu se upotrebiti svi analizirani suvi ekstrakti herbe hajdučke trave, s obzirom na to da je dobijen sadržaj vlage ispod 8 %.

Sadržaj vlage u suvim ekstraktima može se smanjiti povećanjem temperature sušenja usled čega dolazi do povećanja temperaturnog gradijenta i bržeg prenosa toplote između proizvoda i toplog vazduha (Tengse i sar., 2017). Prema tome, sadržaj vlage u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave se može smanjiti primenom većih ulaznih temperatura sušenja od 140 °C. Međutim, primena većih ulaznih temperatura može negativno

uticati na termoosetljiva bioaktivna jedinjenja, naročito ona koja su prisutna u hajdučkoj travi. Stoga, da bi se mogla primeniti viša temperatura, prethodno je potrebno istražiti njen uticaj na temperaturno osetljive komponente ispitivanog materijala.

#### **4.5.1.3. Higroskopsnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave**

Higroskopsnost se može definisati kao sposobnost materijala da apsorbuje vlagu iz sredine visoke relativne vlažnosti (Vladić, 2017). Generalno, suvi biljni ekstrakti smatraju se higroskopsnim proizvodima, pri čemu intenzitet njihove higroskopsnosti zavisi od sastava samih ekstrakata, ali i od uslova skladištenja. Za smanjenje higroskopsnosti ekstrakata, upotrebljavaju se različite pomoćne supstance-aditivi, koji mogu biti dodati tečnom ekstraktu-napojnoj smeši pre sušenja, ili suvom ekstraktu koji je dobijen sušenjem.

Visoka higroskopsnost suvih biljnih ekstrakata posledica je prisustva značajnih količina hidrofilnih jedinjenja kao što su ugljeni hidrati, glikozidi, organske kiseline, fenoli, amino kiseline, proteini itd. (Chang i sar., 2014). Prema Vidović i sar. (2014), fizičke promene u prahovima-suvim ekstraktima, uključujući higroskopsnost, se pripisuju temperaturi staklavosti ( $T_g$ ), tako da što je veća  $T_g$  praha, niža je njegova higroskopsnost.

Higroskopsnost ispitivanih suvih ekstrakata herbe hajdučke trave je približno ista, za sve ispitivane uzorke, bez značajnijih razlika. Promena higroskopsnosti suvih ekstrakata merena je nakon 90 min i 48 h. Posle 90 minuta higroskopsnost ispitivanih suvih ekstrakata iznosila je od 3,70 do 4,49 %. Posle 48 h higroskopsnost ispitivanih suvih ekstrakata je povećana približno 5 puta. U oba slučaja, nakon 90 minuta i nakon 48 h, higroskopsnost je bila najviša za suvi ekstrakt dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta herbe hajdučke trave bez dodatka agensa (tabela 36).

Prema Jaya i Dass (2004) povećanje koncentracije dodatog MD utiče na povećanje  $T_g$  praha, što rezultira njegovom nižom higroskopsnošću. Dobijeni rezultati su u skladu sa prethodno navedenom tvrdnjom.

Sušenje bez dodatka MD ekstrakta niže koncentracije suvog ostatka nije rezultovalo značajnim smanjenjem higroskopnosti u odnosu na ekstrakte koji su dobijeni iz istog ekstrakta ali sa dodatkom MD.

**Tabela 36.** Higroskopnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave, nakon 90 min i 48 h

| Ekstrakti   | Higroskopnost<br>posle 90 min (%) | Higroskopnost<br>posle 48 h (%) |
|---|-----------------------------------|---------------------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 3,85±0,01                         | 20,89±0,01                      |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 3,90±0,01                         | 20,88±0,01                      |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 3,70±0,01                         | 20,52±0,01                      |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tecnog ekstrakta | 4,49±0,02                         | 21,49±0,02                      |

#### 4.5.1.4. Protočnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Protočnost suvih ekstrakata herbe hajdučke trave dobijenih sušenjem sa raspršivanjem zavisi od uslova procesa sušenja, prvenstveno ulazne temperature, a zatim i od drugih svojstava praha, kao što je npr. sadržaj vlage. Bhandari i sar. (1997) definišu protočni prah za onaj kod koga je izmeren ugao formiran između bočne površine i baze konusa ispod 45°. Posmatrajući ovakvu definiciju protočnosti i rezultate ispitivanih uzoraka (tabela 37), možemo zaključiti da su suvi ekstrakti dobijeni iz biljne prašine herbe hajdučke trave protočni i stoga su pogodni za dalju upotrebu na industrijskom nivou. Očigledno je da sadržaj vlage (u opsegu od 6,10 do 7,68 %) nije bio kritičan sadržaj vlage koji može uticati na promenu protočnih svojstava ovako dobijenih suvih ekstrakata.

**Tabela 37.** Protočnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti   | Protočnost (°) |
|---|----------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 40,00±0,01     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 40,30±0,01     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 40,00±0,01     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta | 42,60±0,03     |

#### 4.5.1.5. Nasipna zapremina suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Poznavanje nasipne zapremine praha-suvog ekstrakta je od fundamentalnog značaja za dalje procesuiranje, skladištenje, pakovanje i distribuciju (Oliveira i sar., 2010). S obzirom na to da je prah izuzetno zastupljen u proizvodnji različitih farmaceutskih oblika čija je zapremina limitirana (npr. tablete i kapsule), male vrednosti nasipne zapremine nisu poželjne (Paini i sar., 2015). Osim toga, u prahovima sa manjom vrednošću nasipne zapremine potencijalno više vazduha se nalazi unutar praha i veća je površina koja može doći u kontakt sa vazduhom, pa se povećava mogućnost oksidacije. Iz ovih razloga proizvod u formi praha postaje nestabilan prilikom skladištenja (Kurozawa i sar., 2009; Oliveira i sar., 2010).

U suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave vrednost nasipne zapremine je bila u opsegu od 31,28 do 57,50 mg/mL (tabela 38). Analizom dobijenih rezultata može se zapaziti smanjenje nasipne zapremine sa povećanjem količine dodatog MD, što je u skladu sa većim brojem literaturnih podataka (Mahendran, 2010; Caliskan i Dirim, 2013). Međutim, takođe postoji određeni broj studija u kojima se navodi suprotan uticaj koncentracije dodatog agensa na zapreminsku masu, a u nekim je zapaženo i da koncentracija nosača ne pokazuje značajan uticaj na nasipnu zapreminu (Nadeem i sar., 2013; Tewa-Tagne i sar., 2007; Mishra i sar., 2014). Razlozi oprečnih zaključaka o uticaju količine nosača na nasipnu zapreminu jesu različita priroda materijala koji se suši i različiti parametri procesa sušenja. Osim količine

nosača, na nasipnu zapreminu utiče i vrsta nosača, ulazna temperatura unutar *spray dryer* komore, brzina raspršivanja i protok napojne smeše (Shrestha i sar., 2007).

**Tabela 38.** Nasipne zapremine suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

| Ekstrakti  | Nasipna zapremina<br>(mg/mL) |
|--|------------------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD  | 57,50±0,06                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD  | 36,92±0,01                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD   | 31,28±0,01                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD,<br>dobijen iz koncentrovanog tecnog ekstrakta | 44,62±0,05                   |

#### 4.5.1.6. Vreme rehidracije suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

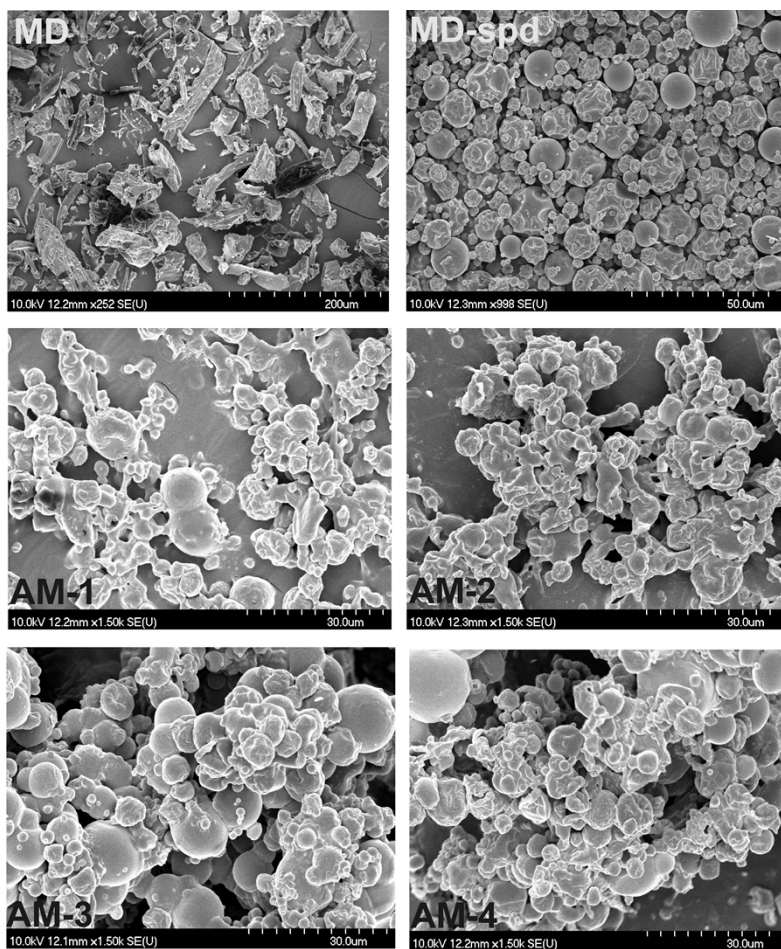
MD predstavlja jedan od najčešće korišćenih agenasa-nosača u *spray drying* tehnici, a jedan od razloga za to su njegove dobre fizičke karakteristike, između ostalih i rastvorljivost u vodi (Krishnaiah i sar., 2014). S obzirom na to da MD predstavlja modifikovani skrob, njegovo vreme rastvaranja je duže od većine hidrofilnih jedinjenja prisutnih u biljnim ekstraktima (Caliskan i Dirim, 2016), pa je očekivano da ekstrakti sa MD imaju produženo vreme rehidracije (Nunes i sar., 2015). U analiziranim suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave vreme rehidracije je bilo u opsegu od 8 do 15 s. Može se zaključiti da su svi suvi ekstrakti imali relativno kratko vreme rehidracije, što ide u prilog njihove potencijalne primene. Analizirani rezultati rehidracije suvih ekstrakata herbe hajdučke trave su u skladu i sa prethodnom tvrdnjom Nunes i sar. (2015), te se može uočiti da je vreme rehidracije bilo produženo za sve uzorke u kojima je MD primenjen kao nosač (tabela 39).

**Tabela 39.** Vreme rehidracije određeno za suve ekstrakte dobijene iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti   | Rehidracija (s) |
|---|-----------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 8,00±0,01       |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 8,50±0,01       |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 15,00±0,02      |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta | 12,00±0,01      |

#### 4.5.1.7. Morfologije prahova- suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Morfologija čestica dobijenih suvih ekstrakata je ispitana pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM), a metoda je opisana u poglavlju 3.7.7. Ova metoda analize primenjena je i za analizu morfologije čistog MD, pre i nakon sušenja, a rezultati analize prikazani na slici 21. Uočeno je da su pre procesa sušenja raspršivanjem čestice MD veliki kristali koji sadrže određenu količinu vlage i imaju nepravilan oblik igle. Metodom sušenja raspršivanjem formiraju se male odvojene sferične čestice glatkih površina. Ovom metodom analize utvrđeno je da suvi ekstrakti dobijeni iz biljne prašine herbe hajdučke trave imaju morfologiju čestica koji se opisuje česticama bisernog oblika. Sušenjem raspršivanjem koncentrovanog tečnog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave dobijen je suvi ekstrakt koji je čvrste morfologije. Iz navedenog se zaključuje da dodatak MD doprinosi proizvodnji finih oblika čestica praha koji su prihvatljivi za primenu u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Takođe, uočeno je da dodatak MD ima značajan uticaj na veličinu formiranih čestica, što je naročito uočljivo na primenu suvog ekstrakta koji je dobijen dodatkom 10 % MD, gde su formirane značajno sitnije odvojene čestice.



**Slika 21.** SEM morfologija suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave i MD, pre i nakon procesa sušenja raspršivanjem, gde su sa MD označeni uzorci MD pre sušenja, MD-spd uzorci MD nakon sušenja raspršivanjem, AM-1 je suvi ekstrakt biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD, AM-2 je suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta, AM-3 suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5 % MD, a AM-4 je suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10 % MD

#### 4.5.1.8. Rezultati određivanja veličine čestica suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Za merenje raspodele veličine čestica, uticaja nosača (MD) i uticaja parametara sušenja raspršivanjem na veličinu čestice, primenjen je LEICA sistem za obradu i analizu slike. Čestice su opisane njihovom dužinom, širinom, površinom, obimom i zaobljenosti, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 40.

**Tabela 40.** Veličina čestice analiziranih suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Uzorak   | Dužina (μm) | Širina (μm) | Obim(μm)    | Površina(μm <sup>2</sup> ) | Zaobljenost |
|--|-------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|
| MD   | 56,00±2,89  | 89,83±1,71  | 127,95±9,54 | 179,88±22,29               | 34,55±0,51  |
| MD posle sušenja raspršivanjem   | 6,13±1,46   | 4,11±1,03   | 18,18±4,03  | 18,71±7,45                 | 1,41±0,37   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD                                    | 5,72±1,01   | 3,75±0,87   | 16,62±2,71  | 1,34±0,20                  | 16,07±5,48  |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz konc. tečnog ekstrakta | 7,75±1,72   | 5,13±1,37   | 22,35±4,46  | 1,32±0,17                  | 30,00±13,90 |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD  | 5,67±1,45   | 3,7±1,16    | 16,67±4,06  | 1,38±0,20                  | 16,22±10,61 |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD   | 5,11±0,96   | 3,38±0,86   | 13,63±2,74  | 1,36±0,19                  | 13,34±4,81  |

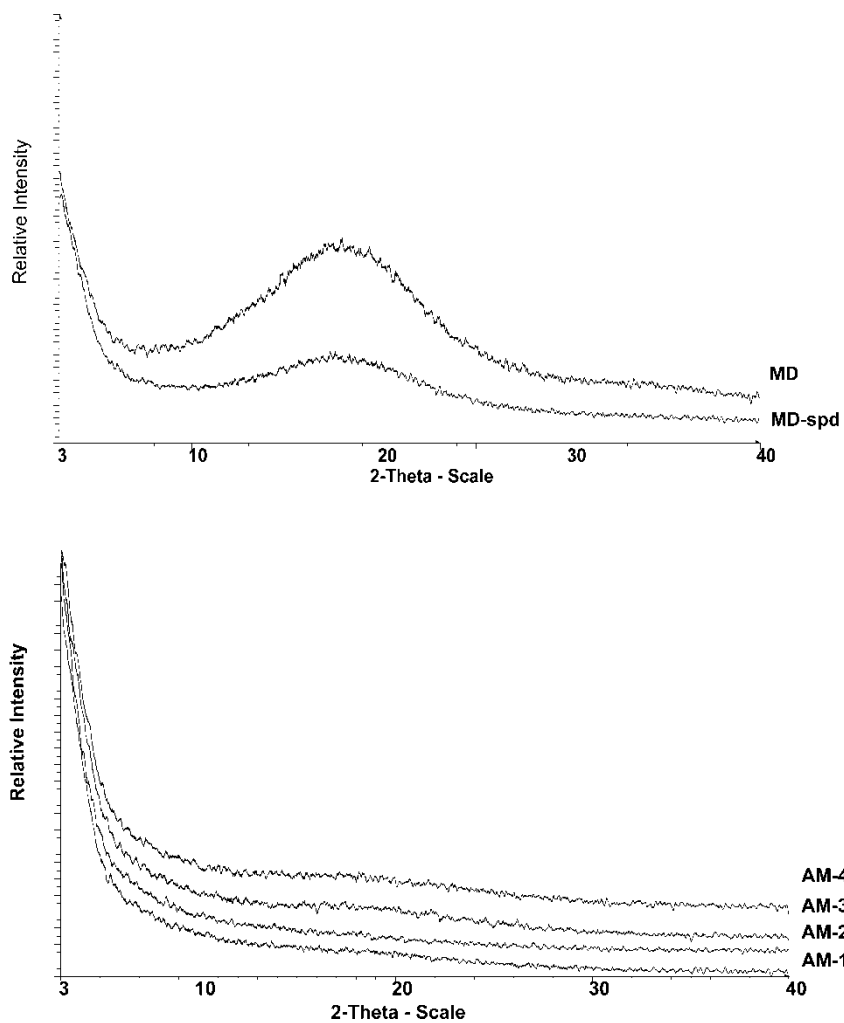
Na osnovu dobijenih rezultata o dužini, širini, obimu i površini čestica nosača MD pre i nakon primene metode sušenja raspršivanjem, možemo zaključiti da je primenjena metoda imala veliki uticaj na formiranje čestica, s obzirom na to da su dobijene čestice bile mnogo manje veličine nakon sušenja. Iz tabele 40. uočavamo da se dužina čestica MD nakon sušenja raspršivanjem značajno smanjila, sa 56 na 6,13 μm, zatim, širina sa 89,83 na 4,11 μm, kao i obim i površina čestica MD, sa 127,95 na 18,18 μm, i sa 179,88 na 18,71 (μm<sup>2</sup>), respektivno. Kada uporedimo dobijene rezultate veličine čestica suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD i suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD, dobijenog iz koncentrovanog tečnog ekstrakta, uočavamo da se primenom koncentrovanog



tečnog ekstrakta dobijaju prahovi sa većim česticama i približno dva puta veće zaobljenosti. Rezultati takođe pokazuju da veća koncentracija dodatog MD može značajno uticati na fizičke parameter čestica proizvoda. Tako, ukoliko poredimo čestice praha dobijene bez dodatka MD i sa dodatkom 10 % MD jasno se uočava da su čestice dobijene sa dodatkom MD kraće, uže, manje površine i manjeg obima, a podaci o zaobljenosti pokazuju da su čestice ekstrakta dobijenog uz dodatak 10% MD sferične sa malim agregacijama.

#### **4.5.1.9. Rezultati XRPD analize suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave**

XRPD analiza je izvršena pomoću BRUKER D8 difraktometarskog sistema sa X-zracima, uz prethodno navedene uslove merenja (poglavlje 3.7.9.). Rezultati XRPD analize (slika 22.) ukazuju na amorfan status analiziranih proizvoda. Strukturne analize su ponovljene nakon 3 meseca, i uočeno je da se za taj vremenski period, amorfni karakter prahova nije promenio. Ovi strukturni fenomeni bi mogli ukazivati na vrlo brzo rastvaranje ispitivanih prahova (suvih ekstrakata).



**Slika 22.** XRPD analiza suvih ekstrakata biljne prašine herbe hajdučke trave i MD, pre i nakon procesa sušenja raspršivanjem, gde su sa MD označeni uzorci MD pre sušenja, MD-spd uzorci MD nakon sušenja raspršivanjem, AM-1 je suvi ekstrakt biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD, AM-2 je suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta, AM-3 suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5 % MD, a AM-4 je suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10 % MD

#### **4.5.1.10. Indeks rastvorljivosti u vodi i indeks apsorpcije vode suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave**

Prema Hoge Kamp i Schubert (2003), idealan prah bi trebalo da se kvasi brzo i potpuno, da ne pluta po površini već tone, bez formiranja nerastvorljivih grudvica. Jedan od parametara koji ukazuje na upravo ova svojstva praha je Indeks rastvorljivosti (WSI) u vodi. WSI je značajan parametar, jer ukazuje na sposobnost praha-suvog ekstrakta da se rastvara u vodi. Prema Samahy i sar. (2007), uzrok smanjenja indeksa rastvaranja može biti formiranje komponenti koje su nerastvorljive u vodi, što je nepoželjan proces u slučaju proizvodnje prahova namenjenih za primenu rehidracijom. Veća vrednost indeksa rastvaranja ukazuje na bolju rastvorljivost konstituentata u vodi, te se takvi prahovi mogu okarakterisati kao proizvodi sa željenim osobinama.

U ispitivanim suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave izmerene su visoke vrednosti ovog indeksa, što implicira da se dobijeni suvi ekstrakti lako rastvaraju u vodi. Uočeno je i da se sa povećanjem koncentracije MD neznatno povećava indeks rastvorljivosti (tabela 41).

Indeks apsorpcije vode (WAI) predstavlja sposobnost praškastih proizvoda, suvih ekstrakata da apsorbuje vodu i kod ovog indeksa su poželjne niže vrednosti (Hoge Kamp i Schubert, 2003). Analiza suvih ekstrakata herbe hajdučke trave je pokazala da je indeks apsorpcije vode bio nizak u svim prahovima i da se povećanjem količine MD redukuje kapacitet zadržavanja vode u prahovima.

Utvrđeni parametri suvih ekstrakata hajdučke trave (velika vrednost indeksa rastvorljivosti i mala indeksa apsorpcije) predstavljaju karakteristike kojima se ispunjavaju uslovi kvaliteta da ovakvi suvi ekstrakti budu primenjeni u proizvodima koji se koriste rastvaranjem u vodi (npr. instant čajevi). Može se pretpostaviti da se WSI i WAI za suve ekstrakte herbe hajdučke trave može modifikovati dodavanjem većih koncentracija MD, ali se mora uzeti u obzir da primena veće količine MD povećava cenu koštanja procesa proizvodnje suvih ekstrakata, kao i da primena veće količine MD utiče na senzorne karakteristike dobijenih suvih ekstrakata.

**Tabela 41.** Indeks rastvorljivosti u vodi i indeks apsorpcije vode suvih ekstrakata hajdučke trave

| Ekstrakti   | WSI (%)    | WAI (%)    |
|---|------------|------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 74,38±0,01 | 18,13±0,03 |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 75,63±0,01 | 17,77±0,01 |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 76,39±0,03 | 17,32±0,01 |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta | 72,12±0,04 | 20,08±0,06 |

#### 4.5.1.11. Kvašenje i hidrofilitnost suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Kao što je već navedeno u poglavlju 3.7.11. za određivanje hidrofilitnosti suvih ekstrakata, primenjena je metoda po Wu (Wu, 1971), u kojoj su za merenje kontaktnog ugla primenjene destilovana voda i dijodometan. U tabeli 42. prikazani su rezultati za kontaktne uglove i polaritet ispitivanih prahova.

**Tabela 42.** Hidrofilitnost i polaritet suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Uzorak  | $\theta$ vode (°) | $\theta$ dijodometana (°) | $\gamma$ (mNm <sup>-1</sup> ) | Polaritet (%) |
|---|-------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------|
| MD  | 24,50             | 27,68                     | 74,60                         | 45,42         |
| MD posle sušenja raspršivanjem  | 26,52             | 26,66                     | 74,06                         | 44,54         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 22,70             | 41,90                     | 71,90                         | 51,23         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta | 22,33             | 42,25                     | 71,96                         | 51,48         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 21,45             | 40,43                     | 72,70                         | 50,89         |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 23,75             | 32,03                     | 73,87                         | 47,09         |

Iz dobijenih rezultata, može se uočiti da su ispitivani uzorci hidrofilni. Polaritet svih ispitivanih suvih ekstrakata je bio iznad 40 %. Polaritet suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD i suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave bez dodatka MD, ali dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta, imao je približno istu vrednost. Primećuje se da sa dodatkom određene količine MD polaritet smanjuje. Iz tabele 42 vidimo da se u odnosu na polaritet suvog ekstrakta koji je dobijen bez dodatka MD (51,23%) dodatkom 5 % MD, polaritet smanjio naznatno, na 50,89 %, a dodatkom 10 % MD, vrednost polariteta je bila značajno niža 47, 09 %. Na osnovu dobijenog može se zaključiti da je na polaritet najviše uticao sastav ispitivanog uzorka, odnosno dodatak pomoćnog agensa MD.

#### 4.5.1.12. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine hajdučke trave

Sadržaj ukupnih fenola i ukupnih flavonoida u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave određen je pomoću standardne spektrofotometrijske metode. Sadržaj ukupnih fenola je izražen kao mg ekvivalenta galne kiseline po g suvog ekstrakta, a sadržaj ukupnih flavonoida je izražen kao mg ekvivalenta katehina po g suvog ekstrakta (tabela 43).

**Tabela 43.** Sadržaj ukupnih fenola i ukupnih flavonoida u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti   | Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g) | Sadržaj ukupnih flavonoida (mg CE/g) |
|---|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 169,41±0,02                       | 113,08±0,02                          |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 161,55±0,01                       | 108,96±0,01                          |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 151,86±0,04                       | 103,40±0,03                          |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tečnog ekstrakta | 164,08±0,01                       | 109,76±0,01                          |

U svim dobijenim suvim ekstraktima, sadržaj ukupnih fenola bio je visok, i to u opsegu od 151,86 mg do 169,41 mg GAE/g. Sadržaj ukupnih flavonoida je bio u opsegu od 103,40 do 113,08 mg CE/g. Najveći sadržaj ukupnih fenola i flavonoida određen je u ekstraktu hajdučke trave koji je proizveden bez dodatka MD, a najmanji sadržaj ukupnih fenola i flavonoida izmeren je u suvom ekstraktu herbe hajdučke trave koji je proizveden dodatkom MD u najvećoj koncentraciji, 10 %. Razlog smanjenja sadržaja fenola i flavonoida u ekstraktima sa povećanjem koncentracije MD može biti „razblažujući“ efekat MD, jer se sa dodatkom veće količine nosača smanjuje sadržaj fenola u napojnoj smeši, što je u skladu sa rezultatima više studija (Nadeem i sar., 2011; Mishra i sar., 2013; Caliskan i Dirim, 2013).

Na osnovu dobijenih rezultata može se generalno zaključiti da za proizvodnju suvih ekstrakata sa visokom koncentracijom fenola i flavonoida treba primeniti dodatak minimalne količine MD, ali one koja obezbeđuje dovoljno efikasno sušenje, sušenje bez lepljenja i zaostajanja slojeva na zidovima uređaja, kao i proizvodnju praha odgovarajuće stabilnosti u pogledu fizičkih karakteristika

#### 4.5.1.13. Sadržaj etarskog ulja i njegov hemijski sastav u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine hajdučke trave

U suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave određen je sadržaj etarskog ulja. Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 44.

**Tabela 44.** Sadržaj etarskog ulja određen u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Ekstrakti   | Sadržaj etarskog ulja (% w/w) |
|---|-------------------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 0,286±0,002                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 0,255±0,001                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 0,253±0,001                   |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tecnog ekstrakta | 0,290±0,002                   |

Sadržaj etarskog ulja u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave je bio u opsegu od 0,253 do 0,290 %. Najveći i približno sličan sadržaj određen je u suvim ekstraktima dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave koji su proizvedeni bez dodatka MD. U suvim ekstraktima koji su proizvedeni sa dodatkom MD, sadržaj etarskog ulja je bio za oko 12 % niži. Dakle, baš kao u slučaju fenola i flavonoida i u ovom slučaju uočavamo „razblažujući“ efekat MD, s obzirom na to da se dodatkom MD smanjuje sadržaj etarskog ulja u suvom ekstraktu. Nije bilo značajnije razlike u sadržaju etarskog ulja između uzoraka u koje su dodati 5 i 10 % MD.

Primenom gasno-hromatografske metode analizirano je prisustvo aromatičnih komponenti u etarskim uljima izolovanih iz suvih ekstrakata herbe hajdučke trave. Dobijeni rezultati analize su prikazani u tabeli 45.

**Tabela 45.** Rezultati GC/MS analize aromatičnih komponenata prisutnih u etarskom ulju izolovanom iz suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Udeo komponenata u etarskom ulju (%) |                     |                              |                       |                        |
|--------------------------------------|---------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|
| Naziv komponente                     | Etarsko ulje bez MD | Etarsko ulje bez MD (uparen) | Etarsko ulje sa 5% MD | Etarsko ulje sa 10% MD |
| Karvakrol                            | 2,12                | 1,39                         | 1,29                  | 0,72                   |
| Sabinen                              | 1,69                | 1,79                         | 1,39                  | 1,23                   |
| Kariofilen oksid                     | 7,78                | 8,27                         | 7,81                  | 7,01                   |
| $\beta$ - Eudesmol                   | 4,46                | 4,12                         | 5,23                  | 4,72                   |
| Hamazulen                            | 17,88               | 23,20                        | 21,85                 | 23,18                  |

Gasno-hromatografskom analizom aromatičnih komponenata u etarskom ulju izolovanom iz suvih ekstrakata utvrđeno je da je dominantno jedinjenje ovih ulja hamazulen. Ova komponenta se smatra najznačajnijim seskviterpenom etarskog ulja hajdučke trave i može da čini i do 50 % sadržaja etarskog ulja (EMA/HMCP/290309/2009). Terpenoidni hamazulen ima potencijalna antiinflamatorna, antialergična i antispazmodična svojstva (Romeilah, 2009). Analizirani relativni sadržaj hamazulena u ispitivanim uzorcima iznosi od 17,88 do 23,18 %, što

je nešto više u odnosu na neka dosadašnja istraživanja: 5,28 % (Nadim i sar., 2011); 6,49 % (Florihana, 2014).

Drugo dominantno aromatično jedinjenje u izolovanim etarskim uljima bio je kariofilen oksid (prisutano u relativnim procentom od 7,01 do 8,27 %). Kariofilen oksid, je jedinjenje koje je odobreno od strane FDA kao konzervans koji se može primeniti u proizvodnji prehrambenih i kozmetičkih proizvoda (Food Drug Administration) i svrstan je od strane Evropskog veća na listu prirodnih i sintetičkih aromatičnih supstanci. Ovo seskviterpensko jedinjenje poboljšava svojstva kože, ima antiinflamatorno i antikarcinogeno dejstvo (Opdicke and Letizia, 1983).

U svim uzorcima  $\beta$ -eudesmol bio je prisutan u relativnom procentu od 4,12 do 5,23 %. Dokazano je da terpenoidni  $\beta$ -eudesmol ima antibakterijsku aktivnost (Iaili i sar., 2005). Jedinjenja kao što su karvakrol, eukaliptol, linalol, kamfor,  $\alpha$ -terpineol, metil kavikol, geraniol, sabinen i fitol su bili prisutni u nižim procentima.

#### 4.5.1.14. Antioksidativna svojstva suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine hajdučke trave

Antioksidativna svojstva dobijenih suvih ekstrakata određena su pomoću DPPH testa i izražena preko vrednosti  $IC_{50}$  (tabela 46).

**Tabela 46.** Antioksidativna aktivnost suvih ekstrakata sporednog proizvoda hajdučke trave

| Ekstrakti   | $IC_{50}$ (mg/mL) |
|---|-------------------|
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD   | 0,0026±0,0001     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 5% MD   | 0,0028±0,0001     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave sa 10% MD  | 0,0031±0,0002     |
| Suvi ekstrakt hajdučke trave bez dodatka MD, dobijen iz koncentrovanog tecnog ekstrakta | 0,0027±0,0001     |

Svi analizirani suvi ekstrakti pokazali su veoma visok antioksidativni kapacitet, jer je  $IC_{50}$  analiziranih ekstrakata bio u opsegu od 0,0026 do 0,0031 mg/mL. Antioksidativna aktivnost suvog ekstrakta hajdučke trave bila je veća od antioksidativne aktivnosti suvih ekstrakata *S.*



*montana* (Vidović i sar., 2014), antioksidativne aktivnosti etarskog ulja *Lavandula angustifolia* (Khitam et al., 2013), a približno jednake vrednosti je imala sa antioksidativnom aktivnošću etarskog ulja *Ocimum basilicum* (Hussain i sar., 2008). Antioksidativna aktivnost suvih ekstrakata herbe hajdučke trave je u korelaciji sa sadržajem ukupnih fenola, kao i sa sadržajem etarskih ulja u analiziranim prahovima.

Na osnovu dobijenih rezultata antioksidativne aktivnosti, sadržaja bioaktivnih jedinjenja sa dokazanim antioksidativnim svojstvima kao što su fenoli, flavonoidi i aromatični kariofilen oksid, može se zaključiti da se ispitivani suvi ekstrakti dobijeni iz biljne prašine herbe hajdučke trave mogu primeniti kao potencijalni antioksidansi u prehrambenoj industriji. Pored toga, prisustvo hamazulena sa antiinflamatornim delovanjem, i  $\beta$ -eudesmola sa antibakterijskim delovanjem, može opravdati upotrebu suvih ekstrakata hajdučke trave za proizvodnju funkcionalnih proizvoda u prehrambenoj ili kozmetičkoj industriji.

#### **4.6. Karakterizacija instant čaja sa suvim ekstraktom dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave**

S obzirom na to da su suvi ekstrakti dobijeni iz biljne prašine herbe hajdučke trave pokazali dobre karakteristike, kako fizičke tako i karakteristike u pogledu sadržaja bioaktivnih jedinjenja, ispitana je mogućnost njihove primene u proizvodnji instant čaja. U tom cilju pripremljeni su granulati (instant čajevi) sa različitom koncentracijom suvog ekstrakta, kao i placebo granulati (tabela 11). Dobijeni granulati ispitani su u pogledu fizičkih svojstava, ali i u pogledu senzornih karakteristika.

#### 4.6.1. Rezultati analize fizičkih svojstava instant čaja sa suvim ekstraktom dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave

Određivanje sadržaja vlage u namirnicama predstavlja jednu od osnovnih analiza i ima višestruki značaj, jer se na osnovu sadržaja vlage proizvoda procenjuje u prvom redu kvalitet namirnica, mogućnost konzervisanja, čuvanja i ispravnost u smislu zakonskih propisa. Povećan sadržaj vlage, kao što je prethodno navedeno, utiče i na stabilnost proizvoda, te u proizvodima sa većim sadržajem vlage za značajno kraće vreme dolazi do kontaminacije mikroorganizmima. Pored sadržaja vlage, u pripremljenim uzorcima instant čaja ispitani su još i vreme rehidracije i nasipna zapremina, a dobijeni rezultati prikazani su tabelarno (tabela 47).

**Tabela 47.** Sadržaj vlage, vreme rehidracije i nasipna zapremina instant čaja sa suvim ekstraktom dobijenim iz biljne prašine herbe hajdučke trave

| Uzorak                       | Sadržaj vlage (%) | Vreme rehidracije (s) | Nasipna zapremina (mg/mL) |
|------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|
| Suvi ekstrakt                | 7,3207            | 2400                  | 57,50                     |
| Instant čaj sa 2% ekstrakta  | 9,8119            | 10                    | 130,82                    |
| Instant čaj sa 5% ekstrakta  | 9,8467            | 16                    | 125,26                    |
| Instant čaj sa 10% ekstrakta | 9,9208            | 24                    | 129,30                    |
| Placebo granulat             | 9,3776            | 3,28                  | -                         |

Kako je već navedeno, prema Pravilniku o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda (Sl. glasnik RS, br. 4/2012), dozvoljen sadržaj vlage biljne sirovine koja se koristi za pripremu biljnog instant čaja odnosno biljnog instant-čaja u čvrstom stanju, iznosi 8 %. Suvi ekstrakt herbe hajdučke trave je imao sadržaj vlage ispod 8 %, ali se njegovim dodatkom u biljni instant čaj, sadržaj vlage pripremljenog instant čaja povećao.

Vreme rehidracije samog suvog ekstrakta herbe hajdučke trave izuzetno je visoko i iznosi 40 minuta. Iz ovog razloga čist suvi ekstrakt hajdučke trave se ne može, bez dodatka pomoćnih supstanci i prethodnog procesa granuliranja, primeniti kao instant napitak. Placebo

granulat sa druge strane ima izuzetno dobro i kratko vreme rehidracije, pa se može zaključiti da povećanjem količine pomoćnih supstanci (odnosno placebo granulata), odnosno smanjenjem sadržaja suvog ekstrakta u ukupnoj formulaciji biljnog instant čaja, dolazi do povećanja brzine rehidracije konačnog proizvoda.

Dobijeni podaci o nasipnoj zapremini (zapreminskoj masi) proizvoda ovog tipa izuzetno su značajni pošto oni utiču na formu i kvalitet konačnog komercijalnog proizvoda (masu biljnog instant čaja u kesici, masu suvog ekstrakta u kapsuli itd.). UKao što je navedeno u prethodnom tekstu, ukoliko je mala vrednost nasipne zapremine, potencijalno više vazduha se nalazi unutar praha, i veća je površina koja može doći u kontakt sa vazduhom, pa se povećava mogućnost oksidacije, zbog čega dolazi do destabilizacije proizvoda (Kurozawa i sar., 2009; Oliveira i sar., 2010). Rezultati analize su pokazali da dobijeni instant čajevi imaju veću nasipnu zapreminu nego sami suvi ekstrakti, a da procenat suvog ekstrakta koji ulazi u sastav instant čaja nije mnogo uticao na dobijene vrednosti nasipne zapremine.

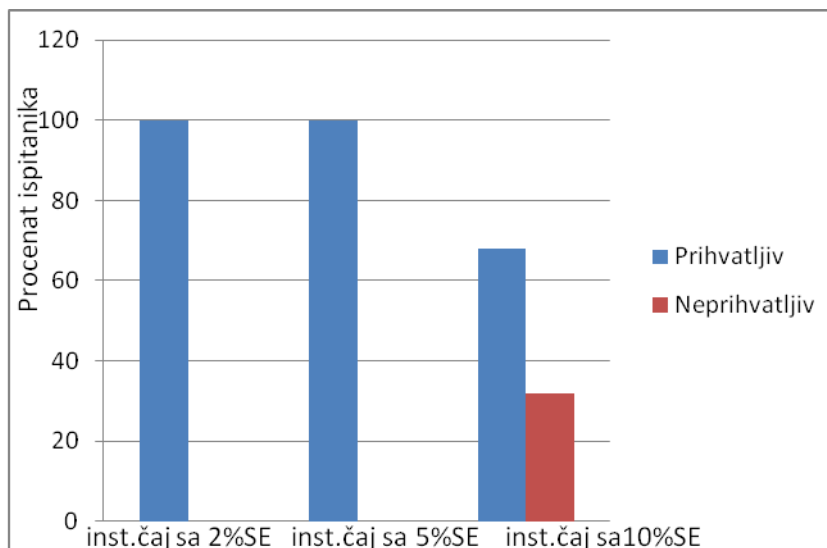
#### 4.6.2. Određivanje senzornih karakteristika

Senzorne karakteristike proizvoda su izuzetno značajne s obzirom na to da one ukazuju na to da li će neki proizvod biti prihvaćen od strane krajnjeg korisnika odnosno tržišta. Dakle, bez obzira na dobre fizičke i hemijske karakteristike nekog proizvoda, da bi proizvod bio uspešno plasiran na tržište neophodno je da on bude i odgovarajućih senzornih karakteristika. Upravo zbog toga urađena je senzorna analiza pripremljenog instant čaja. U senzornoj analizi biljnih instant čajeva na bazi ekstrakta herbe hajdučke trave učestvovala je grupa ispitanika koja je brojala 50 žena nepušača, starosti od 20 do 25 godina. Senzorno su ispitani i okarakterisani instant čaj sa 2%, 5% i 10% suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave.

U ovom ispitivanju primenjivani su test izgleda, test mirisa i test ukusa, sprovedeni po modifikovanoj proceduri opisanoj u studiji Sansone i sar. (2011). Kako je već opisano u poglavlju 3.8.5., ocenjivao se izgled ispitivanog uzorka kao prihvatljiv ili neprihvatljiv, dok se miris ocenjivao kao izuzetno prijatan, prijatan, neprijatan ili izuzetno neprijatan. Ukus se, takođe, ocenjivao kao izuzetno prijatan, prijatan, neprijatan ili izuzetno neprijatan, ali i kao slan, sladak, gorak, kiseo ili metalan. Kao standard u testu mirisa, koristio se vanilin šećer koji je u prethodnim

istraživanjima ocenjen kao izuzetno prijatan i to najvišom ocenom 10. Kao standard u testu ukusa, za hladan napitak se koristio Fructus-instant čaj od brusnice, a za topli napitak se koristio Fructus-čaj jagoda sa vanilom, koji su u prethodnim istraživanjima ocenjeni kao izuzetno prijatni i sa ocenom 10.

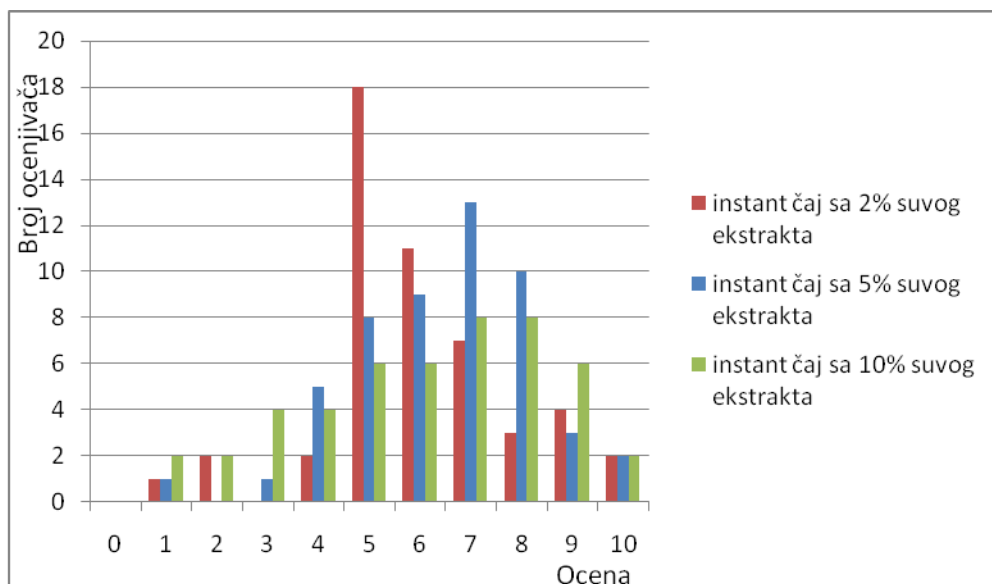
Rezultati testa izgleda su grafički prikazani na slici 23.



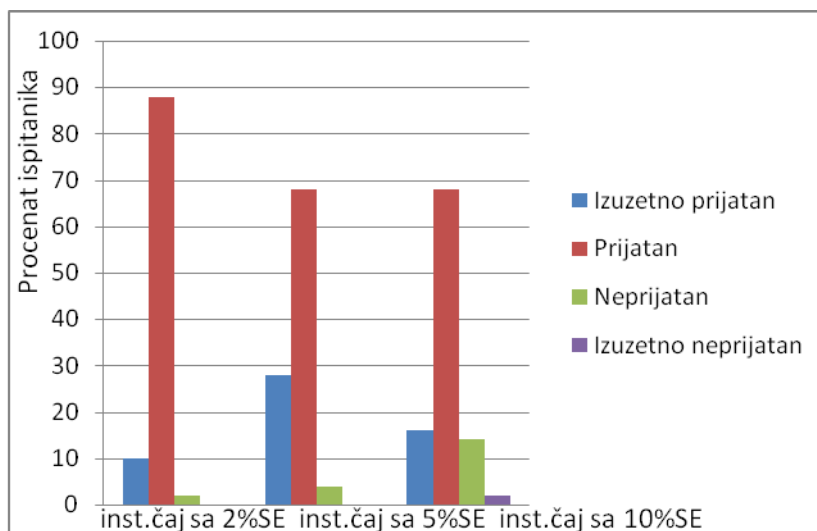
**Slika 23.** Grafik testa izgleda uzoraka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave

Kada su u pitanju uzorak biljnog instant čaja sa 2 % i biljnog instant čaja sa 5 % suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave, 50 od 50 ispitanika su izgled uzoraka ocenili kao prihvatljiv (100 %), dok je izgled uzorka biljnog instant čaja sa 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave, od 50 ispitanika, 34 ispitanika ocenili kao prihvatljiv (68 %), a 16 ispitanika ocenili kao neprihvatljiv (32 %).

Senzorna analiza uzoraka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave obuhvatala je i test mirisa, po kome su uzorci ocenjeni kao izuzetno prijatni, prijatni, neprijatni i izuzetno neprijatni, a rezultati testa mirisa su grafički prikazani na slici 24 i 25.



**Slika 24.** Grafik testa mirisa uzoraka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave



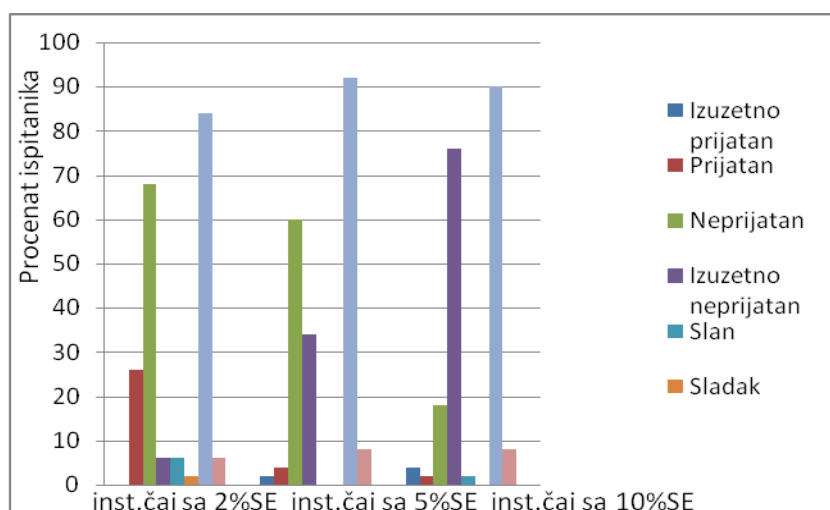
**Slika 25.** Grafik testa mirisa uzoraka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave

Na slici 24 i 25 grafički su prikazani rezultati testa mirisa uzoraka instant čaja. Sve uzorke su ispitali i ocenili 50 ispitanika. Miris biljnog instant čaja sa 2 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave 88 % ispitanika su ocenili kao prijatan, 10 % kao izuzetno prijatan, a 2 % su

ovaj uzorak instant čaja ocenili kao neprijatan. Na osnovu dobijenih rezultata, miris biljnog instant čaja sa 2 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave ocenjen je prosečnom ocenom 5,96 (od maksimalno 10) u odnosu na standard korišćen u analizi. Kada je u pitanju analiza uzoraka biljnog instant čaja sa 5 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave, 68 % ispitanika su miris ocenili kao prijatan, 28 % kao izuzetno prijatan, i 4 % ispitanika su uzorak ocenili kao neprijatan, pa je miris ovog uzorka ocenjen prosečnom ocenom 6,72 u odnosu na standard korišćen u analizi. Miris biljnog instant čaja sa 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave, 68 % ispitanika su ocenili kao prijatan, 16 % kao izuzetno prijatan, 14 % su ovaj uzorak instant čaja ocenili kao neprijatan, a 2% ispitanika kao izuzetno neprijatan. Na osnovu dobijenih rezultata, miris biljnog instant čaja sa 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave ocenjen je prosečnom ocenom 5,88 u odnosu na standard korišćen u analizi.

Kada uporedimo dobijene rezultate ocene mirisa uzoraka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta, primećujemo da je najnižu ocenu dobio uzorak instant čaja sa najvećim udelom dodate biljne prašine herbe hajdučke trave (10 %), što je i očekivano, s obzirom na hemijski sastav i aromatične komponente hajdučke trave.

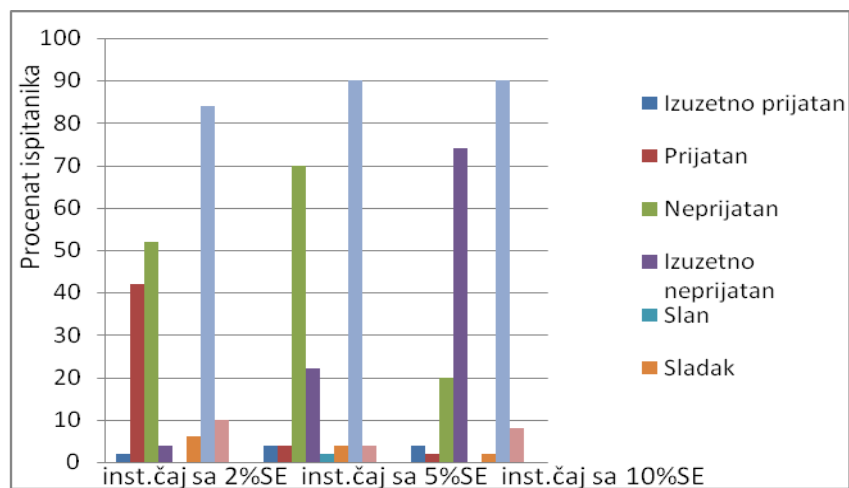
Pripremljeni hladni i topli napici biljnih instant čajeva sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta senzorno su analizirani primenom testa ukusa. Rezultati testa ukusa za hladni napitak za sve uzorke, prikazani su na slici 26.



**Slika 26.** Grafik testa ukusa hladnih napitaka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave

Ukus hladnog napitka biljnog instant čaja sa 2% suvog ekstrakta ocenjen je od strane 68% ispitanika kao neprijatan, 6% kao izuzetno neprijatan, dok su ukus ovog napitka 26 % ispitanika ocenili kao prijatan. Ukus istog uzorka, 84 % ispitanika su ocenili kao gorak, 8 % kao kiseo, 6 % kao slan, a samo 2 % ispitanika su ocenili kao sladak. Ukus hladnog napitka od biljnog instant čaja sa 2% ekstrakta ocenjen je prosečnom ocenom 4,40 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi. Hladni napitak biljnog instant čaja sa 5% suvog ekstrakta ocenjen je od strane 60 % ispitanika kao neprijatan, 34 % kao izuzetno neprijatan, 4 % kao prijatan, dok su 2 % ispitanika ukus ovog hladnog napitka ocenili kao izuzetno prijatan. Takođe, 92 % ispitanika su ovaj napitak ocenili kao gorak, dok su ga 8 % ocenili kao kiseo. Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja, hladni napitak biljnog instant čaja sa 5% suvog ekstrakta ocenjen je kao neprijatan i gorak od strane najvećeg broja učesnika u analizi, prosečnom ocenom 2,74 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi. Ukus hladnog napitka biljnog instant čaja sa 10% suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave ocenjen je od strane 76% ispitanika kao izuzetno neprijatan, 18% kao neprijatan, 4 % kao izuzetno prijatan, dok su 2 % ispitanika ukus ovog hladnog napitka ocenili kao prijatan. Ukus istog uzorka 90 % ispitanika je ocenilo kao gorak, 8 % kao kiseo i 2 % kao slan. Ukus hladnog napitka od biljnog instant čaja sa 10% ekstrakta ocenjen je veoma niskom prosečnom ocenom 1,84 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi.

Rezultati testa ukusa za topli napitak za sve uzorke biljnog instant čaja, prikazani su na slici 27.



**Slika 27.** Grafik testa ukusa toplih napitaka instant čaja sa 2 %, 5 % i 10 % suvog ekstrakta dobijenog iz biljne prašine herbe hajdučke trave

Topli napitak biljnog instant čaja sa 2% suvog ekstrakta ocenjen je od strane 52 % ispitanika kao neprijatan, 42 % kao prijatan, 4 % kao izuzetno neprijatan, dok su 2 % ispitanika ukus ovog hladnog napitka ocenili kao izuzetno prijatan. Takođe, 84 % ispitanika su ovaj napitak ocenili kao gorak, 10 % kao kiseo, dok su 6 % ispitanika ukus ovog napitka ocenili kao sladak. Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja, topli napitak biljnog instant čaja sa 2% suvog ekstrakta ocenjen je kao neprijatan i gorak od strane najvećeg broja učesnika u analizi, prosečnom ocenom 4,68 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi. Ukus toplog napitka biljnog instant čaja sa 5 % suvog ekstrakta ocenjen je od strane 22% ispitanika kao izuzetno neprijatan, 70 % kao neprijatan, 4 % kao izuzetno prijatan, dok su 4 % ispitanika ukus ovog hladnog napitka ocenili kao prijatan. Ukus istog uzorka, 90 % ispitanika su ocenili kao gorak, 4 % kao kiseo, 2 % kao slan, a 4 % su njegov ukus ocenili kao sladak. Ukus hladnog napitka od biljnog instant čaja sa 10% ekstrakta ocenjen je veoma niskom prosečnom ocenom 3,06 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi. Kada je u pitanju senzorna ocean ukusa toplog toplog napitka biljnog instant čaja sa 10 % suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave, ukus je ocenjen od strane 74% ispitanika kao izuzetno neprijatan, 20 % kao neprijatan, 4 % kao izuzetno prijatan, dok su 2 % ispitanika ukus ovog hladnog napitka ocenili kao prijatan. Takođe, 90 % ispitanika su ovaj napitak ocenili kao gorak, 8 % kao kiseo, dok su 2 % ispitanika ukus ovog napitka ocenili kao sladak. Kao i u slučaju hladnog napitka instant čajim sa istim relativnim udelom suvog ekstrakta topli napitak biljnog instant čaja sa 10% suvog ekstrakta ocenjen je kao neprijatan i gorak, od strane najvećeg broja učesnika u analizi, prosečnom ocenom 1,58 u odnosu na standard korišćen u ovoj analizi.

Rezultati senzorne analize instant čaja na bazi ekstrakta dobijenog iz biljne hajdučke trave ukazuju na to da je izgled ovakvih proizvoda prihvatljiv, da je miris prijatan, međutim, da je ukus, bilo u formi hladnog ili toplog napitka, izuzetno gorak i neprijatan, te bi se u ovoj formi ovakav proizvod mogao proizvoditi i plasirati na tržište tek nakon maskiranja njegovog neprijatnog ukusa.



## **4.7. Funkcionalni hleb sa dodatkom biljne prašine ploda šipka**

Tehnologija funkcionalne hrane se sve više razvija kao odgovor na zahteve potrošača da poboljšaju svoju ishranu i iskoriste određene zdravstvene koristi koje im funkcionalne komponente obezbeđuju. S obzirom na veliku zastupljenost hleba i pekarskih proizvoda u strukturi dnevnog obroka, u ovom eksperimentalnom radu akcenat je stavljen upravo na izradu hleba obogaćenog bioaktivnim komponentama.

U radu je ispitana mogućnost upotrebe biljne prašine ploda šipka kao dodatka koji bi obezbedio dobar kvalitet proizvoda, uz poboljšane funkcionalne i nutritivne vrednosti. Njegov uticaj je utvrđen praćenjem promena reoloških karakteristika testa i određivanjem kvaliteta gotovog proizvoda. Biljna prašina herbe hajdučke trave je izostavljena u ovoj fazi ispitivanja, jer bi visok sadržaj gorkih materija koje su zastupljene u ovoj lekovitoj biljci, sasvim sigurno uticao na senzorske karakteristike gotovog proizvoda.

### **4.7.1. Uticaj dodatka biljne prašine ploda šipka na reološke osobine testa i kvalitet hleba**

U ovom delu eksperimentalnog rada definisane su karakteristike i ispitan kvalitet brašna, izrađen hleb sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka, i određen njegov kvalitet, odnosno utvrđen uticaj dodate biljne prašine ploda šipka na kvalitet hleba.

Rezultati određivanja hemijskog sastava i veličine čestica pšeničnog brašna prikazani u tabeli 48 potvrđuju namenski kvalitet ovog brašna. Veličina čestica je vrlo važna karakteristika brašna jer od veličine i raspodele veličine čestica zavise reološka svojstva testa (Moreira i sar., 2010). U ispitivanom uzorku brašna dominiraju nešto krupnije čestice veličine od 180 do 315  $\mu\text{m}$ , što je u intervalu preporuka za brašno namenjeno proizvodnji hleba. Hemijski sastav brašna određen je prema metodama opisanim u poglavlju 3.9. i rezultati su prikazani u tabeli 48. Takođe, analizirana je, i prikazana u istoj tabeli, raspodela veličina čestica, kako bi se uporedila sa dodatim uzorkom biljne prašine ploda šipka (poglavlje 4.1.), utvrdila i eventualno otklonila razlika u veličini čestica (usitnjavanje, prosejavanje).

**Tabela 48.** Fizičko - hemijske karakteristike brašna

| Fizičko - hemijske karakteristike |                         |       |
|-----------------------------------|-------------------------|-------|
| Hemijski parametri                | Sadržaj vlage (%)       | 10,68 |
|                                   | Sadržaj pepela (%/s.m.) | 0,41  |
|                                   | Sadržaj proteina (%)    | 9,09  |
|                                   | Sadržaj masti (%)       | 0,81  |
| Veličina čestica                  | <95 µm                  | 8,2   |
|                                   | 95-150 µm               | 1,6   |
|                                   | 150-165 µm              | 4     |
|                                   | 165-180 µm              | 0,4   |
|                                   | 180-315 µm              | 55    |
|                                   | >315 µm                 | 30,5  |

#### 4.7.2. Reološke osobine testa sa dodatkom biljne prašine ploda šipka

Postupak izrade testa sa i bez dodatka biljne prašine ploda šipka, kao i metode određivanja reoloških karakteristika izrađenog testa opisane su u poglavlju 3.9.1.

Rezultati određivanja uticaja biljne prašine ploda šipka na farinografske i ekstenzografske parametre testa prikazani su u tabeli 49. (slika P39 – P56).

**Tabela 49.** Farinografski i ekstenzografski parametri kontrolnog uzorka i uzoraka sa 5 i 10 % biljne prašine šipka

| Parametri                        | Kontrolni | 5 % biljne prašine ploda šipka | 10 % biljne prašine ploda šipka |
|----------------------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| <i>Farinografski parametri</i>   |           |                                |                                 |
| Moć upijanja vode (%)            | 58,6      | 62,2                           | 65,7                            |
| Razvoj testa (min)               | 2,0       | 2,0                            | 4,5                             |
| Stabilitet (min)                 | 0,5       | 9,5                            | 10,0                            |
| Stepen omekšanja (Fj)            | 105       | 10                             | 0                               |
| Kvalitetni broj/klasa            | 65,0/B1   | 94,5/A1                        | 100/A1                          |
| <i>Ekstenzografski parametri</i> |           |                                |                                 |
| Energija (cm <sup>2</sup> )      | 140,9     | 131,3                          | 68,6                            |
| Otpor testa - O (Ej)             | 670       | 950                            | 890                             |
| Rastegljivost - R (mm)           | 121       | 100                            | 82                              |
| K=O/R                            | 5,5       | 9,5                            | 10,8                            |

Dobijeni rezultati na farinografu ukazuju da dodatak biljne prašine ploda šipka pozitivno utiče na moć upijanja vode (MUV). Pri dodatku 5 % biljne prašine ploda šipka dolazi do povećanja pomenutog parametra za 4 %, a pri dodatku 10 % biljne prašine ploda šipka za čak 10 % u odnosu na kontrolni uzorak. Pretpostavlja se da se pomenuti efekat biljne prašine ploda šipka na moć upijanja vode može objasniti prisustvom prehrambenih vlakana u sastavu ploda šipka (Winther i sar. 2015; Milenković Anđelković, 2016). Zahvaljujući prisustvu velikog broja hidroksilnih grupa u svojoj strukturi, vlaknaste materije imaju dobra hidrataciona svojstva (Rosell i sar., 2001). Pored vlakana, plod šipka sadrži veliku količinu i drugih hidrofilnih jedinjenja (fenoli i fenolne kiseline, flavonoidi, vitamin C, tokoferoli) koja vezuju određenu količinu vode i time uzrokuju povećanje moći upijanja. Može se očekivati da će hleb dobijen od brašna sa dodatkom biljne prašine ploda šipka imati dužu svežinu zbog veće moći upijanja vode tokom zamesa testa, odnosno duže migracije vode iz sredine ka kori tokom starenja hleba (Boyaçioğlu i D'Apollonia, 1994).

Dodatak biljne prašine ploda šipka je imao značajniji uticaj na razvoj testa kod uzorka sa 10 % ploda šipka. Pretpostavlja se da su vlakna šipka delimično usporavala hidrataciju samih glutenskih proteina. Na osnovu dobijenih farinografskih krivi, takođe, je uočeno da dodatak biljne prašine ploda šipka uzrokuje naknadno stvrdnjavanje testa. Pretpostavlja se da je prisustvo vlakana šipka kao hidrofilnih komponenti u testu uticalo na dužu hidrataciju čestica, a ometanje formiranja trodimenzionalne strukture glutena u početku mešenja odložilo potpunu hidrataciju polipeptidnih lanaca glutenskih proteina. Nakon strukturiranja glutena došlo je i do dodatnog vezivanja vode što se manifestovalo naknadnim stvrdnjavanjem. Dodatak biljne prašine ploda šipka značajno je uticao i na stepen omekšanja, a time i na kvalitetnu klasu brašna. Uzorci testa sa 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka imaju čak deset puta manji stepen omekšanja što je rezultiralo poboljšanjem kvalitetne klase od B1 do A1.

Na osnovu ekstenzografskih merenja određena je rastegljivost testa koja predstavlja veoma važno svojstvo pšeničnog testa koje omogućava formiranje specifične strukture i volumena pekarskih proizvoda (Kieffer, 2006). Istovremeno, otpor koji se javlja tokom istezanja testa ukazuje na ponašanja testa tokom obrade i pečenja (Nash i sar., 2006). Rezultati prikazani u tabeli 49. ukazuju da dodatak biljne prašine ploda šipka utiče na promenu svih ekstenzografskih parametra, što je u skladu sa literaturnim podacima (Boz i Karaoglu 2013). Otpor testa se

povećava za 30 do 40 %, a rastegljivost smanjuje za 20 do 30 % u odnosu na vrednosti kod kontrolnog uzorka. Zbog navedenih promena značajno se menja izgled ekstenzografskih krivi sa dodatkom 10 % biljne prašine ploda šipka, što rezultuje smanjenjem energije za čak 35 % i smanjenjem odnosa O/R čak 2 puta u odnosu na kontrolni uzorak. Smanjenje energije je u suprotnosti sa rezultatima istraživanja Boz i Karaoglu (2013), međutim, pretpostavlja se da je pomenuto značajno smanjenje rezultat prisustva askorbinske kiseline u višku.

Na osnovu literaturnih podataka, hemijski sastav ploda šipka varira u zavisnosti od vrste, regiona, lokaliteta i uslova gajenja. Sadržaj askorbinske kiseline je na osnovu istraživanja Demir i Özcan (2001) između 2300 i 2700 mg/100 g suvog ploda. Askorbinska kiselina je redukciono sredstvo, međutim, tokom mešenja dolazi do njene oksidacije u dehidroaskorbinsku kiselinu koja oksiduje slobodne sulfhidrilne grupe u glutenskim proteinima. Oksidansi povećavaju elastičnost testa i time poboljšavaju njegovu obradivost, povećavaju narastanje testa tokom pečenja što na kraju rezultuje većom zapreminom hleba (Stauffer 1990b). Dobijene vrednosti ekstenzografskih krivi ukazuju da je dodatak i 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka, značajno izmenilo svojstva testa pri istezanju. Efekti na ispitivane fizičke parametre testa su slični dodatku veće količine askorbinske kiseline, kao oksidacionog sredstva u pekarstvu. Dobijeni rezultati ukazuju da je sadržaj askorbinske kiseline u ispitivanom funkcionalnom dodatku verovatno iznad preporučenih optimalnih vrednosti za pekarstvo od 0,5-3,0 g čiste askorbinske kiseline na 100 kg brašna. Korišćenje biljne prašine ploda šipka u pomenutim količinama može biti opravdano u izradi hleba od slabog pšeničnog brašna, kada se želi ojačati glutenska struktura i poboljšati fizičke osobine testa i gde su preporuke za dodatak askorbinske kiseline u granicama od 6-10 g/100 kg brašna (Popper i sar. 2006).

### 4.7.3. Kvalitet hleba sa dodatkom biljne prašine ploda šipka

Testo je zamešeno, izrađeno, oblikovano i ostavljeno da fermentiše u skladu sa planom eksperimenta i definisanim postupkom izrade (poglavlje 3.9.2). Nakon pečenja i hlađenja ocenjen je kvalitet hleba merenjem zapremine i senzorskom analizom. Na osnovu ocena za finoću pora i elastičnost sredine određen je vrednosni broj sredine hleba – VBS (Kaludžerski, Filipović 1998) . Promene kvaliteta hleba u funkciji odabranih nezavisnih parametara utvrđene su na bazi dobijenih rezultata, prikazanih u tabeli 50.

**Tabela 50.** Ocena kvaliteta hleba

| Uzorak | Specifična masa (g/cm <sup>3</sup> ) | Zapremina hleba (cm <sup>3</sup> ) | Visina hleba (mm) | Elastičnost sredine | Finoća strukture pora         | Vrednosni broj sredine* |
|--------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------|
| 1      | 0,58                                 | 215                                | 76,5              | Vr. dobra - (3,8)   | Malo gruba/gruba (0,8)        | 4,6                     |
| 2      | 0,51                                 | 245                                | 87,5              | Vrlo dobra (4,0)    | Skoro fina/malo gruba (1,2)   | 5,2                     |
| 3      | 0,54                                 | 235                                | 85,5              | Vr. dobra (4,0)     | Malo gruba <sup>+</sup> (1,1) | 5,1                     |
| 4      | 0,56                                 | 225                                | 71,0              | Dobra (3,0)         | Gruba (0,5)                   | 3,5                     |
| 5      | 0,60                                 | 210                                | 80,5              | Vr. dobra (4,0)     | Malo gruba <sup>+</sup> (1,1) | 5,1                     |
| 6      | 0,51                                 | 245                                | 85,0              | Vr. dobra (4,0)     | Skoro fina/malo gruba (1,2)   | 5,2                     |
| 7      | 0,62                                 | 210                                | 71,5              | Dobra (3,0)         | Gruba (0,5)                   | 3,5                     |
| 8      | 0,54                                 | 235                                | 83,5              | Dobra + (3,2)       | Skoro fina/malo gruba (1,2)   | 4,4                     |
| 9      | 0,46                                 | 270                                | 86,0              | Vr.dobra (3,8)      | Skoro fina/malo gruba (1,2)   | 5,0                     |

\*Vrednosni broj sredine – VBS (min 0, max 7,0)

Analizirajući rezultate dobijene za uzorke bez aditiva (uzorak 1), sa 0,2 % aditiva (uzorak 2) i 0,4 % aditiva (uzorak 3), može se zaključiti da je kvalitet hleba značajno poboljšan već dodatkom minimalne količine aditiva (0,2 %), što je rezultat kombinovanog efekta emulgatora, askorbinske kiseline i alfa-amilaze kao aktivnih komponenti u sastavu kombinovanog poboljšivača. Povećana zapremina i visina hleba, kao i više ocene za elastičnost sredine i finoću strukture pora, rezultat su potvrda poboljšanog kvaliteta hleba.

Uzorak hleba sa dodatkom 5 % biljne prašine ploda šipka (uzorak 4) je imao manju visinu, i malu vrednost vrednosnog broja sredine, što se može objasniti uticajem veće količine

askorbinske kiseline u sastavu ploda šipka koja je značajno uticala na povećanje otpora testa i smanjenje njegove rastegljivosti, i time smanjila moć zadržavanja gasova nastalih tokom fermentacije testa. Dobijeni rezultati su u skladu sa tvrdnjama Tebben i sar. (2018) i Popper i sar. (2008) koji ističu da dodatak veće količine askorbinske kiseline od optimalne uzrokuje zbijenu malu zapreminu, zbijenu strukturu testa sa grubim porama. Pretpostavlja se da je prisustvo mineralnih materija, pre svega Ca, koji povećava jačinu veze u glutenu, takođe, umanjio rastegljivost glutena i time onemogućio ravnomerno širenje gasova tokom fermentacije, pa je i struktura hleba zbijena, a finoća pora gruba (slika 26).



**Slika 26.** Spoljašnji izgled (A) i izgled poprečnog preseka (B) uzoraka hleba bez i sa dodatkom 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka

Sa dodatkom male količine aditiva (0,2 %) (uzorak 5), kvalitet hleba se značajno poboljšao jer je prisustvo emulgatora u sastavu aditiva uticao na poboljšanje fizičkih osobina testa i njegovu obradivost. Visina hleba je povećana za oko 14 %, a vrednosni broj sredine je bio relativno visok 5,1, što je rezultat prisustva alfa amilaze u sastavu poboljšivača, koja je uticala na poboljšanje strukture sredine i dobijanje veće zapremine hleba. Povećanjem količine aditiva (uzorak 6), zapremina i visina dobijenog hleba su se povećale za oko 15 %, a takođe i ocene za elastičnost i finoću strukture pora. Generalno, senzorske karakteristike hleba su ocenjene veoma dobrom ocenom. Boja hleba je očekivano ružičasta, usled bojenih materija koje se nalaze u plodu šipka. Miris i ukus hleba su prijatni i zaokruženi. Dobijeni rezultati senzorske ocene su u skladu sa rezultatima istraživanja Boz i Karaoglu (2013), koji ističu da je dodatak 2,5 % šipka (u masi brašna) uticao na poboljšanje opšte prihvatljivosti hleba od celog zrna. Sadržaj askorbinske

kiseline u šipku je bio 850 mg/100 g šipka što je obezbedilo količinu šipka u testu u optimalnim granicama za pekarstvo.

Na slici 27. je prikazan uzorak hleba sa dodatkom 5 % biljne prašine ploda šipka i 0,2 % aditiva, koji je imao najbolji senzorski kvalitet.

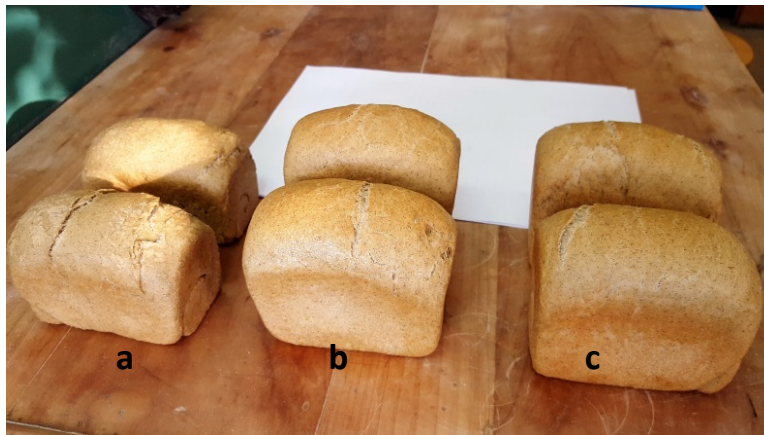


**Slika 27.** Hleb sa dodatkom 5 % biljne prašine ploda šipka i 0,2 % aditiva

Kada su u pitanju uzorci hleba sa dodatkom veće količine biljne prašine ploda šipka (10 %), na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da dodatak poboljšivača/aditiva ima pozitivan uticaj na ispitivane parametre kvaliteta hleba. Uzorak 7 sa dodakom 10 % biljne prašine šipka, bez dodatka poboljšivača imao je najnižu zapreminu i najlošiji kvalitet sredine. Vrednosni broj sredine hleba je 3,5, elastičnost sredine je dobra, finoća pora gruba, što još jednom potvrđuje da je povećana količina askorbinske kiseline u sastavu testa imala nepovoljan efekat na glutensku strukturu. Previše jak gluten nije imao dovoljnu elastičnost neophodnu za neometano narastanje testa tokom fermentacije pod pritiskom nastalih gasova.

Bolji kvalitet hleba imao je uzorak sa 0,4 % aditiva: zapremina hleba 270 cm<sup>3</sup>, visina hleba 86 mm, elastičnost sredine odlična, pore skoro fine/malo grube i vrednosni broj sredine max 5,7. Na slici 28. su prikazani uzorci hleba sa dodatkom 10 % biljne prašine ploda šipka, bez

aditiva, sa 0,2 i 0,4 % aditiva, gde se mogu primetiti očigledne razlike u spoljnom izgledu hleba, naročito u postignutoj visini i zapremini. Pomenuti rezultati ukazuju na pozitivan efekat poboljšivača, pre svega emulgatora i alfa amilaze u njegovom sastavu, koji povećavaju zapreminu, poboljšavaju elastičnost sredine, smanjuju debljinu zidova para i time doprinose njihovoj finoći (Mettler, Seibel, 1993).



**Slika 28.** Hleb sa dodatkom 10% biljne prašine ploda šipka:

a) bez aditiva, b) sa 0,2 % aditiva, c) sa 0,4 % aditiva

Boja i miris uzoraka hleba sa dodatkom 10 % biljne prašine ploda šipka se nisu značajno razlikovali od uzoraka hleba sa dodatkom 5 % biljne prašine ploda šipka. Međutim, veća količina biljne prašine ploda šipka je značajno uticao na promenu ukusa koji se manifestovao karakterističnim blago kiselkastim ukusom, ali i dalje prijatnom aromom. Rezultati senzorskog ispitivanja kvaliteta hleba su pokazali da je na ovaj način dobijen proizvod prihvatljivo dobrog kvaliteta, čime je rad sa ovakvim uzorcima itekako opravdan.

Pored senzorske analize kvaliteta ispitivanih uzoraka hleba ispitan je i njihov nutritivni kvalitet (tabela 51). Dodatak biljne prašine ploda šipka je uticao na povećanje vlage sa 31,9 % kod kontrolnog uzorka na 34,3 % kod uzorka sa dodatkom 10 % biljne prašine ploda šipka. Takođe je zabeleženo i značajno povećanje kiselinskog stepena. Kod uzorka sa dodatnih 5 % biljne prašine ploda šipka kiselinski stepen je bio 4,35, a sa dodatnih 10 % biljne prašine ploda šipka čak 6,05., dok je kod kontrolnog uzorka kiselinski stepen iznosio 2,65. Povećanje



kiselinskog stepena, je logična posledica prisustva askorbinske kiseline u sastavu biljne prašine šipka. Uzorak hleba sa 10 % biljne prašine ploda šipka ima za 60 % veći udeo pepela u odnosu na kontrolni uzorak čiji je pepeo 0,52. Značajnom povećanju pepela u uzorku hleba sa dodatkom biljne prašine ploda šipka svakako doprinosi povećan sadržaj minerala u biljnom materijalu, prvenstveno N, P, K, Ca i Mg (Ercisli, 2007).

**Tabela 51.** Hranljiva vrednost 100 g hleba sa dodatkom 5 % biljne prašine ploda šipka i hleba sa dodatkom 10 % biljne prašine ploda šipka

| Nutrijenti                         | Kontrolni uzorak | 5% šipak       | 10% šipak      |
|------------------------------------|------------------|----------------|----------------|
| Energija (kJ/kcal)                 | 1155,26/271,92   | 1106,78/264,35 | 1091,46/260,69 |
| Masti (g)                          | 0,32             | 0,43           | 0,31           |
| Od kojih:                          |                  |                |                |
| <i>Zasićene masne kiseline (g)</i> | <i>0,07</i>      | <i>0,13</i>    | <i>0,98</i>    |
| Ugljeni hidrati (g)                | 58,23            | 56,19          | 55,73          |
| Od kojih:                          |                  |                |                |
| <i>Šećeri (g saharoze)</i>         | <i>1,05</i>      | <i>1,52</i>    | <i>2,12</i>    |
| Proteini (g)                       | 9,03             | 8,93           | 8,75           |

Dodatak biljne prašine ploda šipka uticao je na manje promene hranljivog sastava hleba. Povećan je udeo masti, a smanjen udeo proteina u hlebu. Iako je smanjen udeo svarljivih ugljenih hidrata, dodatak skroba je uzrokovao povećanja šećera, što je posledica udela prostih šećera u sastavu ploda šipka. Na osnovu prikazanih rezultata u tabeli 51. može se uočiti povoljan uticaj dodatka biljne prašine ploda šipka na smanjenje energetske vrednosti hleba za oko 5,5 %, što je uz povećanje sadržaja mineralnih materija, kao i antiradikalske aktivnosti, značajan doprinos u poboljšanju svojstava hleba, odnosno dobijanju funkcionalnog proizvoda.

Rezultati ispitivanja masno-kiselinskog sastava šipka kao i uzoraka hleba sa dodatkom biljne prašine ploda šipka ukazuju na dominaciju polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) kod šipka odnosno mononezaćenih masnih kiselina kod uzoraka hleba (tabela 52). Sadržaj *trans* masnih kiselina u uzorcima hleba je između 17 i 23 %, međutim, svakako nije zabrinjavajući jer je udeo masti u samom hlebu nizak. Takođe, uočava se i pozitivan uticaj dodatka biljne prašine ploda šipka na povećanje udela esencijalne linolne kiseline (omega 6).

**Tabela 52.** Masnokiselinski sastav uzoraka hleba bez (kontrolni uzorak), i sa dodatkom 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka i uzorka čiste biljne prašine ploda šipka

| Masne kiseline<br>(g/100g masti) | Biljna prašina<br>ploda šipka | Kontrolni<br>uzorak | Hleb sa dodatkom<br>biljne prašine ploda šipka |       |
|----------------------------------|-------------------------------|---------------------|--|-------|
|                                  |                               |                     | 5%   | 10%   |
| 12:0                             | 0,27                          |                     |  |       |
| 14:0                             | 0,26                          | 0,26                | 0,21   | 0,23  |
| 16:0                             | 7,67                          | 17,32               | 18,25  | 18,11 |
| 16:1                             | 1,04                          | 0,15                | 0,12   | 0,19  |
| 18:0                             | 3,63                          | 10,28               | 10,59  | 11,28 |
| 18:1t                            |                               | 21,20               | 18,67  | 14,68 |
| 18:1c                            | 25,07                         | 35,69               | 31,45  | 28,51 |
| 18:2t                            |                               | 2,05                | 3,26   | 2,73  |
| 18:2c                            | 41,37                         | 3,95                | 11,29  | 15,64 |
| 18:3n3                           | 11,28                         |                     | 1,56   | 2,78  |
| 20:0                             | 2,30                          | 0,71                | 0,63   | 0,82  |
| 20:1                             | 0,37                          |                     |  | 0,23  |
| 22:0                             | 0,50                          | 0,81                | 0,86   | 0,65  |
| 24:0                             |                               |                     | 0,45   | 0,46  |
| SFA                              | 14,63                         | 29,38               | 30,98  | 31,55 |
| MUFA                             | 26,49                         | 57,04               | 50,24  | 43,62 |
| PUFA                             | 52,65                         | 6,00                | 16,11  | 21,15 |
| TFA                              | 0,00                          | 23,25               | 21,93  | 17,42 |

Na osnovu analiziranih rezultata nutritivnog kvaliteta hleba evidentno je da je iskorišćenje otpada iz industrijske prerade ploda šipka u proizvodnji hleba opravdano. Kako je navedeno u poglavlju 2.3.4. plod šipka sadrži veoma značajne fitonutrijente, kao što su tokoferoli, fenoli, karotenoidi, šećeri, organske kiseline i esencijalne masne kiseline. Budući da literaturni podaci (Han i Koh, 2011; Dziki i sar., 2014) ukazuju da fenolne kiseline zadržavaju antioksidativnu aktivnost posle termičkog tretmana (pečenja), pretpostavlja se da je hleb obogaćen biljnom prašinom ploda šipka funkcionalna namirnica sa značajnim antiradikalnim potencijalom. S obzirom na trend obogaćivanja belog hleba prirodnim sirovinama (začinsko i lekovito bilje) koje predstavljaju izvore minerala, mikronutrijenata, antioksidanata, prehrambenih vlakana i esencijalnih ulja, ili otpadom i sporednim proizvodima drugih grana industrije, biljna prašina ploda šipka predstavlja svakako odličan izbor.

## 5. ZAKLJUČCI

U okviru ove doktorske disertacije ispitana je mogućnost primene biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka, kao i mešavina ove dve biljne sirovine, za proizvodnju biljnih ekstrakata i novih funkcionalnih proizvoda. Biljna prašina herbe hajdučke trave i biljna prašina ploda šipka generišu se kao sporedni proizvod toku proizvodnje biljnog filter čaja.

Za ispitivanje mogućnosti iskorišćenja ovih biljnih sirovina za proizvodnju biljnih ekstrakata primenjene su klasična čvrsto-tečna ekstrakcija etanolom kao ekstragensom, Soxhlet ekstrakcija metilen-hloridom i n-heksanom, kao i ekstrakcija superkritičnim ugljen-dioksidom. Dobijeni ekstrakti su okarakterisani u pogledu hemijskog sastava primenom različitih metoda analize, pri čemu su analizirani sastav i koncentracija određenih aromatičnih jedinjenja, ugljovodonika, sterola, tokoferola, hlorofila, karotenoida i fenolnih jedinjenja.

Kao ekstrakciona tehnika sa nizom prednosti u odnosu na klasičnu Soxhlet ekstrakciju, superkritična ekstrakcija ugljen-dioksidom primenjena je u cilju ekstrakcije nepolarnih i slabo plarnih jedinjenja iz biljne prašine herbe hajdučke trave, biljne prašine ploda šipka, kao i njihovih mešavina. Dobijeni rezultati pokazali su da je ova tehnologija adekvatna za ekstrakciju ovakvog tipa materijala i da omogućava dobijanje visoko vrednih proizvoda. Tokom ekstrakcije uočeno je da se prinos superkritične ekstrakcije povećava sa povećanjem pritiska na konstantnoj temperaturi. Uticaj pritiska na ekstrakciju ispitivanih sirovina je dominantan i pozitivan, a posledica je direktnog povećanja gustine i moći rastvaranja ugljen-dioksida u superkritičnom stanju, kao i povećanja rastvorljivosti materijala koji se ekstrahuje.

Gasno hromatografskom analizom superkritičnih ekstrakata dobijenih pri različitim pritiscima i temperaturama i iz različitih mešavina biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka, utvrđeno je da su dominantna aromatična jedinjenja ekstrakata eukaliptol i kamfor. Njihov prinos se povećavao u ekstraktima sa povećanjem udela biljne prašine herbe hajdučke trave u smešama, što je i očekivano s obzirom na to da u plodu šipka ove aromatične komponente nisu zastupljene. Gasnom hromatografskom analizom utvrđeno je i da su od ugljovodonika u dobijenim superkritičnim ekstraktima najviše zastupljeni alifatični ugljovodonici

i to eikozan, dokozaan, tetrakozan, tetradekan, heptadekan i oktadekan. Kao dominantna sterolna jedinjenja identifikovani su kampesterol, stigmasterol i  $\gamma$ -sitosterol, pri čemu je najzastupljeniji bio  $\gamma$ -sitosterol. Analizom prisustva tokoferola u superkritičnim ekstraktima utvrđeno je da su primenom superkritičnog ugljen-dioksida ekstrahovani  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol. Analizom prisustva i sadržaja tokoferola, sterola i ugljovodonika u superkritičnim ekstraktima uočeno je i da se sa porastom udela biljne prašine ploda šipka u biljnim mešavinama koje su ekstrahovane povećavao udeo tokoferola i sterola u ekstraktima, a smanjivao udeo ugljovodonika.

Sadržaj hlorofila i karotenoida određen je u biljnom materijalu, a zatim i u njihovim ekstraktima koji su dobijenim primenom Soxhlet ekstrakcije i ekstrakcije superkritičnim ugljen-dioksidom. Najveći sadržaji Chl A, Chl B i Chl A+B, određeni su u uzorcima biljne prašine herbe hajdučke trave. Nasuprot tome, u istoj sirovini, određen je najmanji sadržaja ukupnih karotenoida. U ekstraktima dobijenim primenom Soxhlet ekstrakcije sa oba ekstragensa, najviši sadržaj hlorofila izmeren je u ekstraktu koji je pripremljen iz biljne prašine hajdučke trave, a dalje se sadržaj u ekstraktima smanjivao sa smanjenim udelom hajdučke trave u biljnim mešavinama koje su ekstrahovane. Najveći sadržaji Chl A+B i sadržaji karotenoida, u ekstraktima dobijenim primenom superkritičnog ugljen-dioksida iz mešavine biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka, izmeren je u ekstraktima koji su dobijeni na 300 bara i 60 °C, što ukazuje na to da se rastvorljivost ovih jedinjenja povećava sa povećanjem pritiska i temperature.

Tečni ekstrakt dobijen iz biljne prašine herbe hajdučke trave primenom 50 % etanola kao ekstragensa transformisan je u formu suvog ekstrakta-praha primenom *spray drying* tehnike kao odabrane tehnike sušenja. Tečni ekstrakti su sušeni bez dodatka MD, sa dodatkom 5 % i 10 % MD. Efikasnost procesa je bila visoka, preko 50 %, čime se ovaj proces sušenja može smatrati efikasnim. Ovako dobijeni suvi ekstrakti analizirani su u pogledu fizičkih karakteristika: stepena vlage, higroskopnosti, protočnosti, nasipne zapremine, vremena rehidracije, indeksa rastvorljivosti u vodi i indeksa apsorpcije vode, veličine čestica, izgleda čestica itd. Kvalitativnom analizom u dobijenim suvim ekstraktima određen je sadržaj bioaktivnih jedinjenja: fenola, flavonoida i etarskog ulja. Sadržaj etarskog ulja je bio u opsegu od 0,253 do 0,290 %. Gasno hromatografskom analizom utvrđeno je da je u svim uzorcima izolovanog etarskog ulja dominantna komponenta bila hamazulen, zatim kariofilen oksid, i  $\beta$ -eudesmol. Analizom

antioksidativnih svojstava suvih ekstrakata dobijenih iz biljne prašine herbe hajdučke trave, utvrđeno je da su svi uzorci pokazali veoma visok antioksidativni kapacitet, pa se zaključuje da se mogu primeniti kao potencijalni antioksidansi u prehrambenoj industriji. Pored toga, prisustvo hamazulena sa antiinflamatornim delovanjem, i  $\beta$ -eudesmola sa antibakterijskim delovanjem, može opravdati upotrebu ovih ekstrakata u proizvodnji funkcionalnih proizvoda u prehrambenoj ili kozmetičkoj industriji.

Upotrebna vrednost biljne prašine herbe hajdučke trave i biljne prašine ploda šipka, kao i biljnih preparata koji su iz ovih sirovina dobijeni primenom adekvatne tehnike ekstrakcije i sušenja, ispitana je analizom mogućnosti njihove inkorporacije u nove funkcionalne proizvode. U tom smislu, pripremljen je i ispitan instant čaj od suvog ekstrakta hajdučke trave, dok se biljna prašina ploda šipka uspešno primenila za dobijanje funkcionalnog hleba.

Instant čaj sa dodatkom suvog ekstrakta biljne prašine herbe hajdučke trave, u različitim udelima, pripremljen je postupkom granulacije. U dobijenim granulatima analiziran je sadržaj vlage, vreme rehidratacije i nasipna zapremina, a zatim izvršena njihova senzorna analiza. U senzornoj analizi instant čaja učestvovalo je 50 ispitanika, koji su ocenjivali izgled, miris i ukus dobijenog proizvoda. Izgled i miris napitaka pripremljenih iz instant čaja je većina ispitanika ocenila kao prijatne, dok je ukus okarakterisan kao neprijatan i gorak. Rezultati senzorne analize ukazuju na to da je neophodno korigovati ukus ovako pripremljenog instant čaja kako bi on bio prihvaćen od strane finalnih korisnika na tržištu.

S obzirom na to da je utvrđeno da sporedni proizvod šipka nastalog u proizvodnji filter čaja sadrži značajne količine biološki vrednih jedinjenja, ispitana je mogućnost upotrebe za dobijanje funkcionalnog hleba kao gotovog proizvoda. Rezultati ispitivanja uticaja dodate biljne prašine ploda šipka na reološke osobine testa i kvalitet hleba potvrđuju opravdanost njene primene ne samo kao funkcionalnog dodatka već i u cilju iskorišćenja njenog tehnološkog potencijala u jačanju glutenske strukture testa. Dodatak 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka značajno utiče na promenu farinografskih i ekstenzografskih parametara, kao relevantnih pokazatelja kvaliteta reoloških osobina testa. Moć upijanja vode se povećava za 5 - 10 %, a stepen omekšanja testa smanjuje 10 puta u odnosu na kontrolni uzorak. Povećanje otpora testa za 30 – 40 %, koje prati smanjenje rastegljivosti testa za 20 – 30 % potvrđuje značaj dodataka biljne prašine ploda šipka u promeni viskoelastičnih osobina testa. Korišćenje biljne prašine ploda šipka

u količini od 5 do 10 %, međutim, može biti opravdano u izradi hleba od slabog pšeničnog brašna, kada se u cilju jačanja glutenske strukture testa i poboljšanja fizičkih osobina testa preporučuje dodatak askorbinske kiseline u granicama od 6 - 10 g/100 kg brašna. Izražen uticaj dodatka 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka na jačanje glutenske strukture testa smanjuje sposobnost testa za narastanje, što se nepovoljno odražava na zapreminu hleba i kvalitet sredine. Dodatkom poboljšivača, koji u svom sastavu sadrže emulgator i alfa amilazu, moguće je poboljšati obradivost testa i povećati količinu nastalih gasova tokom fermentacije u testu sa 5 i 10 % biljne prašine ploda šipka, što na kraju rezultira poboljšanjem kvaliteta i opšte prihvatljivosti hleba. Energetska vrednost hleba sa dodatkom biljne prašine ploda šipka je niža za oko 5,5 %, što uz povećanje sadržaja mineralnih materija, kao i antiradikalske aktivnosti, predstavlja značajan doprinos u poboljšanju svojstava hleba, odnosno dobijanju funkcionalnog proizvoda.

## 6. LITERATURA

1. Adamczak, A., Buchwald, W., Zieliński, J., Mielcarek, S.: Flavonoid and organic acid content in rose hips (*Rosa L.*, sect. *Caninae* DC.EM.Christ.) Acta Biol Cracov Bot., 54: 1–8, 2012
2. Agar, O.T., Dikmen, M., Ozturk, N., Yilmaz, M.A., Temel, H. i Turkmenoglu, F.P.: Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea L.* species growing in Turkey, Molecules, 20: 17976-18000, 2015
3. Aladić, K.: Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis sativa L.*) ulja superkritičnim CO<sub>2</sub> iz pogače nakon hladnog prešanja, Doktorska disertacija, Osijek, 2015
4. Alexandrou, N., Lawrence, M.J., Pawliszyn, J.: Anal. Chem. 64: 301, 1992
5. American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC, 10th ed. The Association: St. Paul, MN, 2000
6. Amerine, M.A., Pangborn, R.M., Roessler, E.B.: Principles of sensory evaluation of food. Academic Press, New York, 1965
7. Andersson, U., Berger, K., Hogberg, A., Landin-Olsson, M. i Holm, C.: Effects of rose hip intake on risk markers of type 2 diabetes and cardiovascular disease: a randomized, double-blind, cross-over investigation in obese persons, Eur. J. Clin. Nutr., 66: 585-590, 2012
8. Anton, R.: Les Actualites pharmaceutiques, 154: 23-30, 1979
9. Ara, K.M., Jowkarderis, M., Raofie, F.: Optimization of supercritical fluid extraction of essential oils and fatty acids from flixweed (*Descurainia Sophia L.*) seed using response surface methodology and central composite design, Journal of Food Science and Technology, 52: 4450-4458, 2015

10. Arsić, A., Tadić, V.M., Đorđević, S.M., Žugić, A.R., Vujić, Z.B., Petrović, S.D.: Optimization of extraction of antioxidant components from Yarrow herb, *Hem. Ind.* 68: 511–517, 2014
11. Augsburger, L.L., Hoag, S.W.: *Pharmaceutical dosage forms: tablets*, University of Maryland, USA, 2008
12. Augustin, B., Javorka, S., Giovannini, R., Rom, P.: *Magyar gyógynövények, (Hungarian Herbal Drugs), I. Általános és leíró rész (I. General and describing part)*, Hungary, 1948
13. Baczek, K., Kosakowska, O., Przybyl, J.L., Kuzma, P., Ejdys, M., Obiedzinski, M., Weglarz, Z.: Intraspecific variability of yarrow (*Achillea millefolium*) <1.9 in respect of development and chemical traits, *Herba Polonica, From Botanical to Medical Research*, 61: 37-52, 2015
14. Baker, C. (Ed.): *Industrial drying of foods*, Springer Science&Business Media, 1997
15. Barnard, D. R.; Xue, R.: "Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae)", *Journal of Medical Entomology*, 41: 726–730, 2004
16. Barnes, P.M., Bloom, B., Nahin, R.L.: *Complementary and alternative medicine use among adults and children*, National health statistics reports, No.(PHS)2009-1250, United States, 2007
17. Baros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R.: Exotic fruits as a source of important phytochemicals: improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal, *Food Res. Int.* 44: 2233-2236, 2011
18. Baros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R.: Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties, *Food Chemistry*, 120: 247-254, 2010
19. Baser, K.H.C., Demirci, B., Demirci, F., Kocak, S., Akinci, C., Malyer, H. i Guleryuz, G.: Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. *Planta Medica*, 68: 941-943, 2002
20. Batta, A.K., Xu, G., Honda, A., Miyazaki, T., Salen, G.: Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat, *Metabolism, Clinical and Experimental*, 55: 292–299, 2006



21. Benedek, B., Kopp, B.: *Achillea millefolium* L.s.l. revisited: Recent findings confirm the traditional use, Wiener Medizinische Wochenschrift, 157: 312-314, 2007
22. Benedek, B., Rothwangl-Wiltschnigg, K., Rozema, E., Gjoncaj, N., Reznicek, G., Jurenitsch, J., Kopp, B. i Glasl, S.: Yarrow (*Achillea millefolium* L.s.I.): pharmaceutical quality of commercial samples. Pharmazie, 63: 23-26, 2008
23. Benetis, R., Radusiene, J., Jakstas, V., Janulis, V., Puodziuniene, G., Milasius, A.: Quantitative HPLC determination of phenolic compounds in yarrow, Pharmaceutical Chemistry Journal, 42: 153-156, 2008
24. Bhandari, B.R., Hartel, R.W.: Phase transitions during food powder production and powder stability. In: Onwulata, Charles (Ed.). Encapsulated and Powdered Foods, 11: 261 – 292, 2005
25. Bhandari, B.R., Howes, T.: Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods, Journal of Food Technology, 40: 71-79, 1999
26. Bhandari, B.R., Snoussi, A., Dumoulin, E.D., Lebert, A.: Spray drying of concentrated fruit juices. Drying Technology, 11: 1081-1092, 1993
27. Bimbiraite, K., Ragažinskiene, O., Maruška, A. i Kornyšova, O.: Comparison of the chemical composition of four yarrow (*Achillea millefolium* L.) morphotypes, Biologija, 54: 208-212, Lithuania, 2008
28. Bisset, N. M.: Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, CRC Press London, 1994, 566
29. Bisset, N.G., Wichtl, M.: Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Stuttgart, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2001
30. Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckmann, J. eds. Herbal Medicine.: Expanded Commission E Monographs, Austin, Texas: American Botanical Council, 2000
31. Blumenthal, M., Gruenwald, J., Hall, T., Rister, R.S.: The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicine. Boston, MA: Integrative Medicine Communications, 1998.
32. Bocevska, M., Sovova, H.: Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oil from yarrow. J. Supercrit. Fluids, 40: 360-367, 2007
33. Bojat, S., Jovanov, S., Backović, M., Toth, N.: Dijapek novi dodatak za poboljšanje kvaliteta i očuvanje svežine hleba, Žito-hleb, 20: 71-77, 1993

34. Bong, S. C., Loh, S. P.: A study of fatty acid composition and tocopherol content of lipid extracted from marine microalgae, *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica*, using solvent extraction and supercritical fluid extraction, *International Food Research Journal*, 20: 721-729, 2013
35. Boskovic, Z., Radulovic, N., Stojanovic, G.: Essential oil composition of four *Achillea* species from the Balkans and its chemotaxonomic significance. *Chem Nat Comp*, 41:674-678, 2005
36. Boz, H., Karaoglu, M. M.: Improving the quality of whole wheat bread by using various plant origin materials, *Czech Journal of Food Sciences*, 31: 457–466, 2013
37. Boz, H., Karaoglu, M.M., Kotancilar, H.G., Gercekaslan, K.E.: The effects of different materials as dough improvers for organic whole wheat bread, *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 1472–1477, 2010
38. Bradley PR: *British Herbal Compendium*. Bournemouth, United Kingdom: British Herbal Medicine Association, 1992
39. Bremmer, H.J., Prud'homme de Lodder, L.C.H., van Engelen, J.G.M.: *Cosmetics Fact Sheet: To assess the risks for the consumer*, 1-77, 2011
40. *British Herbal Pharmacopoeia, Section One, Two and Three, Millefolium - Achillea millefolium*, British Herbal Medicine Association, 1974
41. Brogle, H.: CO<sub>2</sub> As a Solvent: Its Properties and Applications, *Chem. Industry*, 385-390, 1982
42. Brunner, G.: Mass transfer from solid material in gas extraction, *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, 88: 887-891, 1984
43. Bulgarevich, D.S., Sako, T., Sugeta, T., Otake, K., Takebayashi, Y., Kamizawa, C., Horikawa, Y., Kato, M.: The role of general hydrogen-bonding interaction in the salvation process of organic compounds by supercritical CO<sub>2</sub>/n-alcohol mixtures, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41: 2074- 2081, 2002
44. Cai, Y.Z., Corke, H.: Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. *Journal of Food Science*, 65: 1248-1252, 2000
45. Cal, K., Sollohub, K.: *Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters*, *J Pharm Sci* 99:575–586, 2010

46. Caliskan, G., Dirim, S.N.: The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. *Powder Technology*, 287, 308-314, 2016
47. Caliskan, G., Dirim, S.N.: The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract, *Food Bioprod. Process.* 91: 539–548, 2013
48. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D. Polissiou, M., Sokmen, A., Akpulat, H.A.: Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *A.millefolium*, *J Ethnopharmacol*, 87: 215-220, 2003
49. Catalán, A., Pacheco, J.G., Martinez, A., Mondaca, M.A.: Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, *Oral Radiol Endo*, 105:327, 2007
50. Celik, M., Wendel, S.: Spray drying and pharmaceutical applications, In *Handbook of granulation technology*, Parikh, D.M., Boca Raton, FL, USA, 152-157, 2005
51. Chahoud, G., Aude, Y.W., Mehta, J.L.: Dietary recommendations in the prevention and treatment of coronary heart disease: do we have the ideal diet yet?, *Am. J. Cardiol.* 94: 1260-1267, 2004
52. Chandler, R., Hooper, S., Harvey, M.: Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, *Compositae, Economic Botany*, 36: 203-223, 1982
53. Chandler, R.: *Can Pharm J*, 122:41-43, 1989
54. Chang, Y.X., Yang, J.J., Pan, R.L., Chang, Q., Liao, Y.H.: Anti-hygroscopic effect of leucine on spray-dried herbal extract powders, *Powder Technology*, 266: 388-395, 2014
55. Chemat, F., Vian, M. A., Cravotto, G.: Green extraction of natural products: Concept and principles, *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 8615-8627, 2012
56. Chou, S-T., Peng, H-Y., Hsu, J-C., Lin, C-C., Shih, Y.: *Achillea millefolium* L. Essential Oil Inhibits LPS-Induced Oxidative Stress and Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Macrophages, *Int. J. Mol. Sci.* 14: 12978-12993, 2013
57. Chrubasik, C., Roufogalis, B.D., Muller-Ladner, U., Chrubasik, S.: A systematic review on the *Rosa canina* effect and efficacy profiles, *Phytotherapy Research*, 22: 725-733, 2008

58. Corrigan O.I.: Thermal analysis of spray dried products, *Thermochimica Acta*, 248: 245-258, 1995
59. Czyzowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E., Nowak, A.: *J. Food Compos. Anal.*, 39: 62-68, 2015
60. Da Silva, R.P.F.F., Rocha-Santos, T.A.P., Duarte, A.C.: Supercritical fluid extraction of bioactive compounds, *Trends in Analytical Chemistry* 76: 40-51, 2016
61. Dall'Acqua, S., Bolego, C., Cignarella, A., Gaion, R.M., Innocenti, G.: Vasoprotective activity of standardized *A. millefolium* extract, *Phytomedicine*, 2011
62. Damjanović, B.M., Skala, D., Petrović-Djakov, D. and Baras, J.: A Comparison Between the Oil, Hexane Extract and Supercritical Carbon Dioxide Extract of *Juniperus communis* L., *J. Essent. Oil Res.*, 15: 91–93, 2003
63. De Azevedo, A.B.A., Kieckbush, T.G., Tashima, A.K., Mohamed, R.S., Mazzafera, P., Vieira de Melo, S.A.B.: Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids*, 44: 186-192, 2008
64. De Melo, M.M.R., Silvestre, A.J.D., Silva, C.M.: Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology, *The Journal of Supercritical Fluids*, 92: 115-176, 2014
65. De Sousa, S.S., Borges, S.V., Magalhaes, N.F., Ricardo, H.V., Azevedo, A.D.: Spray-dried tomato powder: reconstitution properties and color, *Braz. Arch. Biol. Technol.* 4: 607-614, 2008
66. Del Valle, J.M., Napolitano, P., Fuentes, N.: Estimation of Relevant Mass Transfer Parameters for the Extraction of Packed Substrate Beds Using Supercritical Fluids, *Ind. Eng. Chem.*, 4720-4728, 2000
67. Deliorman Orhan, D., Hartevioglu, A., Kupeli, E., Yesilada, E.: In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits, *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 394-400, 2007
68. Demir, F., Ozcan, M.: Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey, *Journal of Food Engineering*, 47: 333-336, 2001

69. Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., Hayaloglu, A.A.: Evaluation Of Volatiles, Phenolic Compounds And Antioxidant Activities Of Rose Hip (*Rosa L.*) Fruits In Turkey, *LWT-Food Sci.Technol.*, 57: 126-133, 2014
70. Dere, S., Gunes, T., Sivaci, R.: Spectrophotometric determination of chlorophyll – A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents, *Tr. J. Botany*, 22: 13–17, 1998
71. Diaz-Maroto, M.C., Perez-Coello, S., Cabezudo, M.D.: Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices comparison with simultaneous distillation-extraction, *J. Chromatogr. A*, 947: 23-29, 2002
72. Dobraszczyk B.J.: Measuring the rheological properties of dough. In S.P. Cauvain (Ed.), *Bread making improving quality*, Woodhead Publishing in Food Science and Technology, London, 375-389, 2000
73. Dogan, A., Kazankaya, A.: Fruit Properties of Rose Hip Species Grown in Lake Van Basin (Eastern Anatolia Region), *Asia Journal of Plant Sciences* 5: 120-122, 2006
74. Dong, W., Hoseney, R.C.: Effect of certain bread making oxidants and reducing agents on dough rheological properties, *Cereal Chemistry*, 72: 58–64, 1995
75. Duke J.: *CRC Handbook of Medicinal Herbs* . Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 9-10, 1989
76. Egea, I., Sanchez-Bel, P., Romojaro, F., Pretel, M.T.: Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements, *Plant Foods for Human Nutrition*, 65: 121-129, 2010
77. Eggers, R.: Supercritical extraction of oilseed/lipids in natural products, In: J. W. King & G. R. List, *Supercritical fluid technology in oil and lipid chemistry*, Champaign, IL: AOCS Press, 35-64, 1996
78. Eggersdorfer, M.: Terpenes, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH, 2000
79. Eghdami, A., Sadeghi, F.: Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*, *Org Chem J*, 2: 81-84, 2010

80. El-Kalamouni, C., Venskutonis, P.R., Zebib, B., Merah, O., Raynaud, C., Talou, T.: Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of *Achillea millefolium* L. Grown in France, *Medicines Article*, 4: 30, 2017
81. El-Samahy, S.K., El-Hady, E.A.A., Habiba, R.A., Moussa-Ayoub, T.E.: Some functional, chemical, and sensory characteristics of cactus pear rice-based extrudates, *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 9: 136–147, 2007
82. EMA/HMPC/290309/2009, EMA, European Medicines Agency, Science Medicines Health, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), London, 2011
83. Ercisli, S.: Chemical composition of fruits in some rose species (*Rosa spp.*), *Food. Chem.*, 104: 1379-1384, 2007
84. Erenturk, SW., Gulaboglu, M.S., Gultekin, S.: The effects of cutting and drying medium on the vitamin C content of rosehip during drying, *Journal of Food Engineering*, 68: 513–518, 2005
85. Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers H.J.: Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 648-656, 2000
86. European Pharmacopoeia 7.0
87. Evans W.C., Trease and Evans Pharmacognosy, W. B. Saunders, edonburg, London, New York, Philadelphia. St Luis, Sydney, Toronto, 2002
88. Falconieri, D., Piras, A., Porcedda, S., Marongiu, B., Gonçalves, M.J., Cabral, C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L.: Chemical Composition and Biological Activity of the Volatile Extracts of *Achillea millefolium*, *Natural Product Communications*, 6: 1527 – 1530, 2011
89. Fan, C., Pacier, C., Martirosyan, D.M.: Rose hip (*Rosa canina* L): A functional food perspective Functional Food Center/Functional Food Institute, Dallas, TX, USA, *Functional Foods in Health and Disease*, 4: 493-509, 2014
90. Fattahi, S., Jamei, R., Hosseini Sarghein, S.: Antioxidant and antiradical activity of *Rosa canina* and *Rosa pimpinellifolia* fruits from West Azerbaijan, *Iranian J Plant Physiol.*, 2:523–529, 2012
91. Favati, F., King, J.W., Mazzanti, M.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68: 422, 1991

92. Fenglin, H., Ruili, L., Bao, H., Liang, M.: Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants, *Fitoterapia*, 75: 14-23, 2004
93. Filip, S.: Ekstrakcija bosiljka (*Ocimum basilicum*, *Lamiaceae*) ugljendioksidom u superkričnom stanju i modelovanje ekstrakcionog sistema, Doktorska disertacija, Novi sad, 2014
94. Florihana: Yarrow Essential Oil Chromatography, 2014
95. Fogler, B.B., Kleninschmidt, R.V.: Spray Drying, *Ind. Eng. Chem.*, 30: 1372-1384, 1938
96. Fraisse, D., Felgines, C., Texier, O., Lamaison, J-L.: Caffeoyle derivatives: Major antioxidant compounds of some wild herbs of the Asteraceae family, *Food and Nutrition Sciences*, 2:181-192, 2011
97. Ganguly J., Rao M. R., Murthy S. K., Sarada K.: Systemic mode of action of vitamin A, *Vitamins and Hormones*, 38:1-54, 1980
98. Gao, X., Bjork, L., Trajkovski, V., Uggla, M.: Evaluation of antioxidant activities of rose hip ethanol extracts in different test systems, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 2021-2027, 2000
99. German Commission E Monograph *Achillea millefolium* (Schafgarbe) *Bundesanzeiger*, German, 1990
100. Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S.: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105: 9099-9104, 2008
101. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R.: Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Research International*, 40: 1107-1121, 2007
102. Ghazghazi, H., Miguel, M.G., Hasnaoui, B., Sebei, H., Ksontini, M., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Barroso, J.G.: Phenols, essential oils and carotenoids of *Rosa canina* from Tunisia and their antioxidant activities, *Afr J Biotechnol*, 9: 2709-2716, 2010
103. Gilbert, A.N., Wysocki, C.: The smell survey results, *National Geographic*, 172: 514-525, 1987

104. Giorgi, A., Bononi, M., Tateo, F., Cocucci, M.: Yarrow (*Achillea millefolium* L.) growth at different altitudes in central Italian Alps: biomass yield, oil content and quality, *J Herbs Spices Med Plants*, 11: 47-58, 2005
105. Glasl, S., Mucaji, P., Werner, I., Presser, A., Jurenitsch, J.: Sesquiterpenes and flavonoid aglycones from a Hungarian taxon of the *Achillea millefolium* group, *Zeitschrift fur Naturforschung*, 57: 976-982, 2002
106. Gollnick, H.P.M., Hopfenmuller, W., Hemmes, C., Chun, S.C., Schmid, C., Sundermeier, K., Biesalski, H.K.: Systematic beta carotene plus topical UV-sunscreen are an optimal protection against harmful effects of natural UV-sunlight: results of the Berlin-Eilath study, *Eur. J. Dermat.* 6: 200-205, 1996
107. González-Gómez, D., Lozano, M., Fernández-León, M.F., Bernalte, M.J., Ayuso, M.C., Rodríguez, A.B.: Sweet cherry phytochemicals: Identification and characterization by HPLC-DAD/ESIMS in six sweet-cherry cultivars grown in Valle del Jerte (Spain), *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 533-539, 2010
108. Goula, A.M., Adamopoulos, K.G.: Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I. Drying kinetics and product recovery, *Drying Technology*, 26: 714-725, 2008
109. Grajzer, M., Prescha, A., Korzonek, K., Wojakowska, A., Dziadas, M., Kulma, A., Grajeta, H.: Characteristics of rose hip (*Rosa canina* L.) cold-pressed oil and its oxidative stability studied by the differential scanning calorimetry method, *Food Chemistry*, 188: 459-466, 2015
110. Green, A., Battistutta, D., Hart, V., Frost, C., Leslie, D., Marks, G., Williams, G., Gaffney, P., Parsons, P., Hirst, L., Frost, C., Orrell, E., Durham, K., Lang, C., Auld, J., Beardmore, G., Coates, J., Congdon, S., Millar, P., Mercer, C., Sinclair, P., Waite, S., Wilson, P., Weedon, D., Ashton, B., Jeacocke, D., Russell, A., Neale, R., Luong, T., Read, J.: The nambour vskin-cancer and actinic-eye-disease prevention trial-design and base-line characteristics of participants, *Control. Clin. Trials*, 15: 512-522, 1994
111. Gruenwald, J.: PDR for Herbal Medicines, Second edition, Montvale, NJ: Medical Economics Company, 2000



112. Guan, W., Li, S, Yan, R., Tang, S., Quan, C.: Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food. Chem.*, 101: 1558-1564, 2007
113. Gudaityte, O., Venskutonis, P.R.: Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment, *Biochemical Systematics and Ecology*, 35: 582-592, 2007
114. Guimaraes, R., Barros, L., Calhelha, R.C., Carvalho, A.M., Queiroz, M.J.R.P., Ferreira, I.C.F.R.: Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from northeastern Portugal: A comparative study, *Plant Foods for Human Nutrition*, 69: 37-42, 2014
115. Guimaraes, R., Barros, L., Carvalho, A., Ferreira, ICFR.: Studies on chemical constituents and bioactivity of *Rosa micrantha*: an alternative antioxidants source for food, pharmaceutical, or cosmetic applications. *J. Agr Food Chem*, 58: 6277-6284, 2010
116. Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W.: Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses, *J.Agr.Food.Chem.*, 37: 75-81, 1989
117. Haas, L.F.: *Rosa canina* (dog rose), *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 5: 470, 1995
118. Hamad, K.J. Shahlah Jihad Ahmed Al-Shaheen, Kaskoos, R., Ahamad, J., Jameel, M., Mir, S.: Essential oil composition and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* from Iraq. *Int. Res. J. Pharm.*, 4: 118–123, 2013
119. Hansel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider, G.: *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Drogen A-D, Vol.4.* Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1992
120. Haque, M.A., Chen, J., Aldred, P., Adhikari, B.: Drying and denaturation characteristics of whey protein isolate in the presence of lactose and trehalose, *Food Chemistry*, 177: 8-16, 2015
121. Herrero, M., Cifuentes, A., Ibanez, E.: Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food by-products, algae and microalgae, *Food Chemistry*, 98: 136-148, 2006

122. Hodisan T., Socaciu C., Ropan I., Neamtu G.: Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 16: 521–528, 1997
123. Hogekamp, S., Schubert, H.: Rehydration of food powders, *Food Sci Tech Int*, 9: 223–235, 2003
124. Houseknecht, K.L., Heuvel, J.P.V., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero, C.P., Peck, L.W., Nickel, K.P.: Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 244: 678-682, 1998
125. Hussain, A.I., Anwar, H., Tufail, S., Sherazi, H., Przybylski, R.: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations, *Food Chemistry*, 108: 986-995, 2008
126. Hvattum, E.: Determination of phenolic compounds in rose hip (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16: 655–662, 2002
127. Iang, Q., Christen, S., Shigenaga, M.K., Ames, B.N.: Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention, *The American journal of clinical nutrition* 74: 714–22, 2001
128. Ichim, M., Enache, R., Visan, A.: Supercritical fluid extraction of volatiles oils experimental model, *International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*, Bucharest, 2015
129. Ilic, D., Forbes, K.M., Hased, C.: Lycopene for the prevention of prostate cancer, *Cochrane Database Syst Rev*, 11: 1-24, 2011
130. Illes, V., Daood, H.G., Perneckzi, S., Szokonya, L., Then, M.: Extraction of coriander seed oil by CO<sub>2</sub> and propane at super- and subcritical conditions, *Journal of Supercritical Fluids*, 17: 177-186, 1997
131. ILO Encyclopaedia of Occupational Health & Safety, Hydrocarbons, Aliphatic and Halogenated, 2013
132. Ilyasoglu, H.: Characterization of rosehip (*Rosa canina* L.) seed and seed oil , *International Journal of Food Properties*, 17: 1591-1598, 2014

133. Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S., Douglas, P. L.: Extraction of  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -oryzanol from rice bran, *LWT Food Science and Technology*, 41: 1417-1424, 2008
134. Innocenti, G., Vegeto, E., Dall' Acqua, S., Ciana, P., Giorgetti, M., Agradi, E., Sozzi, A., Fico, G., Tome, F.: In vitro estrogenic activity of *A.millefolium* L. *Phytomedicine*, 14: 147-152, 2007
135. Innocenti, M., Niccoli, L., Vasacci, L., Vincieri, F.F., Mulinacci, N.: Componenti bioattivi nei falsi frutti di cultivars selezionate di *Rosa canina*, V Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti, Morgan, Milan, 20-25, 2004
136. International Fragrance Association (IFRA), IFRA Standards Library, Limits on eugenol and the hydroperoxide content of linalool in cosmetic products, 2017
137. Jablonska-Rys, E., Zalewska-Korona, M., Kalbrczyk, J.: Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics in wild edible fruits, *J Fruit Ornam Plant Res*, 17: 115–120, 2009
138. Jager, A.K., Eldeen, I.M.S., van Staden, J.: COX-1 and COX-2 activity of rose hip, *Phytotherapy Research* 21: 1251-1252, 2007
139. Jančić, R.: Botanika farmaceutika, četvrto izdanje, Službeni glasnik, Beograd, 2011
140. Jančić, R.: Sto naših najpoznatijih biljaka, Naučna knjiga, Beograd, 1988
141. Jaya, S., Das, H.: Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties, *Journal of Food Engineering*, 63: 125-134, 2004
142. Jittanit, W., Niti-Att, S., Techanuntachaikul, O.: Study of spray drying of pineapple juice using maltodextrin as an adjunct, *Chiang Mai J. Sci.*, 37: 498-506, 2010
143. Johnsen MA.: The Influence of Particle Size, Spray Technology and Marketing, 14: 24-27, 2004
144. Judzentiene, A., Mockute, D.: Essential oil composition of two yarrow taxonomic forms, *Central European Journal of Biology*, 346-352, 2010
145. Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962, 1999

146. Kaluđerski, G., Filipović, N.: Metode ispitivanja kvaliteta žita, brašna i gotovih proizvoda, Tehnološki fakultet, Zavod za tehnologiju žita i brašna, 1998.
147. Karamenderes, C., Apaydin, S.: Antispasmodic effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *Sipylea* (O. Schwarz), Bassler on the rat isolated duodenum, J. Ethnopharmacol., 84: 175-179, 2003
148. Keita, S.M., Vincent, C., Schmit, J.-P., Belanger, A.: Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea, Flavour Fragr. J. 15: 339–341, 2000
149. Kern, J.C., Kehrer, J.P., Goldberg, A.S., Mueller, E.C., Eigen, E., Desalva, S.J.: Isolation of the anti-inflammatory principles from *Achillea millefolium* (Compositae), J Pharm Sci, 58: 938-41, 1969
150. Keser, L.S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, O., Turkoglu, I.: Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of water and ethanol extracts from *Achillea millefolium*, Turk J Pharm Sci, 10: 385-392, 2013
151. King, J.W.: Supercritical Fluid Extraction: Present status and prospects, Grasas y Aceites, 53: 8-21, 2002
152. Knežević, V.: Superkritične tekućine, 2008
153. Kobus, M., Włodarczyk, M., Pogorzelski, E., Dziugan, P. and Laskowska, J.: Koncentraty z dzikiej róży (*Rosa rugosa*) otrzymane różnymi metodami, Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis Scientia Alimentaria, 246: 205–216, 2005
154. Kohlmunzer, S.: Farmakognozja, WL PZWL, Warszawa, 1998
155. Kohlmünzer, S.: Farmakognozja, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2013
156. Kovačević, N.: Osnovi farmakognozije, Beograd, Srpska školska knjiga, 2004
157. Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V.: High-monounsaturated fatty acids diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations, Am. J. Clin. Nutr, 70: 1009-1015, 1999
158. Krishnaiah, D., Nithyanandam, R., Sarbatly, R.: A Critical Review on the Spray Drying of Fruit Extract: Effect of Additives on Physicochemical Properties, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 54: 449-473, 2013

159. Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D.: Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate, *J Food Eng* 94: 326–333, 2009
160. Kuznicka, B., Dziak, M.: *Zioła i Ich Stosowanie, Historia i Współczesność*, PZWL, Warszawa, 1987
161. Kwon, K.T., Md. Salim, U., Jung, G.W., Sim, J.E., Chun, B.S.: Supercritical carbon dioxide extraction of phenolics and tocopherols enriched oil from wheat bran. *Int J Biol Sci.*, 6: 117–122, 2010
162. Lang, Q., Wai, C.M.: Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – a practical review, *Talanta*, 53: 771-782, 2001
163. Lehane, A.M., Saliba, K.J.: Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite, *BMC Res Notes*, 1: 26-30, 2008
164. Lekić, Ž.: *Tehnologija proizvodnje hleba*, Beograd, 2004
165. Lepojević, Ž.: *Praktikum hemije i tehnologije farmaceutskih proizvoda*, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2000
166. Lewinshon, E., Schalechet, F., Wilkinson, J., Matsui, K., Tadmor, Y., Nam, K., Amar, O., Lastochkin, E., Larkov, O., Ravid, U., Hiatt, W., Gepstein, S., Pichersky, E.: Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits, *Plant Physiol*, 127:1256–1265, 2001
167. Li, Q., Cheng, T., Wang, Y., Bryant, S.H.: PubChem as a public resource for drug discovery, *Drug Discov Today*, 15: 1052–7, 2010
168. Liand, G.G., Tan, A.J.A.: Case-control study of serum beta-carotene and lung cancer, *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 28: 81–83, 1994
169. Lininger et al, *Healthnotes: Clinical Essentials, Herb Monographs*. Prima Publishing, Rocklin, CA, 2001
170. Liu, G., Xu, X., Gong, Y., He, L., Gao, Y.: Effects of supercritical CO<sub>2</sub> extraction parameters on chemical composition and free radical-scavenging activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil, *Food and Bioproducts Processing*, 90: 573-578, 2012

171. Lu, Q.Y., Arteaga, J.R., Zhang, Q., Huerta, S., Go, V.L.W., Heber, D.: Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: Role of lipid-soluble bioactive substances, *J. Nutr. Biochem*, 16: 23–30, 2005
172. Macias-Sanchez, M.D., Fernandez-Sevilla, J.M., Fernandez, F.G., Garcia, M.C., Grima, E.M.: Supercritical fluid extraction of carotenoids from *Scenedesmus almeriensis*, *Food Chem.*, 123: 928–935, 2010
173. Macias-Sanchez, M.D., Mantell Serano, C., Rodriguez Rodriguez, M., Martinez de la Ossa, E., Lubian, L.M., Montero, O.: Extraction of carotenoids and chlorophyll from microalgae with supercritical carbon dioxide and ethanol as cosolvent, *J. Sep. Sci.*, 31: 1352–1362, 2008
174. Mahendran, T.: Physico-chemical properties and sensory characteristics of dehydrated guava concentrate: effect of drying method and maltodextrin concentration, *Trop. Agric. Res. Extension*, 13, 2010
175. Maksimović, Z., Petrović, S., Samardžić, S.: Primena biljnih lekovitih proizvoda u dermatologiji, *Stručni radovi / Professional papers, Arh.farm.*, 63: 147 – 157, 2013
176. Malinka, W.: *Zarys chemii kosmetycznej*, Volumed, Wroclaw, 1999
177. Mandade, R. J., Choudhury A., Harsulkar A., Wakade R.: Role of the *Rosa canina* L. leaf extract as an antidiarrheal drug in rodents, *Indian J.Pharmacol.*, 43: 316-319, 2011
178. Markham K.R. In: J.B. Harborne, P.M. Dey (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, London, 193–237, 1989
179. Masters, K.: Current market-driven spray drying development activities, *Drying Technology*, 22: 1351-1370, 2004
180. Masters, K.: *Spray drying, An introduction to principles, operational practice and applications*, Leonard Hill Books, London, 1972
181. Mehdi, S.J., Ahmad, A., Irshad, M., Manzoor, N., Moshahid, M., Rizvi, A.: Cytotoxic effect of Carvacrol on human cervical cancer cells, *Biology and Medicine*, 3: 307-312, 2011
182. Mettler, E., Seibel, W.: Effects of emulsifiers and hydrocolloids on whole wheat bread quality - a response-surface methodology study, *Cereal Chemistry*, 70: 373–377, 1993

183. Michael, J.K.: Spray drying and spray congealing of pharmaceuticals. In: Encyclopedia of pharmaceutical technology, Marcel Dekker INC, NY, 14: 207-221, 1993
184. Mičić, V., Lepojević, Ž., Jotanović, M., Tadić, G., Pejović, B.: Supercritical Extraction of *Salvia officinalis* L., Journal of Applied Sciences, 11: 3630-3634, 2011
185. Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R.: HPLC-MS identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species, Food Chem., 135: 2138-2146, 2012
186. Milenković Anđelković, S.A.: Ekstrakcija, karakterizacija, biološka aktivnost i potencijalna primena fenolnih jedinjenja iz plodova i lišća biljnih vrsta familija Rosaceae, Cornaceae i Grossulariaceae, Doktorska disertacija, Niš, 2016
187. Miletić, T.: Spray drying process characterization and modeling in the solid dosage forms development by application of quality by design concept, Doctoral dissertation, University of Belgrade, 2013
188. Millar, S.: Controlling dough development. In S.P. Cauvain (Ed.), *Bread making improving quality*, Woodhead Publishing in Food Science and Technology, London, 401-408, 2000
189. Miller, L., Murray, W.: Herbal Medicinale, A clinician's guide, Pharmaceutical Product Press, New York, London, 1998
190. Mišan, A., Arsić, I., Đorđević, S., Tadić, V., Psodorov Đ.: Funkcionalna hrana i lekovito bilje, monografija, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, 2013
191. Mishra, P., Mishra, S., Mahanta, C.L.: Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder, Food Bioprod. Process., 92: 252–258, 2014
192. Montanari, T., Carvalho, J.E., Dolder, H.: Antispermatogetic effect of *A. millefolium* L. in mice, Contraception, 58: 309-313, 1998
193. Montazeri, N., Baher, E., Mirzajani, F., Barami, Z., Yousefian, S.: Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran, Journal of Medicinal Plants Research, 5: 4584-4589, 2011  
Moreira, R. et al.: Journal of Food Engineering 100: 270–277, 2010

194. More Swati, K., Wagh, MP.: Review on spray drying technology, International Journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences, India, 4: 219-225, 2014
195. Moreira, R. et al.: Journal of Food Engineering, 100: 270-277, 2010
196. Morgenstern M.P., Zheng H., Ross M., Campanella O.H.: Rheological properties of sheeted wheat flour dough measured with large deformations, International Journal of Food Properties, 2: 267-275, 1999
197. Morita, A., Kajimoto, O.: Solute-solvent interaction in nonpolar supercritical fluid: a clustering model and size distribution, J. Phys. Chem., 6420-6425, 1990
198. Moskalenko, S. A.: Preliminary screening of far-Eastern ethnomedicinal plants for antimicrobial activity, J. Ethnopharmacol., 15: 231-59, 1986
199. Murathan, Z.T., Zarifikhosroshahi, M., Kafkas, N.E.: Determination of fatty acids and volatile compounds in fruits of rosehip (*Rosa L.*) species by HS-SPME/GC-MS and Im-SPME/GC-MS techniques, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40: 269-276, 2016
200. Murugesan, R., Orsat, V.: Spray drying for the production of nutraceutical ingredients-a review, Food and Bioprocess Technology, 5: 3-14, 2012
201. Mustafa, A., Turner, C.: Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review, Analytica Chimica Acta, 703: 8-18, 2011
202. Nadim, M.M., Malik, A.A., Ahmad, J. i Bakshi, S.K.: The Essential Oil Composition of *Achillea millefolium L.* Cultivated under Tropical Condition in India, World Journal of Agricultural Sciences 7: 561-565, 2011
203. Nađpal, J.D., Lesjak, M.M., Šibul, F.S., Anačkov, G.T., Četojević-Simin, D.D., Mimica-Đukić, N.M., Beara, I.N.: Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina L.* and *Rosa arvensis Huds.*, Food Chemistry 192: 907-914, 2016
204. National and Aeronautics and Space Administration (NASA), 2003
205. Nemeth, E., Bernarth, J.: Biological activities of yarrow species (*Achillea spp.*), Curr Pharm Des, 14: 3151-3167, 2008
206. Nemeth, E.: Essential oil composition of species in the genus *Achillea*, Journal of Essential Oil Res., 17: 501-512, 2005



207. Newall C, et al.: Herbal Medicines, London, England: Pharmaceutical Press, 271-73, 1996
208. Norhuda, I., Jusoff, K.: Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) as a clean technology from palm kernel oil extraction, *Journal of Biochemical Technology*, 1: 75-78, 2009
209. Novajan, S., Khalilian, F., Kiaie, F.M., Atyeh, R., Arabanian, A., Chalavi, S.: Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L fruits, *J Food Comp Anal.*, 21: 300–305, 2008
210. Nowak, K., Ogonowski, J., Szulc, K.: Application and characteristics of *Achillea millefolium* and its oil, *Chemik*, 64: 103-110, 2010
211. Nowak, R., Gawlik-Dziki, U.Z., *Naturforsch, C.*: Polyphenols of *Rosa* L. leaves extracts and their radical scavenging activity, 62: 32-8, 2007
212. Nowak, R.: *Badania Fitochemiczne Wybranych Gatunków z Rodzaju Rosa L. Analiza Biologicznie Aktywnych Składników*, Akademia Medyczna, Lublin, 2006
213. Nueleanu, V., Mihoc, N., Mihai, C.: Ascorbic Acid Content in Extractive Aqueous Solutions of *Rosa canina* L. Fruits, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 73: 19-22, 2008
214. Nunes, G.L., Boaventura, B.C.B., Pinto, S.S., Verruck, S., Murakami, F., S., Prudencio, E.S., Amboni, R.D.M.C.: Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying, *Journal of Food Engineering*, 151: 60-68, 2015
215. O’Neil, M.J.: *The Merck Index*, Merck Research Laboratories, Whitehouse, NJ, USA, 2006
216. Ochmanska, A., Wasek, M., Wawer, I.: Badanie składu i własności antyutleniających preparatów z dzikiej róży, *Farmacja Polska*, 14: 753, 2001
217. Oliveira, W.P., Souza, C.R.F., Kurozawa, L.E., Park, K.L.: *Spray drying of food and herbal products-Volume 1*, Ed. Woo, M.W., Mujumdar, A.S. and Daud, W.R.W., Published in Singapore, 113-156, 2010
218. Opdycke, D.LJ., Letizia, C.: Monographs on fragrance raw materials, Caryophyllene oxide, *Food Chem Toxicol*, 21: 661–662, 1983
219. Osinska, E.: Roza dzika lecz oswojona. *Panacea – Leki ziolowe* 4: 10-13, 2004
220. Ozcan, M.: Nutrient composition of rose (*Rosa canina* L.) seed and oils, *Journal of Medicinal Food*, 5: 137-140, 2002

221. Ozkan, G., Sagdic, O., Baydar, N.G., Baydar, H.: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascene* flower extracts. *Food Science and Technology*, 10: 277-281, 2004
222. Padayatty, S.J., Levine, M.: New insights into the physiology and pharmacology of vitamin C, *Canadian Medical Association Journal*, 164: 353–355, 2001
223. Painsi, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Lagazzo, A., Botter, R., Perego, P.: Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT – Food Science and Technology*, 62, 177–186, 2015
224. Pavlič, B., Vasić Đurković, A., Vladić, J., Gavarić, A., Zeković, Z., Tepić, A., Vidović, S.: Extraction of minor compounds (chlorophylls and carotenoids) from yarrow-rose hip mixtures by traditional versus green technique, *Journal of Food Process Engineering* 39: 418–424, 2015
225. Pavlič, B.: Valorizacija sporednog proizvoda žalfije (*Salvia officinalis* L.) u cilju dobijanja bioaktivnih jedinjenja savremenim tehnikama ekstrakcije, Doktorska disertacija, Novi Sad, 2017
226. PDR for Herbal Medicines, second edition, Thomson Physicians Desk References, 2000
227. Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T.A., Toivo, J., Lampi, A.M.: Plant sterols: Biosynthesis, biological function, and their importance to human nutrition, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 939-966, 2000
228. Poper L., Schäfer W., Freund W.: *Future of Flour*, AgrimediaGmbH, Germany, 222-229, 2006
229. Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S.: Supercritical Fluid Extraction in Plant Essential and Volatile Oil Anaysis, *J. Chromatogr. A*, 1163: 2-24, 2007
230. Pourmortazavi, S.M., Hajimirsadeghi, S.S., Kohsari, I., Hosseini, S.G.: *J.Chem. Eng. Data*, 49: 1530, 2004
231. Pourmortazavi, S.M., Hosseini, S.G., Fathollahi, M.: Presented at the International Autumn Seminar on Propellant Explosives and Pyrotechnics, Guilin, China, 2003
232. Pravilnik o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda, *Sl.glasnik RS*, 4/2012, član4, član 13 i član 14, 2012

233. Psodorov, Đ.: Produženje održivosti hleba optimizacijom tehnološkog postupka i pakovanjem u modifikovanoj atmosferi, *Žito-hleb*, 33: 61-68, 2006
234. Rácz, G., Rácz-Kotilla, E., Laza, A.: *Gyógynövényismeret (Pharmacognosy) Ceres Könyvkiadó*, 95-6, Hungary, 1984
235. Ragažinskiene, O., Rimkiene, S., Sasnauskas, V.: *Vaistiniu augalu enciklopedija*, Kaunas: Lutute, 2005
236. Rahimmalek, M., Tabatabaei, B.E.S., Etemadi, N, Goli, S.A.H., Arzani, A., Zeinali, H.: Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions, *Ind. Crop Prod*, 29: 348-355, 2009
237. Rai, M.K., Qureshi, S., Pandey, A.K.: In vitro susceptibility of opportunistic *Fusarium* spp. to essential oils, *Mycoses* 42: 97–101, 1999
238. Rakovič, A.: Ekstrakcija olja iz semen industrijske konoplje z zgoščenimi plini in konvencionalnimi topili: diplomsko delo visokošolskega strokovnega študijskega programa, Doctoral dissertation, 2012
239. Ramić, M., Vidović, S., Zeković, Z., Vladić, J., Cvejcin, A., Pavlić, B.: Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory, *Ultrasonics Sonochemistry*, 23: 360-368, 2015
240. Ramos, L., Kristenson, E. M., Brinkman, U. A.: Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 975: 3-29, 2002
241. Rašković, P., Miljević, M., Miljević, B.: *Primena sušenja raspršivanjem u farmaceutskoj industriji*, Leskovac, 2010
242. Raynie, D.E., *Anal. Chem.*, 65: 3127, 1993
243. Reverchon, E., De Marco, I.: Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter, *Journal of Supercritical Fluids* 38: 146-166, 2006
244. Reverchon, E., Senatore, F.: Isolation of Rosemary Oil, Comparison between Hydro-distillation and Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction, *Flavour and Fragr. J.*, 7: 227–230, 1992
245. Reverchon, E.: Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Essential Oil and Related Products, *J. Supercrit. Fluids*, 10: 1-37, 1997

246. Rohloff, J., Skagen, E.B., Steen A.H., Iversen T.H: J Agric Food Chem, 48: 6205-9, 2000
247. Roman , I., Stanila, A., Stanila, S.: Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina L.* biotypes from spontaneous flora of Transylvania, Chem Cent J., 7: 73, 2013
248. Romeilah, R.M.: Anticancer and antioxidant activities of *Matricaria chamomilla L.* and *Marjorana hortensis* essential oils, Research Journal of medicine and medical sciences, 2009
249. Rosu, C.M., Manzu, C., Olteanu, Z., Oprica, L., Oprea, A., Ciornea, E., Zamfirache, M.M.: Several fruit characteristics of *Rosa spp.* Genotypes from Northeastern Region of Romania, Not Bot Horti Agrobo, 39: 203–208, 2011
250. Rothe, H., Fautz, R., Gerber, E., Neumann, L., Rettinger, K., Schuh, W., Gronewold, C.: Special aspects of cosmetic spray safety evaluations: Principles on inhalation risk assessment, Toxicol Lett, 205: 97-104, 2011
251. Rothe, H.: Special aspects of cosmetic spray evaluation, Washington D.C., 2011.
252. Roy, K., Pal, D.K., De, AU., Sengupta, C.: Comparative QSAR studies with molecular negentropy, molecular connectivity, STIMS and TAU indices: Part II — General anaesthetic activity of aliphatic hydrocarbons, halocarbons and ethers, NISCAIR-CSIR, India, 2001
253. Rustaiyan, A., Masoudi, S., Ezatpour, L., Danaii, E., Taherkhani, M., Aghajani, Z.: Composition of the Essential Oils of *Anthemis Hyalina DC.*, *Achillea Nobilis L.* and *Cichorium intybus L.* Three Asteraceae Herbs Growing Wild in Iran, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14: 472 – 480, 2011
254. Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Karim, A.A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M.: Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction - A review, Journal of Food Engineering, 95: 240-253, 2009
255. Sahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., Özdemir, F.: Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying, LWT e Food Science and Technology, 52: 31-38, 2013

256. Salgin, U., Doker, O., Calimli, A.: Extraction of sunflower oil with supercritical CO<sub>2</sub>: Experiments and modeling, *J. Supercritical. Fluid*, 38: 326-331, 2006
257. Salvador A., Sanz T., Fiszman S.M.: Rheological properties of batters for coating products – effect of addition of corn flour and salt, *Food Science and Technology International*, 9: 23-27, 2003
258. Sansone, F., Picerno, P., Mencherini, T., Vилlecco, F., D’Ursi, A. M., Aquino, R. P.: Flavonoid microparticles by spray-drying: influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability, *Journal of Food Engineering*, 103: 188-196, 2011
259. Sarić, M.: *Lekovite biljke SR Srbije*, Beograd: SANU, 1989
260. Shanmugam, S.: Granulation techniques and technologies: recent progresses, *Bioimpacts*, 5: 55-63, 2015
261. Shaw, R.W., Brill, T.B., Clifford, A.A., Eckert, C.A., Franck, E.U.: *Chem. Eng. News*, 23-26, 1991
262. Shrestha, A.K., Ua-arak, T., Adhikari, B.R., Howes, T., Bhandari, B.R.: Glass transition behavior of spray dried orange juice powder measured by differential scanning calorimetry (DSC) and thermal mechanical compression test (TMCT), *Int. J. Food Prop.*, 10: 661–673, 2007
263. Shutes, J.: *The Many Faces of Yarrow*, International Journal of Professional Holistic Aromatherapy, USA, 2015
264. Si, X.T., Zhang, M.L., Shi, Q.W., Kiyota, H.: Chemical constituents of the plants in the genus *Achillea*, *Chemistry and Biodiversity*, 3: 1163-1180, 2006
265. Simonović, D.: *Botanički rečnik*, Beograd: SANU, 1959
266. Singleton, V.L., Rossi, J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents, *American journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158, 1965
267. Skala, D., Žižović, I., Gavrančić, S.: Primena natkritične ekstrakcije u prehrambenoj industriji, *Hem. Ind.*, 56: 179-190, 2002
268. Smelcerovic, A., Lamshoeft, M., Radulovic, N., Ilic, D. i Palic, R.: LC/MS analysis of the essential oils of *Achillea millefolium* and *Achillea crithmifolia*. *Chromatographia*, 71: 113-116, 2010

269. Snyder, H.E., Lechuga-Ballesteros, D.: Spray drying: Theory and pharmaceutical applications, In *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1: Unit Operations and Mechanical Properties*; Augsburger, L.L., Hoag, S.W., Eds., Informa Healthcare USA, New York, 227–256, 2008
270. Sovova, H., Zarevucka, M., Vacek, M., Stransky, K.: Solubility of two vegetable oils in supercritical CO<sub>2</sub>, *The Journal of Supercritical Fluids*, 20: 15-28, 2001
271. Špinarova, Š., Petrikova, K.: Variability of the content and quality of some active substances within *Achillea millefolium* complex, *Hort. Sci., Prague*, 30: 7-13, 2003
272. Stauffer, C. E.: *Oxidants, Functional additives for bakery foods* (pp. 1–39). New York: Van Nostrand Reinhold, 1990b
273. Stojanović, G., Radulović, N. Hashimoto, T., Palić, R.: In vitro antimicrobial activity of extracts of four species: the composition of *A. millefolium* L. (*Asteraceae*) extract, *J Ethnopharmacol*, 101: 185-190, 2005
274. Stork, G., Grieco, S., Paul, A., Gregson, M.: Allylic Chlorides from Allylic Alcohols: Geranyl Chloride, *Organic Syntheses*, 54: 63-68, 1974
275. Stralsjo, L., Alkint, C., Olsson, M.E., Sjöholm, I.: Total folate content and retention in rosehips (*Rosa* sp.) after drying, *J. Agric. Food Chem.*, 51: 4291–4295, 2003
276. Szentmihályi, K., Vinkler, P., Lakatos, B., Illes, V., Then, M.: Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods, *Bioresource Technology* 82: 195-201, 2002
277. Szymanski, M., Witkowska-Banaszczak, E., Klak, N., Marciniak, K., Wolowiec, T., Szymanski, A.: Effects of Trace Elements on Polyphenolic Compounds i *Millefolii* Herba, *Pol. J. Environ. Stud.*, 23: 459-466, 2014
278. Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K., Kato, T.: Oral *Microbiol Immunol*, 19:6, 2004
279. Tanaka, Y., Ikuko, S., Ohkubo, T.: Extraction of Phospholipids from Salmon Roe with Supercritical Carbon Dioxide and an Entrainer, *Journal of Oleo Science*, 53: 417-424, 2004
280. Tasić, S., Šavikin - Fodulović, K., Menković, N.: *Vodič kroz lekovito bilje*, Beograd, Aleksandrija, 2009

281. Tebben, L., Shen, Y., Li, Y.: Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends in Food Science and Technology*, 81: 10–24, 2018
282. Tengse, D.D., Priya, B., Kumar, P.A.R.: Optimization for encapsulation of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract by spray drying technology, *J Food Meas Charact*, 11: 85–92, 2017
283. Terada, A., Kitajima, N., Machmudah, S., Tanaka, M., Sasaki, M., Goto, M.: Cold-pressed yuzu oil fractionation using countercurrent supercritical CO<sub>2</sub> extraction column, *Sep. Purif. Technol.*, 71, 107113, 2010
284. Tewa-Tagne, P., Degobert, G., Briancon, S., Bordes, C., Gauvrit, J. Y., Lanteri, P., Fessi, H.: Spray-drying nanocapsules in presence of colloidal silica as drying auxiliary agent: Formulation and process variables optimization using experimental designs. *Pharmaceutical Research*, 24: 650–661, 2007
285. Todd, R.G. editor *Extra Pharmacopoeia Martindale*, Twenty-fifth edition, The Pharmaceutical Press London, 1967
286. Tozyo, T., Yoshimura, Y., Sakurai, K., Uchida, N., Takeda, Y., Nakai, H., Ishii, H.: Novel antitumor sesquiterpenoids in *A.millefolium*, *Chem Pharm Bull*, 42: 1000-1096, 1994
287. Tozzi, R., Mulinacci, N., Storlikken, K., Pasquali, I., Vincieri, F.F., Bettini, R.: Supercritical Extraction of Carotenoids from *Rosa canina* L. Hips and their Formulation with  $\beta$ -Cyclodextrin, *AAPS PharmSciTech*, 9, 2008
288. Tucakov, J.: *Lečenje biljem*, 7<sup>th</sup> edition, Rad, Beograd, 544-545, 1997
289. Tumbas, V.T., Čanadović-Brunet, J.M., Četojević-Simin, D.D., Četković, G.S., Đilas, S.M. i Gille, L.: Effect of rose hip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92: 1273-1281, 2012
290. Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Gargano, M.L., Venturella, G. i La Bella, S.: Plant Genetic Resources and Traditional Knowledge on Medicinal Use of Wild Shrub and Herbaceous Plant Species in the Etna Regional Park (Eastern Sicily, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 155: 1362-1381, 2014

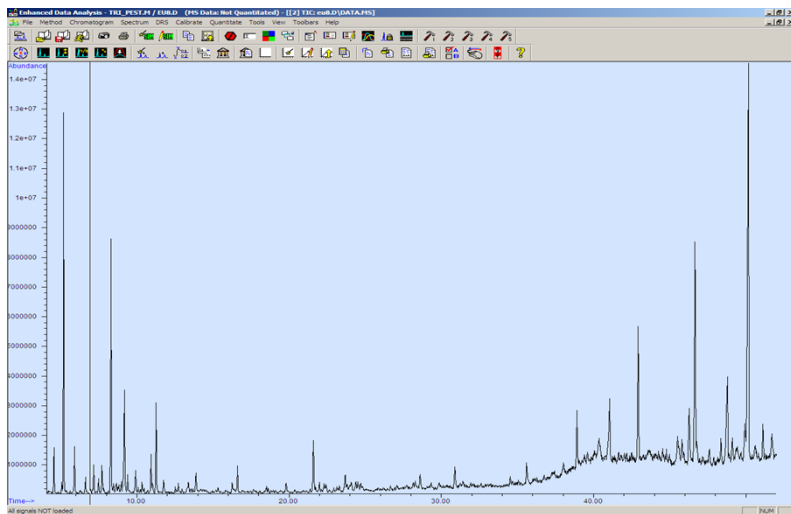
291. Tylor, V.E.: The Honest Herb, Haworth Press, USA, 263, 1993
292. Vagi, E., Simandi, B., Vasarhelyine, K.P., Daood, H., Kery, A., Doleschall, F., Nagy, B.: Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products, *The Journal of Supercritical Fluids*, 40: 218-226, 2007
293. Varagić, V., Milošević, M.: Farmakologija, Beograd: Elit – Medicina, 2001
294. Vidović, S., Cvetkovic, D., Ramić, M., Dunjić, M., Malbaša, R., Tepić, A., Šumić, Z., Velićanski, A., Jokić, S.: Screening of changes in content of health benefit compounds, antioxidant activity and microbiological status of medicinal plants during the production of herbal filter tea, *Industrial Crops and Products*, 50: 338-345, 2013
295. Vladić, J.: Savremene metode ekstrakcije rtanjskog čaja (*Satureja montana* L.), hemijski sastav i biološka aktivnost dobijenih ekstrakata, Doktorska disertacija, Novi Sad, 2017
296. Von Oettingen, W.F.: The toxicity and potential dangers of aliphatic and aromatic hydrocarbons, *Yale Journal of Biology and Medicine*, 167-184, 1942
297. Vukićević, E., Rosa, L.: in *Flora Srbije IV*, ed. M. Josifović, SANU, Beograd, 29-62, 1972
298. Vukićević, E.: Rod *Rosa* L. u: Josifović, M. *Flora SR Srbije*, tom IV, Beograd, SANU, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, 1975
299. Wang, L., Weller, C.L.: Recente advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science&Technology*, 17: 300-312, 2006
300. Wellburn, A.R.: The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, *J. Plant Physiol.*, 144: 307–313, 1994
301. Wenzig, E.M., Widowitz, U., Kunert, O., Churbasik, S., Bucar, F., Knauder, E.: Phytochemical composition and in vivo pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations, *Phytomedicine*, 15: 826-835, 2008
302. Wichtl, M.: *Teedrogen und Phytopharmaca*, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., 2002



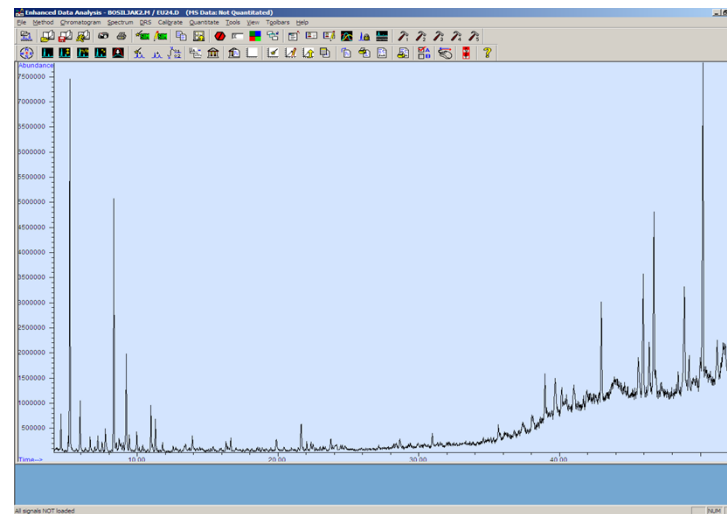
303. Winther, K., Vinther Hansen, A.S., Campbell-Tofte, J.: Bioactive ingredients of rose hips (*Rosa canina* L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies, *Botanics: Targets and Therapy*, 6: 11-23, 2015
304. Witchl, M.: Herb drugs and phytopharmaceuticals, CRC Press, 1994
305. World Health Organization, Quality control methods for herbal materials, Geneva, 2011
306. Wray-Cahen, D., Fernandez-Figarez, I., Steel, C. N., Caperna, J.T.: Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 137: 131-140, 2004
307. Wren, R.C.: *Potter's New Cyclopedia of Botanical Drugs and Preparations*, revised by Wiliamson EW and Evans FJ, Saffron Walden: CW Daniel, 1988
308. Wrzeciono, U., Zapruto, L.: *Chemia związkow naturalnych*. Akademia medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznan, 2001
309. Wu, S., Brzozowski, K.J.: Surface free energy and polarity of organic pigments, *Journal of Colloid and Interface Science*, 37:686-690, 1971
310. Wu, S.: *J. Polym. Sci., Part C*, 34, 19, 1971
311. Xu, L., Zhan, X., Zeng, Z., Chen, R., Li, H., Xie, T. i Wang, S.: Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5: 1196-1211, 2011
312. Yaesh, S., Jamal, Q., Khan, A.U. i Gilani, A.H.: Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *A.millefolium*, *Phytother Res*, 20: 546-551, 2006
313. Yilmaz SO, Ercisli S.: Antibacterial and antioxidant activity of fruits of some rose species from Turkey. *Rom Biotech Lett.*, 16: 6407–6411, 2011
314. Yoo, K.M., Lee, C.H., Lee, H., Moon, B. and Lee, C.Y.: Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs, *Food Chem.*, 106: 929–936, 2008
315. Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.A.N., Mohd Omar, A.K., Sato, Y. and Smith, Jr.R.L.: Separation of palm kernel oil from palm kernel with supercritical carbon dioxide using pressure swing technique, *Journal of Food Engineering*, 81: 419-428, 2007a

316. Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N.A., Mohd Omar, A.K. and Smith, Jr.R.L.: Blending of supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extracted palm kernel oil fractions and palm oil to obtain cocoa butter replacers. *Journal of Food Engineering*, 78: 1397-1409, 2007c
317. Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N.A., Mohd Omar, A.K. and Smith, Jr.R.L.: Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction of palm kernel oil from palm kernel, *Journal of Food Engineering*, 79: 1007-1014, 2007b
318. Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N.A., Mohd Omar, A.K. and Smith, Jr.R.L.: Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction and fractionation of palm kernel oil from palm kernel as cocoa butter replacers blend. *Journal of Food Engineering*, 73: 210–216, 2006b
319. Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N.A., Mohd Omar, A.K.: Separation/fractionation of triglycerides in terms of fatty acid constituents in palm kernel oil using supercritical CO<sub>2</sub>, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 1138-1145, 2006a
320. Zeković Z., Lepojević T., Tolić A.: Modeling of Thyme-Supercritical Carbon Dioxide Extraction System. II The influence of Extraction Time and Carbon Dioxide Pressure, *Sep. Sci. Technol*, 38: 541-552, 2003
321. Zhang, G.Q., Huang, X.D., Wang, H., Leung, A.K.N., Chan, C.L., Fong, D.W.F. i Yub, Z.L.: Anti-inflammatory and analgesic effects of the ethanol extract of *Rosa multiflora* Thunb. *Hips. J. Ethnopharmacol*, 118: 290-294, 2008
322. Ziegler, S.J., Meier, B., O. Sticher: *Planta Medica*, 383, 1986
323. Živković, J., Stojković, D., Petrović, J., Zdunić, G., Glamočlija, J i Soković, M.: *Rosa canina* L. – new possibilities for an old medicinal herb, *Food & Function*, 6: 3687, 2015
324. Zlatanov, M.: Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1620-1624, 19

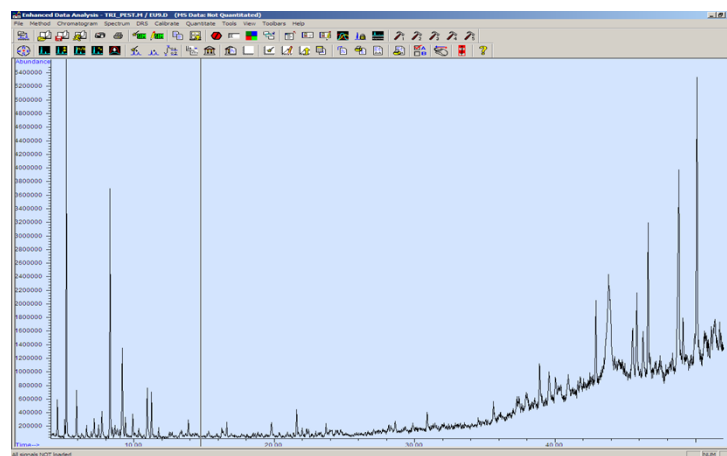
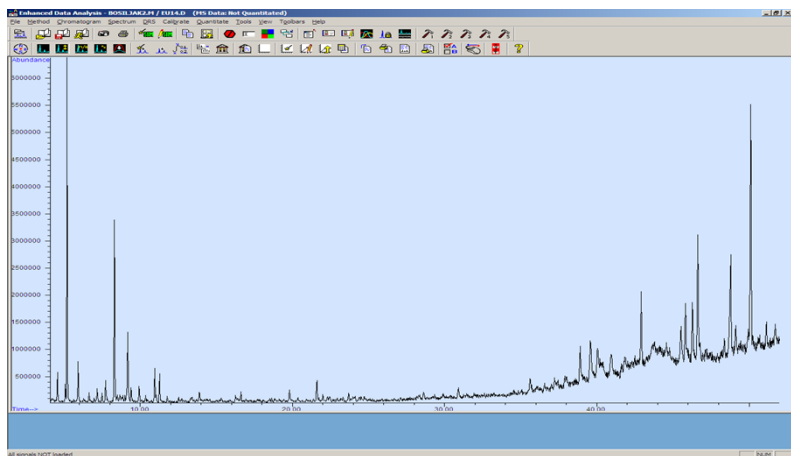
## 7. PRILOZI



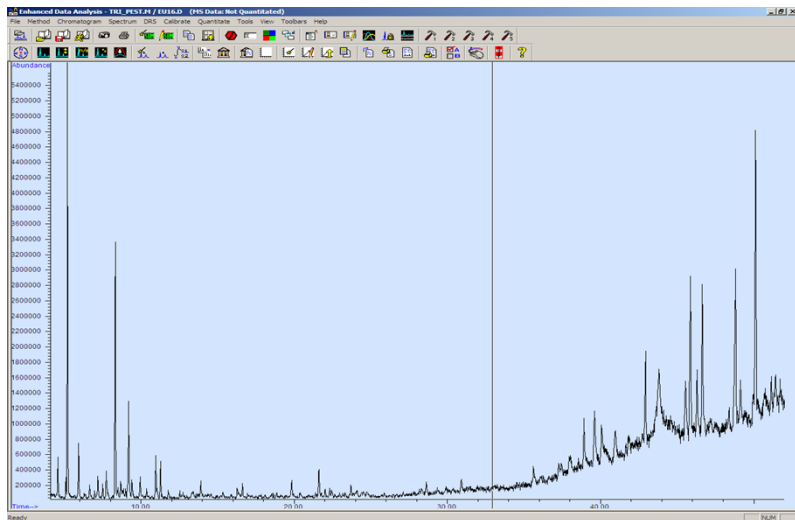
Slika P1. R14052077- EKSTRAKT 20% Š, 100 BAR, 40C



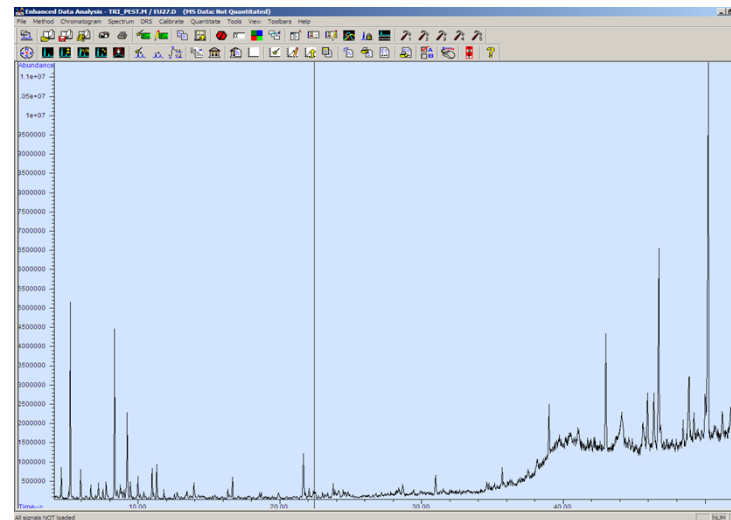
Slika P2. R14052078- EKSTRAKT 20% Š, 200 BAR, 40C



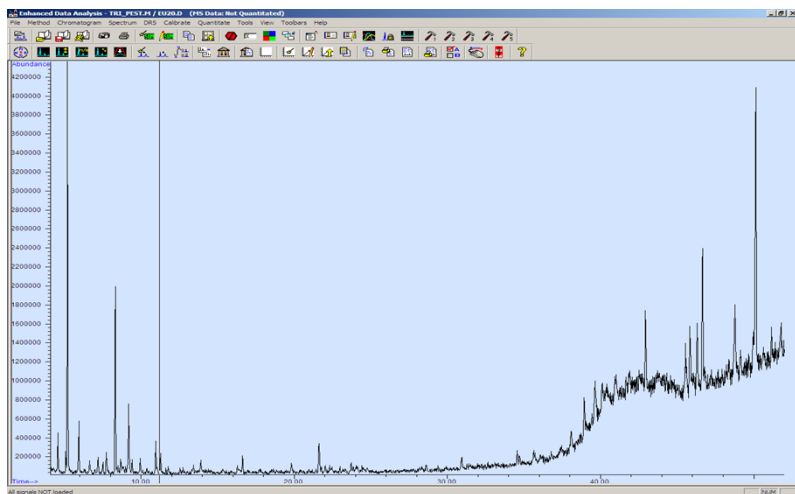
Slika P3. R14052079-EKSTRAKT 20% Š, 300 BAR, 40C



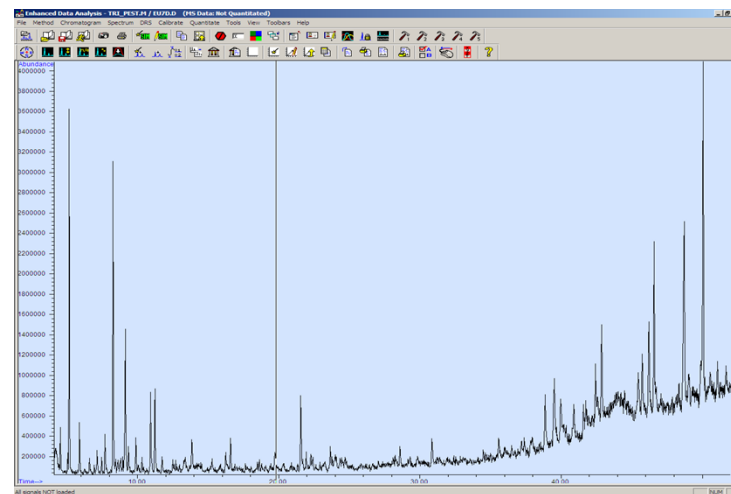
Slika P4. R14052080-EKSTRAKT 20% Š, 200 BAR, 60C



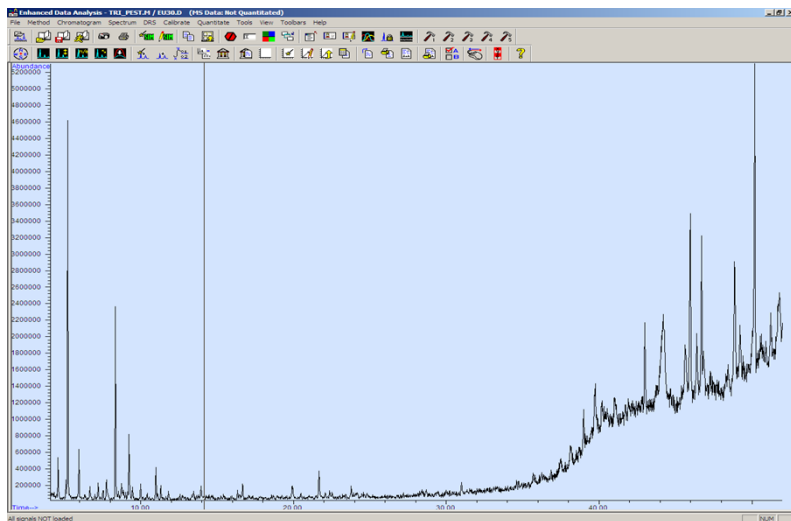
Slika P5. R14052081-EKSTRAKT 20% Š, 300 BAR, 60C



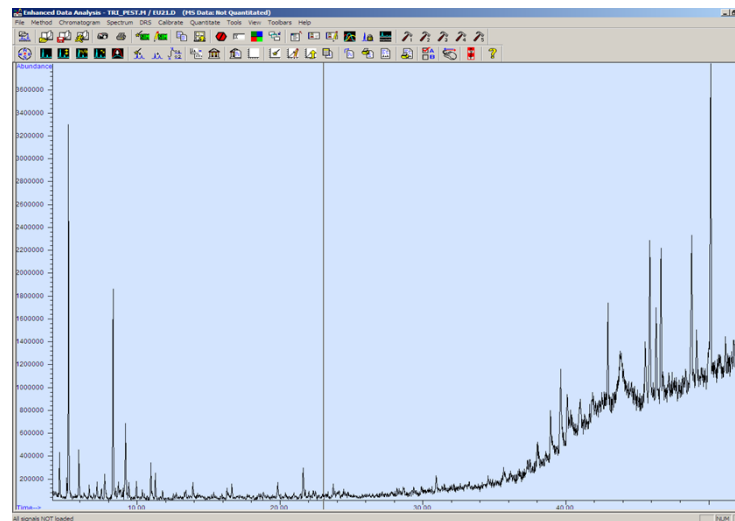
Slika P6. R14052082-EKSTRAKT 40% Š, 100 BAR, 40C



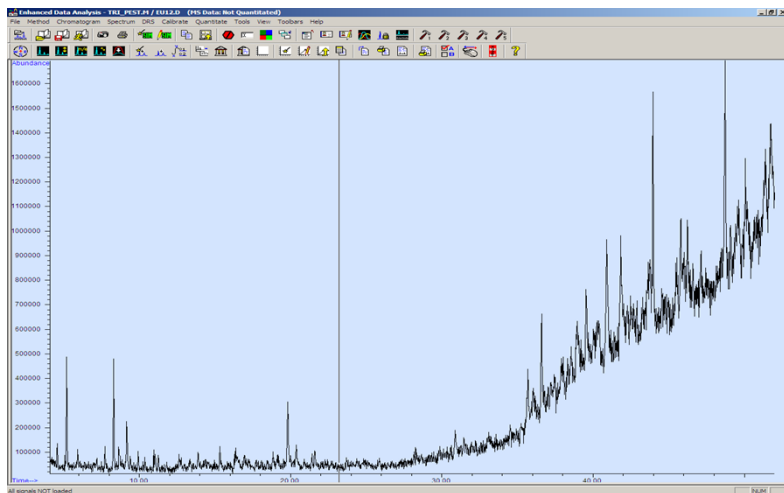
Slika P7. R14052083-EKSTRAKT 40% Š, 200 BAR, 40C



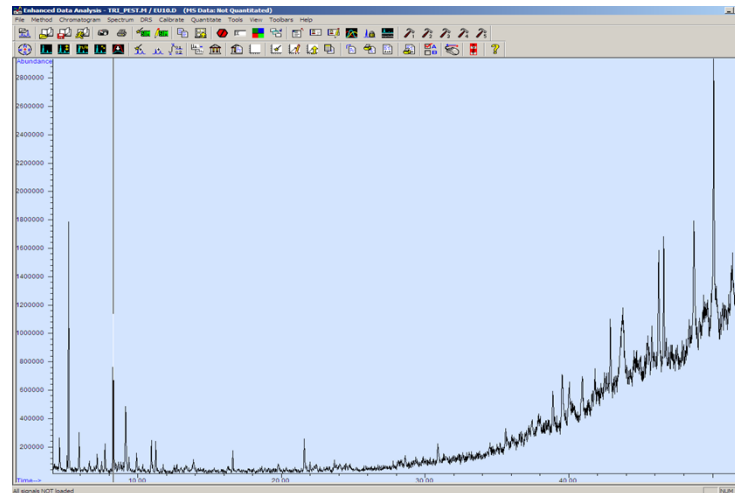
Slika P8. R14052084- EKSTRAKT 40% Š, 300 BAR, 40C



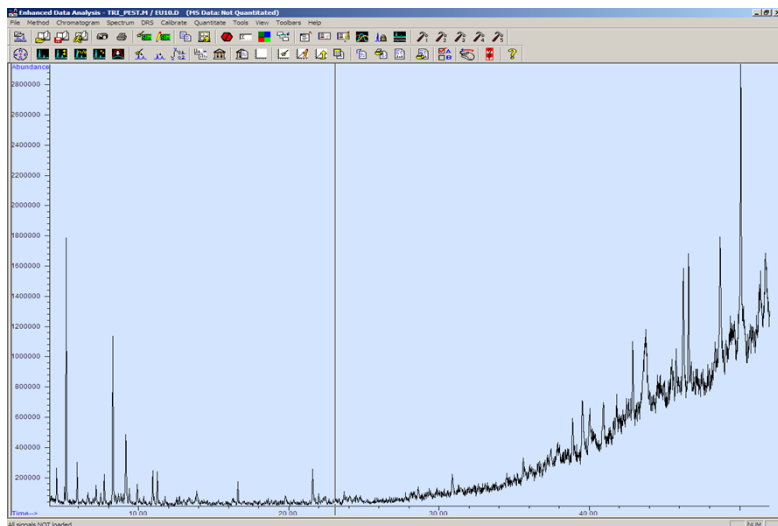
Slika P9. R14052085- EKSTRAKT 40% Š, 200 BAR, 60C



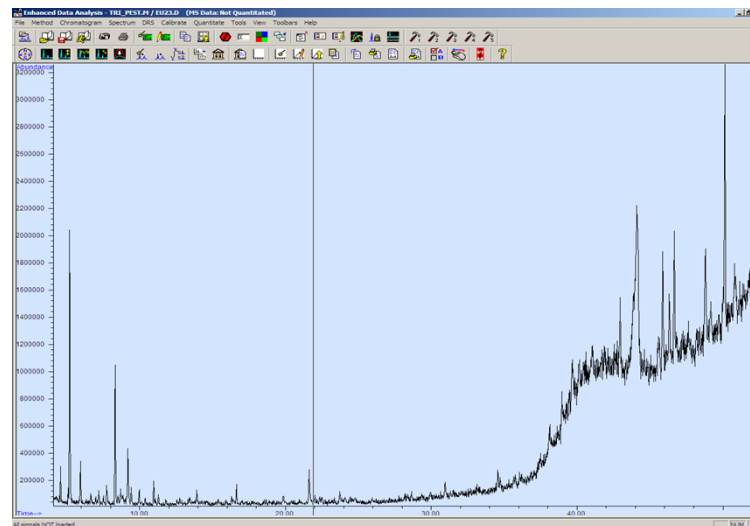
Slika P10. R14052086- EKSTRAKT 40% Š, 300 BAR, 60C



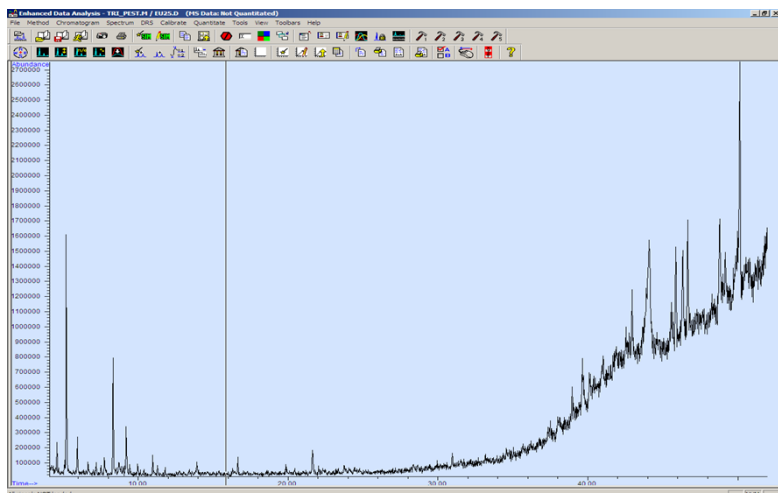
Slika P11. R14052087- EKSTRAKT 60% Š, 100 BAR, 40C



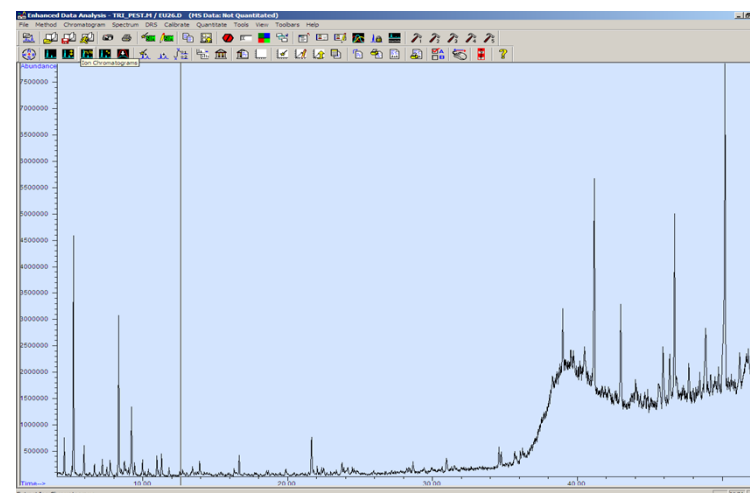
Slika P12. R14052088- EKSTRAKT 60% Š, 200 BAR, 40



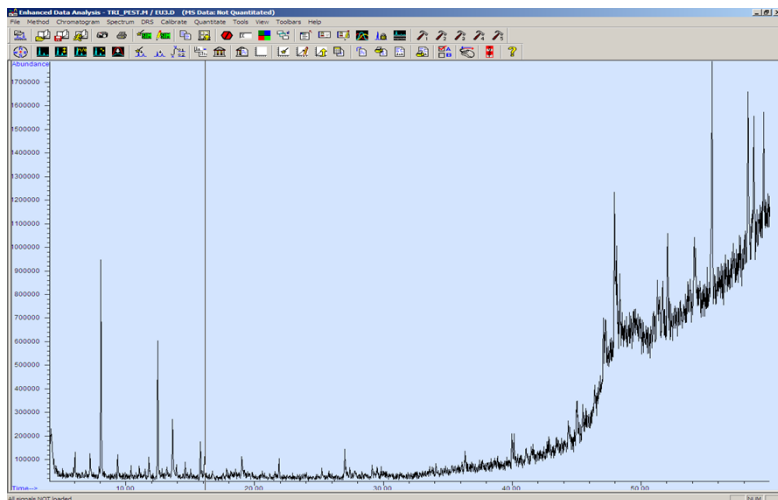
Slika P13. R14052089- EKSTRAKT 60% Š, 300 BAR, 40C



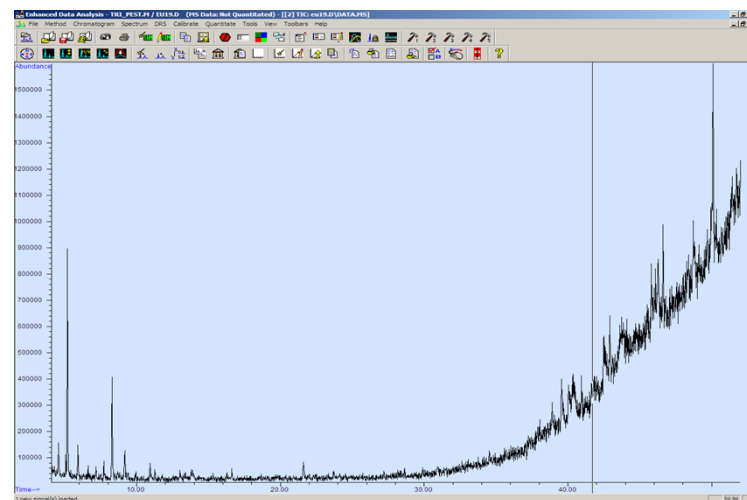
Slika P14. R14052090- EKSTRAKT 60% Š, 200 BAR, 60C



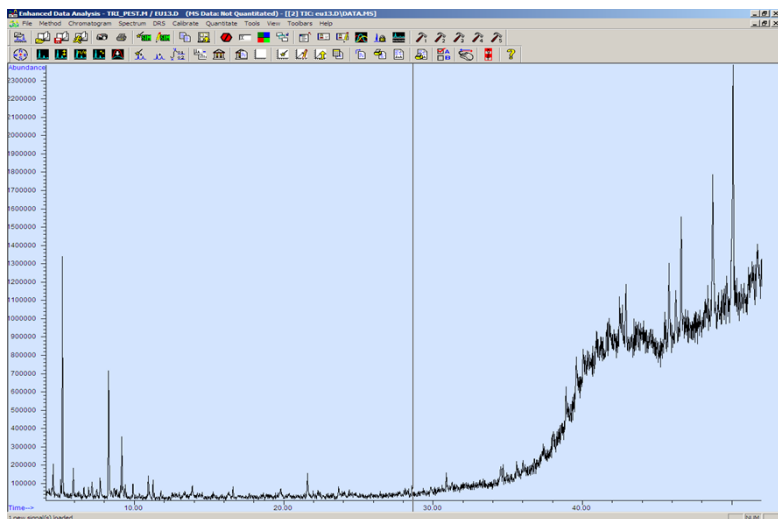
Slika P15. R14052091- EKSTRAKT 60% Š, 300 BAR, 60C



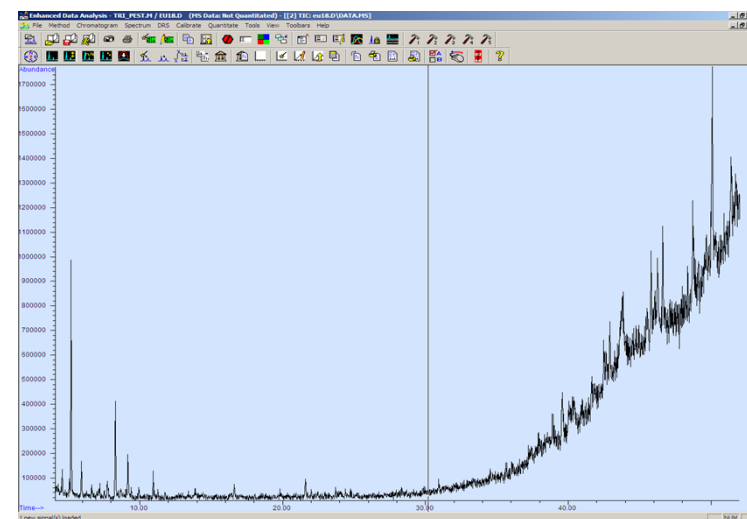
Slika P16. R14052092- EKSTRAKT 80% Š, 100 BAR, 40C



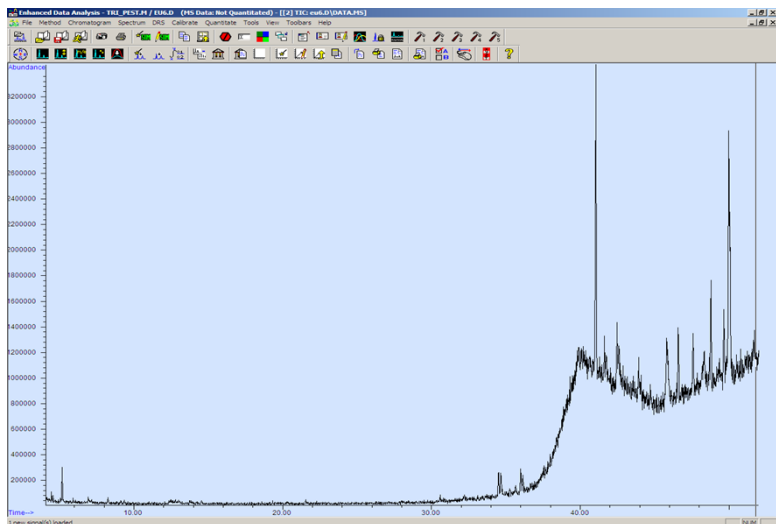
Slika P17. R14052093- EKSTRAKT 80% Š, 200 BAR, 40C



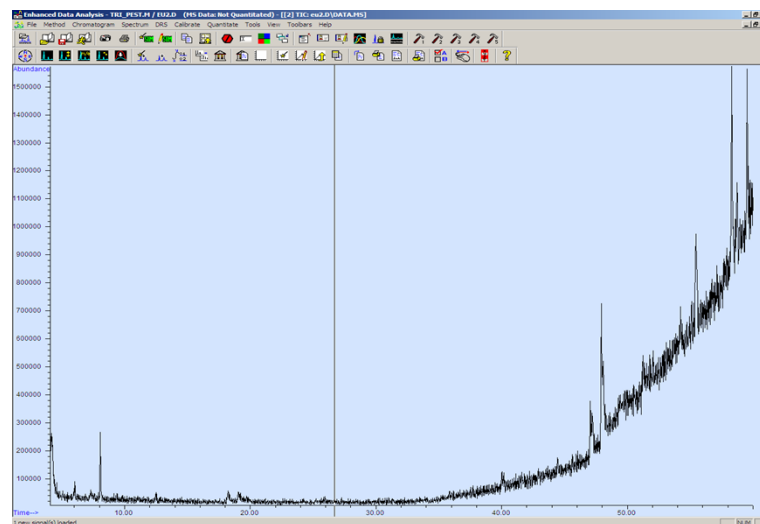
Slika P18. R14052094- EKSTRAKT 80% Š, 300 BAR, 40C



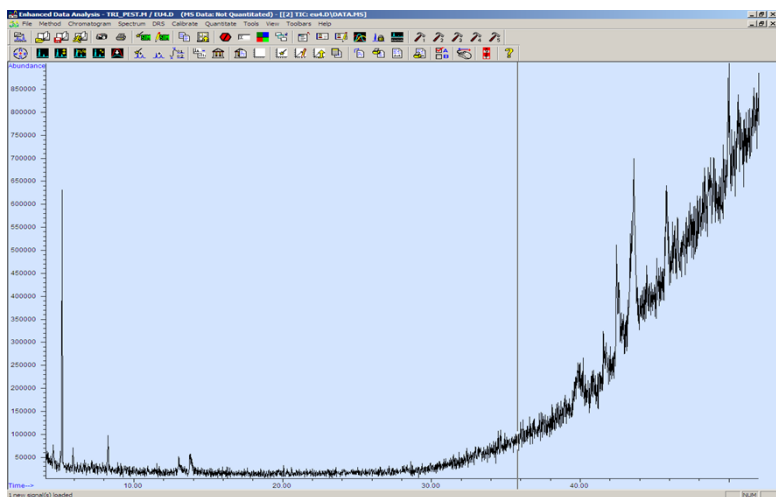
Slika P19. R14052095- EKSTRAKT 80% Š, 200 BAR, 60C



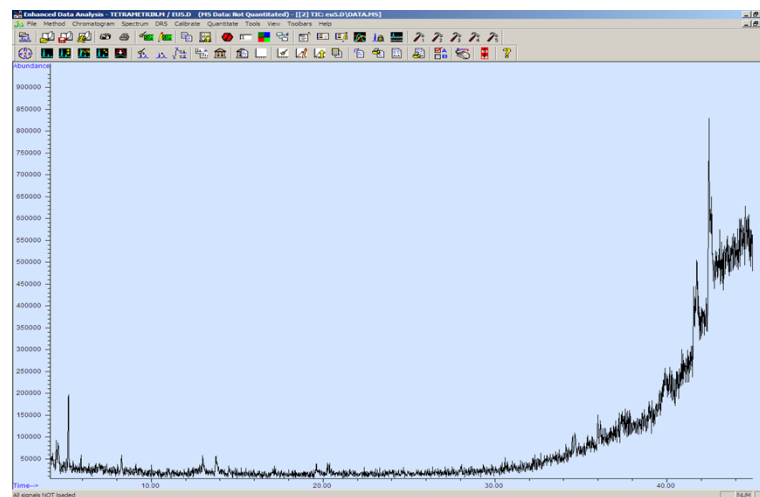
Slika P20. R14052096- EKSTRAKT 80% Š, 300 BAR, 60C



Slika P21. R14052097- EKSTRAKT 100% Š, 100 BAR, 40C

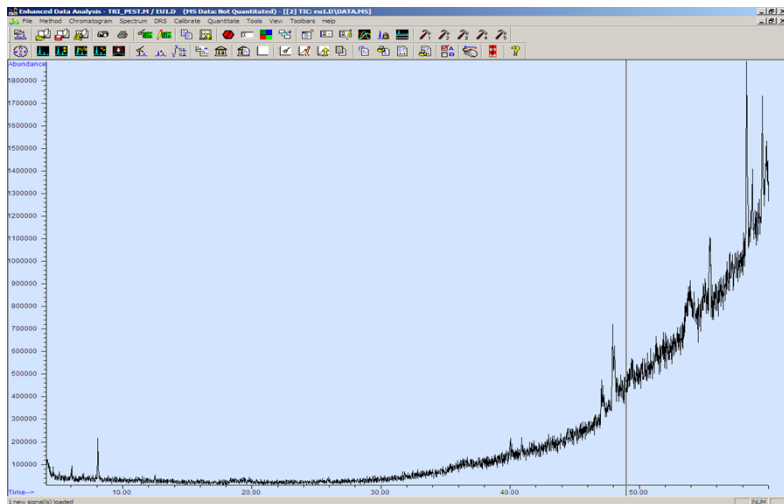


Slika P22. R14052098- EKSTRAKT 100% Š, 200 BAR, 40C

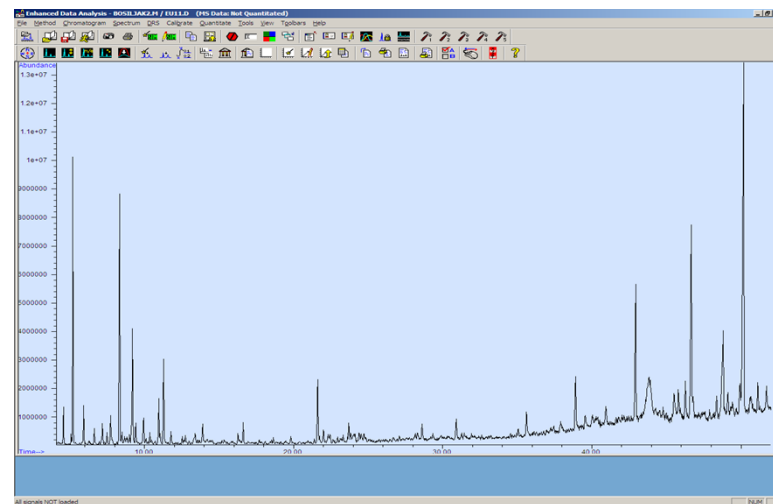




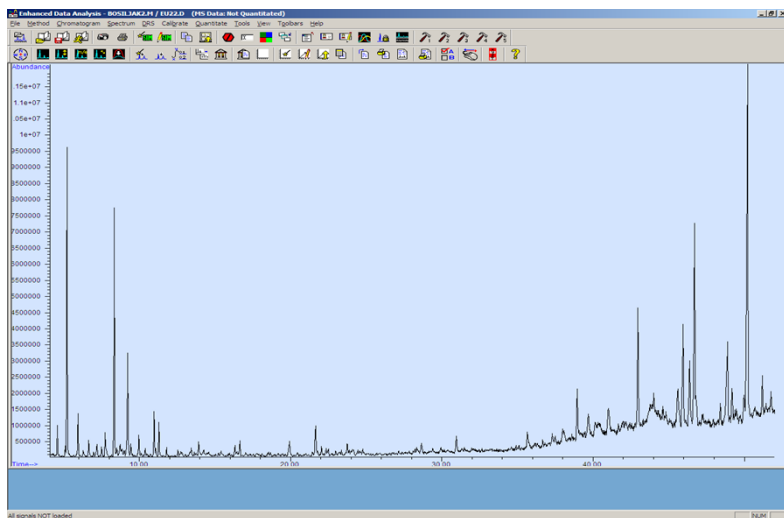
Slika P23. R14052099- EKSTRAKT 100% Š, 300 BAR, 40C



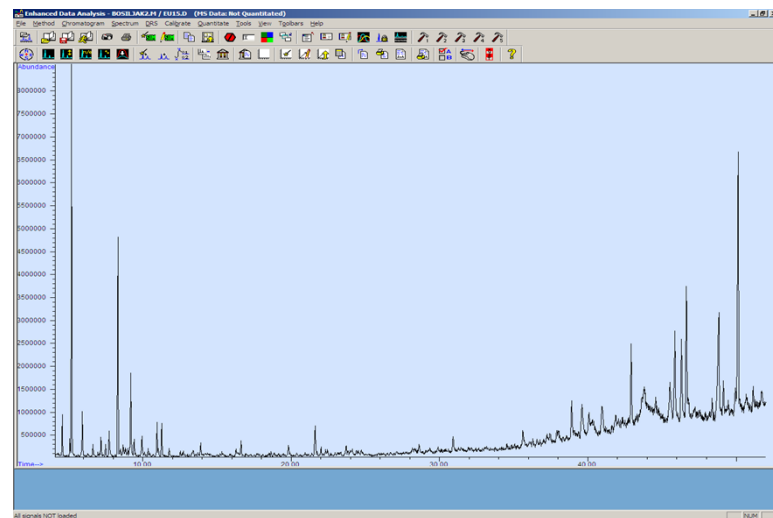
Slika P24. R14052100- EKSTRAKT 100% Š, 200 BAR, 60C



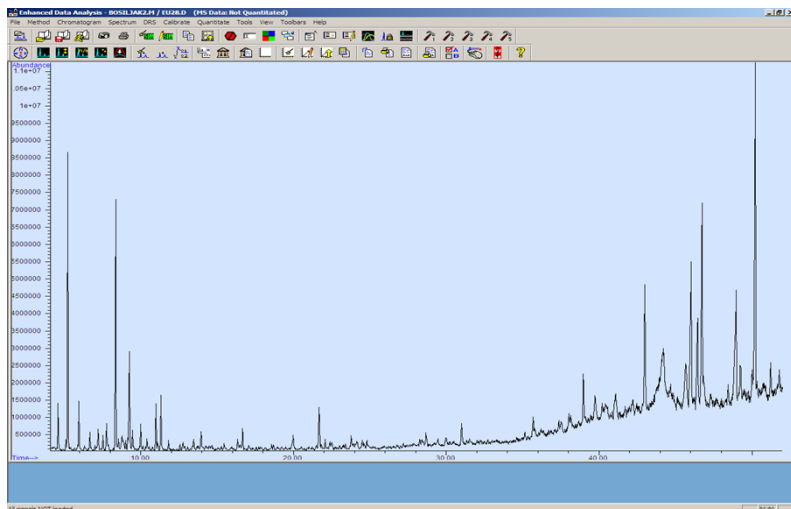
Slika P25. R14052101- EKSTRAKT 100% Š, 300 BAR, 60C



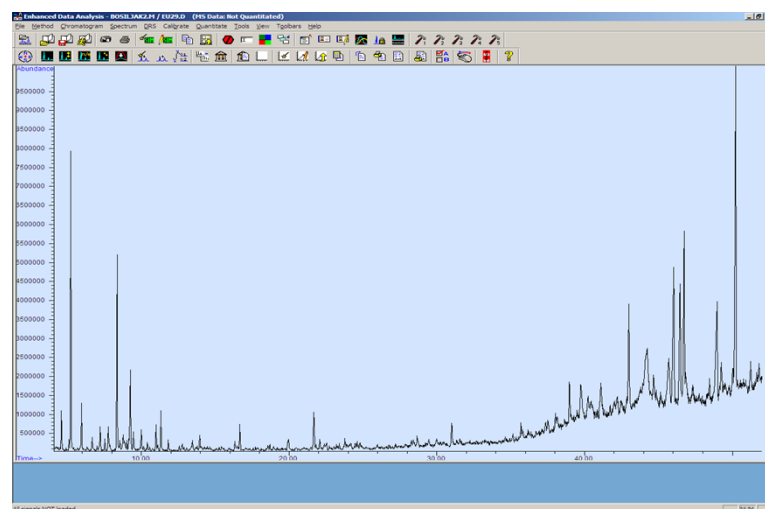
Slika P26. R14052102- EKSTRAKT 100% HT, 100 BAR, 40C



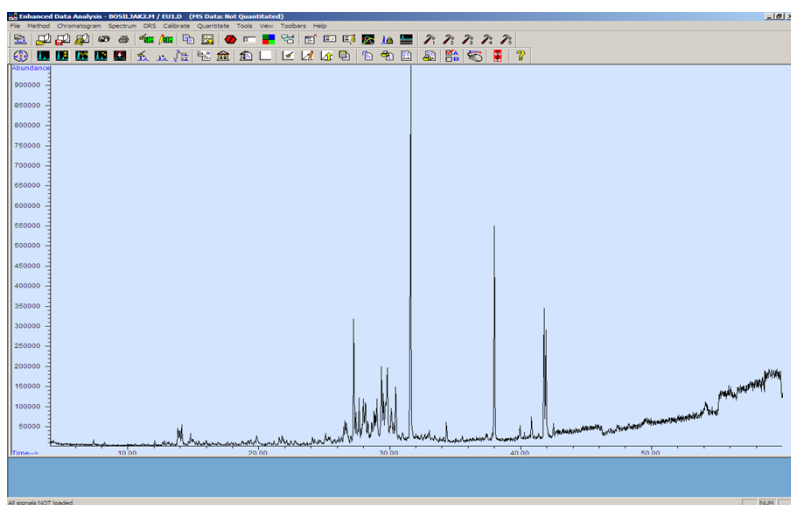
Slika P27. R14052103-EKSTRAKT 100% HT, 200 BAR, 40C



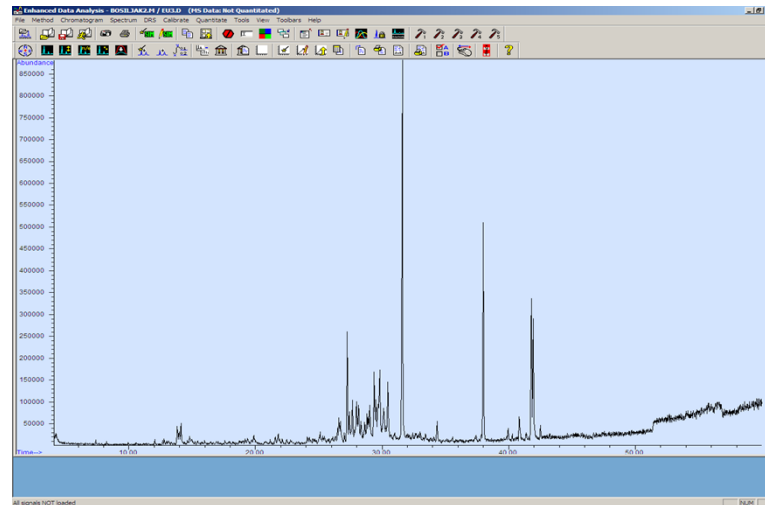
Slika P28. R14052104-EKSTRAKT 100% HT, 300 BAR, 40C



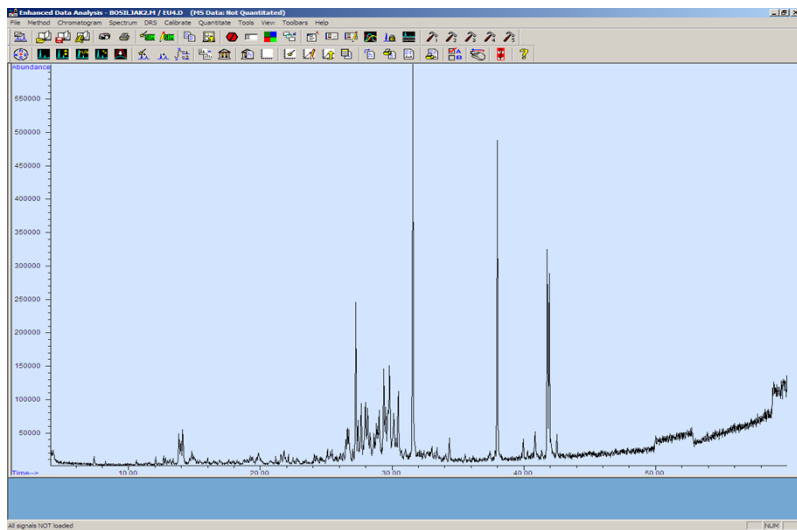
Slika P29. R14052105-EKSTRAKT 100% HT, 200 BAR, 60C



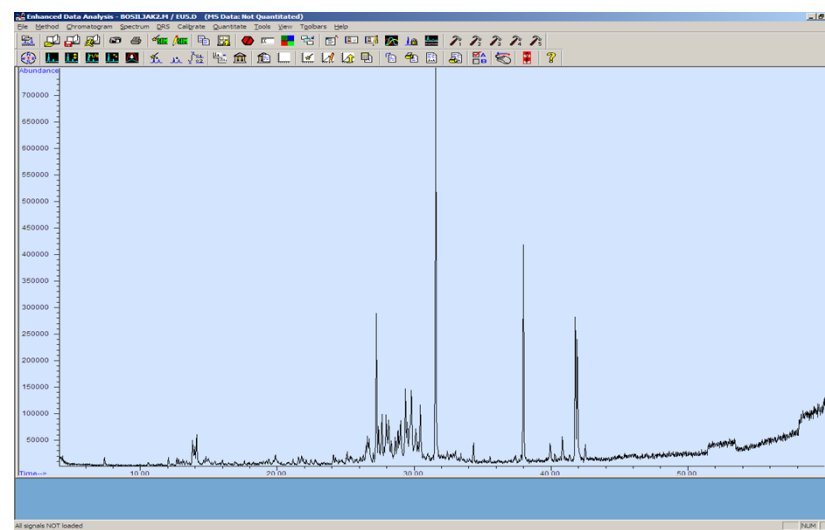
Slika P30. R14052106-EKSTRAKT 100% HT, 300 BAR, 60C



Slika P31. R14052107-ETARSKO ULJE HAJDUČKE TRAVE (5% MD)



Slika P32. R14052108-ETARSKO ULJE HAJDUČKE TRAVE (10% MD)



Slika P33. R14052109-ETARSKO ULJE HAJDUČKE TRAVE (BEZ MD)

Slika P34. R14052110-ETARSKO ULJE HAJDUČKE TRAVE (uparen bez MD)

**Tabela P35.** Udeo komponenata u superkritičnom ekstraktu (%) dobijenom pri pritisku od 100 bar i temperaturi 40 °C

| Udeo komponenata u ekstraktu (%)   |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
|------------------------------------|----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|------------|--------|
| T 40°C                             | 100bar   |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Naziv komponente                   | 0% Sipak | RT     | 20% Sipak | RT     | 40% Sipak | RT     | 60% Sipak | RT     | 80% Sipak | RT     | 100% Sipak | RT     |
| Eicosane                           | 15,20    | 12,488 | 16,99     | 12,461 | 15,78     | 12,514 |           |        |           |        | 8,05       | 12,381 |
| Pentadecane                        |          |        |           |        |           |        | 16,66     | 12,488 |           |        |            |        |
| Hexadecane                         |          |        |           |        |           |        |           |        | 11,68     | 12,408 |            |        |
| 3-(Cyclopentylmethyl)-1,2-octadien |          |        | 0,19      | 12,968 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 1,2-epoxy-hexadecane               | 0,14     | 12,781 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol         |          |        |           |        | 0,12      | 12,808 |           |        |           |        |            |        |
| 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane   | 0,92     | 13,128 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 14B-PREGNANE                       | 0,60     | 13,234 | 0,39      | 13,101 | 0,48      | 13,128 |           |        |           |        |            |        |
| Eicosane                           |          |        |           |        |           |        | 0,49      | 13,128 |           |        |            |        |
| 7,11-Hexadecadienal                |          |        |           |        |           |        | 0,22      | 13,261 |           |        |            |        |
| Tetradecane                        | 1,84     | 13,394 | 2,02      | 13,368 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Octadecane                         |          |        |           |        | 1,74      | 13,395 | 2,02      | 13,394 | 4,06      | 13,341 | 4,26       | 13,341 |
| Neryl acetate                      | 1,69     | 13,634 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Myrtanyl acetate                   |          |        |           |        |           |        | 1,39      | 13,661 |           |        |            |        |
| 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene   |          |        |           |        | 2,09      | 13,768 | 2,28      | 13,741 | 3,41      | 13,688 | 3,75       | 13,688 |
| 2,6,10-Dodecatrien-1-ol            | 2,04     | 13,741 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Cyclooctacosane ili 1-Eicosanol    |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 2,66       | 14,141 |
| 13-Methyl-Z-14-nonacosene          |          |        |           |        |           |        |           |        | 2,33      | 14,168 |            |        |
| Docosane ili                       | 22,90    | 14,594 | 29,63     | 14,568 |           |        |           |        |           |        |            |        |

|                                  |       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |
|----------------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Heneicosane ili                  | 22,90 | 14,594 | 29,63 | 14,568 |       |        |       |        |       |        |       |        |
| Heptadecane                      |       |        |       |        |       |        | 25,46 | 14,541 | 26,20 | 14,435 |       |        |
| Eicosane                         |       |        |       |        | 25,70 | 14,595 |       |        |       |        | 24,76 | 14,434 |
| Eicosane                         | 0,36  | 14,834 | 0,34  | 14,808 |       |        | 0,30  | 15,341 |       |        |       |        |
| Ethanol                          | 2,77  | 15,181 | 2,50  | 15,128 | 2,58  | 15,181 |       |        |       |        |       |        |
| 14B-PREGNANE                     | 0,36  | 15,341 | 0,31  | 15,315 | 0,29  | 15,341 |       |        |       |        |       |        |
| Octadecane                       |       |        |       |        |       |        | 2,20  | 15,715 | 2,23  | 15,608 | 2,17  | 15,608 |
| Triacontane                      | 2,05  | 15,688 | 2,31  | 15,661 | 2,15  | 15,715 |       |        |       |        |       |        |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol       |       |        |       |        | 0,16  | 15,901 |       |        |       |        |       |        |
| 1,19-Eicosadiene                 | 0,95  | 16,301 | 1,04  | 16,275 | 1,07  | 16,328 | 0,65  | 16,328 |       |        | 0,76  | 16,195 |
| Eicosane – Octadecane            | 0,46  | 16,568 |       |        |       |        |       |        | 0,27  | 16,115 | 0,31  | 16,115 |
| <b>Gamma Tocopherol</b>          |       |        |       |        |       |        | 1,09  | 16,648 | 1,93  | 16,515 | 1,59  | 16,488 |
| Solanesol                        | 1,22  | 16,701 | 1,76  | 16,675 | 1,80  | 16,728 | 1,11  | 16,728 |       |        |       |        |
| 1-Heneicosyl formate             |       |        |       |        |       |        |       |        | 1,49  | 16,755 |       |        |
| Heptacosyl acetate – 1-Eicosanol |       |        |       |        |       |        | 0,55  | 16,861 |       |        |       |        |
| Allyl Cyclohexyl carbonate       | 0,14  | 16,968 |       |        |       |        |       |        |       |        |       |        |
| 2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol |       |        |       |        |       |        | 0,17  | 16,995 |       |        |       |        |
| n-Pentacos-3-ene – Hexadecane    | 12,43 | 17,315 | 13,08 | 17,235 |       |        | 10,47 | 17,261 |       |        |       |        |
| Docosane                         |       |        |       |        | 12,06 | 17,315 |       |        | 10,21 | 17,128 | 12,95 | 17,128 |
| 1-Bromo-Octadecane               |       |        |       |        |       |        |       |        | 0,46  | 17,341 |       |        |
| Octadecane                       | 0,17  | 17,688 |       |        |       |        | 0,21  | 17,448 | 0,42  | 17,555 | 0,49  | 17,341 |
| 13-Tetradecen-1-ol acetate       |       |        | 0,34  | 17,555 |       |        |       |        |       |        |       |        |
| 9,12-Octadecadienoic acid        |       |        |       |        |       |        | 0,38  | 17,608 |       |        |       |        |
| Eicosane                         | 0,23  | 17,768 | 0,45  | 17,661 |       |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Alpha Tocopherol</b>          | 0,68  | 17,981 | 0,97  | 17,928 | 0,91  | 18,008 | 1,38  | 18,008 | 1,32  | 17,848 |       |        |

|   |      |        |      |        |      |        |      |        |      |        |      |        |
|---|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|
| Cyclopentane                              | 1,29 | 18,301 |      |        |      |        |      |        |      |        |      |        |
| 22-Tricosenoic acid                       |      |        | 1,24 | 18,248 |      |        |      |        |      |        |      |        |
| 1-Triacontanol                            |      |        |      |        | 1,20 | 18,328 |      |        |      |        |      |        |
| Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol                |      |        |      |        |      |        | 1,23 | 18,328 |      |        |      |        |
| Octadecane                                |      |        |      |        |      |        |      |        | 0,30 | 18,461 | 0,21 | 18,435 |
| 14B-PREGNANE                              | 0,38 | 18,568 | 0,41 | 18,515 | 0,57 | 18,595 |      |        |      |        |      |        |
| Eicosane                                  |      |        |      |        |      |        | 0,61 | 18,595 | 0,70 | 18,861 | 0,64 | 18,835 |
| Nonadecane                                | 1,08 | 18,941 | 0,85 | 18,915 |      |        | 1,3  | 18,968 |      |        |      |        |
| <b>Campesterol</b>                        | 0,50 | 19,768 | 0,38 | 19,715 | 0,41 | 19,822 | 0,48 | 19,795 | 0,58 | 19,608 |      |        |
| 1,19-Eicosadiene                          | 1,19 | 19,955 | 1,13 | 19,875 | 1,31 | 19,982 | 0,79 | 19,955 | 0,56 | 19,795 |      |        |
| <b>Stigmasterol</b>                       | 1,22 | 20,461 | 0,97 | 20,381 | 1,05 | 20,515 | 1,12 | 20,488 | 0,74 | 20,275 | 0,45 | 20,248 |
| Ergost-25-ene-3,5,6,12-tetrol             | 0,55 | 20,995 |      |        |      |        |      |        |      |        |      |        |
| Octadecane                                | 1,11 | 21,182 | 0,77 | 21,102 | 0,93 | 21,235 | 0,72 | 21,182 | 0,59 | 20,995 | 0,85 | 20,995 |
| <b>Gamma-Sitosterol</b>                   | 4,11 | 21,875 | 2,93 | 21,742 | 4,63 | 21,928 | 5,58 | 21,875 | 7,64 | 21,662 | 8,95 | 21,662 |
| 1-octadecanol                             | 1,67 | 22,382 |      |        | 0,98 | 22,355 | 0,97 | 22,328 |      |        |      |        |
| Beta-Amyrin                               | 4,58 | 22,702 | 2,60 | 22,542 | 3,61 | 22,728 | 3,27 | 22,675 | 1,87 | 22,435 |      |        |
| 3-KETO-URS-12-ENE                         | 1,70 | 23,155 | 1,02 | 23,048 | 1,28 | 23,209 |      |        |      |        |      |        |
| Eicosane                                  | 0,85 | 23,475 | 0,40 | 23,342 | 0,50 | 23,502 | 0,55 | 23,448 | 0,28 | 23,235 | 0,38 | 22,968 |
| 9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol               |      |        |      |        |      |        |      |        |      |        | 1,67 | 23,448 |
| Oleane-12-ene,3-methoxy-Benzonaphthofuran |      |        |      |        |      |        |      |        | 2,39 | 23,555 |      |        |
| Alpha-Amyrin                              | 4,65 | 23,875 | 2,40 | 23,715 | 3,51 | 23,902 | 3,30 | 23,822 |      |        |      |        |

**Tabela P36.** Udeo komponenata u superkritičnom ekstraktu (%) dobijenom pri pritisku od 200 bar i temperaturi 40 °C

| Udeo komponenata u ekstraktu (%)   |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
|--|----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|------------|--------|
| T 40°C   | 200bar   |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Naziv komponente   | 0% Sipak | RT     | 20% Sipak | RT     | 40% Sipak | RT     | 60% Sipak | RT     | 80% Sipak | RT     | 100% Sipak | RT     |
| Docosane   | 14,37    | 12,488 |           |        | 9,49      | 12,434 | 8,73      | 12,434 |           |        |            |        |
| Eicosane   |          |        | 16,20     | 12,434 |           |        |           |        | 9,03      | 12,381 |            |        |
| 1,2-epoxy-hexadecane   | 0,14     | 12,781 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| E-2-Methyl-3-tetradecen-1-ol-acetate                                     |          |        | 0,13      | 12,754 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 9-Cyclohexylnonadecane   | 0,21     | 12,994 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Nonadecane   | 0,54     | 13,128 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 14B-PREGNANE   | 0,21     | 13,234 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 11,13-Dimethyl-12-tetradecen-1-ol  |          |        |           |        |           |        | 5,66      | 13,261 |           |        |            |        |
| Eicosane – Octadecane  | 1,43     | 13,394 | 1,67      | 13,341 | 1,94      | 13,368 | 3,04      | 13,368 | 2,89      | 13,341 | 2,80       | 13,314 |
| Myrtanyl acetate   | 1,08     | 13,634 | 1,35      | 13,608 | 1,61      | 13,634 |           |        |           |        |            |        |
| 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene   |          |        |           |        |           |        |           |        | 2,81      | 13,688 | 2,66       | 13,661 |
| Tetracosanal   |          |        | 1,54      | 13,741 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 3-Methyl-2-(1',1',5'-trimethyl-5'-hexenyl)-2-cyclopropenyl methyl ketone |          |        |           |        |           |        | 6,74      | 13,741 |           |        |            |        |
| 5-Alpha-Cholestan-3-Beta-Ol  |          |        |           |        | 3,74      | 13,768 |           |        |           |        |            |        |
| 1,19-Eicosadiene   | 1,46     | 13,794 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 9,12-Octadecadienoic acid  |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 0,15       | 13,848 |

|                            |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
|----------------------------|-------|--------|-------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 6,11-Hexadecadien-1-ol     |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 0,28  | 13,981 |
| Eicosane                   |       |        | 1,80  | 14,008 | 1,8  | 14,061 |       |        |       |        |       |        |
| 9-Tricosene                |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 2,10  | 14,141 |
| 14B-PREGNANE               |       |        |       |        |      |        |       |        | 1,66  | 14,168 |       |        |
| 13-Methyl-Z-14-nonacosene  |       |        |       |        |      |        | 0,71  | 14,194 |       |        |       |        |
| Hexadecyl trichloroacetate |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 0,80  | 14,221 |
| Tetradecane                |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 14,99 | 14,354 |
| Nonacosane                 |       |        |       |        |      |        |       |        | 16,87 | 14,408 |       |        |
| Eicosane                   | 22,23 | 14,568 | 25,36 | 14,488 | 15,8 | 14,488 |       |        |       |        |       |        |
| Docosane                   |       |        |       |        |      |        | 19,58 | 14,461 |       |        |       |        |
| Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 0,46  | 14,861 |
| Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        | 0,78  | 15,074 |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol |       |        |       |        |      |        |       |        | 1,53  | 15,075 |       |        |
| 14B-PREGNANE               |       |        |       |        |      |        | 2,14  | 15,128 |       |        |       |        |
| Octadecane                 | 0,27  | 15,448 | 0,16  | 15,395 |      |        |       |        |       |        | 0,46  | 15,341 |
| 14B-PREGNANE               |       |        |       |        |      |        |       |        | 1,32  | 15,635 |       |        |
| Eicosane                   | 1,79  | 15,688 | 2,06  | 15,635 | 1,30 | 15,661 | 1,02  | 15,688 |       |        | 1,68  | 15,581 |
| 13-Tetradecen-1-ol acetate | 0,11  | 15,875 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol |       |        |       |        |      |        |       |        | 0,72  | 16,221 |       |        |
| 1,2-Epoxy-nonadecane       | 1,23  | 16,301 | 0,88  | 16,248 | 0,50 | 16,275 | 0,51  | 16,301 |       |        |       |        |
| Eicosane – Docosane        | 0,34  | 16,568 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Farnesol isomer            | 0,96  | 16,701 | 1,62  | 16,621 |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Gamma Tocopherol</b>    |       |        |       |        | 1,41 | 16,595 | 2,54  | 16,621 | 3,78  | 16,541 | 7,62  | 16,488 |
| Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol |       |        |       |        |      |        | 0,32  | 16,835 |       |        |       |        |
| n-Pentacos-3-ene           | 12,32 | 17,288 | 11,54 | 17,181 |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Docosane                   |       |        |       |        | 6,25 | 17,181 | 7,51  | 17,181 |       |        | 7,70  | 17,048 |
| Octadecane                 |       |        |       |        |      |        |       |        | 6,32  | 17,101 |       |        |



|                                      |      |        |      |        |      |        |      |        |       |        |       |        |
|--------------------------------------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Octadecane                           |      |        | 0,33 | 17,635 |      |        | 0,14 | 17,421 | 1,52  | 17,341 |       |        |
| Eicosane                             | 0,36 | 17,768 |      |        |      |        |      |        |       |        |       |        |
| <b>Alpha Tocopherol</b>              | 0,79 | 17,981 | 0,77 | 17,875 | 1,02 | 17,955 | 2,55 | 17,955 | 3,80  | 17,848 | 8,54  | 17,795 |
| 1-Octadecanethiol                    |      |        |      |        | 1,08 | 18,275 | 1,01 | 18,275 |       |        |       |        |
| Octadecane                           | 0,38 | 18,568 | 0,42 | 18,488 | 0,74 | 18,541 | 0,66 | 18,941 |       |        |       |        |
| Allyl Cyclohexyl carbonate           |      |        |      |        | 2,02 | 18,941 |      |        |       |        |       |        |
| Eicosane                             | 0,53 | 18,968 | 0,87 | 18,888 |      |        |      |        |       |        | 0,53  | 19,555 |
| 1-Docosene                           |      |        |      |        | 4,09 | 19,502 |      |        |       |        |       |        |
| <b>Campesterol</b>                   | 0,86 | 19,795 | 0,83 | 19,662 |      |        |      |        |       |        |       |        |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol           |      |        |      |        |      |        |      |        | 0,33  | 19,795 |       |        |
| Octadecanal                          |      |        | 1,21 | 19,848 |      |        |      |        |       |        |       |        |
| 1,19-Eicosadiene                     | 1,91 | 19,981 |      |        |      |        | 1,11 | 19,928 |       |        |       |        |
| <b>Stigmasterol</b>                  | 1,98 | 20,488 | 1,8  | 20,328 | 0,99 | 20,435 | 1,33 | 20,435 | 0,95  | 20,328 |       |        |
| 2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol     |      |        |      |        | 0,26 | 20,915 |      |        |       |        |       |        |
| Octadecane                           | 0,92 | 21,208 | 0,77 | 21,075 | 0,55 | 21,128 | 0,52 | 21,155 |       |        | 0,36  | 20,968 |
| Tetracosanol                         |      |        | 1,06 | 21,235 |      |        |      |        |       |        |       |        |
| 13-Methyl-Z-14-nonacosene            |      |        |      |        | 0,86 | 21,342 | 0,98 | 21,368 |       |        |       |        |
| <b>Gamma-Sitosterol</b>              | 7,05 | 21,928 | 6,85 | 21,715 | 6,34 | 21,822 | 9,82 | 21,848 | 14,23 | 21,662 | 29,64 | 21,608 |
| Androst-5,15-dien-3ol acetate        |      |        |      |        |      |        |      |        |       |        | 2,01  | 21,955 |
| Beta-Amyrin                          | 5,38 | 22,728 | 4,51 | 22,515 | 6,95 | 22,595 |      |        |       |        |       |        |
| 3-KETO-URS-12-ENE                    | 1,81 | 23,182 | 1,42 | 23,022 |      |        |      |        |       |        |       |        |
| 1-octadecanol                        |      |        |      |        |      |        | 2,49 | 23,182 |       |        |       |        |
| Eicosane                             | 0,67 | 23,502 | 0,50 | 23,315 | 0,47 | 23,395 |      |        |       |        |       |        |
| 9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol, acetate |      |        |      |        |      |        |      |        |       |        | 5,20  | 23,395 |
| Pyridine-3-carboxamide               |      |        |      |        |      |        | 5,66 | 23,768 |       |        |       |        |
| Alpha-Amyrin                         | 5,55 | 23,928 | 4,35 | 23,662 | 4,60 | 23,768 |      |        |       |        |       |        |

**Tabela P37.** Udeo komponenata u superkričnom ekstraktu (%) dobijenom pri pritisku od 200 bar i temperaturi 60 °C

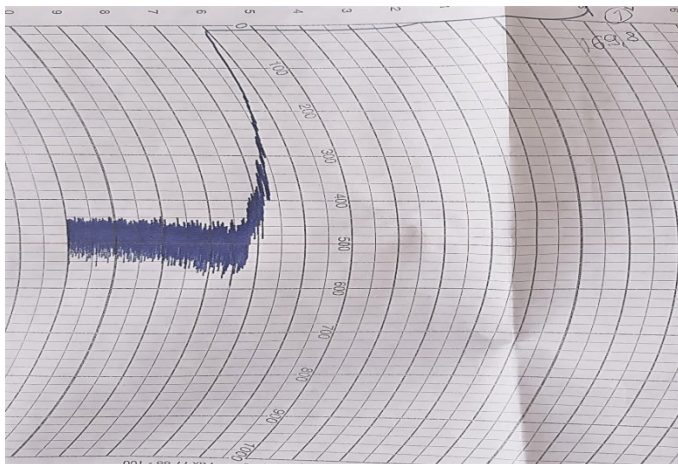
| Udeo komponenata u ekstraktu (%) |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
|----------------------------------|----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|------------|--------|
| T 60°C                           | 200bar   |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Naziv komponente                 | 0% Sipak | RT     | 20% Sipak | RT     | 40% Sipak | RT     | 60% Sipak | RT     | 80% Sipak | RT     | 100% Sipak | RT     |
| Nonadecane                       | 12,61    | 12.461 | 15,00     | 12.408 | 13,71     | 12.434 | 16,66     | 12.461 | 7,43      | 12.381 | 2,80       | 12.354 |
| 2-bornyl ester                   | 1,07     | 12.621 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 1-Tricosene                      | 0,11     | 12.861 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene |          |        |           |        |           |        |           |        | 2,10      | 13.688 | 2,19       | 13.661 |
| 1,19-Eicosadiene                 | 1,48     | 13.768 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 13-Methyl-Z-14-nonacosene        |          |        |           |        |           |        |           |        | 1,08      | 14.141 | 2,50       | 14.141 |
| Docosane                         | 21,72    | 14.541 | 23,77     | 14.461 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Triacetyl pentafluoropropionate  |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 11,11      | 14.354 |
| Butyric acid, 2-bornyl ester     | 0,27     | 14.808 | 0,21      | 14.781 |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Z,E-2,13-Octadecadien-1-ol       |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 0,63       | 15.074 |
| Hexacosane                       | 0,13     | 15.315 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 5-n-Butyldocosane                | 1,63     | 15.661 | 1,89      | 15.635 | 2,02      | 15.661 | 1,84      | 15.688 | 1,75      | 15.581 | 1,45       | 15.581 |
| 13-Tetradecen-1-ol acetate       | 0,11     | 15.848 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Eicosane                         |          |        |           |        |           |        |           |        | 0,25      | 16.088 | 0,37       | 16.088 |
| Tridecane                        | 0,12     | 16.088 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 1,19-Eicosadiene                 | 1,54     | 16.275 | 1,01      | 16.248 | 1,02      | 16.301 | 0,89      | 16.301 | 0,72      | 16.195 | 0,23       | 16.194 |

|                                     |       |        |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
|-------------------------------------|-------|--------|------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Ethylen glycol monododecyl ether    | 0,43  | 16.541 |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Solanesol                           | 0,93  | 16.675 | 1,66 | 16.621 |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Gamma Tocopherol</b>             |       |        |      |        | 2,03 | 16.621 | 2,85  | 16.621 | 3,62  | 16.488 | 6,02  | 16.488 |
| Nonadecane                          |       |        |      |        |      |        |       |        |       |        | 5,98  | 17.048 |
| n-Pentacos-3-ene                    | 13,07 | 17.235 |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Alpha Tocopherol</b>             | 0,73  | 17.955 | 1,66 | 17.875 | 1,72 | 17.955 | 2,51  | 17.955 | 4,16  | 17.795 | 7,04  | 17.821 |
| 1-Chloroheptacosane                 | 0,57  | 18.941 |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Stigmasterol</b>                 | 2,07  | 20.462 | 1,60 | 20.328 | 1,44 | 20.435 | 1,15  | 20.461 | 1,17  | 20.248 | 0,98  | 20.248 |
| <b>Lanosterol</b>                   | 0,56  | 20.995 |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Tetracosanol                        | 0,86  | 21.182 | 0,60 | 21.075 | 0,61 | 21.155 | 0,81  | 21.155 | 0,69  | 20.968 | 0,41  | 20.968 |
| 13-Methyl-Z-14-nonacosene           | 3,94  | 21.448 |      |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Gamma-Sitosterol</b>             | 7,76  | 21.902 | 7,42 | 21.715 | 8,54 | 21.822 | 10,28 | 21.822 | 20,84 | 21.635 | 34,93 | 21.688 |
| Androst-5,15-dien-3-ol acetate      |       |        |      |        |      |        |       |        | 1,55  | 21.955 | 2,23  | 21.982 |
| Beta-Amyrin                         | 5,36  | 22.702 | 4,05 | 22.515 | 3,23 | 22.622 | 2,82  | 22.622 | 2,50  | 22.382 |       |        |
| 9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol acetate |       |        |      |        |      |        |       |        |       |        | 4,74  | 23.422 |
| Alpha-Amyrin                        | 5,93  | 23.875 | 4,68 | 23.662 | 3,71 | 23.769 | 3,08  | 23.768 |       |        |       |        |

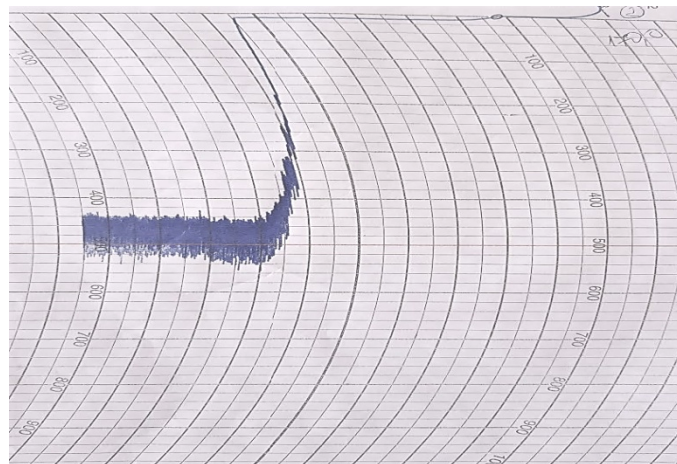
**Tabela P38.** Udeo komponenata u superkritičnom ekstraktu (%) dobijenom pri pritisku od 300 bar i temperaturi 60 °C

| Udeo komponenata u ekstraktu (%)          |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
|---|----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|------------|--------|
| T 60°C                                    | 300bar   |        |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Naziv komponente                          | 0% Sipak | RT     | 20% Sipak | RT     | 40% Sipak | RT     | 60% Sipak | RT     | 80% Sipak | RT     | 100% Sipak | RT     |
| Nonadecane                                | 12,49    | 12.461 | 16,29     | 12.434 | 13,76     | 12.434 | 15,30     | 12.408 | 8,07      | 12.354 | 0,70       | 12.354 |
| 2-bornyl ester                            | 1,11     | 12.621 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Octadecane                                | 1,23     | 13.368 | 1,67      | 13.368 | 1,35      | 13.368 | 2,02      | 13.341 | 2,46      | 13.314 |            |        |
| Myrtanyl acetate                          | 1,39     | 13.634 | 2,70      | 13.608 | 2,03      | 13.634 | 1,64      | 13.608 |           |        |            |        |
| 2,6,10,14,18-eicosapentaene               |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 2,33       | 13.688 |
| 1,2-epoxyoctadecane                       | 1,49     | 13.794 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Malonic acid,<br>isopropyl,dimethyl ester | 1,56     | 14.061 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| Cetyl vinyl ether                         |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 3,92       | 14.141 |
| Docosyl bromid                            | 22,73    | 14.541 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| 1,19-Eicosadiene                          |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 0,49       | 14.861 |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol                |          |        |           |        |           |        |           |        | 1,41      | 15.048 | 0,77       | 15.075 |
| 5-n-Butyldocosane                         | 1,85     | 15.688 | 1,98      | 15.661 | 1,95      | 15.661 | 2,01      | 15.635 | 1,27      | 15.581 | 1,29       | 15.581 |
| 1,19-Eicosadiene                          | 0,98     | 16.301 | 0,88      | 16.248 | 1,01      | 16.275 | 0,94      | 16.248 | 0,33      | 16.194 |            |        |
| 14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol                |          |        |           |        |           |        |           |        |           |        | 0,27       | 16.195 |
| Ethylen glycol monododecyl<br>ether       | 0,32     | 16.568 |           |        |           |        |           |        |           |        |            |        |
| <b>Gamma Tocopherol</b>                   |          |        | 0,63      | 16.568 | 2,16      | 16.621 | 3,32      | 16.541 | 5,87      | 16.488 | 8,25       | 16.515 |

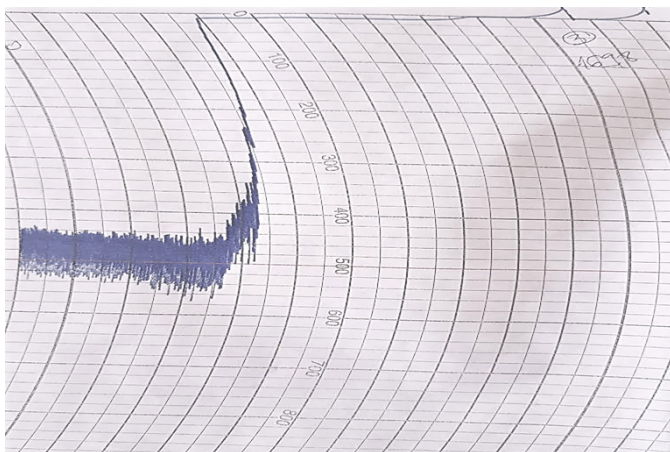
|                            |       |        |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
|----------------------------|-------|--------|-------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Solanesol                  | 0,82  | 16.701 | 1,02  | 16.648 |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Cetyl vinyl ether          |       |        |       |        |      |        |       |        | 1,57  | 16.755 | 2,41  | 16.755 |
| n-Pentacos-3-ene           | 11,99 | 17.261 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Hexatriacontane            |       |        | 10,90 | 17.155 | 9,69 | 17.181 | 9,53  | 17.128 | 5,29  | 17.048 | 5,34  | 17.048 |
| 13-Tetradecen-1-ol acetate | 0,3   | 17.581 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Alpha Tocopherol</b>    | 0,87  | 17.981 | 1,58  | 17.901 | 2,13 | 17.955 | 3,57  | 17.875 | 5,07  | 17.821 | 7,33  | 17.821 |
| Eicosane                   | 1,58  | 18.968 | 0,85  | 18.915 | 2,72 | 18.915 |       |        |       |        |       |        |
| <b>Campesterol</b>         | 0,93  | 19.795 | 0,71  | 19.688 | 0,68 | 19.741 | 0,89  | 19.662 | 1,38  | 19.581 | 1,67  | 19.582 |
| 1,19-Eicosadiene           | 1,68  | 19.955 | 1,09  | 19.848 | 1,84 | 19.901 | 0,98  | 19.822 | 0,32  | 19.768 |       |        |
| <b>Stigmasterol</b>        | 2,44  | 20.462 | 1,28  | 20.355 | 2,05 | 20.435 | 1,21  | 20.328 | 1,47  | 20.248 |       |        |
| D-Homoandrostane           | 0,46  | 21.022 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Tetracosanol               | 2,07  | 21.422 |       |        |      |        |       |        |       |        |       |        |
| <b>Gamma-Sitosterol</b>    | 6,91  | 21.902 | 5,97  | 21.715 | 9,09 | 21.795 | 11,76 | 21.688 | 23,58 | 21.608 | 27,47 | 21.635 |
| Beta-Amyrin                | 5,16  | 22.702 | 3,18  | 22.515 | 3,55 | 22.595 | 2,90  | 22.462 |       |        |       |        |
| Octadecane                 | 0,55  | 23.475 | 0,47  | 23.342 |      |        |       |        |       |        |       |        |
| Alpha-Amyrin               | 6,32  | 23.875 | 3,44  | 23.662 |      |        |       |        |       |        |       |        |



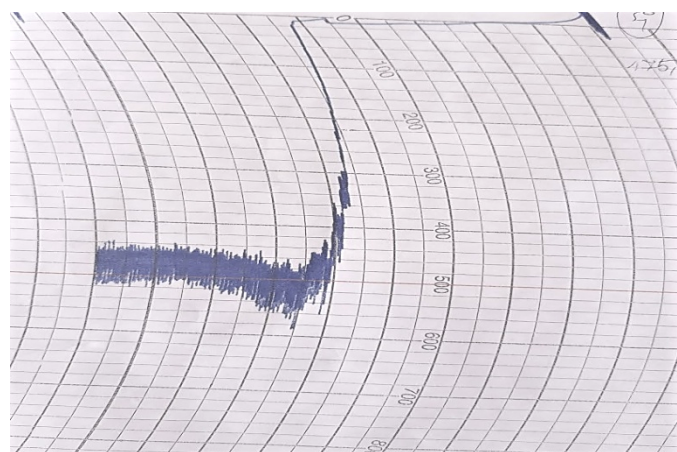
Slika P39. Farinogram uzorka 1.



Slika P40. Farinogram uzorka 2.

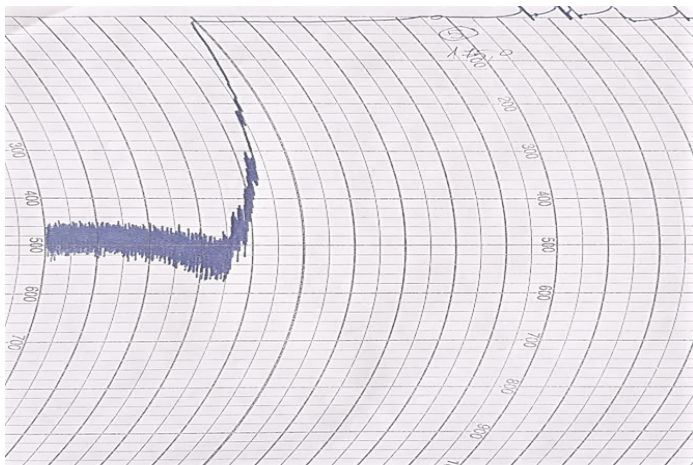


Slika P41. Farinogram uzorka 3.

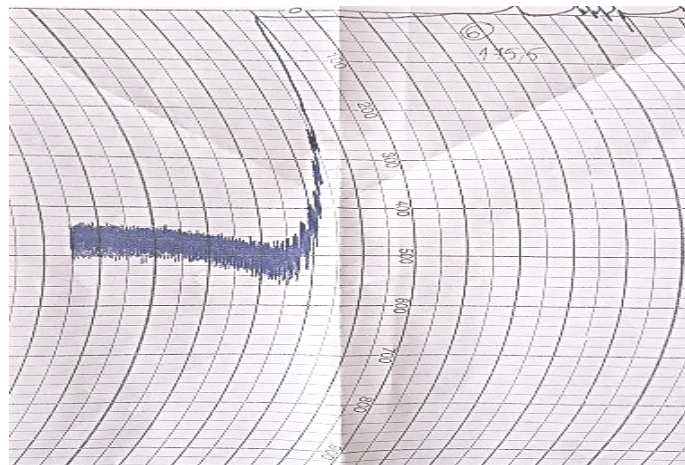


Slika P42. Farinogram uzorka

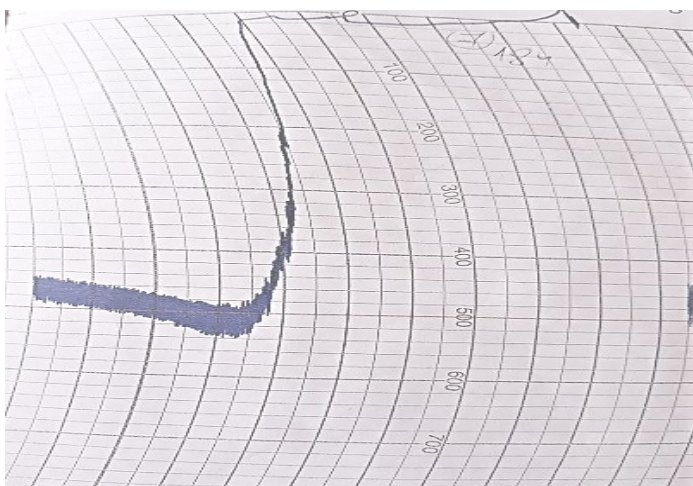




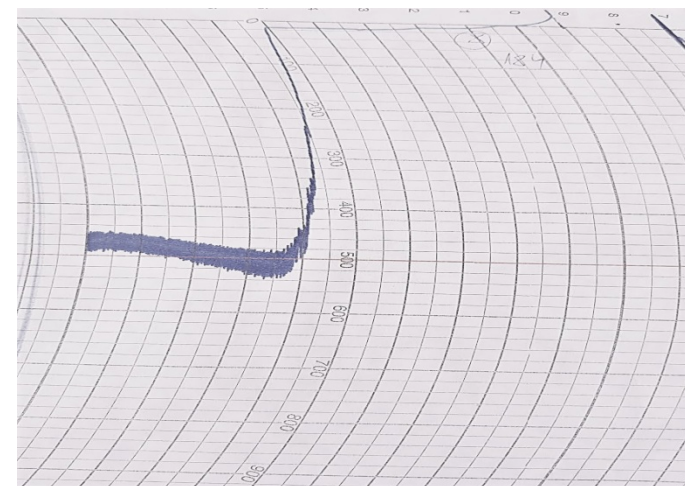
Slika P43. Farinogram uzorka 5.



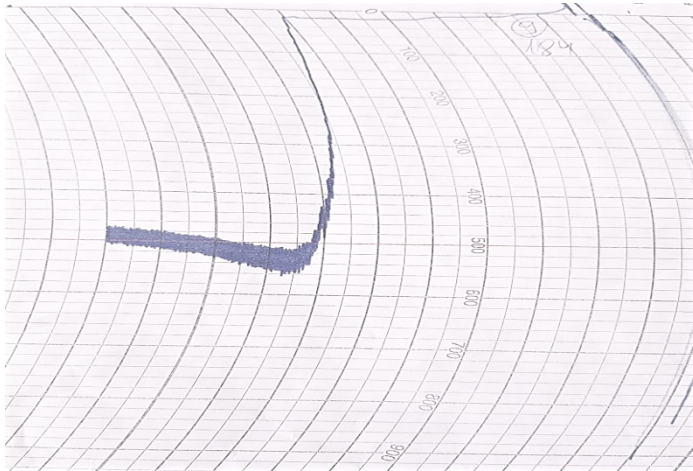
Slika P44. Farinogram uzorka 6.



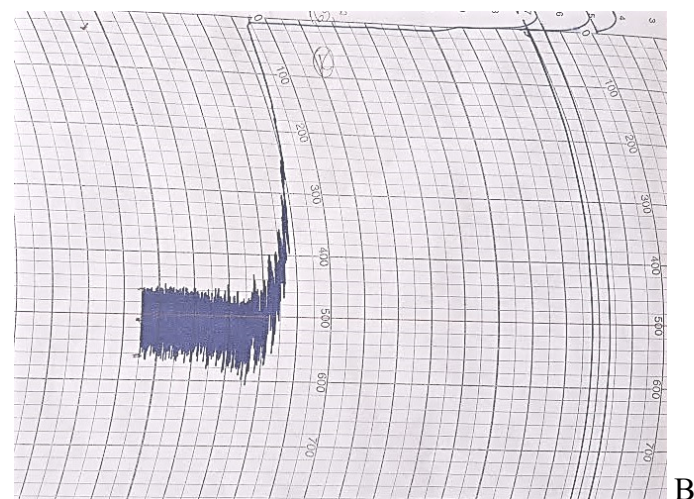
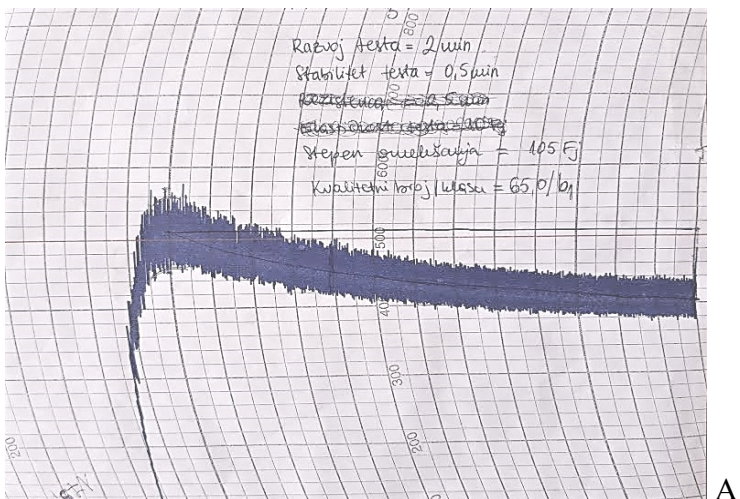
Slika P45. Farinogram uzorka 7.



Slika P46. Farinogram uzorka 8.

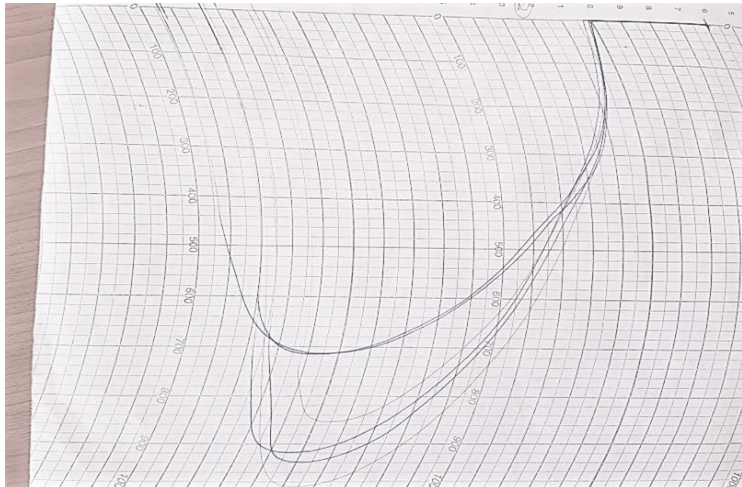


Slika P47. Farinogram uzorka 9.

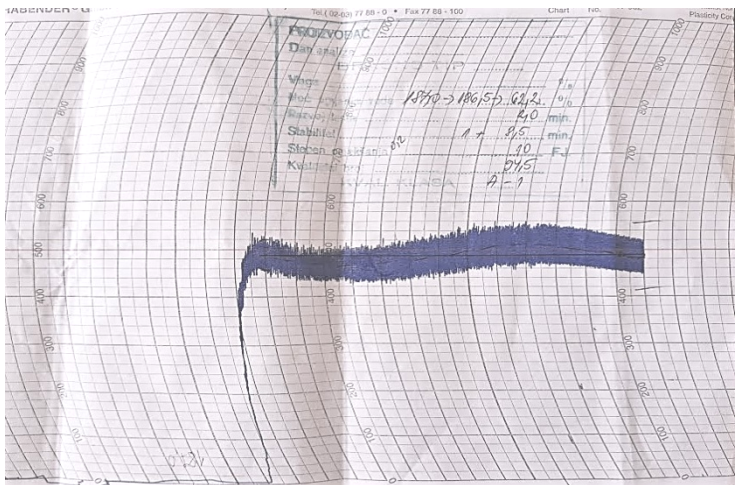


Slika P48. Farinogrami kontrolnog uzorka brašna (A, B)

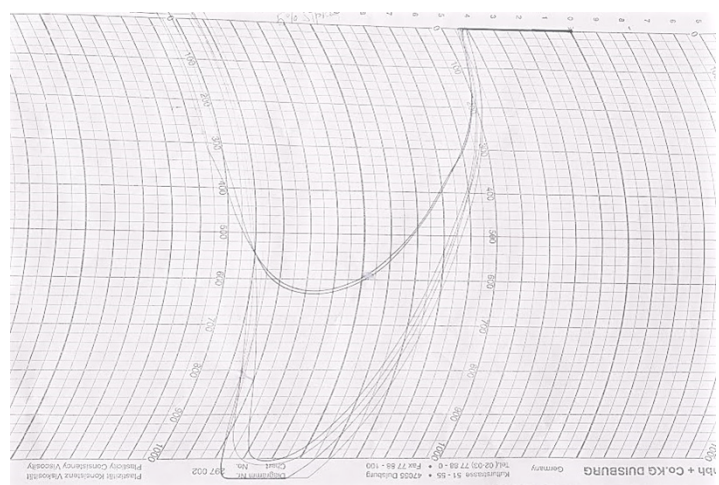




Slika P49. Ekstenzogram kontrolnog uzorka brašna



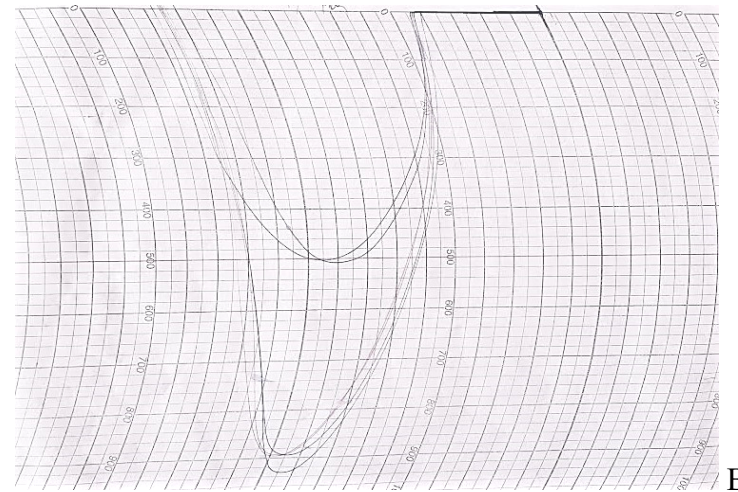
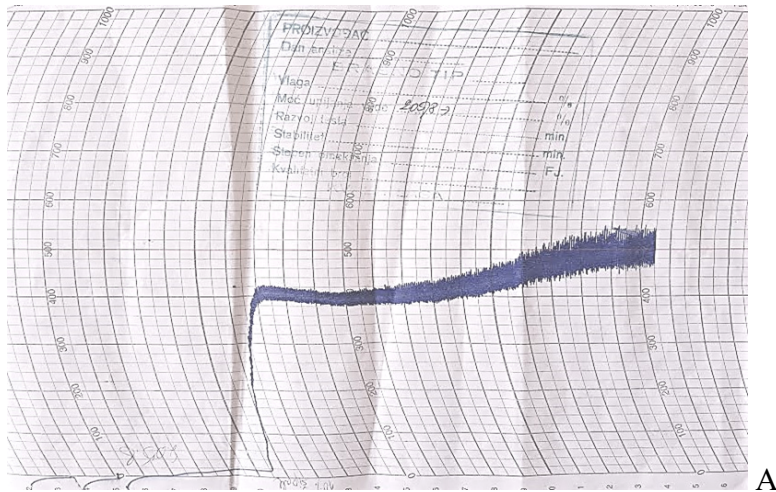
A



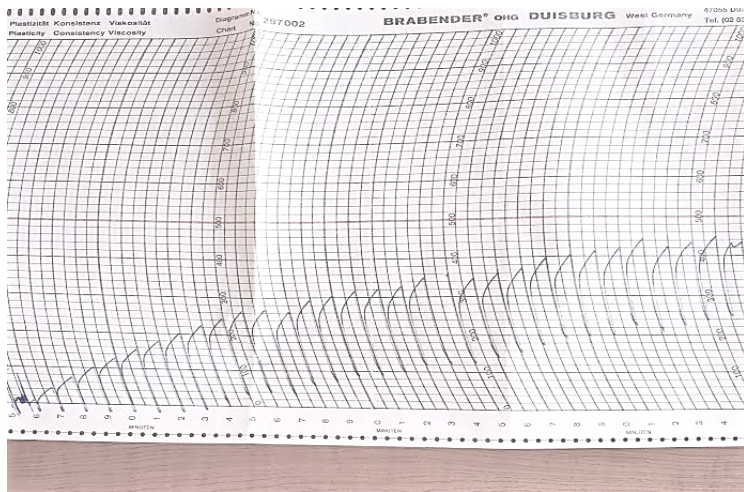
B

Slika P50. Farinogram i ekstenzogram uzorka brašna sa dodatih 5% šipka (A,B)

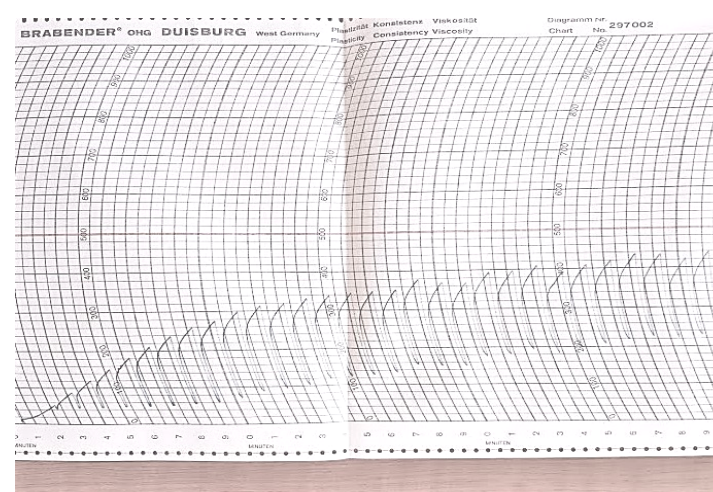




Slika P51. Farinogram i ekstenzogram uzorka brašna sa dodatih 10% šipka (A, B)

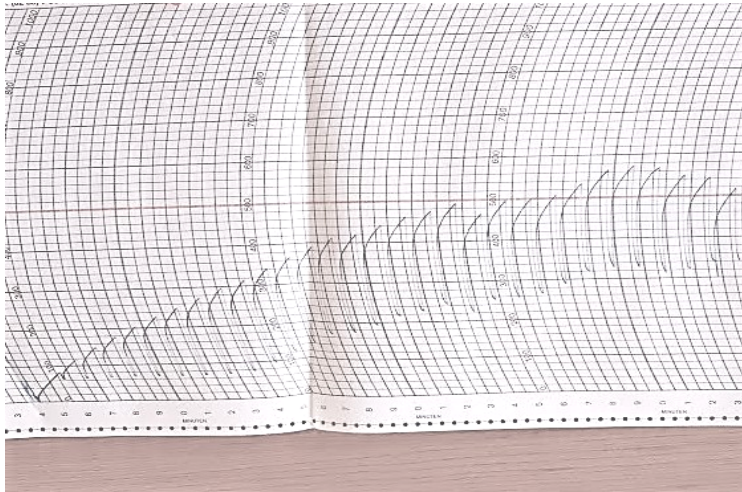


Slika P52. Maturogram uzorka 1.

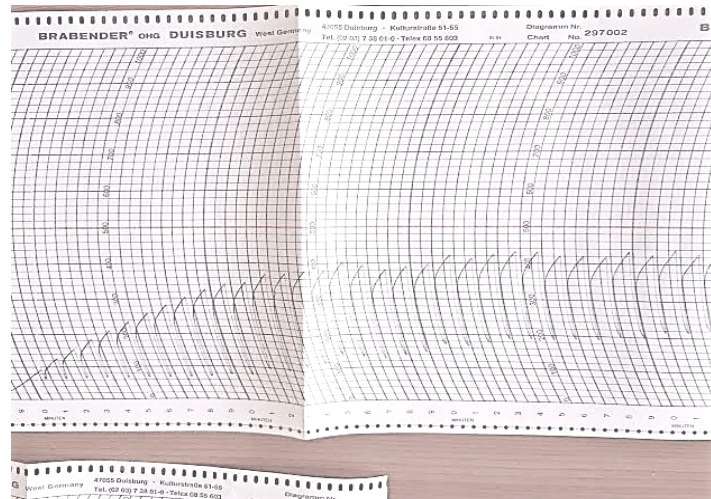


Slika P53. Maturogram uzorka 4.

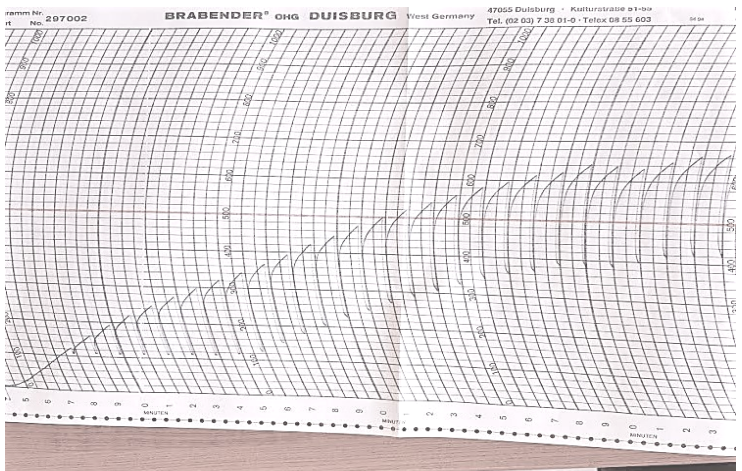




Slika P54. Maturigram uzorka 5.



Slika P55. Maturigram uzorka 7.



Slika P56. Maturigram uzorka 9.