

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO–METALURŠKI FAKULTET

Vladimir P. Pavićević

**BEZOTPADNA TEHNOLOGIJA PRERADE
PLODA KLEKE (*Juniperus communis* L.)**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Vladimir P. Pavićević

**ZERO WASTE TECHNOLOGY OF JUNIPER BERRY
(*Juniperus communis* L.) PROCESSING**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

MENTOR

dr Dragan Povrenović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet

ČLANOVI KOMISIJE

dr Slobodan Petrović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet

dr Vlada Veljković, redovni profesor
Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu

dr Svetomir Milojević, docent
Univerzitet u Prištini, Fakultet tehničkih nauka u Kosovskoj Mitrovici

datum odbrane

BEZOTPADNA TEHNOLOGIJA PRERADE PLODA KLEKE (*Juniperus communis* L.)

IZVOD

Etarska ulja su aromatične, isparljive složene smeše različitih jedinjenja, najviše ugljovodonika (monoterpena i seskviterpena) i oksigenovanih ugljovodonika. Etarsko ulje ploda kleke ima široku primenu i veliku tržišnu vrednost zahvaljujući svojim značajnim antimikrobnim aktivnostima. Koristi se u medicini, prehrambenoj, kozmetičkoj, farmaceutskoj industriji i veterini. Najčešće se dobija hidrodestilacijom, tehnikom za izdvajanje supstanci koje se ne mešaju ili vrlo slabo mešaju sa vodom i koja su nestabilna na tački ključanja. Ona obezbeđuje visok kvalitet etarskog ulja i predstavlja relativno jednostavan, bezbedan proces koji je u skladu sa zaštitom životne sredine. Klasična hidrodestilacija sa električnim zagrevanje (HD) unapređena je uvođenjem mikrotalasnog zračenja – mikrotalasna hidrodestilacija (MHD). Ispitivane su HD i MHD etarskog ulja ploda kleke pri različitim brzinama destilacije. Obe se odigravaju istim mehanizmom koji uključuje „brzu” (ispiranje) i „sporu” (difuzija) fazu destilacije. Među tri modela, model istovremenog ispiranja i difuzije je najbolji i za HD i za MHD etarskog ulja ploda kleke, pošto je imao najmanje srednje relativno odstupanje. Ovaj kinetički model takođe je od opšteg značaja jer je potvrđen za različite biljne materijale. Veći prinosi etarskog ulja su dobijeni za HD nego za MHD. Nije primećena razlika u kvalitativnom hemijskom sastavu etarskog ulja dobijenog pomoću obe tehnike, ali one imaju uticaj na kvantitativan hemijski sastav (promenu masenih udela), manji kod lakoisparljivih komponenti, srednji kod teškoisparljivih komponenti i veći kod sredneisparljivih komponenti.

Prinos etarskog ulja se povećao sa porastom brzine destilacije za sve odnose masa kleka–voda (hidromodula). Pri povećanju hidromodula prinos je bio nepromenjen pri najmanjoj brzini destilacije, odnosno smanjio se pri većim brzinama destilacije. Promene brzine destilacije i hidromodula uticale su samo na kvantitativni hemijski sastav, ali ne na kvalitativni hemijski sastav etarskog ulja. Promena masenog udela komponenti u zavisnosti od brzine destilacije imala je jasne opšte trendove za svaku

vrstu komponenata za sve hidromodule. Promena masenog udela komponenti u zavisnosti od hidromodula imala je manje izražene trendove za sve brzine destilacije. To znači da je hidromodul ima manje uticaja na promenu masenih udela komponenti od brzine destilacije.

Kod „suvog” mlevenja, prinosi etarskog ulja bili su manji produženjem vremena mlevenja zbog gubitka dela lakoisparljivih komponenti tokom mlevenja (zagrevanja) suve biljne mase. Suprotno, oni su kod „mokrog” mlevenja (sa vodom) veći sa produženjem vremena zbog povećanja stepena usitnjenosti i odsustva isparavanja. Vreme trajanja mlevenja imalo je uticaj na kvantitativni hemijski sastav etarskog ulja, manji kod lakoisparljivih komponenti, srednji kod srednjeisparljivih komponenti i veći kod teškoisparljivih komponenti. Način mlevenja („suvo” ili „mokro”) takođe je imao uticaj na kvantitativni hemijski sastav, manji kod srednjeisparljivih komponenti, srednji kod lakoisparljivih komponenti i veći kod teškoisparljivih komponenti.

Razmatrajući zavisnost diferencijalnih troškova energije po masi izdvojenog etarskog ulja od vremena, određenih u eksperimentu hidrodestilacije i izračunatih po kinetičkim modelima Sovove i Milojevića, uočeno je da su vrednosti posle 50 min („spora” faza) značajno veće u poređenju sa početkom procesa („brza” faza). Ovaj period troši najviše energije i bilo je potrebno odrediti optimalno vreme kada hidrodestilacija treba da bude okončana jer njen nastavak rezultira time da trošak energije prevazilazi dobit od izdvojenog etarskog ulja. Postupak za određivanje optimalnog vremena trajanja hidrodestilacije je razvijen sa aspekta utroška energije i dokazan za tri usvojena scenarija (najnižih, srednjih i najvećih cena). Uštede integralnih troškova energije u odnosu na vreme trajanja 360 min bile su od značajnih 31,6 % za eksperiment u scenariju najmanjih cena do malih 1,7 % za modele u scenariju najvećih cena.

Utvrđene antioksidativne aktivnosti etarskog ulja, tečnog i čvrstog ostatka hidrodestilacije na DPPH, ABTS i OH radikale bile su visoke. Pripremljeni vodeni ekstrakti (tečni ostatak) i etanolni ekstrakti (čvrsti ostatak) pokazali su antimikrobnu aktivnost prema svih osam ispitivanih vrsta bakterija. Nije bilo selektivne aktivnosti

prema G+ ili G- vrstama. Vodeni ekstrakti nisu imali antimikrobnu aktivnost prema dve vrste gljivica, dok su etanolni ekstrakti pokazali slabu aktivnost.

Ključne reči: plod kleke (*Juniperus communis* L.), etarsko ulje, mikrotalasna hidrodestilacija, kinetički model, hemijski sastav, brzina destilacije, hidromodul, mlevenje, antioksidativna aktivnost, antimikrobna aktivnost

Naučna oblast: Hemija i hemijska tehnologija

UDK broj: 582.477.6:665.528

ZERO WASTE TECHNOLOGY OF JUNIPER BERRY (*Juniperus communis* L.) PROCESSING

ABSTRACT

Essential oils are aromatic, volatile, complex mixtures of various compounds, mainly hydrocarbons (monoterpene and sesquiterpene) and oxygenated hydrocarbons. Juniper berry essential oil has wide application and high commercial value due to its considerable antimicrobial activities. It is used in medicine, food, cosmetic and pharmaceutical industry and veterinary medicine. Most commonly it is obtained by hydrodistillation, technique for the extraction of substances which do not mix or mix very poorly with water and are unstable at boiling temperatures. It provides high quality of essential oil and also represents a relatively simple, safe and environmental friendly process. The conventional hydrodistillation by electrical heating (HD) has been improved by involving microwave irradiation for heating – microwave–assisted hydrodistillation (MAHD). HD and MAHD of the juniper berry essential oil from juniper berries were studied at different distillation rates. Both HD and MAHD occurred by the same mechanism that included „fast” (washing) and „slow” (diffusion) distillation phase. Among three models, the model including simultaneous washing and diffusion is the best one for both HD and MAHD of juniper berry essential oil, since it had the lowest mean relative deviation. This kinetic model also appears to be of a general importance as being verified for various plant materials. Higher essential oil yields were obtained by HD than by MAHD. No difference in the a qualitative chemical composition of the essential oils obtained by both techniques was observed, but they had the influence on a quantitative chemical composition (variation of mass fractions), lower for high volatile components, medium for low volatile components and higher for medium volatile components.

Essential oil yields increased with increase of distillation rate at all mass ratios juniper berries–water (hydromodules). With increase of hydromodule, yields were constant at low distillation rate, while they decreased at higher distillation rates. The variations of distillation rate and hydromodule had the influence only on a quantitative chemical composition, but not on a qualitative chemical composition of essential oil.

The variations of mass fraction of components at various distillation rates had clear general trends for each type of components at all hydromodules. The variations of mass fraction of components at various hydromodules had less expressive trends for all distillation rates. That means hydromodule has less influence on the variations of mass fraction of components than distillation rate.

Essential oil yields decreased with increase of time duration at „dry” grinding due to loss of some high volatile components during the grinding (heating) of dry plant mass. Contrary, they increased at „wet” grinding (with water) because the level of grinding was higher and there was no volatilisation. Time duration of grinding had the influence on a quantitative chemical composition of essential oil, lower for high volatile components, medium for medium volatile components and higher for low volatile components. Type of grinding („dry” or „wet”) also had the influence on a quantitative composition of essential oil, lower for medium volatile components, medium for high volatile components and higher for low volatile components.

Concerning the dependence of the differential energy costs per mass of the separated essential oil on time, defined in the hydrodistillation experiment and calculated according to kinetic models of Sovova and Milojević, it was observed that the values after 50 min („slow” phase) are significantly higher when compared to the beginning of process („fast” phase). This time period consumes the most of the energy and it was necessary to determine optimal time when hydrodistillation should be ended because its continuation would result that consumed energy costs exceed the gain of the separated essential oil. Model for determination of optimal time duration of hydrodistillation was developed from the standpoint of energy consumption and proved for three adopted scenarios (minimal, medial and maximal prices). The savings of integral energy costs comparing with time duration 360 min were from significant 31.6 % for experiment in minimal prices scenario to small 1.7 % for models in maximal prices scenario.

The defined antioxidant activities of essential oil, liquid and solid residues of hydrodistillation on DPPH, ABTS and OH radicals were high. Prepared water extracts

(liquid residues) and ethanol extracts (solid residues) had antimicrobial activity to all eight types of bacteria. There was no selective activity to G⁺ or G⁻ types. Water extracts had no activity to two types of fungus, while ethanol extracts had low activity.

Key words: juniper berry (*Juniperus communis* L.), essential oil, microwave-assisted hydrodistillation, kinetic model, chemical composition, distillation rate, hydromodule, grinding, antioxidant activity, antimicrobial activity

Scientific field: Chemistry and Chemical Technology

UDC number: 582.477.6:665.528

SPISAK SIMBOLA

A – parameter kinetičkog modela

A_{kontrol} – apsorpcija kontrolnog rastvora

A_{uzorak} – apsorpcija rastvora uzorka

b – parametar kinetičkog modela

f – parametar kinetičkog modela

$I\%$ – procenat inhibicije (antioksidativna aktivnost)

k, k_1, k_2 – parametri kinetičkog modela

m – masa

M – molarna masa

n – količina materije (broj molova)

p_i – parcijalni pritisak i -te komponente

P_{atm} – atmosferski pritisak

$P_{H_2O}^{\circ}$ – napon pare vode

P_i° – napon pare čiste i -te komponente

q – maseni udeo (prinos) izdvojenog etarskog ulja

q_o – početni maseni udeo (sadržaj) etarskog ulja u biljnom materijalu za $t = 0$,

q_p – maseni udeo (sadržaj) etarskog ulja u biljnom materijalu

q_w – početni maseni udeo (prinos) izdvojenog etarskog ulja za $t = 0$

q_{∞} – maksimalni maseni udeo (prinos) izdvojenog etarskog ulja za $t \rightarrow \infty$

t – vreme

x_i – molski udeo i -te komponente u tečnoj fazi

y_i – molski udeo i -te komponente u parnoj fazi

SKRAĆENICE

- ABTS – 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonil) diamonijumova so
- ALS – automatski sempler za tečnosti
- AMX – amoksicilin
- ATCC – American Type Cell Collection
- CFU – Collony Forming Units (broj ćelija sposobnih za rast, tj. stvaranje kolonija)
- DMSO – dimetil-sulfoksid
- DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
- FLU – flukonazol
- G+ – Gram pozitivne bakterije
- G– – Gram negativne bakterije
- GC/FID – gasna hromatografija sa plameno–jonizujućim detektorom
- GC/MS – gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom
- HD – klasična hidrodestilacija (električno grejanje)
- MHD – mikrotalasna hidrodestilacija
- MIK – minimalne inhibitorne koncentracije
- NIST – National Institute of Standards and Technology
- NKE – natkritična ekstrakcija
- SRO – srednje relativno odstupanje
- TTC – trifenil-tetrazolidijum-hlorid
- TEAC – Trolox ekvivalent antioksidativne aktivnosti

SADRŽAJ

UVOD	1
1 TEORIJSKI DEO	4
1.1 Kleka (<i>Juniperus communis</i> L.)	5
1.1.1 Plod kleke (<i>Fructus Juniperi</i>)	7
1.1.2 Upotreba kleke	9
1.1.3 Etarsko ulje ploda kleke (<i>Aetheroleum Juniperi</i>)	11
1.2 Hidrodestilacija	15
1.2.1 Tehnološki postupci dobijanja etarskog ulja	15
1.2.2 Teorija hidrodestilacije	17
1.2.3 Vrste hidrodestilacije	20
1.3 Kinetika hidrodestilacije etarskog ulja	23
1.3.1 Modeli zasnovani na nestacionarnoj difuziji kroz biljni material	23
1.3.2 Model kinetike pseudo prvog reda	23
1.3.3 Fenomenološki modeli	25
2 EKSPERIMENTALNI DEO	28
2.1 Hidrodestilacija	29
2.1.1 Biljni material	29
2.1.2 Priprema ploda kleke za hidrodestilaciju	29
2.1.3 Aparatura za hidrodestilaciju	29
2.2 Određivanje hemijskog sastava etarskog ulja	31
2.2.1 Gasna hromatografija sa plameno jonizujućim detektorom	31
2.2.2 Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom	31
2.3 Određivanje antioksidativne aktivnosti	32
2.3.1 Hemikalije i reagensi	32
2.3.2 Priprema metanolnog ekstrakta čvrstog ostatka hidrodestilacije	32
2.3.3 Određivanje ukupnih fenola	32
2.3.4 Određivanje ukupnih flavonoida.	32
2.3.4 Određivanje ukupnih flavonola	33
2.3.5 Određivanje antioksidativne aktivnosti	34

2.3.6	DPPH test	34
2.3.7	ABTS test	35
2.3.7	Hidroksil radikal test	35
2.4	Određivanje antimikrobne aktivnosti	37
2.4.1	Priprema sojeva mikroorganizama	37
2.4.2	Priprema ekstrakata	38
2.4.3	Priprema uzoraka	38
2.4.4	Bujon–mikrodiluciona metoda	38
3	REZULTATI I DISKUSIJA	40
3.1	Mikrotalasna hidrodestilacija	41
3.1.1	Kinetika i prinos kod klasične i mikrotalasne hidrodestilacije	41
3.1.2	Modelovanje kinetike mikrotalasne hidrodestilacije	44
3.1.3	Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav etarskog ulja	50
3.1.4	Uticaj brzine destilacije na hemijski sastav etarskog ulja kod mikrotalasne hidrodestilacije	56
3.2	Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na prinos i hemijski sastav etarskog ulja	59
3.2.1	Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na prinos etarskog ulja	59
3.2.2	Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav etarskog ulja	60
3.2.3	Uticaj hidromodula na hemijski sastav etarskog ulja	70
3.3	Uticaj načina pripreme hidrodestilacije na prinos i hemijski sastav etarskog ulja	79
3.3.1	Uticaj načina pripreme hidrodestilacije na prinos etarskog ulja	79
3.3.2	Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav etarskog ulja	80
3.3.3	Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav etarskog ulja	87
3.4	Optimizacija potrošnje energije i određivanje optimalnog vremena hidrodestilacije	95
3.4.1	Postupak određivanja optimalnog vremena hidrodesilacije.	99
3.4.2	Rezultati optimizacije potrošnje energije hidrodestilacije	102
3.5	Antioksidativna i antimikrobna aktivnost	104
3.5.1	Antioksidativna aktivnost	104

3.5.2	Antiomikrobna aktivnost	107
4	ZAKLJUČAK	111
5	LITERATURA	114

Biografija

Prilozi

UVOD

Kleka (*Juniperus communis* L.) iz roda *Cupressaceae* prirodno raste najviše u sledećim oblastima Srbije: na Kosovu i Metohiji (planine Šara, Mokra gora, Rogozna i Kopaonik), u okolini Užica, Bajine Bašte, Priboja i Prijepolja. To je malo stubasto drvo ili četinarski zimzeleni žbun. Njeni plodovi su bobice, kojima treba dve godine da sazru. Zrele bobice se beru u jesen i suše u hladu (da se izbegne gubitak etarskog ulja) za dalje korišćenje. Plod kleke se koristi u tradicionalnoj medicini za ublažavanje bolova, upalu bešike i nadutost. Preradom zrelih plodova kleke (*Fructus Juniperi*) mogu se dobiti: etarsko ulje, ekstrakti, vodene smeše, alkoholne smeše, aromatizovani napici, prirodni alkoholni destilat karakterističnog mirisa i ukusa, đubrivo organskog porekla i/ili briketi. Etarsko ulje kleke je najvažniji bioaktivan sastojak, koji ima široku primenu i visoku komercijalnu vrednost zbog značajnog antibakterijskog i antivirusnog dejstva. Koristi se u medicini, veterini, prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Stanković i sar, 1994; Veljković i Stanković, 2003).

Etarsko ulje iz ploda kleke obično se dobija hidrodestilacijom. Ovaj metod je jednostavan, bezbedan za izvođenje, ne zagađuje životnu sredinu i njime se proizvodi etarsko ulje visokog kvaliteta, pa se najviše koristi i u laboratorijskim istraživanjima i u industrijskoj proizvodnji (Butkiene i sar, 2004; Milojević i sar, 2008). Radni uslovi utiču i na prinos i na sastav, kao i na brzinu procesa. Interesantno je da nema mnogo objavljenih radova o kinetici destilacije ulja kleke, kao ni o uticaju brzine hidrodestilacije na prinos, sastav i fizičke osobine ulja kleke. Ovo je verovatno posledica činjenice da proizvođači ulja kleke koriste tradicionalne tehnologije i pridaju malo značaja optimizaciji procesa. Sastav ulja kleke i fizičko–hemijske osobine određuju način upotrebe, dok su saznanja o prinosu ulja i kinetičkom modelu ekstrakcije važni za tehnološku i ekonomsku analizu. Modelovanjem kinetike doprinosi se ne samo osnovnom razumevanju procesa, već i njegovoj boljoj kontroli i većoj efikasnosti.

Tokom poslednje decenije klasična hidrodestilacija sa električnim grejanjem (HD) je unapređena uvođenjem tehnike mikrotalasnog zračenja za zagrevanje vodene suspenzije biljnog materijala. Ovaj metod je zasnovan na kapacitetu jedinjenja da prime miktotalasnu energiju. Mikrotalasna hidrodestilacija (MHD) je široko korišćena za

izdvajanje etarskog ulja iz raznih biljnih materijala (Flórez i sar, 2014; Tigrine–Kordjani i sar, 2011; Wang i sar, 2010). Ipak, ova moderna tehnika izdvajanja još nije primenjena za izdvajanje etarskog ulja iz ploda kleke. Kinetika HD je ekstenzivno proučavana, a literatura na ovu temu je nedavno pregledno prikazana (Milojević i sar, 2013). Na drugoj strani, kinetika MHD je retko proučavana. Do sada su korišćeni samo model kinetike prvog reda kod izdvajanja etarskog ulja lista ruzmarina (Karakaya i sar, 2014) i semena morača (Kapás i sar, 2011). Takođe, još nema objavljenih istraživanja u kojima se porede različiti kinetički modeli za HD i MHD, tako da je jedan od ciljeva ove disertacije ispitivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja ploda kleke pomoću MHD, tj. razvijanje kinetičkog modela za MHD i njegovo poređenje sa modelima za HD, pre svega troparametarskim fenomenološkim modelom (Sovova i Aleksovski, 2006) i dvoparametarskim modelom (Milojević i sar, 2008), koji su potvrđeni za plod kleke (Milojević i sar, 2008) i ostale biljne materijale (Milojević i sar, 2013; Pornpunyapat, 2011; Stanisavljević, 2010). Ispitivanja su vršena pri različitim brzinama zagrevanja (destilacije). Dodatno su upoređeni hemijski sastavi etarskog ulja dobijenog pomoću dve tehnike pri različitim brzinama destilacije.

Sledeći cilj rada je ispitivanje uticaja tehnoloških parametara hidrodestilacije – brzine destilacije i odnosa masa kleka–voda (hidromodula), kao i načina pripreme ploda kleke za HD, o čemu nema dostupne literature. Potrebno je uporediti mlevenje osušenog ploda kleke („suvo”) sa mlevenjem istog u vodi („mokro”) za različita vremena mlevenja i utvrditi uticaj na prinos i hemijski sastav izdvojenog etarskog ulja .

Fizički model zasnovan na istovremenim (simultanim) procesima ispiranja i difuzije etarskog ulja iz biljnog materijala pokazao se najbolje za opisivanje kinetike klasične HD. U početnom kratkom periodu dominira sledeće – etarsko ulje koje se nalazi u ćelijama sa razorenim zidom se brzo izdvaja tj. ispira („brza” hidrodestilacija), dok etarsko ulje iz nerazorenih ćelija polako prolazi tj. difunduje prema spoljnoj površini biljnih čestica („spora” hidrodestilacija), odakle se izdvaja vodenom parom. Uočljivo je mnogo manje izdvajanje tokom „spore“ faze, što upućuje na zaključak da se u tom periodu mnogo energije troši za izdvajanje malo etarskog ulja, odnosno na potrebu detaljne diferencijalne analize utroška energije. Neophodno je odrediti

optimalno vreme do koga ima smisla voditi proces, odnosno posle koga se nepotrebno i neopravdano umanjuje do tada ostvaren prihod, trošeći više na zagrevanje nego što se dobija vrednošću izdvojenog etarskog ulja. Prema tome, naredni cilj je razvijanje modela koji će na osnovu razmatranja osnovnih ekonomskih pokazatelja (cena ploda kleke, energije, etarskog ulja i sl.) brzo i pouzdano pomoću navedenih kinetičkih modela odrediti optimalno vreme trajanja HD.

Poznato je da je tečni ostatak prilikom HD odlična osnova za spravljanje bezalkoholnih i alkoholnih napitaka (klekin destilat koji nije „klekovača“ koja se dobije aromatizovanjem šljivovice ili vinskog detilata plodovima kleke) zbog velikog sadržaja šećera. Plod kleke ima veći sadržaj šećera od bilo kog voća, čak i preko 30 mas. %, što je maskirano drugim sastojcima koji mu daju opor i gorak ukus (Veljković i sar, 1993; Veljković i Stanković, 2003). Nažalost, on se u Srbiji veoma malo koristi za komercijalnu proizvodnju. Otpadni tok iz proizvodnje klekinog destilata je džibra sa malo fino suspendovanih čestica koje su biorazgradive, pa ne predstavljaju zagađenje za životnu sredinu. Čvrsti ostatak HD (kome se može pridodati osušeni pomenuti otpadni tok destilacije tečnog ostatka) može se koristiti kao đubrivo, tj. dodatak za gajenje cveća i za organsku proizvodnju povrtarskih kultura, čak i kao dodatak stočnoj hrani. Njegovi briketi potpuno sagorevaju zbog visokog sadržaja smola, imaju visoku toplotnu vrednost, a gasovi i pare nastali njihovim sagorevanjem imaju prijatan miris i deluju antibakterijski. Pošto su antioksidativna i antimikrobna aktivnost etarskog ulja ploda kleke već dobro poznate (Glišić i sar, 2007), jedan od ciljeva disertacije je i određivanje antioksidativne i antimikrobne aktivnosti, kako tečnog, tako i čvrstog ostatka HD (o tome nema dostupnih literaturnih podataka) da bi se dokazalo da oni nisu otpad već vredne sirovine koje treba da imaju komercijalnu primenu.

Na osnovu navedenog, očekuje se da dobijeni rezultati istraživanja pokažu da je prerada ploda kleke, uz unapređenje procesa hidrodestilacije korišćenjem MHD, optimizaciju njenih tehnoloških parametara i načina pripreme ploda kleke za hidrodestilaciju, optimizaciju utroška energije (određivanje optimalnog vremena trajanja procesa) i komercijalno korišćenje tečnog i čvrstog ostatka, upravo primer bezotpadne tehnologije, što je i istaknuto naslovom disertacije.

2 TEORIJSKI DEO

1.1 Kleka (*Juniperus communis* L.)

Carstvo: *Plantae*

Podcarstvo: *Tracheobionta*

Divizija: *Coniferophyta*

Klasa: *Pinopsyda*

Podklasa: *Coniferae*

Red: *Pinales*

Familija: *Cupressaceae*

Rod: *Juniperus*

Vrsta: *Juniperus communis* L.



Slika 1.1.1 Plodovi plave kleke (*Juniperus communis* L.) (Glišić, 2006)

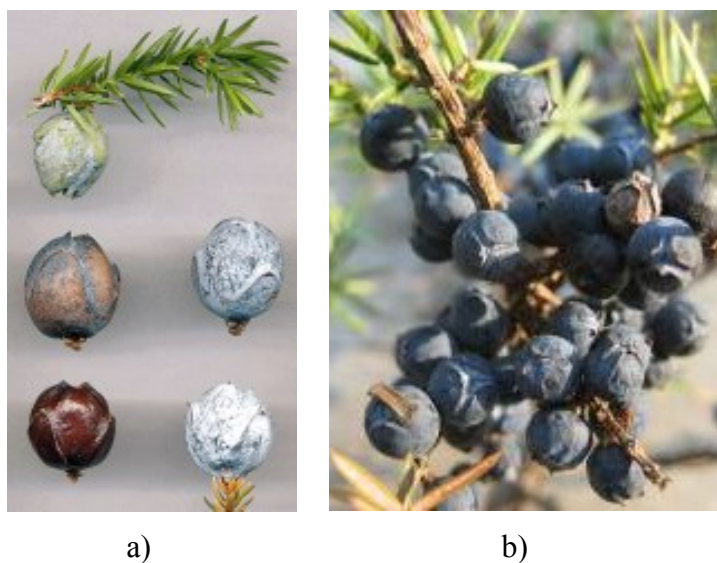
Kleka je biljka poznata i pod narodnim imenima: venja, borovica, borovac, brin, brinja, crna smreka, klekovina, plava kleka, smreka, smrča, smrek, fenja i dr. Ona je višegodišnji dvodomi, ređe jednodomi, zimzeleni žilavi grm visine 1–3 m ili drvo kupaste ili jajaste krošnje, prečnika stabla 25–30 cm, visine do 8 m, ređe do 12 m.

Grane su uzdignute ili viseće. Kleka raste veoma sporo i može doživeti veliku starost, čak i do 800 godina. Podnosi jake mrazeve i velike suše (Stanković i sar, 1994).



Slika 1.1.2 Kleka kao grm ili drvo (Milojević, 2011)

Mladi izdanci su crvenomrke boje, trograni, trouglastog poprečnog preseka. Uspravni, kruti, igličasti i bodljikavi listovi dužine 1–2 cm, raspoređeni su pršljenasto (po tri u pršljenu). Cveti od aprila do juna, u zavisnosti od nadmorske visine. Cvetovi su dvodomi i razvijaju se u pazušicama listova, na sredini grana. Muški cvetovi su u obliku šišarica svetložute boje, jajastog oblika. Ženski cvetovi su pojedinačni, okruglastog oblika na kratkoj dršci. Sazreva u jesen druge godine vegetacije, posle precvetavanja. Plodovi su bobice prevučene ljubičastom voštanom prevlakom. Koren je jako razgranat sa izraženim glavnim korenom.

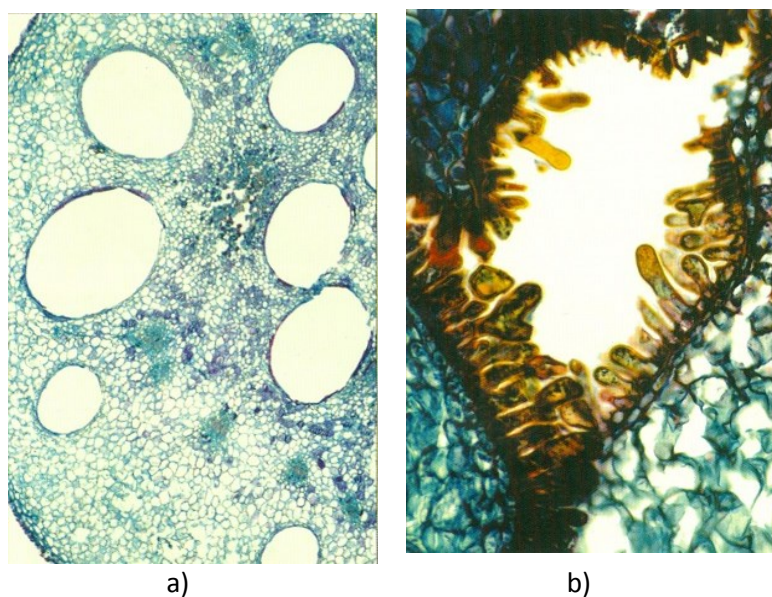


Slika 1.1.3 Plodovi kleke: a) u fazi zrenja i b) zreli (Milojević, 2011)

Obično uspeva na kiselom, neplodnom, zapuštenom, neobrađenom, ogoljenom, kamenitom i peskovitom zemljištu u primorskim, planinskim i brdovitim krajevima. U odnosu na klimatske i edafske (životna zajednica zemljišta) faktore ima veoma široku ekološku valencu. Posebno se javlja u svetlim borovim, brezovim, hrastovim, bukovim i devastiranim (šišarke, zapušteni travnjaci i pašnjaci) bukovo–jelovim šumama (Skala i sar, 1999). Najviše je zastupljena u brdsko–planinskim oblastima Južne i Istočne Evrope (Alpi, Apenini, Pirineji, Karpati, Tatre, Dinaridi), Centralne Azije, Severne Amerike i Severne Afrike (Rizvi i sar, 1986). U našoj zemlji najviše raste na Kosovu i Metohiji (Šara, Mokra gora, Rogozna i Kopaonik) i Jugozapadnoj Srbiji (Tara, Zlatibor, Zlatar, Golija, Pešter) (Stanković i sar, 1994).

1.3.4 Plod kleke (*Fructus Juniperi*)

Plodovi kleke su sferične bobice, prečnika 6–10 mm najčešće tamnoplave boje (nijanse boje od ljubičaste do tamnomrke). Na vrhu bobice su tri simetrično raspoređene brazde (Matović, 1997). Nezreli plodovi mogu biti različitih boja (zelenkasti, svetlosmeđi, sivi i crveni) kao što se vidi na slici 1.1.3 a). U tkivu ploda (parenhim) su dve ili tri tvrde, smeđe semenke. Na njihovoj površini se pod uvećanjem vide veći sekretorni organi etarskog ulja u obliku zaobljenih trostranih piramida (Reverchorn, 1997). Ostali manji sekretorni organi su rasuti u mezokarpu i teško se uočavaju (Skala i sar, 2002). Sekretorne strukture nezrelog i zrelog ploda prikazane su na slici 1.1.4.



Slika 1.1.4 Sekretorne strukture a) nezrelog i b) zrelog ploda (Svoboda i sar, 2000)

Plodovi kleke se beru od septembra do novembra u drugoj godini po cvetanju kad dobiju tamnoplavu boju. Vrši se blago trešenje pri kom otpadaju zreli plodovi na pripremljenu podlogu. Potrebno je odvojiti sve iglice, grančice, grudvice zemlje, kamenčiće i sl., što se obavlja vejanjem ili rešetanjem. Da bi se sprečila fermentacija svežih plodova u vrećama, kleka se mora da se suši prirodnim provetravanjem u odgovarajućim prostorijama ili u sušarama na 30 °C. Sadržaj vlage treba da bude 14–16 %, pri čemu je gubitak u masi ploda do 50 %. Osušeni plodovi pakuju se u vreće od višeslojne hatije ili tekstila i skladište u suvim prostorijama sa dobrim provetravanjem. Rok upotrebe dobro osušene i pravilno skladištene kleke je tri godine.

Delimičan hemijski sastav ploda kleke iskazan prosečnim masenim udelim nekih bioaktivnih komponenti prikazan je u narednoj tabeli 1.1.1. Pored navedenih komponenti, u plodu se nalazi još mnogo jedinjenja čiji kvantitativni sadržaj je manje poznat.

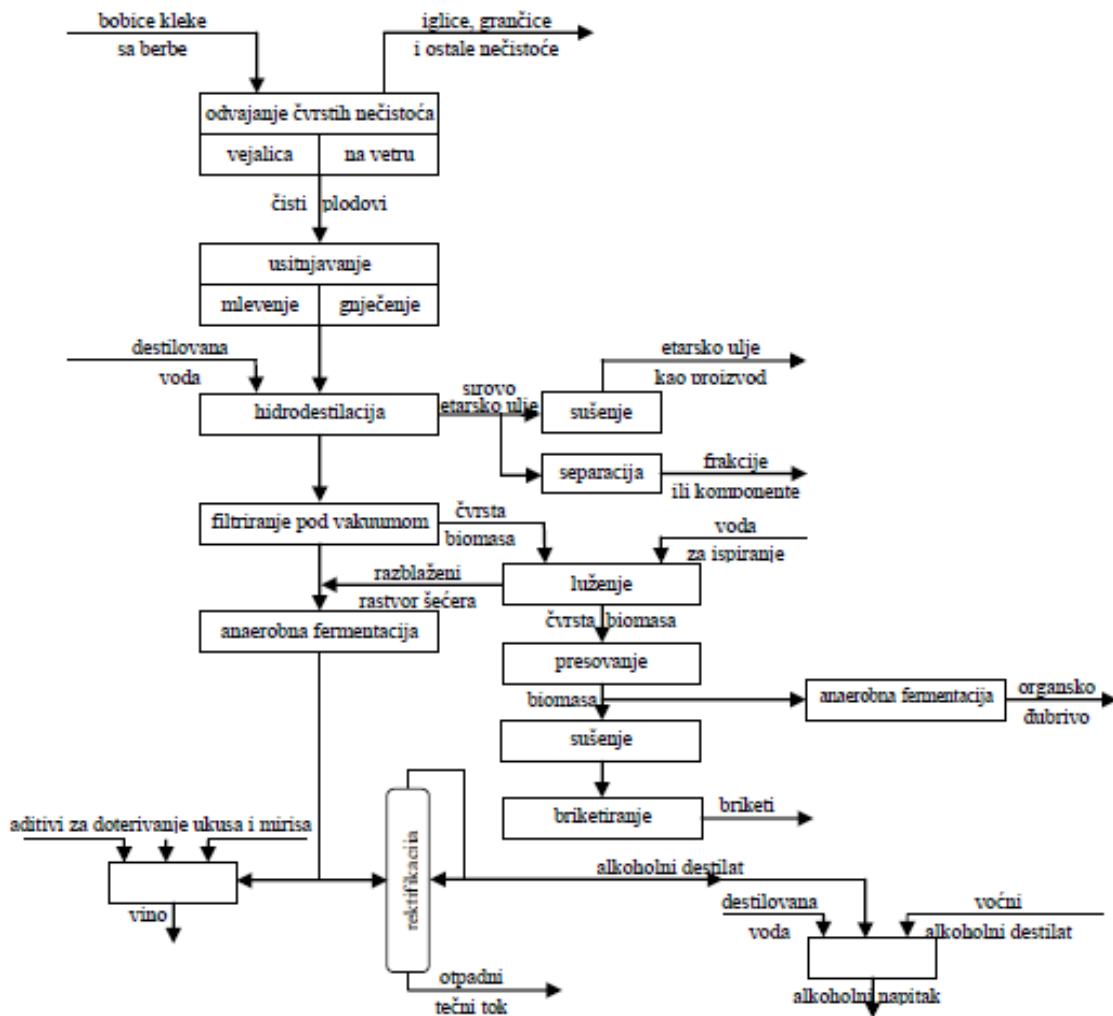
Tabela 1.1.1 Delimičan hemijski sastav ploda kleke (Stanković i sar, 1994)

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

1.3.5 Upotreba kleke

Primena kleke je poznata još od antičkih vremena (lečenje i balzamovanje u starom Egiptu, Grčkoj i Rimu). Njena lekovita svojstva se pominju čak i u Bibliji (Matović, 1997). Tokom srednjeg veka verovalo se da pomaže u sprečavanju strašnih epidemija kuge, a koristila se za lečenje mnogih bolesti. Tokom dva prethodna veka kleka, pogotovo njeno etarsko ulje, postala je vrlo vredna sirovina farmaceutske industrije zbog značajnih farmakoloških svojstava njenih bioaktivnih komponenti u medicini i veterini. Ipak, njena upotreba je mnogo veća u narodnoj u odnosu na zvaničnu medicinu, jer je ona jedan od najpoznatijih i najviše korišćenih narodnih lekova (Gildemeister i Hoffman, 1956). Čajne mešavine ploda kleke sa delovima drugih biljaka, plodovi i etarsko ulje upotrebljavaju se za lečenje polipa, raka, oteklina, tumora, kolika, vodene bolesti, kostobolje, lumbaga, išijasa, reumatizma, artritisa, arterioskleroze, bronhitisa, tuberkuloze, histerije, upala urinarnih puteva, zatim protiv zmijskog ujeda i za izbacivanje peska i kamena iz bubrega (Milojević, 2011).

U zvaničnoj medicini je poznata primena preparata na bazi ekstrakta ploda kleke kao diuretika, urodezificijensa, stomahika (lek za želudac), karminativa (sredstvo protiv nadimanja), aborativa, za izbacivanje kamena, za lečenje disajnih organa i kože. Poznati su preparati *Baccae juniperi tostae*, *Species diureticae*, *Specijes hydragogae*, *Species Juniperi*, *Species amarae*, *Infusum baccari Juniperi*, *Spiritus Juniperi compositus*, *Mixtura hydragoga*, *Tinctura Juniperi*, *Elixir Potasii Acetatis et Juniperi*, *Extractum Juniperi fluidum* i *Succus Juniperi inspissatus* (Chatzopoulou i Katsiotis, 1995). Preparati moraju da se uzimaju pod kontrolom lekara, ako se koriste oralno ne duže od šest nedelja (Moyer, 1986). U suprotnom, kao i ako se uzimaju veće doze od propisanih, može doći do iritacije i upale bubrega i urinarnih organa, jakih bolova kod mokrenja, izlučivanje belančevina i prisustva krvi u mokraći, a ređe do poremećaja rada srca i disajnih organa. U slučaju da se koriste spolja, može doći do iritacije i upale kože, crvenila, pojave mehurova na koži i jakih otoka (Skala i sar, 2002). U veterini se preparati na bazi etarskog ulja i plod kleke upotrebljavljaju kao diuretici, antiseptici, u lečenju pleuritisa (zapaljenja plućne maramice) i kao sredstvo protiv gubitka apetita.



Slika 1.1.5 Tehnološka šema prerade ploda kleke hidrodestilacijom (Milojević, 2011)

Na slici 1.1.5 prikazana je tehnološka šema prerade ploda kleke hidrodestilacijom, gde se vidi da su osim glavnog proizvoda – etarskog ulja, mogući komercijalni proizvodi vino i žestoka alkoholna pića (brinjevac, džin, liker i dr.) na osnovu tečnog ostatka i organsko đubrivo i briketi na osnovu čvrstog ostatka hidrodestilacije. Plod kleke, pogotovo ubran sa osunčanih južnih padina, sadrži više šećera (tabela 1.1.1) nego voće, šećerna repa ili bilo koja druga sirovina koja se koristi za proizvodnju alkohola, čak i preko 30 %, što je maskirano drugim sastojcima koji mu daju opor i gorak ukus (Veljković i sar, 1993; Veljković i Stanković, 2003). Klekin destilat nije „klekovača“ koja se dobije aromatizovanjem šljivovice ili vinskog destilata plodovima kleke. Nažalost, tečni ostatak se u Srbiji veoma malo koristi za komercijalnu proizvodnju. Otpadni tok iz proizvodnje klekinog destilata je džibra sa malo fino

suspendovanih čestica koje su biorazgradive, pa ne predstavljaju zagađenje za životnu sredinu. U prehrambenoj industriji kleka ima primenu u pekarstvu i naročito njeno etarsko ulje kao začim u evropskim kuhinjama (Glišić i sar, 2004).

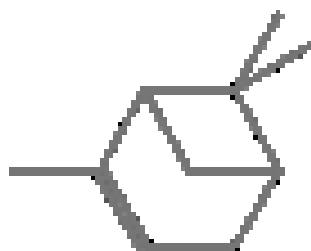
U čvrstom ostatku pri preradi ploda kleke značajno je i prisustvo većeg broja oligoelemenata koji imaju ulogu biokatalizatora i neophodni su za pravilno funkcionisanje svih tkiva i organa. Od ovih elemenata najviše ima gvožđa, bakra, cinka, mangana i hroma. Minerali i oligoelementi iz čvrstog ostatka prerade ploda kleke mogu se koristiti kao organsko đubrivo, tj. dodatak za gajenje cveća i za organsku proizvodnju povrtnarskih kultura ili kao dodatak veštačkim đubrivima za biljne kulture, tj. mogu se uključiti u primarnu proizvodnju hrane. U sekundarnu proizvodnju hrane mogu se uključiti u vidu mineralnih dodataka stočnoj hrani ili kao pojedinačni elementi kod određenih preparata za nutritivnu terapiju (Matović, 1997). Briketi potpuno sagorevaju zbog visokog sadržaja smola, imaju visoku toplotnu vrednost, a gasovi i pare, nastali njihovim sagorevanjem imaju prijatan miris i deluju antibakterijski.

1.1.3 Etarsko ulje ploda kleke (*Aetheroleum Juniperi*)

Etarsko ulje je svakako najvažniji bioaktivni sastojak ploda kleke. Ono je uljasta, lakoisparljiva, bistra, bezbojna, žućkasta ili zelenkasta tečnost, karakterističnog prijatnog mirisa. Predstavlja vrlo složenu lipofilnu tečnu smešu terpenoidnih jedinjenja, uglavnom monoterpena i seskviterpena iz grupe ugljovodonika, alkohola, aldehida, ketona, kiselina, laktona, estara i fenola alifatične, aliciklične, aromatične i heterociklične prirode. Njegove glavne fizičko–hemijske osobine propisane su Britanskom farmakopejom (British Pharmacopolia, 1992), nemačkom fitofarmaceutikom (Bisset i Wicthl, 2001) i Jugoslovenskom farmakopejom (Pharmacopea Jugoslavica, 1984) i navode se u tabeli 1.1.2. One zavise od područja na kojem je kleka rasla (nadmorska visina, sastav zemljišta, prisojna ili osojna strana), klimatsko–meteoroloških uslova (osunčanosti i količine padavina), vremena berbe, sušenja i skladištenja plodova, načina pripreme, tehnološkog postupka i njegovih parametara. Etarsko ulje je nerastvorno (preciznije vrlo slabo rastvorno) u vodi i rastvorno, tj. mešljivo sa mnogim organskim rastvaračima. Čuva se u hladnom, suvom i tamnom prostoru, zaštićeno od vazduha. Stajanjem tamni, postaje kiselo i užegne.

Tabela 1.1.2 Fizičko–hemijske osobine etarskog ulja ploda kleke
(Pharmacopea Jugoslavica, 1984)

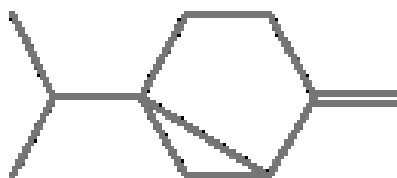
Opis	bistra, bezbojna do žućkasta ili zelenkasta tečnost karakterističnog mirisa, ljutog i nagorkog ukusa
Rastvorljivost	1 ml ulja se potpuno ili sa slabim zamućenjem rastvara u 10 ml etanola; ovakav rastvor reaguje neutralno ili slabo kiselo
Gustina (kg/m ³)	855 - 866
Indeks refrakcije	1,472 – 1,482
Ugao rotacije	–1 do –15



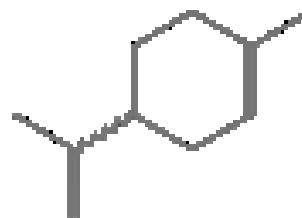
α -pinen



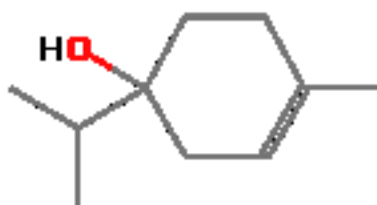
β -pinen



sabinen

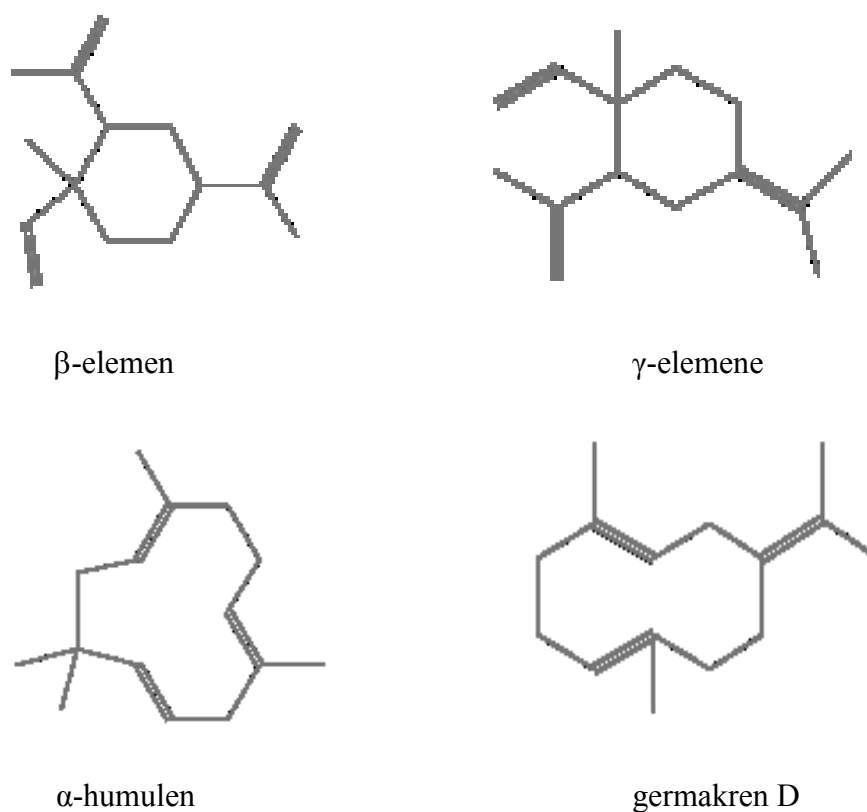


limonen



terpinen-4-ol

Slika 1.1.6 Struktura monoterpena i terpinen-4-ola (NIST Chemistry WebBook)



Slika 1.1.7 Struktura seskviterpena (NIST Chemistry WebBook)

Glavni sastojci etarskog ulja ploda kleke su monoterpeni (do 85 %) i seskviterpeni (do 27 %) ugljovodonici i njihovi oskigenovani derivati (do 4 %). Kod monoterpena mogu se razdvojiti lakoisparljivi (tačka ključanja 153–167 °C) od kojih su najčešći: triciklen, α -tujen, α -pinen, kamfen, sabinen, β -pinen i mircen; i srednjeisparljivi (tačka ključanja 173–185 °C) od kojih su najčešći: α -terpinen, limonen, γ -terpinen, cis-sabinen i terpinolen. U srednjeisparljive komponente spada i monoterpeni fenol terpinen-4-ol (tačka ključanja 212 °C). Seskviterpeni su teškoisparljive komponente (tačka ključanja 252–288 °C) od kojih su najčešći: α -kubeben, β -elemene, sibiren, trans-kariofilen, γ -elemen, murola-3,5-dien, α -humulen, germakren D, β -selinen, biciklogermakren, γ -kadinen, δ -kadinen i germakren B.

Farmakološka i druga dejstva etarskih ulja zavise od njihovog sastava, tj. svojstava njihovih komponenti i predmet su mnogih istraživanja (Angioni i sar, 2003; Bagamboula i sar, 2004; Chatzopoulou i sar, 2002; Cosentino i sar, 2003; Delaquis i sar, 2002; Dorman i Deans, 2000; Evans, 2009; Jimenez–Arellanes i sar, 2003; Kovačević

2002; Mori i sar, 2002; Shin i Lim, 2004; Tepe i sar, 2004; Tepe i sar, 2005). Terpeni imaju antibakterijsko, antiseptično i protivupalno dejstvo, usporavaju trovanje, pomažu izlučivanje otrova iz organizma i ublažavaju grčeve (Breitmaier, 2006). Za α -pinen je ustanovljeno da je jak antiseptik, proširuje krvne sudove kože što dovodi do boljeg protoka krvi i osećaja toplote, a smanjuje osećaj bola. Kamfen, kadinen, kariofilen, terpinen i sabinen imaju jako izražena antiupalna i antibakterijska svojstva. Mircen deluje kao sedativ, antipiretik i periferni analgetik, a koristi se i kao mirisna supstanca u hemijskoj i kozmetičkoj industriji. Limonen je poznat po svom jakom antivirusnom dejstvu, pomaže pri detoksikaciji jetre i izlučivanju kancerogenih supstanci i može da zaustavi rast tumora (Damjanović, 2000).

Estri pokazuju jako fungicidno dejstvo, a koriste se i kao antiseptici, sedativi i antispazmodici. Fenol terpinen-4-ol, najzaslužniji za prijatan miris etarskog ulja, pokazuje jako antiseptično dejstvo zbog aktiviranja belih krvnih zrnaca, kao i diuretsko dejstvo (Budhirajaa, 1999). Alkoholni rastvori etarskog ulja poboljšavaju probavu, imaju karminativno i antiseptično dejstvo i pomažu kod dijareje i kolika. U malim dozama etarsko ulje olakšava iskašljavanje, zbog čega se često u savremenoj fitoterapiji koristi za inhalaciju pri oboljenju organa za disanje (Damjanović, 2000). Utvrđeno je da alkoholni rastvor etarskog ulja ploda kleke ima antimikrobni efekat i da je antifungalni efekat snažniji od antibakterijskog (Mirković i Petrović, 1998).

Etarska ulja ploda kleke primenjuju se za snižavanje krvnog pritiska, ublažavanje problema varenja i smanjenje nivoa glukoze u krvi, što je značajno u lečenju dijabetisa. Potvrđeno je i njihovo umirujuće dejstvo u slučajevima nervne uznemirenosti i razdraženosti, ispoljavanja psihičke premorenosti i dekoncentracije, takođe i kod povremene ili stalne nesаницe. Upotrebljavaju se u farmaciji za dobijanje preparata sa diuretskim, uroantiseptičnim, antireumatskim i karminativnim dejstvom. Pokazuju dobre rezultate i kod lečenja artroze, gihta, ektoparazitskih i drugih kožnih oboljenja, pa se koriste za izradu masti, krema i kupki protiv raznih kožnih bolesti, reume i za bolju perifernu cirkulaciju. U kozmetičkoj industriji etarsko ulje se upotrebljava za izradu različitih kozmetičkih preparata (parfemi, dezificijensi i dezodoransi) u obliku losiona, sprejeva i krema (Damjanović, 2000).

1.2 Hidrodestilacija

1.2.1 Tehnološki postupci dobijanja etarskog ulja

Pošto postoji više tehnoloških postupaka za dobijanje etarskog ulja iz raznih biljaka, vrlo važno je odabrati odgovarajući u smislu ostvarenja glavnih zadataka, a to su, nesporno, što veći prinos izdvojenog ulja i njegov što bolji kvalitet. Mnogo toga značajno utiče na proces dobijanja etarskog ulja i njegove rezultate, samim tim i na izbor optimalnog postupka u konkretnom slučaju. To su: vrsta biljke, sadržaj ulja u biljci, deo biljke u kom je ulje locirano (koren, kora, stablo, list, cvet, plod ili seme), hemijski sastav i tržišna vrednost ulja, prinos i kvalitet etarskog ulja koji obezbeđuje primenjeni postupak, ali i mogućnost upotrebe (vrednost) tečnog i čvrstog ostatka (biomase) posle završenog izdvajanja etarskog ulja. U tabeli 1.2.1 su dati mogući tehnološki postupci dobijanja etarskog ulja i ekstrakta (Skala i sar, 1999).

Tabela 1.2.1 Tehnološki postupci dobijanja etarskog ulja i ekstrakta (Skala i sar, 1999)

Tehnološki postupak	Ekstrakciono sredstvo	Proizvod
Presovanje	mehanički pritisak	tečno ulje
Ekstrakcija	lakoisparljivi organski rastvarači	polučvrsto
	neutralne masti ili adsorbensi	čvrsto
	ugušćeni gasovi (freon)	tečno ulje
	ugljenik(IV)-oksid u natkritičnom ili subkritičnom stanju	polučvrsto
Hidrodestilacija	obična (sa vodom)	tečno ulje
	vodeno-parna	tečno ulje
	parna	tečno ulje
Destilacija na sniženom pritisku	voda-vodena para	tečno ulje

Presovanje mehaničkim pritiskom vrši se ručnim ili automatskim presama na ambijentalnoj temperaturi. Koristi se kod biljaka sa velikim sadržajem ulja u njenim perifernim rezervoarima, koji pucaju presovanjem i oslobođeno ulje sa sokom

izdvojenim iz biljnog materijala stvara emulziju iz koje se izdvaja: ultracentrifugiranjem (do 15000 o/min), filtriranjem, primenom enzima (pektaza) ili naknadnom destilacijom pomoću vodene pare. Etarsko ulje dobijeno na ovaj način boljeg je kvaliteta nego proizvedeno destilacijom, ali prinos je manji (Skala i sar, 1999).

Ekstrakcija lakoisparljivim organskim rastvaračima (petroletar, etan, aceton, i sl.) koristi se kada nije moguće primeniti destilaciju vodenom parom zbog termolabilnosti nekih komponenti etarskog ulja, tj. njihove degradacije u tom slučaju. Pošto se rastvarači lako uklone isparavanjem na sniženom pritisku, stvara se smeša ulja i lipofilnih smola, masti i voskova, tzv. konkret, iz koga se ulje odvaja pomoću etanola. Dobijaju se fina etrska ulja koja su zadržala prirodni miris biljke (Skala i sar, 1999). Neke neutralne masti i adsorbenti lako adsorbuju mirisne supstance aromatičnog bilja na ambijentalnoj temperaturi u specijalnim komorama. Tako dobijena mirisna mast se tretira etanolom i izdvajaju etarska ulja visokog kvaliteta, ali je postupak složen i spor, time i vrlo skup.

Ekstrakcija ugušćenim gasovima (freonima) i natkritičnim fluidima je relativno nov tehnološki postupak proizvodnje etarskih ulja. Glavni razlozi su velika rastvorljivost slabo polarnih jedinjenja iz biljnog materijala i veća rastvorljivost teškoisparljivih komponenti etarskog ulja u njima. Navedeno je doprinelo da se natkritični ili subkritični fluidi, najviše ugljenik(IV)–oksid koriste kao ekstrakciona sredstva. Natkritična ekstrakcija (NKE) je postupak ekstrakcije fluidom koji se nalazi u natkritičnom stanju – na temperaturi iznad svoje kritične temperature i na pritisku iznad svog kritičnog pritiska. Prisustvo termički nestabilnih komponenti i hidroliza pojedinih komponenti su ozbiljni problemi pri dobijanju prirodnih mirisa i aroma i pri izdvajanju aktivnih komponenta. Zbog toga je jasan interes da se tradicionalni tehnološki postupci zamene sa NKE koja ima sledeće osnovne prednosti:

- mogućnost ekstrakcije na temperaturama oko 313 K
- odsustvo hidrolize
- natkritični fluidi imaju moć rastvaranja sličnu tečnim organskim rastvaračima, ali istovremeno imaju veće vrednosti difuzivnosti, niže vrednosti viskoznosti i niži površinski napon

- separacija rastvorka od rastvarača je brza i jednostavna, pošto se moć rastvaranja natkritičnog fluida može menjati promenom pritiska i temperature
- dodavanjem polarnog kosolventa natkritičnom fluidu, može se uticati na selektivnost procesa
- primenom natkritičnih fluida u industrijskim procesima farmaceutske i prehrambene industrije eliminiše se problem „ostatka“ organskih rastvarača u proizvodima, koji je prisutan kada se koriste konvencionalni organski rastvarači
- sam natkritični fluid je obično jeftin i bezbedan za korišćenje; troškovi odlaganja su izuzetno mali, a u industrijskim procesima, natkritične rastvarače je lako reciklovati (Damjanović 2000, 2003, 2006).

Osnovni nedostatak NKE je skupa i složena oprema, tj veliki investicioni troškovi i mali prinos. Za komercijalnu ekstarkciju aromatičnih materija iz biljaka često se koristi subkritični (tečni) ugljenik(IV)–oksid na 0–10 °C i 60–80 bara. Ekstrakcijom na niskim temperaturama u ulju se zadržavaju najisparljivije komponente i one koje bi se pri hidrodestilaciji degradirale ili izgubile rastvaranjem u vodi (Glišić, 2006).

1.2.2 Teorija hidrodestilacije

Hidrodestilacija se primenjuje za izdvajanje supstanci koje se ne mešaju ili vrlo slabo mešaju sa vodom, pri čemu su na temperaturama ključanja nestabilne ili podložne oksidaciji. Pošto su etarska ulja složene smeše organskih jedinjenja koje se baš tako ponašaju, jasno je da je ona najčešće korišćen tehnološki postupak za njihovo dobijanje iz mnogih biljnih materijala.

Na tečnu smešu komponenata koje se ne mešaju može se primeniti Raulov (Raoult), a za parnu smešu Daltonov (Dalton) zakon. Radi se o posebnom slučaju, kada se zbog nemešanja komponente u smeši ponašaju nezavisno jedna od druge, ispoljavajući svoje napone para iznad tečne faze, za datu temperaturu parno-tečnog sistema (Milojević, 2011). Prema Raulovom zakonu parcijalni pritisak komponente u parnoj fazi dat je jednačinom:

$$p_i = P_i^\circ \cdot x_i \quad (1.1)$$

a za smešu na atmosferskom pritisku

$$P_{uk} = P_{atm} = \sum p_i = \sum_{i=1}^n P_i^{\circ} \cdot x_i \quad (1.2)$$

Ako se komponente ne mešaju

$$p_i = x_i \cdot P_i^{\circ} = 1 \cdot P_i^{\circ} = P_i^{\circ} \quad (1.3)$$

tako da je ukupni pritisak iznad tečne smeše jednak sumi napona para komponenata koje se ne mešaju:

$$P_{atm} = \sum_{i=1}^n P_i^{\circ} \quad (1.4)$$

Za etarsko ulje, kao n-komponentnu smešu, i vodu

$$P_{atm} = \sum_{i=1}^n P_i^{\circ} + P_{H_2O}^{\circ} \quad (1.5)$$

Ako se etarsko ulje, kao multikomponentna smeša, predstavi sa svojim naponom pare koji je jednak sumi napona para komponenata koje ga čine, onda prethodna jednačina dobija oblik

$$P_{atm} = P_{et.ulja}^{\circ} + P_{H_2O}^{\circ} \quad (1.6)$$

Prema Daltonovom zakonu, parcijalni pritisak komponente i u pari jednak je $p_i = y_i \cdot P$, a ukupni pritisak za otvoreni sistem

$$P_{atm} = \sum_{i=1}^n p_i = P \sum_{i=1}^n y_i \quad (1.7)$$

Za etarsko ulje kao pseudokomponentu i vodu

$$P_{atm} = y_{et.ulja} \cdot P + y_{H_2O} \cdot P = (y_{et.ulja} + y_{H_2O})P \quad (1.8)$$

Prema Daltonovom i Raulovom zakonu za etarsko ulje i vodu važi

$$P(y_{et.ulja} + y_{H_2O}) = P_{et.ulja}^{\circ} + P_{H_2O}^{\circ} \quad (1.9)$$

$$y_{et.ulja} \cdot P = P_{et.ulja}^{\circ} \quad (1.10)$$

$$y_{H_2O} \cdot P = P_{H_2O}^{\circ} \quad (1.11)$$

Deljenjem navedenih jednčina dobija se:

$$\frac{y_{et.ulja}}{y_{H_2O}} = \frac{P_{et.ulja}^{\circ}}{P_{H_2O}^{\circ}} \quad (1.12)$$

ili

$$\frac{n_{et.u\ pari}}{n_{H_2O\ u\ pari}} = \frac{P_{et.ulja}^{\circ}}{P_{H_2O}^{\circ}} \Rightarrow \frac{m_{et.ulja}/M_{et.ulja}}{m_{H_2O}/M_{H_2O}} = \frac{P_{et.ulja}^{\circ}}{P_{H_2O}^{\circ}} \Rightarrow \frac{m_{et.ulja}}{m_{H_2O}} = \frac{M_{et.ulja}}{M_{H_2O}} \cdot \frac{P_{et.ulja}^{\circ}}{P_{H_2O}^{\circ}} = const. \quad (1.13)$$

Eksperimentalno je utvrđeno da odnos $m_{et.ulja}/m_{H_2O}$ brzo opada u toku hidrodestilacije, što je posledica promene sastava etarskog ulja tokom hidrodestilacije, a to znači da pretpostavka o etarskom ulju kao pseudo–komponenti nije tačna. Iako se komponente etarskog ulja ne mešaju ili slabo mešaju sa vodom, pogrešna je pretpostavka da one ispoljavaju svoje napone para i da njihov zbir odgovara naponu pare etarskog ulja. Komponente etarskog ulja ponašaju se približno po Raulovom zakonu, a napon pare etarskog ulja jednak je zbiru parcijalnih pritisaka komponenata. On je promenljiv jer se tokom hidrodestilacije smanjuje koncentracija – prvo lakoisparljivih komponenti, zatim i srednjeisparljivih komponenti. Deo etarskog ulja koji je ostao u nerazorenim sekrecionim strukturama sporo difunduje iz unutrašnjosti čestica čvrstog biljnog materijala ka površini i tako stalno menja raspodelu komponenata između faza čvrsto–tečno i tečno–para (Milojević, 2011). Na difuziju i isparavanje etarskog ulja utiču način i vreme trajanja pripreme biljnog materijala (gnječenje, suvo mlevenje, namakanje u vodi pa mlevenje sa vodom) i tehnološki parametri procesa hidrodestilacije.

Pri hidrodestilaciji temperatura i voda utiču na promene nekih komponenta etarskog ulja (Picket i sar, 1975). Pogotovo je izražen gubitak najlakše isparljivih komponenti koje su nosioci prijatnog mirisa. Upoređivan je hemijski sastav parne faze nad svežim samlevenim biljnim materijalom sa sastavom etarskog ulja dobijenim njegovim hidrodestilisanjem. Neke lakoisparljive komponente određene u parnoj fazi nisu potvrđene u etarskom ulju, što znači da su isparile u toku pripreme biljnog materijala i odmah posle toga, a pre početka hidrodestilacije (Chialve i sar, 1982).

1.2.3 Vrste hidrodestilacije

Jugoslovenska farmakopeja propisuje tri postupka za određivanje prinosa i sastava etarskog ulja u drogama (biljnim materijalima) destilacijom sa vodom i vodenom parom:

- prvi postupak služi za određivanje etarskih ulja sa manjom gustoćom od vode
- drugi postupak za etarska ulja sa većom gustoćom od vode
- treći postupak za etarska ulja sa stereoptenima koji se zadržavaju na hladnim delovima aparature tokom destilacije (Pharmacopea Jugoslavica, 1984).

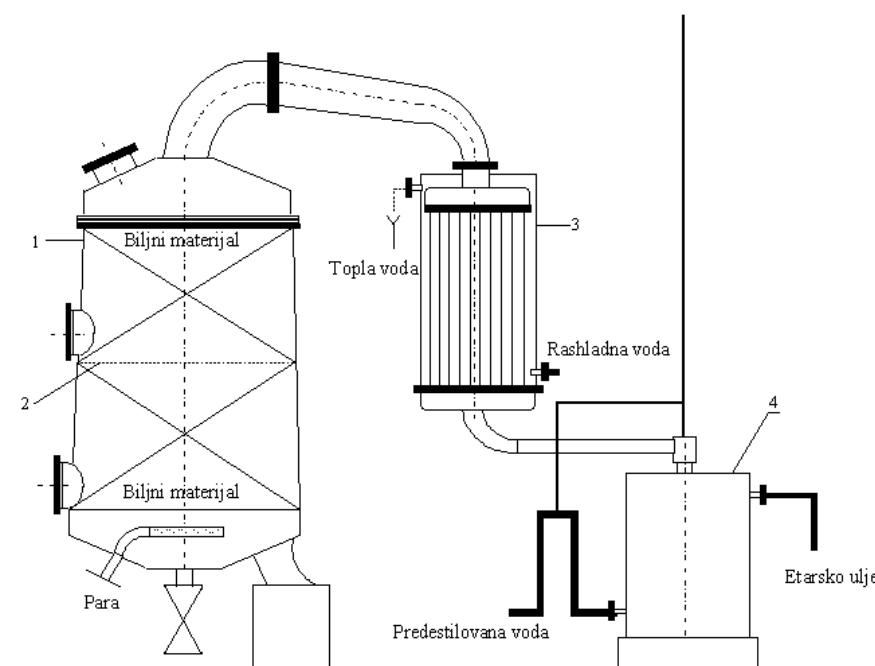
Primena hidrodestilacije zavisi i od primarnog komercijalnog aspekta prerade ploda kleke. Tako je različit pristup u Americi gde je priritet proizvodnja alkoholnih pića, a etarsko ulje se proizvodi kao sporedni proizvod hidrodestilacijom fermentisanih plodova kleke gde je hemijski sastav znatno izmenjen i sa malim prinosom, i u Evropi gde je etarsko ulje dobijeno hidrodestilacijom zrelih suvih ili svežih plodova glavni proizvod (Gildemeister i Hoffman, 1956; Guether, 1952; Morton i Meclleod, 1986; Stanković i Randelović, 1977; Tucakov, 1948). Tri načina izvođenja hidrodestilacije su:

- destilacija vodom
- destilacija vodom i vodenom parom
- destilacija vodenom parom.

Destilacija vodene suspenzije (obična destilacija) ploda kleke nije predstavljena u literaturi jer se ne koristi u industrijskoj praksi. Biljni material je sve vreme potopljen u vodi koja ključa, dobija se mali prinos i slab kvalitet etarskog ulja. Koriste je mali proizvođači u seoskim sredinama. Ako materijal opreme nije odgovarajućeg kvaliteta može doći do saponifikacije estara, time i značajnog smanjenja kvaliteta dobijenog etarskog ulja (Skala i sar, 1999). Destilacija vodom i vodenom parom vrši se uz istovremeni kontakt vode i vodene pare sa samlevenim biljnim materijalom, pri čemu je mnogo kontakt parne faze. Za njenu dobru raspodelu bitni su poroznost, visina i prečnik sloja biljnog materijala. Dobija se veći prinos i bolji kvalitet izdvojenog etarskog ulja u odnosu na destilaciju sa vodom. Poređenjem malih (do 0,3 m³) i većih (do 1 m³) destilatorima, pokazalo se da manji destilatori daju veći prinos i znatno bolji kvalitet,

laku su za manipulaciju i ložište im se može prilagoditi na sve vrste goriva. Njihovim povezivanjem postiže se željeni kapacitet. Veći destilatori imaju niz nedostataka: slepljivanje biljnog materijala, gubitak lakoisparljivih komponenti, razgradnju termolabilnih komponenti, manji prinos, lošiji kvalitet izdvojenog ulja i potrebu za parogeneratorom (što znači veće investicione troškove) pa se retko upotrebljavaju.

Destilacija vodenom parom upotrebljava se kod biljnih vrsta bogatih etarskim uljem, čije su komponente termički stabilne. Odnosnje etarskog ulja, oslobođenog iz čvrste biljne mase, pomoću vodene pare je jako efikasno, tako da brzina izdvajanja etarskog ulja zavisi od brzine difuzije kroz ćelijsku membranu, hidrolize nekih komponenata ulja i brzine razgradnje nekih jedinjenja na temperaturama na kojima se destilacija izvodi.



Slika 1.2.1 Postrojenje za destilaciju etarskog ulja pomoću vodene pare (Heckmann, Leipzig): 1) destilator, 2) perforirana ploča, 3) kondenzator i 4) florentinska boca

(Milojević, 2011)

Za razliku od destilacije vodom i vodenom parom, kod ovog postupka se vodena para proizvodi u paro-generatorima i suva ili zasićena propušta kroz biljni materijal. Uređaji za destilaciju vodenom parom, pored suda za biljni materijal, moraju imati kondenzator i separator etarskog ulja (slika 1.2.1). Najčešće se vodena para dovodi

ispod sloja samlevenog biljnog materijala kroz perforiranu ploču ili dno korpe u kojoj je smešten biljni materijal. Nedostatak uvođenja pare odozdo je kondenzacija dela pare, kondenzat utiče na strukturu sloja i povećanje pada pritiska, stvarajući lokalna predgrevanja, što loše utiče na prinos i kvalitet etarskog ulja. To se izbegava primenom Šmitovog (Schmid) hidrodifuzera. Vodena para niskog pritiska (105 do 120 kPa) propušta se odozgo na dole, kroz sloj biljnog materijala, izbegavajući kondenzaciju (Milojević, 2011). Poređenje prinosa etarskog ulja kleke ostvarenih različitim industrijskim postupcima destilacije dato je u tabeli 1.2.1.

Tabela 1.2.2 Prinos etarskog ulja ploda kleke dobijenog različitim industrijskim postupcima destilacije (Stanković i sar, 1994)

Postupak destilacije	Prinos ulja (mas. %)
Klasični destilator	1,35
Vodeno–parna u hidrodestilatoru Prva Iskra, Barič	1,75
Parna Konti-destilator (Extraktionstechnik GmbH)	1,80
Hidrodifuzer (Schmid hydrodiffusion)	2,17

1.4 Kinetika hidrodestilacije etarskog ulja

1.4.1 Modeli zasnovani na nestacionarnoj difuziji kroz biljni material

Za opisivanje kinetike hidrodestilacije etarskog ulja iz raznih biljnih materijala korišćeni su modeli zasnovani na drugom Fikovom zakonu za jednostavne geometrijske oblike na osnovu polazne pretpostavke da je difuzija etarskog ulja kroz čestice opredeljujući (limitirajući) faktor kinetike. Primenjena je numerička metoda i odgovarajući granični uslovi za rešavanje parcijalne diferencijalne jednačine drugog Fikovog zakona u slučaju sfernog oblika čestica (Benyoussef i sar, 2002). Korišćena su i analitička rešenja ove jednačine (Boutekedjiret i sar, 2005; Cassel i Vargas, 2006).

1.4.2 Model kinetike pseudo prvog reda

Uprošćavanjem modela zasnovanih na nestacionarnoj difuziji kroz biljni materijal izveden je jedan od najviše primenjivanih modela zasnovan na pretpostavci kinetike pseudo prvog reda u odnosu na etarsko ulje preostalo u biljnom materijalu. Korišćen je za modelovanje ekstrakcije etarskog ulja iz različitih biljnih materijala: lišća timijana (*Thymbra spicata* L.) (Hanci i sar., 2003), semena (*Cymbopogon* spp.) (Koul i sar, 2004), celera (*Apium graveolens* L.) (Sowbhagya i sar, 2007) i kumina (*Cuminum cyminum* L.) (Sowbhagya i sar, 2008) parnom destilacijom, kao i iz cvetova lavande (*Lavandula angustifolia*) hidrodestilacijom (Morin i sar, 1984). Osnovne postavke navedenih modela bile su sledeće:

- u slučaju destilacije sa vodenom parom, porozni sloj biljnog materijala se posmatra kao šarža i bez promene u obliku ili rasporedu za vreme procesa, dok je parna faza idealno izmešana, sa konstantnim protokom
- u slučaju destilacije sa vodom suspenzija u destilacionom sudu je idealno izmešana
- etarsko ulje se posmatra kao jedna komponenta
- biljne čestice su izotropne, jednake po veličini, obliku i početnom sadržaju etarskog ulja
- efektivni koeficijent difuzije je konstantan
- ne postoji otpor prenosu mase etarskog ulja sa spoljne površine biljnih čestica

- etarsko ulje i kondenzovana voda su potpuno nemešljivi (Milojević, 2011).

Pošto se kod hidrodestilacije etarskog ulja iz različitih biljnih materija prinos vrlo često povećava po logaritamskom zakonu, pretpostavljeno je da se izdvajanje etarskog ulja odvija po kinetici pseudo-prvog reda u odnosu na etarsko ulje preostalo u biljnom materijalu (Milojević, 2011):

$$-\frac{dq_p}{dt} = k_1 \cdot q_p \quad (1.14)$$

gde je q_p – maseni udeo (sadržaj) etarskog ulja u biljnim česticama (mas. %) u vremenu t , a k_1 – konstanta brzine (min^{-1}). Integracija jednačine (1.14) sa početnim uslovom $q_p = q_o$ za $t = 0$ daje

$$-\frac{q_p}{q_o} = e^{-k_1 \cdot t} \quad (1.15)$$

čiji se linearni oblik dobija logaritmovanjem

$$-\ln \frac{q_p}{q_o} = k_1 \cdot t \quad (1.16)$$

Uz pretpostavke da nema gubitka etarskog ulja u toku hidrodestilacije i već navedene o potpunoj nemešljivosti etarskog ulja i vode, tj. nerastvaranju etarskog ulja u vodi, bilans mase etarskog ulja povezuje početni sadržaj etarskog ulja u biljnom materijalu sa njegovim preostalim sadržajem i prinosom (masenim udelom izdvojenog etarskog ulja) – q i u bilo kom trenutku je

$$q_o = q_p + q \quad (1.17)$$

Kombinacijom jednačina (1.16) i (1.17), dobija se

$$\frac{q}{q_o} = 1 - e^{-k_1 \cdot t} \quad (1.18)$$

odnosno logaritmovanjem

$$-\ln \frac{q_o - q}{q_o} = k_1 \cdot t \quad (1.19)$$

Ako se hidrodestilacijom potpuno ne izdvoji etarsko ulje iz biljnog materijala (uspostavljanjem ravnoteže deo ostaje u njemu), onda se dobija maksimalni prinos ulja ($q = q_\infty \leq q_0$) za $t \rightarrow \infty$, a jednačina (1.19) ima oblik:

$$\ln\left(\frac{q_\infty - q}{q_\infty}\right) = -k_1 \cdot t \quad (1.20)$$

Objavljeno je još modela zasnovanih na unapređenju difuzionog modela Prvi predstavlja sistem dve parcijalne diferencijalne jednačine koje opisuju rastvaranje i difuziju etarskog ulja i zbog složenosti rešava se numerički (Benyoussef i sar, 2002). Drugi je uprošćen model koji kombinuje ukupni bilans mase etarskog ulja u koloni za parnu destilaciju i brzinu prenosa mase etarskog ulja u parnu fazu, i kao rezultat daje diferencijalnu jednačinu koja povezuje mase etarskog ulja u parnoj fazi i u biljnom materijalu. Definisana su dva režima koja odgovaraju ekstrakciji sa nezasićene površine i sporijem prenosu etarskog ulja iz unutrašnjosti biljnih čestica ka spoljašnoj površini (Romdhane i Tizaoui, 2005).

1.3.3 Fenomenološki modeli

Troparametarski model Sovove i Aleksovskog razvijen je na primeru hidrodestilacije etarskog ulja iz timijana i nerazorenog semena korijandera (Sovova i Aleksovski, 2006). Pretpostavka je da se istovremeno dešavaju dva procesa, u prvom etarsko ulje iz nerazorenih ćelija polako difunduje prema površini čestica biljnog materijala, dok u se drugom etarsko ulje sa površine razorenih ćelija brzo izdvaja. Rezultujuća jednačina je:

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - f \cdot e^{-k_1 \cdot t} - (1 - f) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (1.21)$$

gde je q – prinos (maseni udeo izdvojenog etarskog ulja) u vremenu t , q_∞ – prinos etarskog ulja u vremenu $t \rightarrow \infty$, f , k_1 i k_2 – parametri modela (prema njima naziv troparametarski) koji se izračunavaju fitovanjem ove jednačine sa eksperimentalnim vrednostima q/q_∞ i minimiziranjem sume kvadrata odstupanja između

eksperimentalnih i izračunatih vrednosti ovog odnosa. Ovaj model je pokazao odlična slaganja sa eksperimentalnim rezultatima i, shodno tome, vrlo često se primenjuje.

Razvijen je i jednostavniji, dvoparametarski model na primeru hidrodestilacije ploda kleke (Milojević i sar, 2008). Polazi se od toga da se šaržna hidrodestilacija bez hemijske reakcije može opisati drugim Fikovim (Fick) zakonom jednodimenzionalne nestacionarne difuzije. Da bi ona bila rešena, neophodno je usvojiti sledeće pretpostavke na nivou čestica biljnog materijala:

- čestice biljnog materijala su izotropne, jednake veličine, oblika i početnog sadržaja etarskog ulja i ne menjaju oblik i veličinu tokom hidrodestilacije
- etarsko ulje se posmatra kao pseudo-komponenta
- deo etarskog ulja nalazi se na površini razorenih bobica kleke, a ostatak je uniformno raspoređen unutar čestica biljnog materijala
- efektivni koeficijent difuzije je konstantan
- koncentracija etarskog ulja na površini čestice, u bilo kom trenutku, jednaka je nuli usled trenutnog „ispiranja“ sa površine
- ne postoji otpor prenosu mase sa spoljašnje površine čestice biljnog materijala.

Do rešenja ove diferencijalne jednačine dolazi se integracijom za odgovarajuće početne i granične uslove (Sherwood i sar, 1975; Treybal, 1985). Primer rešenja nakon integracije za jednostavne geometrijske oblike, kao što su cilindar, sfera i sl., je (Ponomarev, 1976):

$$\frac{q_0 - q}{q_0} = A \cdot e^{-k \cdot t} \quad (1.22)$$

gde je q – prinos (maseni udeo izdvojenog etarskog ulja) u vremenu t , q_0 – početni maseni udeo (sadržaj) etarskog ulja u biljnom materijalu za $t = 0$, A – konstanta i k – kinetička konstanta koja uključuje i efektivni koeficijent difuzije.

Zatim je korišćena analogija sa ekstrakcijom lakoisparljivim organskim rastvaračima, tj. razvijen je model kinetike hidrodestilacije etarskog ulja ploda kleke

koji podrazumeva sličan mehanizam izdvajanja (Veljković i Milenović, 2002). Prema njemu, hidrodestilacija se obavlja u dva sukcesivna fenomena:

a) „ispiranja“ etarskog ulja sa spoljašnje površine čestica biljnog materijala (tzv. „brza“ hidrodestilacija) u početnom, kratkom periodu hidrodestilacije (teorijski u $t = 0$)

b) difuzije etarskog ulja iz unutrašnjosti čestice biljnog materijala ka njenoj površini, posle čega sledi „spora“ hidrodestilacija.

Teorijskom idealizacijom (pojednostavljenjem prirodnog fenomena) usvaja se za prvi proces trenutno povećanje prinosa etarskog ulja na samom početku ($t = 0$):

$$\frac{q}{q_0} = \frac{q_w}{q_0} = b \quad (1.23)$$

gde je q_w – prinos etarskog ulja za $t = 0$ i b – odnos prinosa i početnog masenog udela (sadržaja) etarskog ulja u biljnom materijalu za $t = 0$. Drugi proces je uslovljen sporim fenomenom difuzije, pa je i promena prinosa, prema tome, spora u tom periodu hidrodestilacije, što je i opredelilo njegov naziv.

Kombinacijom prethodnih jednačina (1.22) i (1.23) dobijena je osnovna kinetička jednačina dvoparametarskog modela (parametri k i b):

$$\frac{q_0 - q}{q_0} = (1 - b) \cdot e^{-k \cdot t} \quad (1.24)$$

Ona je uprošćeni oblik jednačine troparametarskog fenomenološkog modela Sovove i Aleksovskog (1.21), tj. njen specijalni slučaj kada je jedna vremenska konstanta jednačine mnogo manja od druge i, shodno tome, član jednačine koji je sadrži može se zanemariti. Time se dobija uprošćeni oblik koji je identičan jednačini (1.24), pri čemu parameter f odgovara parametru b .

2 EKSPERIMENTALNI DEO

2.1 Hidrodestilacija

2.1.1 Biljni materijal

Za eksperimente su korišćeni zreli plodovi kleke ubrani na južnim padinama Kopaonika i Rogozne u periodu 2010–2012. Očišćeni plodovi su sušeni prirodnim provetravanjem i stavljeni u višeslojne papirne kese. One su uskladištene u mračnu, suhu prostoriju na sobnoj temperaturi, sa mogućnošću povremenog provetravanja, kako bi se izbegla fermentacija ploda.

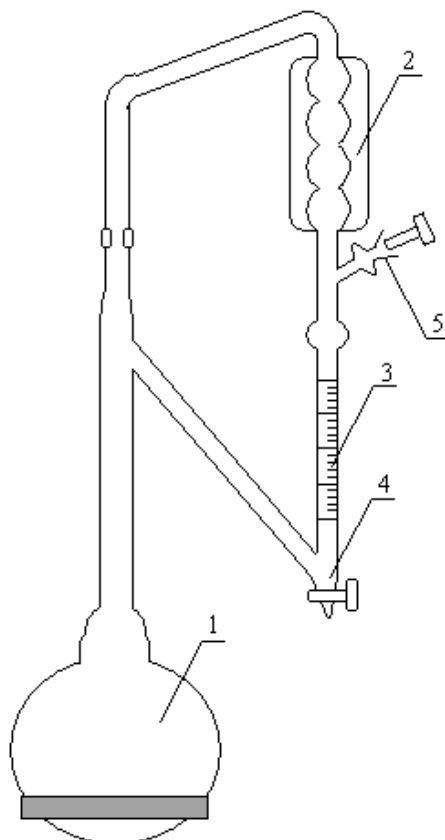
2.1.2 Priprema ploda kleke za hidrodestilaciju

Usitnjavanje plodova kleke obavljeno je klasičnim mlevenjem suvih plodova u blenderu (Bosh, 500 W) – suvo mlevenje ili namakanjem plodova u vodi u periodu od tri dana i zatim mlevenjem takve vodene suspenzije u blenderu – mlevenje sa vodom. Vremena mlevenja bila su 1, 2, 3 i 5 min. Kod suvog mlevenja, odmerena mlevena masa (300 ili 1000 g) prebačena je u balone od 2 ili 5 l uz dodatak destilovane vode tako da se postigne odnos masa kleka–voda (hidromodul) 1:3, 1:4 ili 1:5. U slučaju mlevenja sa vodom, željeni hidromodul je postignut pri namakanju plodova kleke u vodi, tj. u suspenziji pre mlevenja.

2.1.3 Aparatura za hidrodestilaciju

Hidrodestilacije su izvedene standardnim postupkom na laboratorijskoj aparaturi tipa Klevendžer (Clevenger), prikazanoj na slici 2.1. Po sklapanju aparature, puštana je voda za hlađenje i uključivano grejanje. Po pojavi kondenzovanih kapi etarskog ulja koje se, kao lakše od vode, zadržava u graduisanoj cevi za merenje njegove zapremine, počinje očitavanje zapremine izdvojenog etarskog ulja u odabranim vremenskim intervalima. Obično su na početku periodi po 5 min (do 30 min), zatim po 10 min (do 60 min), po 30 min (do 120 min) i kasnije po 60 min (do kraja hidrodestilacije). Kondenzovana (kohobaciona) voda prolazi kroz etarsko ulje i preko povratne cevi recirkuliše. Eksperimenti su izvođeni u trajanju od 4, 6 i 10 h. Na kraju je, po očitavanju ukupne zapremine izdvojenog etarskog ulja, ono ispuštano preko slavine u

odgovarajuće staklene posude (vijale) u kojima je čuvano u frižideru do hemijske analize uz dodavanje anhidrovanog natrijum–sulfata radi uklanjanja zaostale vode. Po preciznom određivanju gustine dobijenog etarskog ulja, izračunati su maseni prinosi u vremenskim intervalima, što omogućava ispitivanje kinetike hidrodesilacije.



Slika 2.1 Aparatura za hidrodestilaciju tipa Klevendžer:

1) balon za destilaciju sa nastavkom, 2) kondenzator (hladnjak), 3) graduisana cev za merenje zapremine etarskog ulja, 4) slavina i 5) odvazdušenje sa brušenim zapušačem (Milojević, 2011)

Kod klasične hidrodestilacije (HD) korišćen je standardni električni grejač, dok je kod mikrotalasne hidrodestilacije (MHD) upotrebljena mikrotalasna pećnica (maksimalna snaga 900 W, učestanost 50 Hz) prilagođena da u nju stane balon za destilaciju na koji je postavljena navedena aparatura. Kod oba načina zagrevanja podešavanjem snage grejača ostvaren je intenzitet zagrevanja potreban za željenu brzinu destilacije (iskazanu zapreminskim protokom kohobacione vode jer je on direktno srazmeran intenzitetu zagrevanja) u rasponu od 3 do 9 ml/min.

2.2 Određivanje hemijskog sastava etarskog ulja

Hemijski sastav etarskog ulja određivan je gasnom hromatografijom sa plameno–jonizujućim detektorom (GC/FID) i gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom (GC/MS).

2.2.1 Gasna hromatografija sa plameno jonizujućim detektorom

Analize su rađene na Agilent Technologies gasnom hromatografu, model 7890A (Agilent Technologies Co. Ltd, Shanghai Branch Company, Shanghai, China), opremljenom split-splitless injektorom i automatskim semplerom za tečnosti (ALS), povezanim sa HP-5 silika kapilarnom kolonom (30 m x 0.32 mm, debljina filma 0.25 μ m) i podešenim sa plameno–jonizujućim detektorom (FID). Kao noseći gas korišćen je vodonik protoka 1 ml/min na 210 °C (režim konstantnog pritiska), temperatura injektora iznosila je 220 °C, detektora 240 °C, dok je temperatura kolone linearno programirana od 60 do 240 °C (pri brzini od 3 °/min), i održavana izotermiski na 240 °C sledećih 10 minuta. Rastvori etarskih ulja u etanolu (~1%) injektirani su pomoću ALS (1 μ l, split-režim, 1:30). Procentni izveštaji, dobijeni kao rezultat standardne obrade hromatograma, korišćeni su kao osnova za kvantifikaciju. Kvantifikacija je postignuta metodom normalizacije, prema preporuci iz standarda ISO 8897:2010.

2.2.2 Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom

Isti hromatografski analitički uslovi kao navedeni za GC/FID, korišćeni su i za potrebe GC/MS sa kapilarnom kolonom HP–5MS (30 m x 0.25 mm, debljina filma 0.25 μ m), korišćenjem HP G 1800C GCD Series II Electron Ionization Detector (EID) sistema (Hewlett–Packard, Palo Alto, CA, USA). Umesto vodonika, helijum je korišćen kao noseći gas. Temperatura transfer linije iznosila je 240 °C. Maseni spektri snimani su u EI režimu (70 eV), u opsegu m/z 40–400. Rastvori uzoraka u etanolu (~1 %) injektirani su pomoću ALS (1 μ l, split-režim, 1:30). Sastojci su identifikovani poređenjem njihovih masenih spektara sa onim iz Wiley275 i NIST/NBS baza podataka, korišćenjem različitih načina pretrage, Probability Merge Search (PBM) prisutnom u instrumentu G1701DA. ver. D.00.00.38 data station software i NIST 2.0.

Eksperimentalne vrednosti za retenciona vremena određene su korišćenjem kalibrisanog programa Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System Software (AMDIS ver.2.64), poređene su sa onima iz dostupne literature i korišćene su kao dodatno sredstvo da potvrde MS nalaze (Adams, 2007).

2.3 Određivanje antioksidativne aktivnosti

Ispitana je antioksidativna aktivnost etarskog ulja izdvojenog hidrodestilacijom ploda kleke 05.4.2012. i etarskog ulja, tečnog ostatka (vodene faze) i čvrstog ostatka dobijenih hidrodestilacijom ploda kleke 31.5.2014.

2.3.1 Hemikalije i reagensi

Sve hemikalije korištene u radu su p.a. čistoće: Folin-Ciocalteu; 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH); 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonil) diamonijumova so (ABTS); 2,4,6-tri (2-piridil)-S-triazin (Sigma Chemical Co., St. Luis, USA); galna kiselina; $AlCl_3$; kvercetin hidrat; vitamin C; $K_2S_2O_8$ (Merck, Darmstadt, Germany); $NaHCO_3$; $FeCl_3 \times 6 H_2O$; $FeSO_4 \times 7H_2O$ (Lach-Ner, s.r.o., Czech Republic); K-fosfatni pufer (pH 7,4); natrijum acetat (Zorka Pharma a.d., Šabac, Republika Srbija), Trolox (6-hidroksil-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina) (Sigma Chemical Co., St. Luis, USA); D-2-deoksiriboza (Acros, New Jersey, USA).

2.3.2 Priprema metanolnog ekstrakta čvrstog ostatka hidrodestilacije

Pripremljen je metanolni ekstrakt masene koncentracije 0,01 g/l. Čvrsti ostatak hidrodestilacije ploda kleke (0,5 g) rastvoren je u 25 ml metanola sonifikacijom (3x6 min) pri 50 Hz. Nakon filtriranja, procedura s talogom je ponovljena dva puta. Prikupljeni filtrati su spojeni i dopunjeni do 50 ml metanolom.

2.3.3 Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određeni se modifikovanom metodom Folin-Ciocalteu (Wolfe i sar, 2003). Za određivanje su potrebni: osnovni rastvor (komercijalni) Folin-Ciocalteu, radni rastvor Folin-Ciocalteu (osnovni rastvor Folin-Ciocalte, razblažen vodom u

odnosu 1:10), NaHCO₃ 7,5 % (v/v), standardni rastvori galne kiseline u smesi metanol:voda = 50:50 (v/v), u rasponu koncentracija 50–250 µg/ml. Merenje se vrši posle mešavanja 1,5 ml radnog rastvora Folin-Ciocalteu, 1,5 ml NaHCO₃, 100µl uzorka i 100µl metanola. Apsorpcija se meri nakon 30 min na 765 nm uz slijepu probu (1,5 ml radnog rastvora Folin-Ciocalteu + 1,5 mL NaHCO₃ + 100µl metanola + 100µl destilovane vode). Standardni dijagram se pravi tako što se umjesto 100µl uzorka u reakcionu smesu unosi 100µl galne kiseline u navedenom rasponu koncentracija. Određena je zavisnost za ukupne fenole, $y = 0.0016 x + 0.0234$, $R^2 = 1$, gdje su y – apsorpcija i x – koncentracija galne kiseline u µg/ml. Rezultati se izražavaju kao fenoli ekvivalentni galnoj kiselini (GAE), µg GAE/g čvrstog ostatka, odnosno µg(GAE)/ml etarskog ulja ili vodene faze.

2.3.4 Određivanje ukupnih flavonoida

Ukupni flavonoidi određuju se metodom Ordon (Ordon i sar, 2006). Prvo se 1ml uzorka pomeša sa 1ml 2 % AlCl₃ u etanolu, ostavi se da stoji 1 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga se izmeri apsorpcija na 420 nm. Žuta boja rastvora ukazuje na prisustvo flavonoida. Standardni dijagram se pravi tako što se umjesto 1ml uzorka u reakcionu smjesu unosi 1ml rastvor kvercetin hidrata u metanolu različitih koncentracija (10–80 µg/ml). Određena je zavisnost za ukupne flavonoide, $y = 0,0368 x - 0,135$, $R^2 = 0,9996$, gdje su y – apsorpcija i x – koncentracija kvercetina u µg/ml. Ukupni flavonoidi se izražavaju kao µg kvercetina (Qc)/g čvrstog ostatka, ili kao µg kvercetina (Qc)/ml etarskog ulja, odnosno vodene faze.

2.3.4 Određivanje ukupnih flavonola

Ukupni flavonoli određuju se metodom Kumaran–Karunakaran (Kumaran i Karunakaran, 2007). Prvo se 1 ml uzorka pomeša sa 1ml 2 AlCl₃ u etanolu i 1,5 ml natrijum acetata (50g/l) ostavi se da stoji na 20 °C. Nakon 2,5 h meri se apsorpcija na 440 nm. Standardni dijagram se pravi tako što se umjesto 1ml uzorka u reakcionu smesu unosi 1ml rastvor kvercetin hidrata u metanolu različitih koncentracija (10–80 µg/ml). Određena je zavisnost za ukupne flavonole, $y = 0,0214x + 0,004$, $R^2 = 0.9993$, gdje su y – apsorpcija i x – koncentracija kvercetina u µg/ml. Ukupni flavonoli se izražavaju kao µg kvercetina (Qc)/g čvrstog ostatka, odnosno µg(Qc)/ml etarskog ulja ili vodene faze.

2.3.5 Određivanje antioksidativne aktivnosti

Za određivanje antioksidativne aktivnosti korišćene su neenzimske indirektno metode, tj. testovi na stabilne DPPH[•], ABTS^{•+} i OH⁻ radikale.

2.3.6 DPPH test

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) je stabilan slobodni radikal koji ima jedan nespareni valentni elektron na jednom atomu azotovog mosta. „Gašenje” DPPH[•] radikala je osnova vrlo popularne antioksidativne DPPH metode koja se zasniva na ispitivanju sposobnosti antioksidanata (obično biljnih ekstrakata) da neutrališu DPPH[•] radikale. Antioksidativna aktivnost određuje se metodom Brand–Williams (Brand–Williams i sar, 1995). U kivetu se doda 3,9 ml rastvora DPPH u metanolu koncentracije 0,25 g/l (sveže pripremljenog) i 0,1 ml uzorka, odnosno 0,1 ml metanolnog rastvora Trolox-a koncentracije u rasponu od 1–10 µg/mL (za izradu baždarne krive). Nakon stajanja smese u periodu od 0,5 h u mraku meri se apsorpcija uzorka, odnosno rastvora Trolox-a na 515 nm uz slepu probu metanol. Antioksidativna aktivnost iskazana kao procenat inhibicije, *I* % računa se na sledeći način:

$$I \% = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{uzorak}}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

gde je: A_{kontrol} apsorpcija DPPH radnog rastvora + metanol, A_{uzorak} apsorpcija DPPH radnog rastvora + uzorak (ili standardni rastvor).

Antioksidativna aktivnost u odnosu na DPPH[•] radikal izražava se kao vrednost Trolox ekvivalent antioksidativne aktivnosti (TEAC od eng. Trolox equivalent antioxidant activity). Ona je definisana kao koncentracija rastvora Trolox-a (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilhroman-2-karbonska kiselina), u vodi rastvorljivog analoga vitamina E, izražena u µg Trolox/ml, odnosno µg Trolox/g suve mase za čvrsti ostatak, koji ima ekvivalentnu antioksidativnu aktivnost kao rastvor ispitivanog antioksidanta odgovarajuće koncentracije. Koristeći baždarni pravac očita se koncentracija Trolox-a koja odgovara apsorpciji (procenu inhibicije, *I* %) ispitivanog antioksidanta (uzorka). Jednačina za baždarni pravac u eksperimentu bila je $y = 12,9923 x - 10,84$, $R^2 = 0,9944$; gde je *y* – procenat inhibicije i *x* – koncentracija Trolox-a u µg/ml).

2.3.7 ABTS test

Ova metoda zasniva se na oksidaciji 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonil) diamonijumove soli (ABTS) pomoću kalijum persulfata pri čemu nastaje zelenoplavi ABTS radikal katjon ($ABTS^{\bullet+}$). Ovaj radikal katjon će se redukovati pomoću antioksidanata koji će dati H atom $ABTS^{\bullet+}$ katjon radikal. Redukcijom $ABTS^{\bullet+}$ vratiće se u bezbojni ABTS oblik. Za ABTS test koristi se modifikovan metod Re (Re i sar, 1999). Pripreme se osnovni rastvori: 7 mmol/l ABTS reagensa i 2,4 mmol/l kalijum persulfata. Radni rastvor ABTS-A se priprema tako što se mešaju osnovni rastvori u jednakim zapreminama i ostave da reaguju na sobnoj temperaturi u tamnom 12 h. Nakon toga se 1ml radnog rastvora ABTS-A razblaži sa 60 ml metanola dok se ne dobije rastvor ABTS-B čija je apsorpcija $0,706 \pm 0,001$ na 734 nm. Radni rastvor ABTS-B se priprema svež za svako merenje. Ono se vrši tako da se pomešaju 1ml rastvora ABTS-B i 1ml rastvora uzorka ili 1ml rastvora Trolox-a raspona koncentracija 0,1–5 $\mu\text{g/ml}$ (za izradu baždarnog dijagrama) i nakon 7 min se izmeri apsorpcija na 734 nm. Za svaku novu koncentraciju uzorka potrebno je imati novu slepu probu, tj. 1 ml metanola i 1 ml uzoraka te koncentracije. Antioksidativna aktivnost iskazana kao procenat inhibicije, $I\%$ računa se na sledeći način:

$$I\% = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{uzorak}})/A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

gdje je: A_{kontrol} apsorpcija rastvora ABTS-B + metanol, A_{uzorak} apsorpcija rastvora ABTS-B + uzorak (odnosno standardni rastvor). Antioksidativna aktivnost u odnosu na $ABTS^{\bullet+}$ radikal izražava se takođe kao TEAC vrednost, opisana u DPPH testu. Jednačina za baždarni pravac bila je $y = 15,94 x - 10,527$, $R^2 = 0,9984$; gde je y – procenat inhibicije i x – koncentracija Trolox-a u $\mu\text{g/ml}$.

2.3.7 Hidroksil radikal test

Princip metode „hvatanja OH^{\bullet} radikala“ se zasniva na kvantitativnoj degradaciji deoksiriboze u malondialdehid, koji se pri zagrevanju kondenzuje sa tiobarbiturnom kiselinom, stvarajući ružičasti kompleks. Za određivanje hidroksil radikalske aktivnosti koristi se modifikovana metod Wang (Wang i sar, 2011). Reakciona smeša sadrži 2,8 mmol/L deoksiribozu, 2,8 mmol/l H_2O_2 , 25 $\mu\text{mol/l}$ $FeCl_3$, 80 $\mu\text{mol/l}$ Na-EDTA, 0,2 mol/L fosfatni pufer (pH 7,4) i ispitivani uzorak (0,025 ml), odnosno Trolox

koncentracije 15–75 µg/ml (za izradu baždarnog dijagrama). Reakcija započinje dodatkom L-askorbinske kiseline do konačne koncentracije od 100 µmol/l, reakciona smeša se inkubira 20 min na 50 °C u vodenom kupatilu. Nakon inkubacije boja se razvija dodatkom 1ml 2-tiobarbiturne kiseline (1g/100ml) i 1ml trihlorsirćetne kiseline (5g/100 ml) i zagreva na ključalom vodenom kupatilu 15 min. Apsorpcija se meri na 532 nm uz fosfatni pufer i deoksiribozu kao slepu probu. Ista reakciona smeša, ali bez uzorka, korišćena je kao kontrolni rastvor. Antioksidativna aktivnost hidroksil radikala iskazana kao procenat inhibicije, $I\%$ računa se na sledeći način:

$$I\% = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{uzorak}})/A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

gdje je A_{kontrol} apsorpcija kontrolnog rastvora na 532 nm, a A_{uzorak} apsorpcija ispitivanog uzorka. Kao referentno jedinjenje je korišćen je rastvor Trolox-a koncentracija u opsegu 20–100 µg/ml. Antioksidativna aktivnost i u odnosu na OH^{\cdot} radikal, isto kao kod DPPH i ABTS testova, izražava se takođe kao TEAC vrednost, opisana u DPPH testu. Jednačina za baždarni pravac bila je $y = 2,12x - 27,88$, $R^2 = 0.957$; gde je y – procenat inhibicije i x – koncentracija Trolox-a u µg/ml).

2.4 Određivanje antimikrobne aktivnosti

2.4.1 Priprema sojeva mikroorganizama

U istraživanju su korišćeni American Type Cell Collection (ATCC) sojevi deset vrsta mikroorganizama. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* predstavljaju Gram pozitivne bakterije (G+), dok su *Proteus hauseri*, *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* Gram negativne bakterije (G-). *Candida albicans* i *Cryptococcus neoformans* predstavljaju oportunističke patogene gljivice; kandida je predstavnik askomiceta, dok je kriptokokus predstavnik bazidiomiceta. U tabeli 2.1 predstavljene su korišćene vrste, kao i njihove ATCC oznake.

Tabela 2.1 Sojevi bakterija korišćeni u ispitivanju antimikrobne aktivnosti

	Vrsta mikroorganizma	ATCC soj
1	<i>Listeria monocytogenes</i>	19115
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	6538
3	<i>Enterococcus faecalis</i>	29212
4	<i>Proteus hauseri</i>	13315
5	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	35150
6	<i>Yersinia enterocolitica</i>	27729
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853
8	<i>Shigella sonnei</i>	29930
9	<i>Candida albicans</i>	10259
10	<i>Cryptococcus neoformans</i>	76484

Aktivne kulture mikroorganizama su pripremljene od liofilizovanih sojeva, prebacivanjem u epruvete sa 10 ml odgovarajuće hranljive podloge. Za rast bakterijskih sojeva korišćen je hranljivi bujon, osim za *L. monocytogenes* za čiji je rast korišćen

tripton soja bujon. Za rast *C. albicans* korišćen je sladni bujon. Pomoću Mek Farlanda (Mac Farland) utvrđena je gustina mikroorganizama u suspenziji, koja se izražava jedinicom CFU – Collony Forming Units, odnosno brojem jedinki sposobnih za rast, tj. obrazovanje kolonije. Gustina svih sojeva onda je podešena razblaživanjem na isti stepen, i to 10^5 CFU, čime je omogućeno upoređivanje efikasnosti ekstrakta između različitih sojeva. Kao indikator rasta, u bakterijske suspenzije dodata je boja trifenil-tetrazolidijum hlorid (TTC) (0,0075 %).

2.4.2 Priprema ekstrakata

Vodeni ekstrakti pripremljeni su tako što je vodena faza (tečni ostatak) hidrodestilacije najpre centrifugirana (3000 g, 10 min), a zatim liofilizovana. Etanolni ekstrakti čvrstog ostatka hidrodestilacije (DER ~ 20:1) pripremljeni su kombinacijom maceracije (20 h) i ultrazvučne ekstrakcije (30 min). Profiltrirana smesa je centrifugirana (3000 g, 10 min) a zatim uparena do suva pod sniženim pritiskom (Heidolph Hei-VAP Value rotary evaporator, Schwabach, Germany). Ekstrakti su dodatno liofilizovani da bi se oslobodili vezanog rastvarača. Liofilizovani ekstrakti su za dalji rad čuvani u frižideru, zaštićeni od vlage.

2.4.3 Priprema uzoraka

Najpre je pripremljen osnovni rastvor ekstrakata, koncentracije 40 mg/ml. Vodeni ekstrakti rastvoreni su u vodi, dok su etanolni ekstrakti najpre rastvoreni u dimetil-sulfoksidu (DMSO) a zatim razblaženi vodom deset puta (pri čemu je dobijena emulzija) do koncentracije DMSO od 10 %, koja ne utiče na rast mikroorganizama.

2.4.4 Bujon–mikrodiluciona metoda

Bujon–mikrodilucionom metodom kvantitativno je određena antimikrobna aktivnost. Metoda je sprovedena prema standardu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005), sa nekim modifikacijama (Klaus i sar, 2015). Izvedena je u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarčića gde su prvo pripremljena serijska razblaženja rastvora ekstrakata, tako da je zapremina rastvora uzorka u svakom bazenu bila 50 μ l, a zatim je nanošeno po 50 μ l suspenzija mikroorganizama. U poslednja dva bunarčića, koja su predstavljala pozitivnu kontrolu i slepu probu, nanošeno je 100 μ l suspenzija,

odnosno 100 μ l hranljivog bujona. Konačne koncentracije ekstrakata čije je antimikrobno dejstvo ispitivano bile su upola manje od početno pripremljenih i pokrivalo su opseg od 20 do 0,02 mg/ml. Sve probe izvršene su u tri ponavljanja. Ploče su zatim stavljene u inkubator na 37 °C i inkubacija je vršena 24 h za bakterijske sojeve i 48 h za gljivice.

Rezultati ispitivanja očitavani su nakon inkubacije. Utvrđivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) ekstrakta zasnivalo se na prisustvu, odnosno odsustvu crvene boje u bunarčićima mikrotitracionih ploča za bakterije ili kolonija na dnu bunarčića za gljivice. Najmanja koncentracija rastvora ekstrakata pri kojoj ne bi došlo dopromene boje za bakterije, odnosno vidljivog stvaranja kolonija na dnu bazena za gljivice uzimana je kao MIK. Primenjen je princip „strožeg“ kriterijuma, tj. ukoliko bi se rezultati razlikovali za tri ponavljanja, za MIK vrednost uzimana je veća koncentracija.

3 REZULTATI I DISKUSIJA

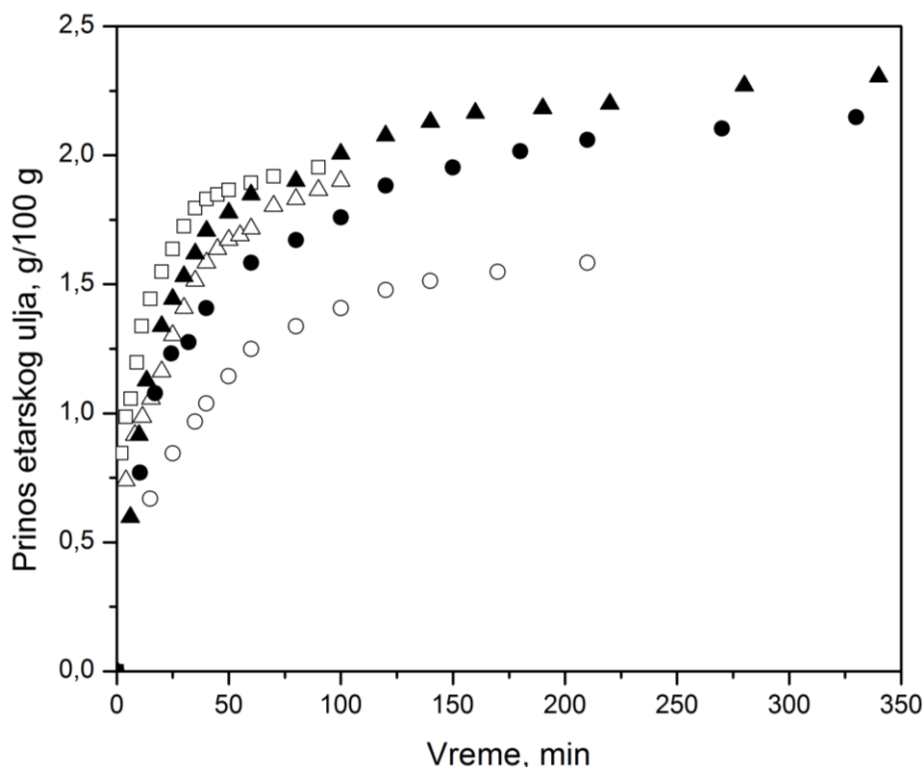
3.1 Mikrotalasna hidrodestilacija

U eksperimentu I ispitivana je mikrotalasna hidrodestilaciju (MHD) i klasična hidrodestilaciju (zagrevanje električnim grejačem – HD) etarskog ulja pri različitim brzinama destilacije (intenzitetima zagrevanja). Glavni cilj je bilo ispitivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja pomoću MHD, tj. razvijanje kinetičkog modela zasnovanog na mehanizmu izdvajanja etarskog ulja iz biljnog materijala za MHD i upoređivanje sa kinetičkim modelima korišćenim do sada. Takođe, ispitan je i uticaj načina zagrevanja (HD i MHD) pri različitim brzinama destilacije na prinos i hemijski sastav etarskog ulja.

3.1.1 Kinetika i prinos kod klasične i mikrotalasne hidrodestilacije

Slika 3.1.1 prikazuje promene prinosa etarskog ulja ploda kleke tokom HD i MHD pri različitim brzinama destilacije. Oblik krivih je isti za obe destilacione tehnike. Krive pokazuju postojanje brze destilacije etarskog ulja u početnom periodu destilacije (faza nazvana ispiranje), u kojem se prinos etarskog ulja brzo povećava zbog brzog izdvajanja etarskog ulja sa spoljne površine biljnih čestica. U vrlo ranoj fazi destilacije etarskog ulja, prinos etarskog ulja je veći za MHD nego za HD, što potvrđuje zapažanje Rezvanpana (Rezvanpanah i sar, 2008). Sa napredovanjem destilacije, brzina izdvajanja etarskog ulja se smanjuje u srednjoj prelaznoj fazi sve dok se ne dostigne ravnoteža. U poslednjoj fazi, difuzija etarskog ulja kroz biljne čestice kontroliše brzinu ukupnog procesa, što znači da je on vrlo spor.

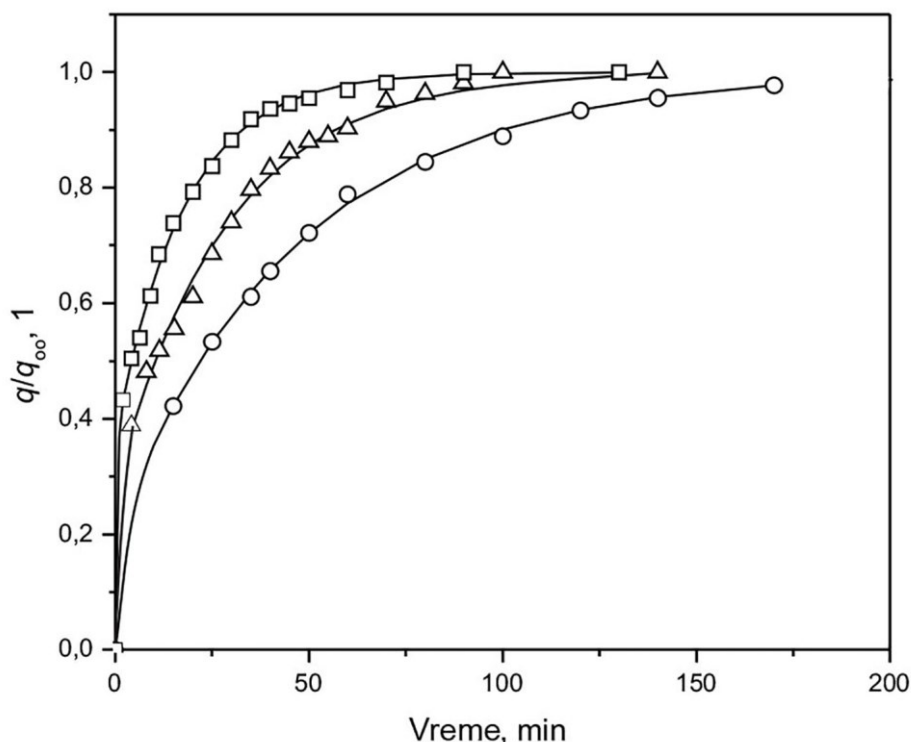
Mehanizam izdvajanja etarskog ulja pomoću HD i MHD je blisko povezan sa anatomijom ploda kleke i njihovim mlevenjem (Milojević i sar, 2008). Etarsko ulje se nalazi unutar izduženih tuberkula ploda kleke. Ovi rezervoari eteričnog ulja mogu biti razoreni mlevenjem ploda kleke. Dakle, deo etarskog ulja se oslobađa iz razorenih tuberkula na spoljnu površinu biljnih čestica i brzo odvaja od biljnih čestica tokom početne faze ispiranja. Istovremeno, etarsko ulje iz nerazorenih tuberkula difunduje polako iz unutrašnjosti biljnih čestica prema spoljnoj površini. Stoga, etarsko ulje destiluje sve sporije i sporije sa napredovanjem destilacije.



Slika 3.1.1 Promena prinosa etarskog ulja ploda kleke u toku HD i MHD pri različitim brzinama destilacije (brzina destilacije ml/min: 3 – krug, 6 – trougao i 9 – kvadrat; HD – crni simboli i MHD – otvoreni simboli)

Na slici 3.1.2 predstavljen je uticaj ulazne mikrotalasne energije na promene prinosa etarskog ulja ploda kleke sa napredovanjem MHD. Sa povećanjem ulazne mikrotalasne energije, koja dovodi do povećanja brzine destilacije, više energije se predaje sistemu, što izaziva povećanje i početne brzine destilacije etarskog ulja i ravnotežnog prinosa etarskog ulja. Etarsko ulje dostiže tačku ključanja brže sa povećanjem ulazne mikrotalasne energije, što dovodi do kraćeg trajanja destilacije. Apsorpcija unete mikrotalasne energije u vodi rezultuje bržim porastom temperature pri povećanju ulazne mikrotalasne energije (Presti i sar, 2005). Viša temperatura poboljšava razaranje biljnih organa i olakšava oslobađanje etarskog ulja (Käufmann i sar, 2001), što se pripisuje visokom gradijentu pritiska unutar biljnih čestica generisanom unutrašnjim pregrevanjem mikrotalasnim zračenjem (Karakaya i sar, 2014). Ovaj efekat je više izražen pri većoj ulaznoj mikrotalasnoj energiji (Rezvanpanah i sar, 2008). Isti rezultat povećane početne brzine destilacije ulja i ravnotežnog prinosa etarskog ulja sa

povećanjem ulazne toplotne energije je primećen za HD etarskog ulja ploda kleke (Milojević i sar, 2008).



Slika 3.1.2 Promena normalizovanog prinosa etarskog ulja ploda kleke za MHD pri različitim brzinama destilacije (brzina destilacije, ml/min: 3 – krug, 6 – trougao i 9 – kvadrat; simboli – eksperimentalne tačke; linije – jednačina 3.4)

Maksimalni prinosi etarskog ulja izdvojeni iz ploda kleke kod HD i MHD pri različitim brzinama destilacije prikazani su u tabeli 3.1.1. Nezavisno od brzine destilacije, veći prinosi etarskog ulja su dobijeni pri HD nego pri MHD, ali prvi proces je bio znatno duži nego drugi (Simić S., 2011; Simić M., 2011) Verovatno, trajanje MHD je bilo suviše kratko za deo slabo isparljivih jedinjenja (seskviterpena) da difuzijom kroz biljne čestice dođu do spoljne površine i da predestiluju. Ovaj rezultat se slaže sa nedavnim radom o prinosu etarskog ulja korijandera dobijenih pri HD i MAHD (Phutdhawong i sar, 2007). Međutim, Golmakani i Rezei objavili su veći krajnji prinos etarskog ulja iz svežih nadzemnih delova majčine dušice za kraće vreme pri MHD nego pri HD (Golmakani i Rezaei, 2008). S druge strane, Karakaja i sar. su primetili iste ravnotežne prinose za HD i MHD u slučaju etarskog ulja lišća ruzmarina, ali je vreme ekstrakcija potrebno da se postigne maksimalni prinos etarskog ulja kraće za oko 65 % pri MHD (Karakaya i sar, 2014). Slični prinosi etarskog ulja ulje su dobijeni pri MHD i

HD iz letnje i zimske čubrike (Rezvanpanah i sar, 2008), lišća *Cinnamomum iners* (Phutdhawong i sar, 2007) i semena morača (Kapás i sar, 2011).

Tabela 3.1.1 Prinos etarskog ulja kod klasične (HD) i mikrotalasne hidrodestilacije (MHD)

Brzina destilacije (ml/min)	HD			MHD		
	Ulazna snaga (W)	Prinos etarskog ulja (mas. %)	Vreme (min)	Ulazna snaga (W)	Prinos etarskog ulja (mas. %)	Vreme (min)
3	220	2,15	330	300	1,58	210
6	350	2,31	340	450	1,90	100
9	-	-		720	1,94	90

Tabela pokazuje da se prinos etarskog ulja povećava sa porastom brzine destilacije i za HD i za MAHD. To se može objasniti pozitivnim uticajem većeg unosa energije na sposobnost sistema da predestiluje etarsko ulje ploda kleke, da oslobodi etarsko ulje iz neuništenih tuberkula i da ubrza difuziju etarskog ulja kroz biljne čestice (Milojević i sar, 2008).

3.1.2 Modelovanje kinetike mikrotalasne hidrodestilacije

Izveden je kinetički model za šaržni destilator, gde je biljni materijal potopljen u vodi. Vodena para je dobijena zagrevanjem suspenzije mikrotalasnim zagrevanjem i ona je nosila pare etarskog ulja do hladnjaka. Tada je smeša vode i etarskog ulja razdvojena na kohobacionu vodu i etarsko ulje. Za razvijanje matematičkog modela ovog procesa usvojene su sledeće pretpostavke:

1. biljne čestice su izotropne, jednake veličine, oblika i početnog sadržaja etarskog ulja
2. etarsko ulje se smatra pseudo–jednom komponentom
3. masa etarskog ulja koja se može izdvojiti odgovara masi etarskog ulja predestilisanoj do zasićenja (ravnoteže)

4. udeo (frakcija) etarskog ulja se nalazi na spoljnoj površini biljnih čestica, f , a ostatak je uniformno raspoređen unutar njih, $(1 - f)$
5. efektivni koeficijent difuzije kroz biljne čestice je konstantan
6. nema otpora pri prenosu mase etarskog ulja sa spoljne površine biljnih čestica
7. kohobaciona voda i etarsko ulje su potpuno nemešljivi
8. izdvajanje etarskog ulja se dešava kroz dva simultana mehanizma: a) „ispiranje” etarskog ulja sa spoljne površine biljnih čestica i b) difuziju etarskog ulja iz unutrašnjosti biljne čestice ka njenoj spoljnoj površini; kinetike oba procesa podležu zakonu prvog reda u odnosu na etarsko ulje u biljnim česticama:

$$-\frac{dq_p}{dt} = k \cdot q_p \quad (3.1)$$

gde je q_p maseni udeo (sadržaj) etarskog ulja u biljnim česticama (mas. %) u vremenu t , a k je konstanta brzine procesa (min^{-1})

9. masa etarskog ulja sakupljena u separatoru podeljana sa masom biljnog materijala (maseni udeo) jednaka je prinosu etarskog ulja iz biljnog materijala u destilatoru za posmatrano vreme (Milojević i sar, 2008).

Za $t = 0$, $q_p = q_o$, pa integraljenje jednačine (3.1), uz aproksimaciju da je maksimalni prinos (maseni udeo izdvojenog etarskog ulja za $t \rightarrow \infty$) – q_∞ približno jednak početnom masenom udelu etarskog ulja u biljnim česticama – q_o ($q_\infty = q_o$), daje sledeći izraz

$$\frac{q_{p,i}}{q_\infty} = e^{-k_i \cdot t} \quad (3.2)$$

gde je k_i konstanta brzine, i je 1 i 2 za ispiranje i difuziju, redom. Uzimajući u obzir pretpostavku 8, maseni udeo etarskog ulja preostalog u biljnim česticama za vreme t je

$$\frac{q_p}{q_\infty} = f \cdot e^{-k_1 \cdot t} + (1-f) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (3.3)$$

Prinos (maseni udeo izdvojenog etarskog ulja) za vreme t je $q = q_{\infty} - q_p$, pa sledi

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - f \cdot e^{-k_1 \cdot t} - (1 - f) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (3.4)$$

Zasnovana na pretpostvci 9, ova jednačina opisuje promenu prinosa etarskog ulja iz biljnog materijala tokom vremena njegovog izdvajanja.

Isti model za konvencionalnu HD je već razvijen (Milojević i sar, 2008). Osim toga, Sovova i Aleksovski razvili su kinetički izraz, u osnovi isti sa jednačinom (3.4), iz fenomenološkog modela za HD etarskog ulja majčine dušice i čitavog semena korijandera (Sovova i Aleksovski, 2006). Prema ovom modelu, parametar f odgovara delu razbijenih biljnih ćelija, dok su dva druga parametra vremenske konstante koje odgovaraju recipročnim vrednostima konstanti brzina za ispiranje i difuziju. Benjusef i Saibi objavili su multiparametarski model klasične HD etarskog ulja zasnovan na doprinosu njegovih sastojaka (konstituenata) (Benyoussef i Saibi, 2013).

Dva jednostavnija modela mogu se izvesti iz jednačine (3.4) pretpostavljajući trenutno ispiranje praćeno difuzijom ($k_1 \rightarrow \infty$) i difuziju bez ispiranja ($k_1 \rightarrow \infty$ i $f = 0$), koji su predstavljeni sledećim jednačinama:

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - (1 - f) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (3.5)$$

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - e^{-k_2 \cdot t} \quad (3.6)$$

Jednačina (3.5) je identična kinetičkom izrazu koji su razvili Milojević i sar. za HD, gde je f koeficijent ispiranja koji odgovara ispirljivom delu etarskog ulja koji se može izdvojiti, a k_2 je koeficijent spore destilacije etarskog ulja (Milojević i sar, 2008). Model je potvrđen za izdvajanje etarskog ulja ne samo kod HD (Milojević i sar, 2008; Pornpunyapat i sar, 2011; Stanisavljević i sar, 2010), već i za MHD (Kapás i sar, 2011). Jednačina (3.6) zasnovana na pretpostavci kinetike pseudo-prvog reda u odnosu na preostalo etarsko ulje u biljnom materijalu. Ovaj model je već korišćen za opisivanje kinetike kod HD (Morin i sar, 1985) i MHD (Karakaya i sar, 2014).

Parametri u jednačinama (3.4, 3.5 i 3.6) izračunati su fitovanjem ovih jednačina prema eksperimentalnim vrednostima odnosa q/q_{∞} pomoću nelinearnog metoda najmanjih kvadrata i minimiziranjem zbira kvadrata odstupanja između eksperimentalnih i izračunatih odnosa. Kompjuterski program koristi algoritam Levenberg–Marquardt, koji kombinuje metod Gauss–Newton i steepest descent metod da podesi vrednosti parametara u iterativnoj proceduri. Srednje relativno odstupanje u procentima između predviđenih i ostvarenih vrednosti odnosa q/q_{∞} bilo je kriterijum korišćen za procenu uspešnosti fitovanja svakog modela (Pavićević i sar, 2016).

Kinetika HD i MHD etarskog ulja ploda kleke je opisana pomoću tri modela – simultano ispiranje i difuzija, jednačina (3.4), trenutno ispiranje etarskog ulja praćeno difuzijom, jednačina (3.5), i difuzija (bez ispiranja), jednačina (3.6). Vrednosti parametara ovih jednačina prikazane su u tabeli 3.1.2. Među njima, model koji uključuje istovremeno ispiranje i difuziju izgleda najbolji i za HD i MHD etarskog ulja ploda kleke, jer ima najmanje srednje relativno odstupanje (manje od $\pm 2,0$ %). Slika 3.1.2 ilustruje dobro slaganje između eksperimentalnih i teorijskih vrednosti normalizovanog prinosa etarskog ulja na različitim brzinama destilacije. Već je objavljeno za HD da je model zasnovan na istovremenom ispiranju i difuziji najbolji izbor za opisivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja iz bilo kog biljnog materijala (Milojević i sar, 2013).

Tabela 3.1.2 Parametri kinetičkih modela za HD i MHD

	Brzina destilacije (ml/min)	Difuzija (bez ispiranja)		Trenutno ispiranje praćeno difuzijom			Istovremeno ispiranje i difuzija			
		$k_2 \times 10^3$ (min ⁻¹)	SRO* (%)	f (1)	$k_2 \times 10^3$ (min ⁻¹)	SRO (%)	f	$k_1 \times 10^3$ (min ⁻¹)	$k_2 \times 10^3$ (min ⁻¹)	SRO (%)
HD	3	27,6	$\pm 10,1$	0,138	21,7	$\pm 7,1$	0,450	113,0	11,9	$\pm 1,4$
	6	36,6	$\pm 9,0$	0,115	30,5	$\pm 6,2$	0,603	87,7	16,6	$\pm 1,2$
MHD	3	27,1	$\pm 3,9$	0,050	25,6	$\pm 3,1$	0,215	329,1	20,7	$\pm 0,6$
	6	51,5	$\pm 8,3$	0,144	42,5	$\pm 4,4$	0,284	710,5	34,7	$\pm 1,7$
	9	109,8	$\pm 9,7$	0,180	80,7	$\pm 5,6$	0,369	2313,5	56,4	$\pm 0,9$

*SRO – srednje relativno odstupanje

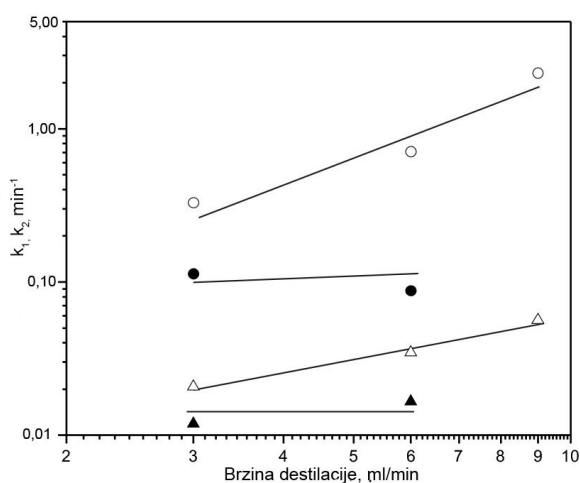
MHD je široko korišćena za izdvajanje etarskog ulja iz raznih biljnih materijala (Ferhat i sar, 2007; Günes i Alma, 2008; Liu i sar, 2012; Sun i sar, 2014; Tigrine-Kordjani i sar, 2011; Wang i sar, 2010), ali je kinetika retko proučavana (Karakaya i sar, 2014). Do sada nije bilo studija koje porede različite kinetičke modele za HD i MHD. U tabeli 3.1.3, modelovanje kinetike HD i MHD etarskih ulja iz čubrike (Rezvanpanah i sar, 2008), majčine dušice (Golmakani i Rezaei, 2008) i morača (Kapás i sar, 2011), potvrdilo je zapažanja za destilaciju etarskog ulja ploda kleke. Međutim, vrednosti kinetičkih parametara za razne biljne materijale razlikuju se jedni od drugih zbog različitih biljnih delova i specifičnih organa koji sadrže etarsko ulje.

Tabela 3.1.3 Potvrđivanje kinetičkih modela za etarska ulja različitih biljaka

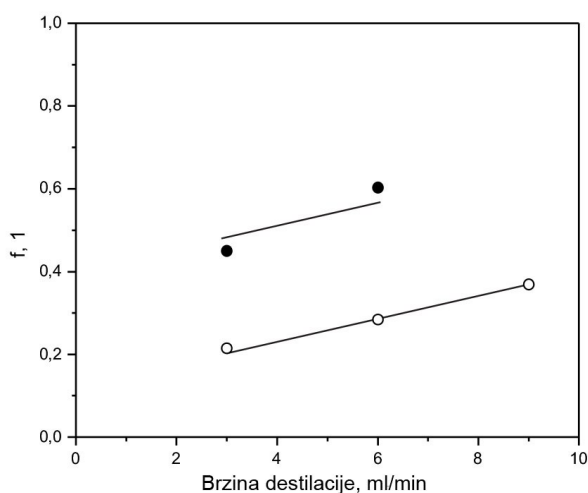
Biljna vrsta	Difuzija (bez ispiranja)		Trenutno ispiranje praćeno difuzijom			Istovremeno ispiranje i difuzija			
	$k_2 \times 10^3$ (min^{-1})	SRO* (%)	f (1)	$k_2 \times 10^3$ (min^{-1})	SRO (%)	f	$k_1 \times 10^3$ (min^{-1})	$k_2 \times 10^3$ (min^{-1})	SRO (%)
Čubrika (<i>Satureja rtensis</i>), suv nadzemni deo									
HD	21,3	± 14,4	0,359	17,5	± 7,3	0,200	1091,7	20,1	± 9,7
220W	27,5	± 5,3	0,055	26,6	± 5,0	0,200	2293,6	24,2	± 4,2
MHD 440W	36,0	± 4,1	0,097	34,3	± 3,5	0,309	1721,2	29,5	± 2,2
660W	35,9	± 3,0	0,035	35,2	± 2,7	1,0	/	38,0	± 2,8
Timijan (<i>Thymus ulgaris</i>), suv nadzemni deo									
HD	53,8	± 3,0	0,098	51,6	± 7,5	0,558	89,4	41,1	± 3,9
MHD	22,7	± 6,1	0,259	22,65	± 4,7	0,647	65,2	17,7	± 0,4
Morač (<i>Foeniculum vulgare</i>), samleveno seme									
HD	22,4	± 28,1	0,084	3,4	/	0,867	250,0	149,9	± 5,8
MHD	19,6	± 6,3	0,100	3,4	/	0,297	97,8	27,6	± 6,0

*SRO – srednje relativno odstupanje

Zavisnost kinetičkih parametara modela koji uključuje simultano ispiranje i difuziju etarskog ulja ploda kleke od brzine destilacije su prikazane na slikama 3.1.3 i 3.1.4. Konstante brzine ispiranja i difuzije za MHD povećavaju se sa porastom brzine destilacije, dok se čini da su ove konstante za HD nezavisne od brzine destilacije. Obe konstante brzine imaju veće vrednosti za MHD nego za HD pri istoj brzini destilacije. Ulazna mikrotalasna energija utiče intenzivnije na konstantu brzine ispiranja nego konstantu brzine difuzije. Parametar f (udeo etarskog ulja koji se nalazi na spoljnoj površini biljnih čestica) raste sa povećanjem brzine destilacije i za HD i za MHD, ali je veći za prvu tehniku izdvajanja, što je prikazano na slici 3.1.4.



Slika 3.1.3 Zavisnost konstanti brzine k_1 (krug) i k_2 (trougao) od brzine destilacije (HD – crni simboli i MHD – otvoreni simboli)



Slika 3.1.4 Zavisnost parametra f od brzine destilacije (HD – crni simboli i MHD – otvoreni simboli)

3.1.3 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav etarskog ulja

U tabeli 3.1.4 prikazan je delimičan sastav etarskog ulja kleke kroz odabranih 18 komponenti (od ukupno 47 komponenti) čiji je maseni udeo veći od 0,5 %, u zavisnosti od načina zagrevanja (HD i MHD) i brzine destilacije iskazane zapreminskim protokom kondenzovane (kohobacione) vode (3, 6 i 9 ml/min).

Tabela 3.1.4 Delimičan hemijski sastav etarskog ulja u zavisnosti od načina zagrevanja klasičnom hidrodestilacijom (HD) ili mikrotalasnom hidrodestilacijom (MHD)

Komponenta		Delimičan hemijski sastav (mas. %)				
		HD		MHD		
		Brzina destilacije (ml/min)				
		3	6	3	6	9
α -tujen	M*	1,82	1,67	1,72	1,7	1,55
α -pinen	M	27,00	25,27	26,59	26,88	27,03
sabinen	M	18,45	18,52	17,64	19,52	19,59
β -pinen	M	1,76	1,66	1,84	1,95	1,85
mircen	M	12,95	12,29	14,36	14,29	14,08
Σ LI**		61,98	59,41	62,15	64,34	64,10
α -terpinen	M	0,95	0,78	1,16	0,86	0,62
limonen	M	2,73	2,54	2,97	2,84	2,73
γ -terpinen	M	1,77	1,5	2,2	1,66	1,25
terpinolen	M	1,45	1,35	1,63	1,47	1,34
terpinen-4-ol	OM	2,82	2,96	4,40	3,47	2,52
Σ SI		9,72	9,13	12,36	10,30	8,46
β -elemen	S	1,85	2,04	1,56	1,58	1,84
(E)-kariofilen	S	2,05	2,34	1,92	1,9	2,12
γ -elemene	S	3,43	3,67	3,11	2,88	3,25
α -humulen	S	2,13	2,31	1,96	1,92	2,08
germakren D	S	9,03	10,09	7,93	8,63	9,33
biciklogermakren	S	1,31	1,44	1,11	0,9	1,12
δ -kadinen	S	1,50	1,67	1,19	1,09	1,07
germakren B	S	1,58	1,67	1,46	1,53	1,53
Σ TI		22,88	25,23	20,24	20,43	22,34
	M	68,88	65,58	70,11	71,17	70,04
	S	22,88	25,23	20,24	20,43	22,34
	OM	2,82	2,96	4,40	3,47	2,52
Σ ugljovodonic		91,76	90,81	90,35	91,60	92,38
Σ oksigenovani ugljovodonic		2,82	2,96	4,40	3,47	2,52
Σ		94,58	93,77	94,75	95,07	94,90

*M - monoterpeni ugljovodonic, OM - oksigenovani monoterpeni, S – seskviterpeni ugljovodonic

**LI - lakoisparljive, SI- srednjeisparljive i TI – teškoisparljive komponente

Odabrane komponente predstavljaju približno 94–95 % etarskog ulja. Glavni sastojci ovih etarskih ulja su monoterpeni (65,58–71,17%) i seskviterpeni (20,24–25,23 %) ugljovodoni, dok je sadržaj oksigenovanih monoterpenih ugljovodonika (samo terpinen-4-ol: 2,52–4,40 %) znatno manji. Prema tome, ukupni sadržaj ugljovodonika je 90,35–92,38 %.

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

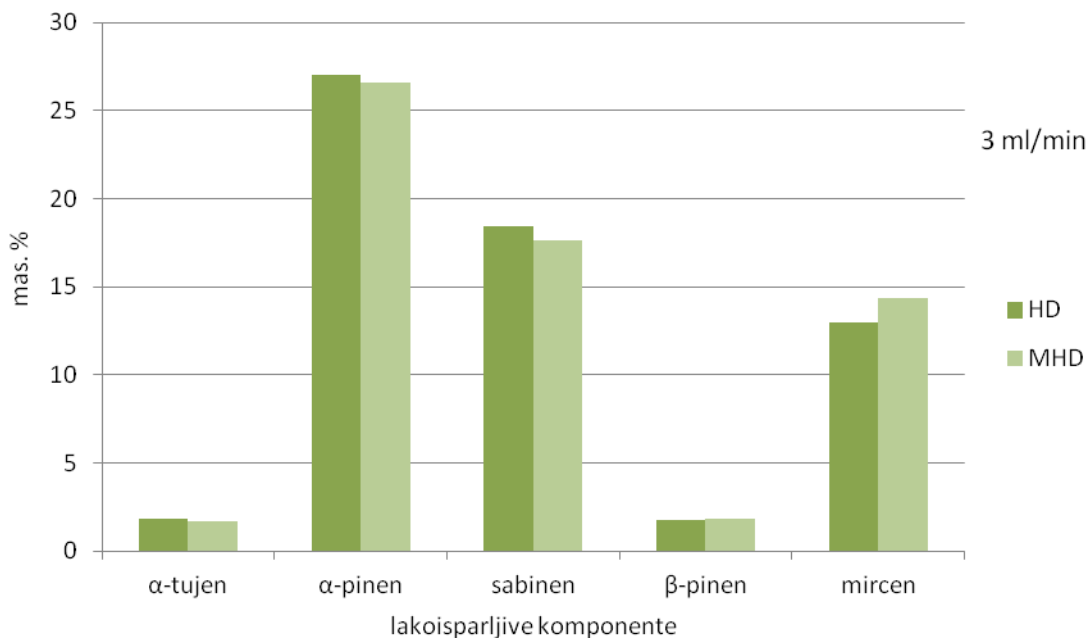
a) lakoisparljive komponente, koje čine monoterpeni ugljovodoni (tačka ključanja 153–167 °C): α -tujen, α -pinen, sabinen, β -pinen i mircen, ukupno 59,41–64,34 %, a najviše α -pinen (25,27–27,03 %), sabinen (17,64–19,59 %) i mircen (12,29–14,36 %);

b) srednjeisparljive komponente, koje čine monoterpeni ugljovodoni (tačka ključanja 173–185 °C): α -terpinen, limonen, γ -terpinen i terpinolen i oksigenovani monoterpeni ugljovodoni: terpinen-4-ol (tačka ključanja 212 °C), ukupno 8,46–12,36 %, a najviše limonen (2,54–2,97 %) i terpinen-4-ol (2,52–4,40 %); i

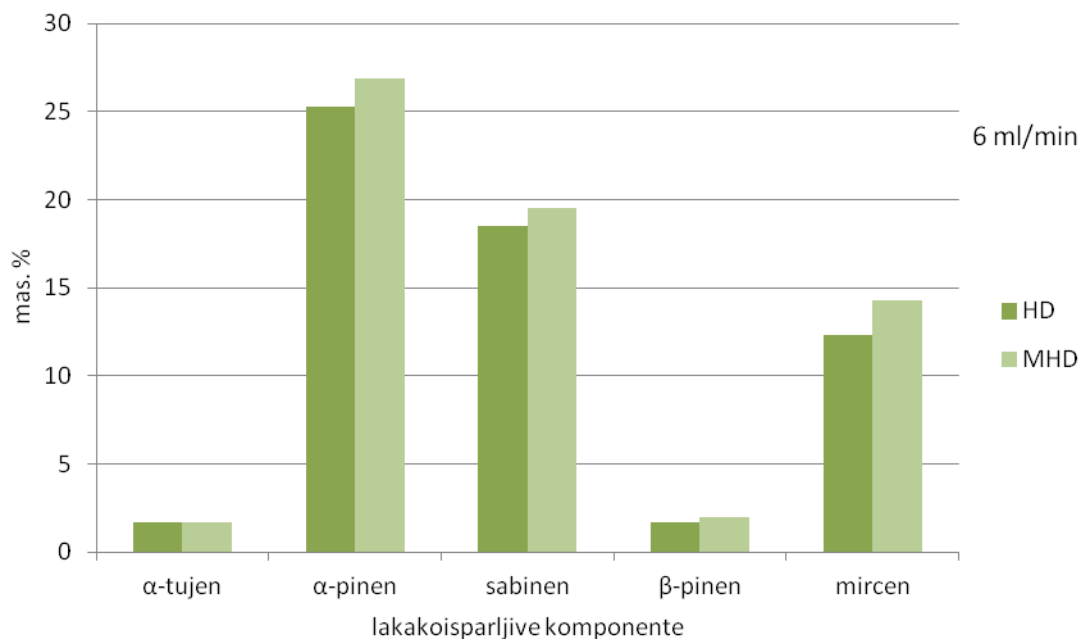
c) teškoisparljive komponente, koje čine seskviterpeni ugljovodoni (tačka ključanja 252–288 °C): β -elemene, (E)-kariofilen, γ -elemen, α -humulen, germakren D, biciklogermakren, δ -kadinen i germakren B, ukupno 20,24–25,23 %, a najviše germakren D (7,93–10,09 %) i (1,17–2,62 %) i γ -elemen (2,88–3,67).

Na slikama 3.1.5 i 3.1.6 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od načina zagrevanja (HD i MHD) pri različitim brzinama hidrodestilacije (3 i 6 ml/min). Pri manjoj brzini hidrodestilacije ukupni maseni udeli za HD i MHD su približni, 61,98 ~ 62,15 % (razlika samo 0,17 %). Kod prve tri komponente: α -tujena, α -pinena i sabinena vrednosti su veće za HD, dok je kod preostale dve: β -pinena i mircena obrnuto, tj. vrednosti su veće za MHD. Za razliku od navedenog, pri većoj brzini hidrodestilacije kod svih komponenti prisutno je povećanje masenih udela za MHD, što rezultira značajnim porastom ukupnog masenog udela, HD : MHD – 59,41 < 64,34 % (razlika 4,93 %). To znači da dobro poznat uticaj mikrotalasnog zračenja da povećava

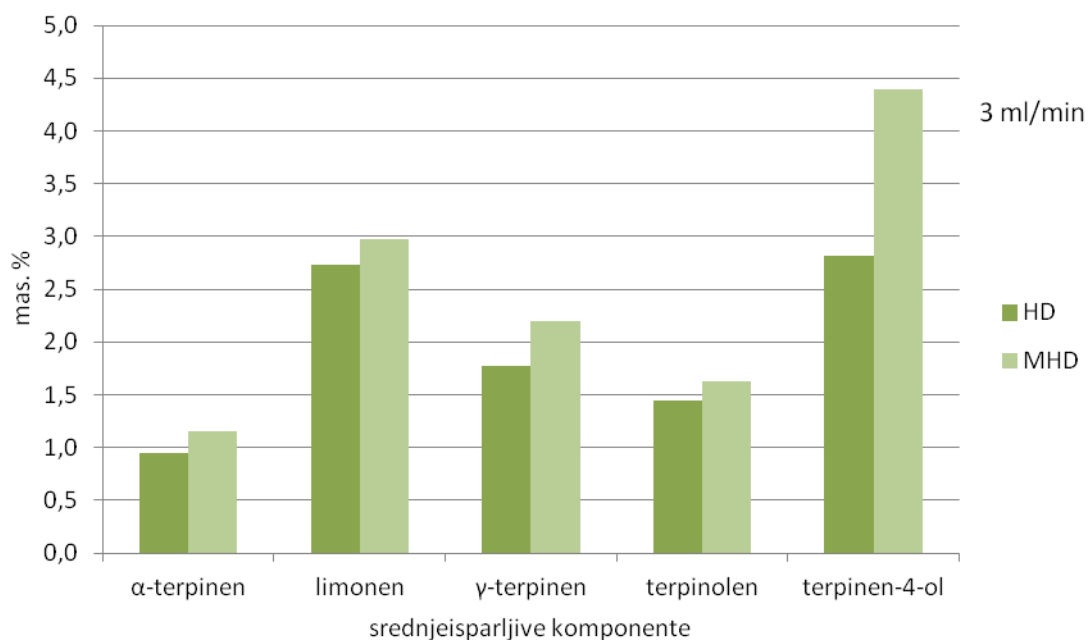
oslobađanje isparljivih jedinjenje iz biljnih organa dolazi do izražaja tek pri većoj brzini hidrodestilacije (6 ml/min).



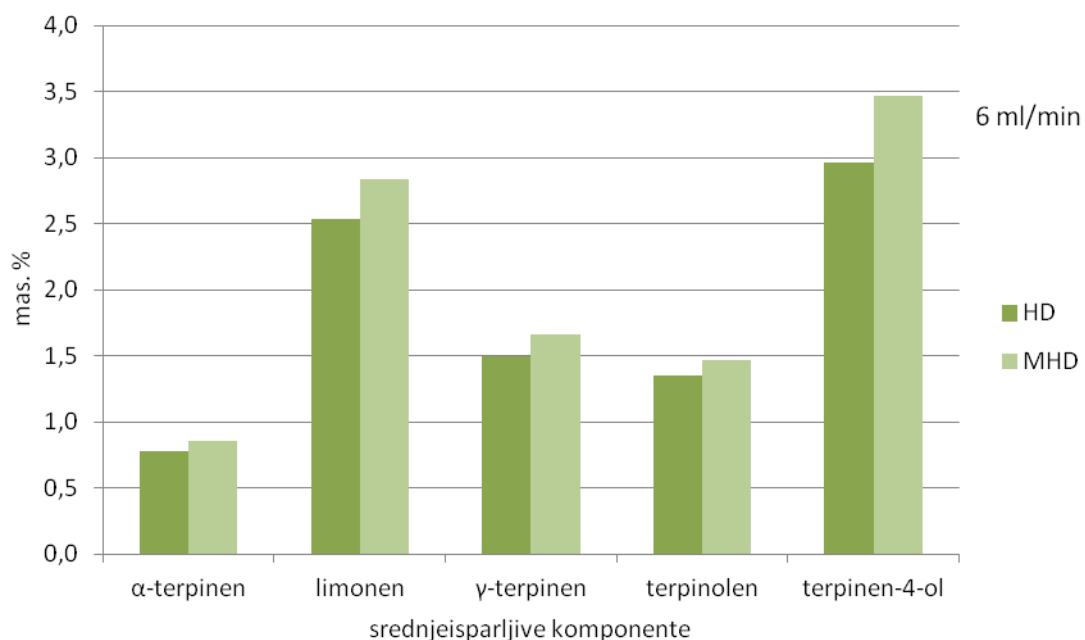
Slika 3.1.5 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



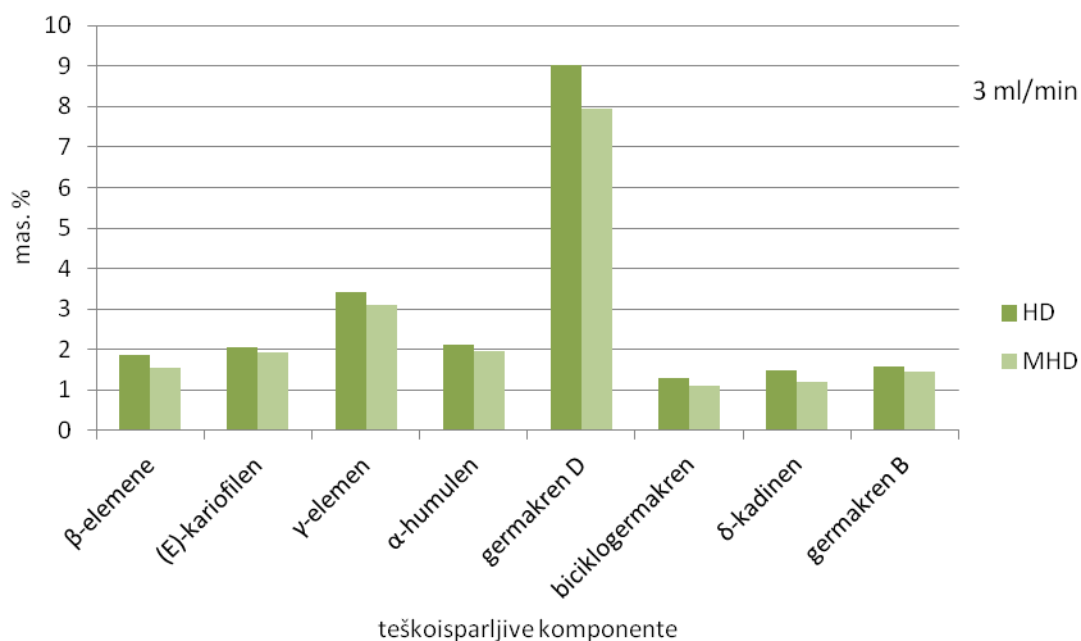
Slika 3.1.6 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min



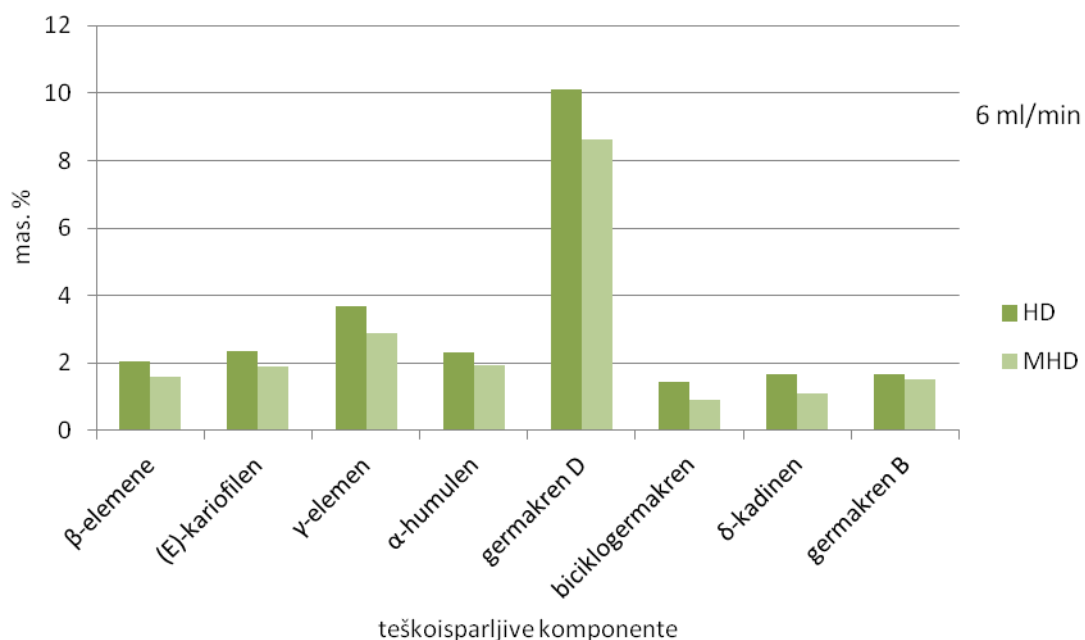
Slika 3.1.7 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



Slika 3.1.8 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min



Slika 3.1.9 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



Slika 3.1.10 Uticaj načina zagrevanja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min

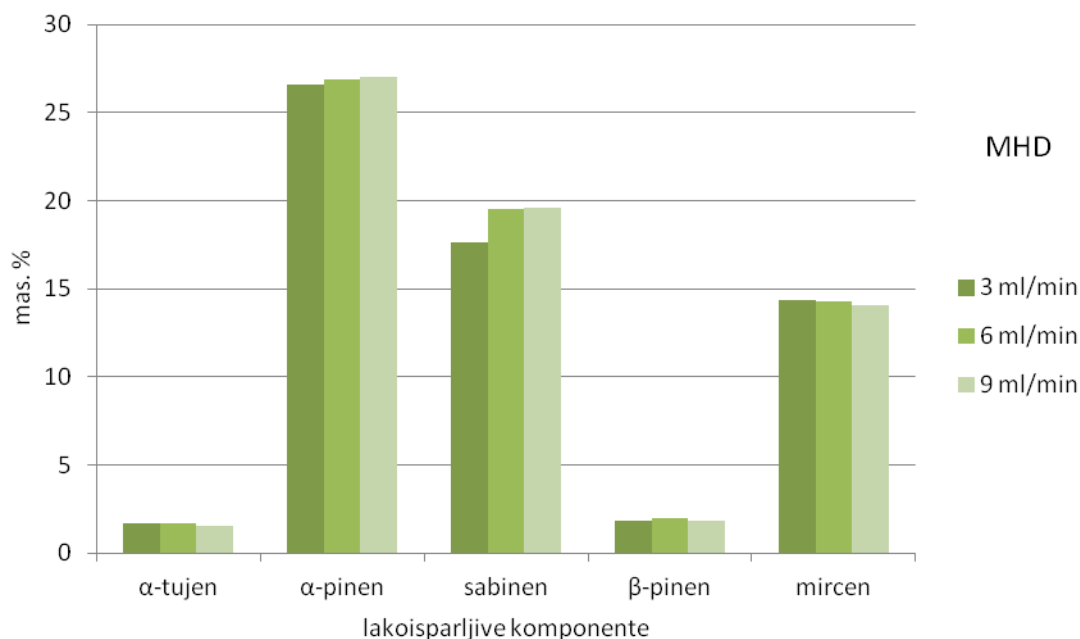
Slike 3.1.7 i 3.1.8 prikazuju zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od načina zagrevanja (HD i MHD) pri različitim brzinama destilacije (3 i 6 ml/min). Pri manjoj brzini destilacije, za razliku od lakoisparljivih komponenti, povećani su maseni udeli svih komponenti (najviše terpinen-4-ola koji je zbog svoje bioaktivnosti najvažnija komponenta u ovom opsegu) kod MHD, tako da je odnos ukupnih masenih udela HD : MHD – $9,72 < 12,36$ % (razlika 2,64 %). Isto se dešava i pri većoj brzini destilacije, gde su, kao i kod lakoisparljivih komponenti, povećani maseni udeli svih komponenti kod MHD, ali manje u odnosu na brzinu destilacije 3 ml/min, pa je odnos ukupnih masenih udela HD : MHD – $9,13 < 10,30$ % (razlika 1,17 %). Pomenuti uticaj mikrotalasne energije kod srednjeisparljivih komponenti iskazuje se pri obe brzine destilacije. Veći uticaj na porast ukupnog maseneog udela pri manjoj brzini je posledica neočekivano približnih ukupnih masenih udela lakoisparljivih komponenti pri manjoj brzini destilacije, tj. neočekivanom odsustvu uticaja mikrotalasnog zračenja kod lakoisparljivih komponenti pri manjoj brzini destilacije.

Na slikama 3.1.9 i 3.1.10 pokazana je zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od načina zagrevanja (HD i MHD) pri različitim brzinama destilacije (3 i 6 ml/min). Pri manjoj brzini smanjeni su maseni udeli svih komponenti kod MHD, tako da je odnos ukupnih masenih udela HD : MHD – $22,88 > 20,24$ % (razlika 2,64 %). Isto smanjenje masenih udela svih komponenti kod MHD zapaža se i pri većoj brzini, gde je odnos ukupnih masenih udela HD : MHD – $25,238 > 20,43$ % (razlika 4,80 %). Ovo je posledica pomenutog uticaja mikrotalasne energije na povećano oslobađanje lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti, što dovodi do suprotne promene kod teškoisparljivih komponenti. Takođe je bitno i to što je vreme MHD bilo znatno kraće u odnosu na HD, pa za deo teškoisparljivih komponenti nije bilo dovoljno vremena za izdvajanje.

Način zagrevanja (HD i MHD) ima najmanji uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava kod lakoisparljivih komponenti (za obe brzine destilacije prosek 4,3 %), srednji kod teškoisparljivih komponenti (prosek 18,4 %) i najveći kod srednjeisparljivih komponenti (prosek 20,0 %).

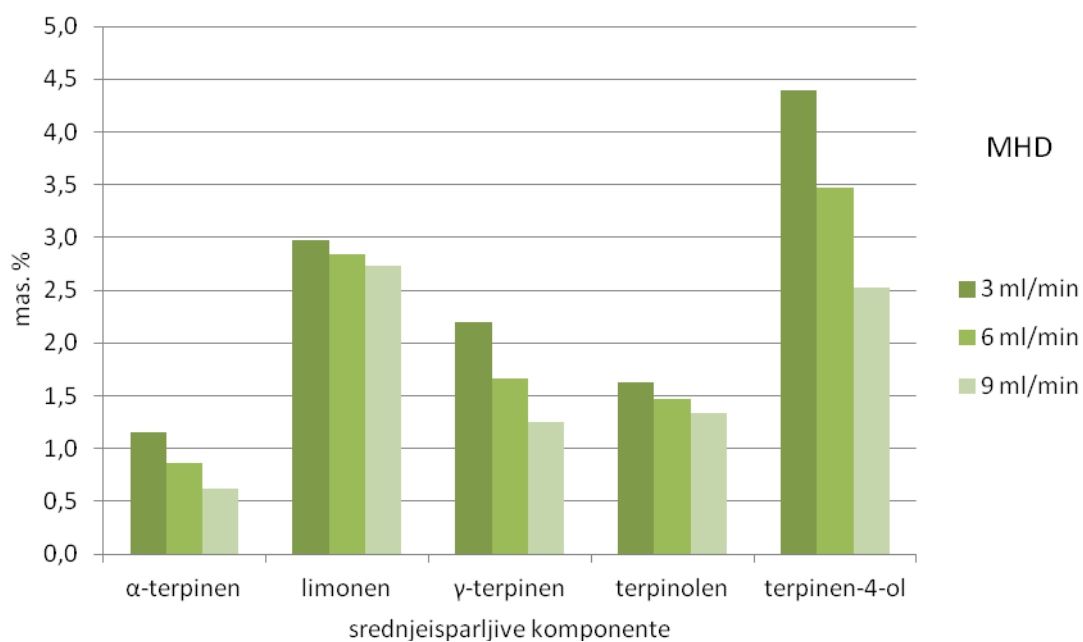
3.1.4 Uticaj brzine destilacije na hemijski sastav etarskog ulja kod mikrotalasne hidrodestilacije

Na slici 3.1.11 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima kod MHD od brzine destilacije (3, 6 i 9 ml/min). Dve komponente sa najvećim masenim udelima: α -pinen i sabinen imaju porast masenih udela sa povećanjem brzine destilacije, dok preostale tri komponente imaju drugačije, vrlo male promene maseni udela, tako da se ukupan maseni udeo povećava od 62,15 % za 3 ml/min na 64,34 % za 6 ml/min i zatim neznatno smanjuje na 64,10 % za 9 ml/min (razlika 2,19 %). To znači da kod MHD porast brzine destilacije ima mali uticaj na promenu hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti, pogotovo promena sa 6 na 9 ml/min gde su promene masenih udela praktično zanemarljive.

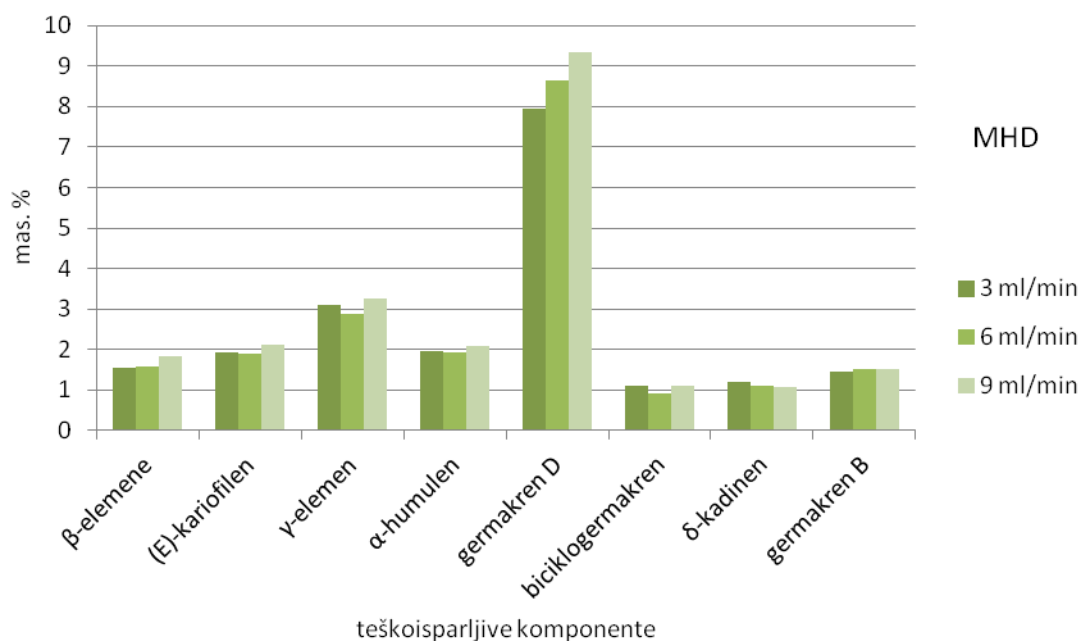


Slika 3.1.11 Uticaj brzine destilacije na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti kod mikrotalasne hidrodestilacije

Slika 3.1.12 pokazuje zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima kod MHD od brzine destilacije (3, 6 i 9 ml/min).



Slika 3.1.12 Uticaj brzine destilacije na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti kod mikrotalasne hidrodestilacije



Slika 3.1.13 Uticaj brzine destilacije na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti kod mikrotalasne hidrodestilacije

Ovde postoji jasna opšta promena, tj kod svih komponenti maseni udeli se smanjuju sa povećanjem brzine destilacije (posebno izraženo kod komponente sa najvećim masenim udelom – terpinen-4-ola), pa je promena ukupnih masenih udela – $12,36 > 10,30 > 8,46$ % (razlika 3,90 %). To znači da se relativna isparljivost srednjeisparljivih komponenti (u odnosu na lakoisparljive i teškoisparljive) značajno smanjuje sa povećanjem brzine destilacije.

Na slici 3.1.13 prikazana je zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima kod MHD od brzine destilacije (3, 6 i 9 ml/min). Za razliku od srednjeisparljivih komponenti, ovde ne postoji opšta promena kod svih komponenti. Zbog dominantnog uticaja komponente sa daleko najvećim masenim udelom – germakrena D, ukupan maseni udeo se vrlo malo povećava sa 20,24 % za 3 ml/min na 20,34 % za 6 ml/min i značajnije na 22,34 % za 9 ml/min (razlika 2,10 %). Pri najvećoj brzini destilacije povećano je relativno izdvajanje teškoisparljivih komponenti (u odnosu na lakoisparljive i srednjeisparljive) prema onom kod manjih brzina, tj. veći intenzitet zagrevanja dovodi do povećanja masenih udela teškoisparljivih komponenti kod MHD.

Brzina destilacije kod MHD ima najmanji uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava kod lakoisparljivih komponenti (3,5 %), srednji kod teškoisparljivih komponenti (10,4 %) i najveći kod srednjeisparljivih komponenti (44,9 %).

3.2 Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na prinos i hemijski sastav etarskog ulja

U eksperimentu II ispitan je uticaj brzine hidrodestilacije (3, 6 i 8 ml/min) i odnosa masa kleka–voda (hidromodula – 1:3, 1:4 i 1:5) na prinos i hemijski sastav izdvojenog etarskog ulja. Brzina hidrodestilacije je predstavljena zapreminskim protokom kondenzovane (kohobacione) vode jer je to veličina direktno srazmerna intenzitetu zagrevanja koji određuje brzinu hidrodestilacije.

3.2.1 Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na prinos etarskog ulja

U tabeli 3.2.1 prikazan je ukupan prinos etarskog ulja u zavisnosti od brzine hidrodestilacije i hidromodula (Radović, 2012).

Tabela 3.2.1 Prinos etarskog ulja pri različitim brzinama hidrodestilacije i hidromodulima

Brzina hidrodestilacije (ml/min)	Hidromodul	Vreme hidrodestilacije (h)	Prinos etarskog ulja (mas. %)
3	1:3	6	1,86
	1:4	6	1,86
	1:5	6	1,86
6	1:3	6	1,95
	1:4	6	1,92
	1:5	6	1,92
8	1:3	6	2,13
	1:4	6	2,07
	1:5	6	2,07

Prinos etarskog ulja se povećava sa porastom brzine hidrodestilacije (od 3 do 8 ml/min) za sve hidromodule, i to: 1,86 < 1,95 < 2,13 % za hidromodul 1:3, 1,86 < 1,92 < 2,07 % za hidromodul 1:4 i 1,86 < 1,92 < 2,07 % za hidromodul 1:5. Pri povećanju brzine hidrodestilacije, tj. intenziteta zagrevanja, stvara se više vodene pare, što doprinosi povećanju koeficijenta prenosa mase i time, očekivano, većem prinosu.

U slučaju povećanja hidromodula (1:3 do 1:5) prinos je nepromenjen i iznosi 1,86 % pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min, odnosno smanjuje se od 1,95 na 1,92 % pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min i 2,13 na 2,07 % pri brzini hidrodestilacije 8 ml/min. Razlog smanjenja prinosa pri većim hidromodulima je, verovatno, povećana hidrolitička transformacija nekih komponenata etarskog ulja pri većim količinama vode u odnosu na kleku. Prema tome, što se tiče prinosa, u eksperimentalnom radu ne treba koristiti hidromodule veće od 1:3. Ovo ima opravdanje i u smanjenju troškova zagrevanja veće količine vode.

3.2.2 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav etarskog ulja

Ukupan hemijski sastav etarskog ulja dobijenog u eksperimentu II predstavljen je u tabeli 3.2.2 sa 58 komponenata određenih navedenim analitičkim metodama GC/FID i GC/MS (Radović, 2012).

Tabela 3.2.2 Ukupan hemijski sastav etarskog ulja kleke pri različitim brzinama hidrodestilacije i hidromodulima

Komponenta	Ukupan hemijski sastav (mas. %)								
	Hidromodul 1:3			Hidromodul 1:4			Hidromodul 1:5		
	Brzina hidrodestilacije (ml/min)								
	3	6	8	3	6	8	3	6	8
triciklen	1,39	1,42	1,34	1,38	1,41	1,42	1,39	1,33	1,29
α -tujen	4,02	4,11	3,88	4,01	4,08	4,10	4,03	3,83	3,73
α -pinen	25,09	24,39	24,77	25,48	25,60	26,30	26,20	24,51	26,06
kamfen	0,19	0,17	0,17	0,18	0,17	0,18	0,18	0,17	0,18
verbenen	0,07	0,07	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,06

sabinen	16,98	17,33	17,06	16,11	16,21	15,29	16,44	17,04	16,42
β -pinene	1,85	1,80	1,78	1,86	1,82	1,89	1,88	1,81	1,83
mircen	14,18	13,43	13,12	13,73	13,02	12,69	13,87	13,63	12,82
α -felandren	0,08	0,07	0,06	0,09	0,07	0,06	0,10	0,07	0,07
δ -karen	0,07	0,06	0,05	0,06	0,06	0,04	0,06	0,07	0,05
α -terpinen	0,80	0,63	0,53	0,79	0,59	0,49	0,89	0,67	0,59
p-cimen	0,21	0,18	0,15	0,18	0,16	0,14	0,19	0,18	0,16
limonen	3,27	3,17	3,16	3,39	3,26	3,24	3,37	3,13	3,25
γ -terpinen	1,41	0,14	0,98	1,41	1,07	0,91	1,57	1,20	1,08
cis-sabinen hidrat	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
terpinolen	1,33	1,22	1,13	1,30	1,16	1,06	1,36	1,24	1,16
trans-sabinen hidrat	0,10	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,09
α -kamfolenal	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02
borneol	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03
terpinen-4-ol	2,17	1,71	1,60	2,14	1,73	1,54	2,42	1,96	1,81
α -terpineol	0,15	0,12	0,12	0,14	0,12	0,13	0,16	0,15	0,14
bornil acetat	0,04	0,04	0,04	0,06	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04
mirtenil acetat	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02
α -kubeben	0,20	0,17	0,17	0,20	0,18	0,19	0,18	0,20	0,17
α -terpinil acetat	0,55	0,54	0,53	0,55	0,54	0,53	0,50	0,53	0,50
α -kopaen	0,26	0,26	0,20	0,26	0,21	0,26	0,17	0,20	0,17
daucen	0,11	0,12	0,13	0,11	0,12	0,14	0,10	0,11	0,12
β -elemen	1,93	1,99	2,14	1,99	2,07	2,28	1,83	1,97	2,15
sibiren	0,05	0,04	0,05	0,06	0,06	0,07	0,05	0,05	0,06
longifolen	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03
trans-kariofilen	2,09	2,11	2,27	2,20	2,30	2,40	2,08	2,07	2,36
γ -elemen	2,56	2,85	2,82	2,70	2,92	2,79	2,49	2,66	2,82
muurola-3,5-dien	0,69	0,71	0,79	0,74	0,76	0,89	0,67	0,69	0,78
α -humulen	1,56	1,59	1,70	1,63	1,75	1,78	1,57	1,60	1,76
trans- β -farnesen	0,06	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	0,07
γ -muurolen	0,41	0,38	0,39	0,40	/	0,35	0,37	0,40	0,34
germacren D	7,93	8,42	8,68	7,93	8,43	7,98	7,44	8,61	8,01
β -selinen	0,26	0,25	0,27	0,27	0,26	0,30	0,24	0,27	0,26
biciklogermakren	1,51	1,59	1,62	1,58	1,59	1,71	1,44	1,54	1,60
epizonaren	0,05	0,06	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06	0,05	0,04

γ -kadinen	0,66	0,74	0,70	0,65	0,67	0,70	0,59	0,67	0,59
δ -kadinen	1,96	2,11	2,06	2,08	2,07	2,11	1,93	2,07	2,00
zonaren	0,19	0,21	0,19	0,19	0,19	0,20	0,18	0,19	0,18
α -kadinen	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,04
selina-3,7(11)-dien	0,07	0,08	0,10	0,07	0,09	0,12	0,07	0,09	0,11
germacren B	1,64	1,79	1,76	1,73	1,91	1,96	1,60	1,79	1,77
germacren D-4-ol	0,16	0,26	0,48	0,13	0,25	0,48	0,12	0,25	0,28
spatulanol	0,09	0,11	/	0,12	0,13	/	0,12	0,12	0,17
kariofilen oksid	0,05	0,08	0,08	0,08	0,08	0,06	0,08	0,06	0,09
1-epi-kubenol	0,03	0,05	0,05	0,04	0,06	0,06	0,04	0,06	0,06
epi- α -kadinol	0,41	0,58	0,63	0,41	0,57	0,64	0,42	0,62	0,63
α -muurolol	0,05	0,09	0,08	0,05	0,08	0,09	0,06	0,09	0,10
α -kadinol	0,48	0,68	0,77	0,50	0,71	0,80	0,51	0,80	0,83
ent-rosa-5,15-dien	0,07	0,10	0,13	0,07	0,11	0,14	0,06	0,10	0,12
trans-biformen	0,09	0,14	0,17	0,13	0,21	0,22	0,13	0,14	0,18
abietatrien	0,06	0,11	0,14	0,07	0,13	0,16	0,07	0,11	0,14
neidentifikovana	0,05	0,08	0,12	0,06	0,11	0,13	0,06	0,09	0,12
sandarakopimarinal	0,19	0,33	0,42	0,21	0,39	0,47	0,20	0,34	0,44

U tabeli 3.2.3 je prikazan delimičan sastav etarskog ulja kleke kroz odabrane 23 komponente (od ukupno 58 komponenti), čiji je maseni udeo veći od 0,5 % u zavisnosti od brzine hidrodestilacije (3, 6 i 8 ml/min) i odnosa masa kleka–voda (1:3, 1:4 i 1:5). Odabrane komponente predstavljaju 95–96 % etarskog ulja. Glavni sastojci ovih etarskih ulja su monoterpeni (67,39–71,00 %) i seskviterpeni (21,64–24,54 %) ugljovodonici, dok su sadržaji oksigenovanih monoterpenih (samo terpinen-4-ol: 1,54–2,42 %) i oksigenovanih seskviterpenih (samo epi- α -kadinol i kadinol: 0,89–1,46 %) ugljovodonika znatno manji. Prema tome, ukupni sadržaj ugljovodonika je 91,99–92,89 %, a oksigenovanih ugljovodonika 2,97–3,27 %.

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

Tabela 3.2.3 Delimičan hemijski sastav etarskog ulja kleke pri različitim brzinama hidrodestilacije i hidromodulima

		Delimičan hemijski sastav (mas. %)								
		Hidromodul 1:3			Hidromodul 1:4			Hidromodul 1:5		
		Brzina hidrodestilacije (ml/min)								
Komponenta	*	3	6	8	3	6	8	3	6	8
triciklen	M	1,39	1,42	1,34	1,38	1,41	1,42	1,39	1,33	1,29
α -tujen	M	4,02	4,11	3,88	4,01	4,08	4,10	4,03	3,83	3,73
α -pinen	M	25,09	24,39	24,77	25,48	25,60	26,30	26,20	24,51	26,06
sabinen	M	16,98	17,33	17,06	16,11	16,21	15,29	16,44	17,04	16,42
β -pinen	M	1,89	1,80	1,78	1,86	1,82	1,89	1,88	1,81	1,83
mircen	M	14,18	13,43	13,12	13,73	13,02	12,69	13,87	13,63	12,82
Σ LI **		63,55	62,48	61,95	62,57	62,14	61,69	63,81	62,15	62,15
α -terpinen	M	0,80	0,63	0,53	0,79	0,59	0,49	0,89	0,67	0,59
limonen	M	3,27	3,17	3,16	3,39	3,26	3,24	3,37	3,13	3,25
γ -terpinen	M	1,41	1,20	0,98	1,41	1,07	0,91	1,57	1,20	1,08
terpinolen	M	1,33	1,22	1,13	1,30	1,16	1,06	1,36	1,24	1,16
terpinen-4-ol	OM	2,17	1,71	1,60	2,14	1,73	1,54	2,42	1,96	1,81
Σ SI		8,98	7,93	7,40	9,03	7,81	7,24	9,61	8,20	7,89
β -elemen	S	1,93	1,99	2,14	1,99	2,07	2,28	1,83	1,97	2,15
trans-kariofilen	S	2,09	2,11	2,27	2,20	2,30	2,40	2,08	2,07	2,36
γ -elemen	S	2,56	2,85	2,82	2,70	2,92	2,79	2,49	2,66	2,82
murola-3,5-dien	S	0,69	0,71	0,79	0,74	0,76	0,89	0,67	0,69	0,78
α -humulene	S	1,56	1,59	1,70	1,63	1,75	1,78	1,57	1,60	1,76
germakrene D	S	7,93	8,42	8,68	7,93	8,43	7,98	7,44	8,61	8,01
biciklogermacren	S	1,51	1,59	1,62	1,58	1,59	1,71	1,44	1,54	1,60
γ -kadinen	S	0,66	0,74	0,7	0,65	0,67	0,70	0,59	0,67	0,59
δ -kadinen	S	1,96	2,11	2,06	2,08	2,07	2,11	1,93	2,07	2,00
germakren B	S	1,64	1,79	1,76	1,73	1,91	1,96	1,60	1,79	1,77
epi- α -kadinol	OS	0,41	0,58	0,63	0,41	0,57	0,64	0,42	0,62	0,63
α -kadinol	OS	0,48	0,68	0,77	0,50	0,71	0,80	0,51	0,80	0,83
Σ TI		23,42	25,16	25,94	24,14	25,75	26,04	22,57	25,09	25,30
	M	70,36	68,70	67,75	69,46	68,22	67,39	71,00	68,39	68,23
	S	22,53	23,90	24,54	23,23	24,47	24,60	21,64	23,67	23,84
	OM	2,17	1,71	1,60	2,14	1,73	1,54	2,42	1,96	1,81
	OS	0,89	1,26	1,40	0,91	1,28	1,44	0,93	1,42	1,46
Σ ugljovodnici		92,89	92,60	92,29	92,69	92,69	91,99	92,64	92,06	92,07
Σ oksigenovani ugljovodnici		3,06	2,97	3,00	3,05	3,01	2,98	3,35	3,38	3,27
Σ		95,95	95,57	95,29	95,74	95,70	94,97	95,99	95,44	95,34

*M - monoterpenski ugljovodnici, OM - oksigenovani monoterpeni, S – seskviterpenski ugljovodnici i OS - oksigenovani seskviterpeni

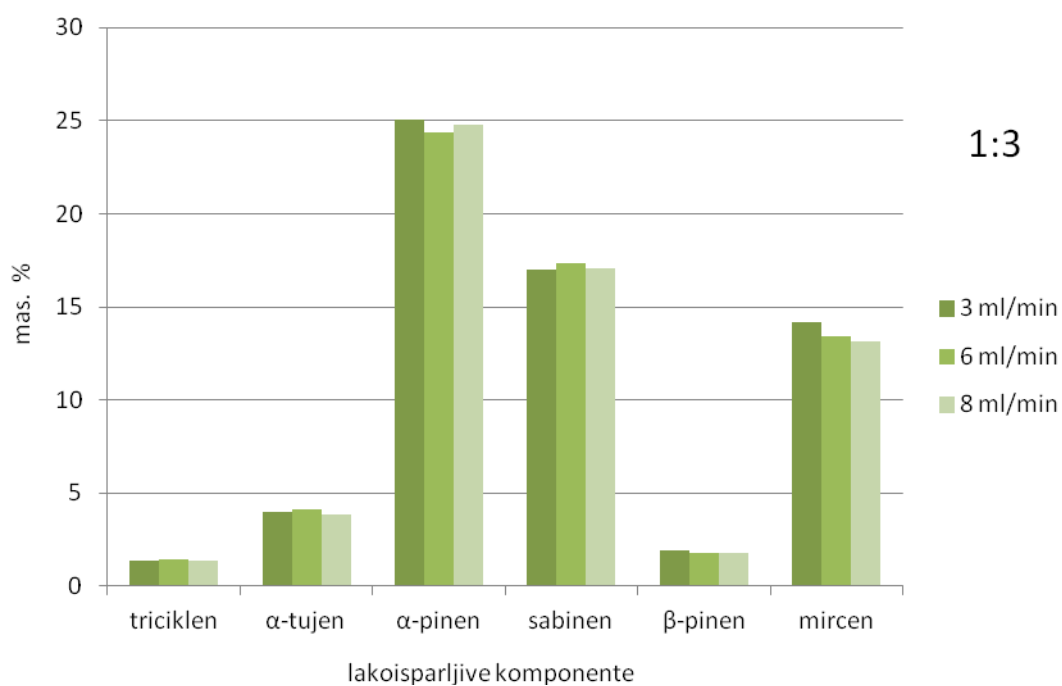
**LI - lakoisparljive, SI- srednjeisparljive i TI – teškoisparljive komponente

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

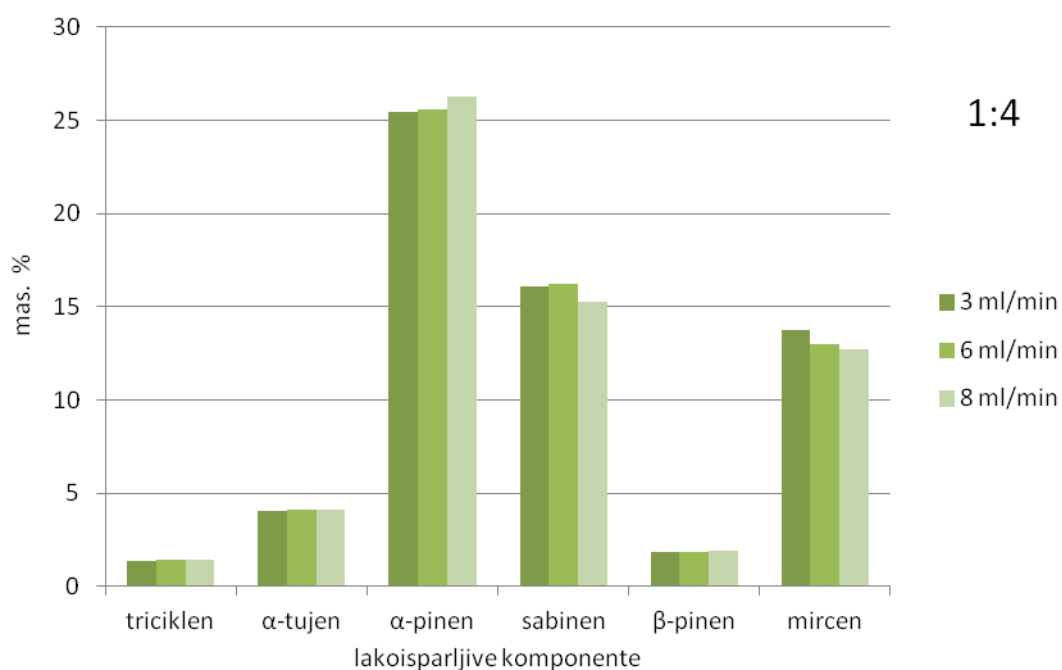
b) srednjeisparljive komponente, koje čine monoterpenski ugljovodonici (tačka ključanja 173–185 °C): α -terpinen, limonen, γ -terpinen i terpinolen i oksigenovani monoterpenski ugljovodonik terpinen-4-ol (tačka ključanja 212 °C), ukupno 7,24–9,61 %, a najviše limonen (3,13–3,29 %) i terpinen-4-ol (1,54–2,42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

c) teškoisparljive komponente, koje čine seskviterpenski ugljovodonici (tačka ključanja 252–288 °C): β -elemene, trans-kariofilen, γ -elemen, murola-3,5-dien, α -humulen, germakren D, biciklogermakren, γ -kadinen, δ -kadinen, germakren B, i oksigenovani seskviterpenski ugljovodonici: epi- α -kadinol i α -kadinol, ukupno 22,57–26,04 %, a najviše germakren D (7,44–8,68 %), γ -elemen (2,49–2,92 %) i trans-kariofilen (2,07–2,40 %) (Pavićević, 2016).

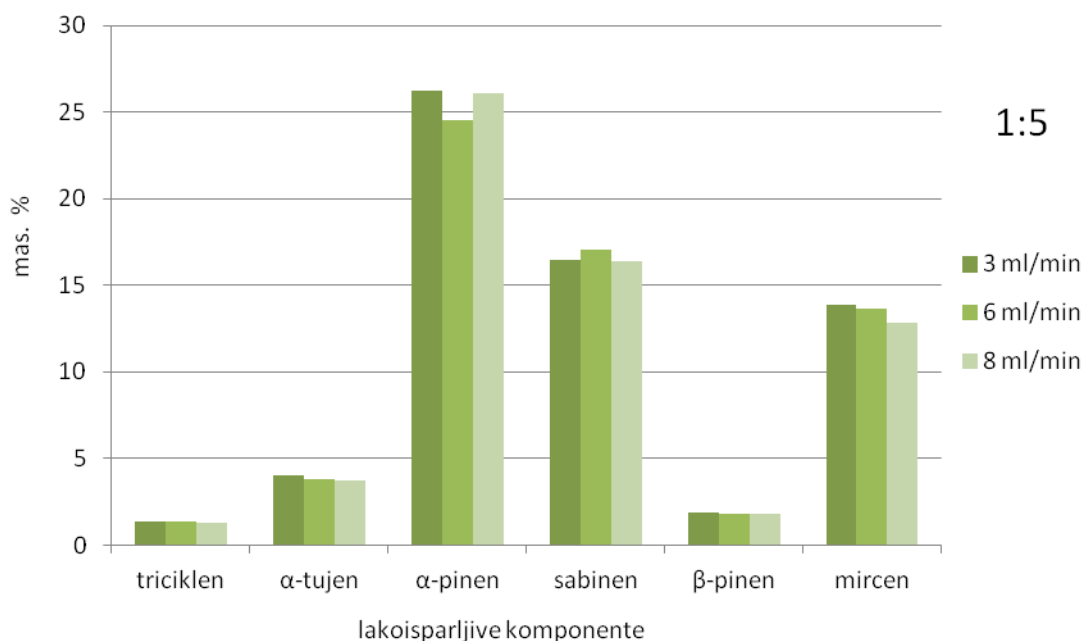
Na slikama 3.2.1, 3.2.2 i 3.2.3 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od brzine hidrodestilacije etarskog ulja ploda kleke predstavljene zapreminskim protokom (kohobacione) vode od 3, 6 i 8 ml/min pri različitim hidromodulima – 1:3, 1:4 i 1:5, redom. Opšti trend je malo smanjenje masenog udela sa povećanjem brzine destilacije – 63,55 > 62,48 > 61,95 % (najveća razlika 1,60 %) za hidromodul 1:3, 62,57 > 62,14 > 61,69 % (najveća razlika 0,88 %) za hidromodul 1:4 i 63,81 > 62,15 \geq 62,15 % (najveća razlika 1,66 %) za hidromodul 1:5. Razlog za to je jasan: lakoisparljive komponente i pri slabijem zagrevanju lako isparavaju, dok se deo teškoisparljivih komponenti ne izdvaja u tim uslovima. Uočava se se da postoji malo odstupanje od opšteg trenda u slučaju dve komponente sa najvećim masenim udelom od svih – α -pinena (najviše 26,30. %) i sabinena (najviše 17,33 %). Promena kod α -pinena pri hidromodulu 1:4 je obrnuta, tj. prisutan je mali porast sa povećanjem brzine destilacije (čak je za najveću brzinu destilacije 26,30 %, ukupno najveći za svih 9 eksperimenata, razlika je 0,82 %), dok su pri hidromodulima 1:3 i 1:5 maseni udeli za srednju brzinu destilacije manji nego za najveću brzinu destilacije (razlika je 0,38 i 1,56 %, redom). Kod sabinena, pri svim



Slika 3.2.1 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:3



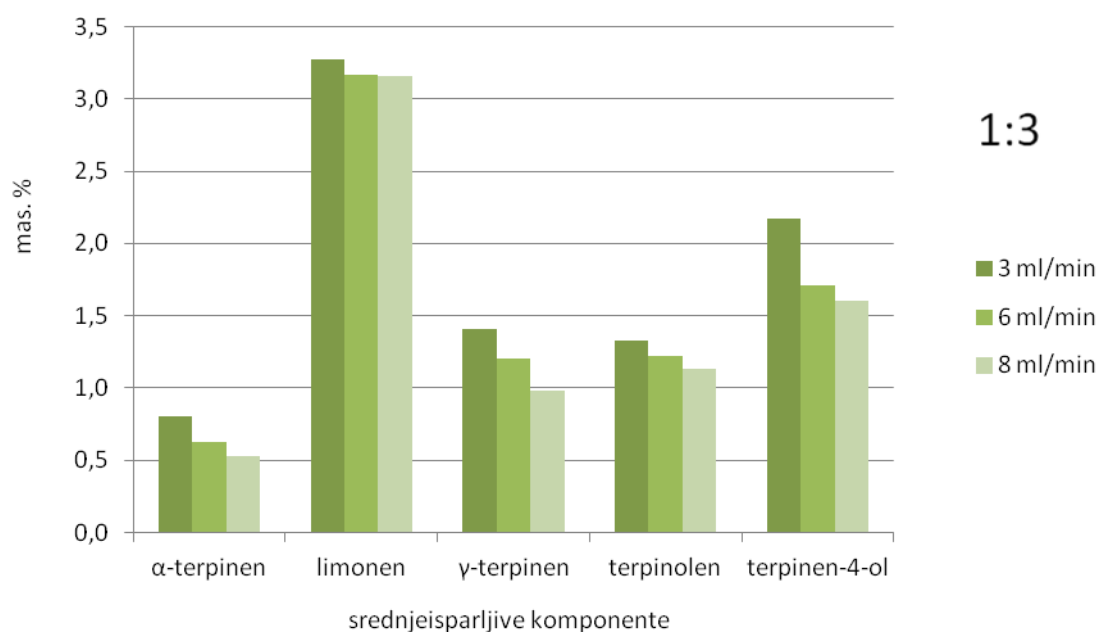
Slika 3.2.2 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:4



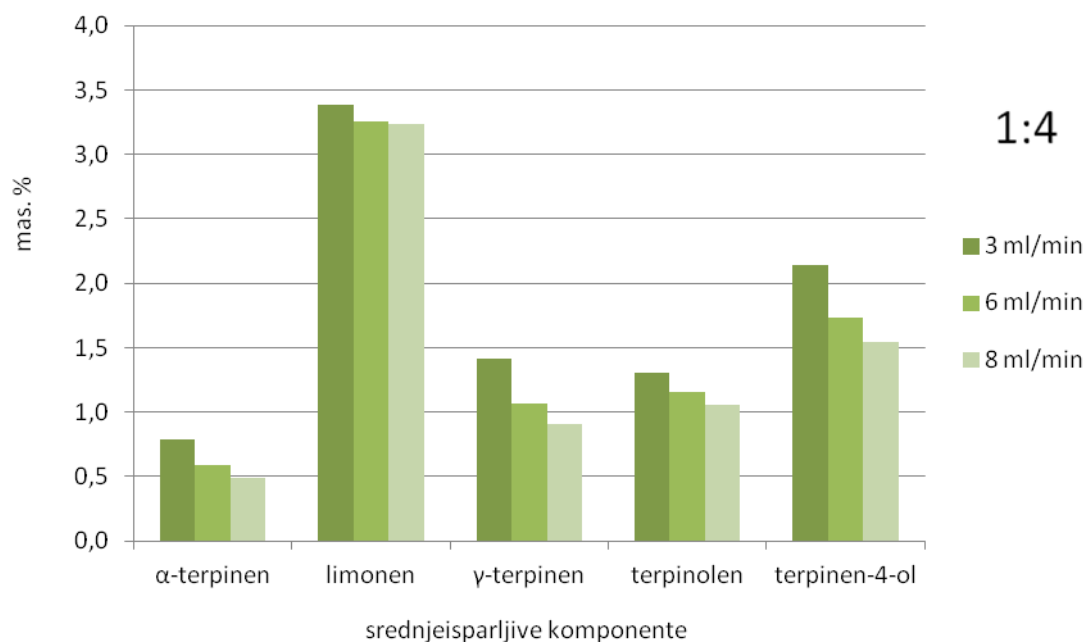
Slika 3.2.3 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:5

hidromodulima, najveći maseni udeli su za srednju brzinu destilacije (razlika je 0,17, 0,92 i 0,62 %, redom).

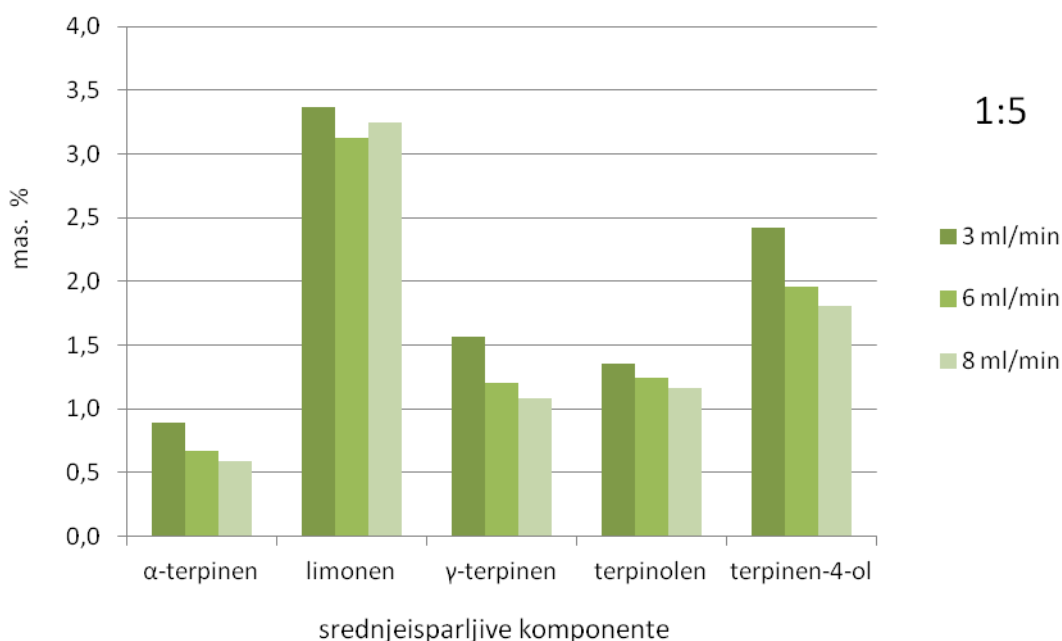
Slike 3.2.4, 3.2.5 i 3.2.6 slično prikazuju zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti od navedenih procesnih parametara, brzine hidrodestilacije za vrednosti 3, 6 i 8 ml/min pri različitim hidromodulima – 1:3, 1:4 i 1:5, redom. Kao i u prethodnom slučaju, popostoji jasan opšti trend smanjenja masenog udela srednjeisparljivih komponenti sa povećanjem brzine hidrodestilacije, relativno izraženiji u odnosu na lakoisparljive komponente – 8,98 > 7,93 > 7,40 % (najveća razlika 1,58 %) za hidromodul 1:3, 9,03 > 7,81 > 7,24 % (najveća razlika 1,79 %) za hidromodul 1:4 i 9,61 > 8,20 > 7,89 % (najveća razlika 1,72 %) za hidromodul 1:5. Razlog je identičan onom kod lakoisparljivih komponenti, tj. i srednjeisparljive komponente pri slabijem zagrevanju više isparavaju u odnosu na teškoisparljive komponente, čiji se deo ne izdvaja u tim uslovima, tako da je veći maseni udeo i srednjeisparljivih komponenti za manju brzine destilacije. Jedino malo odstupanje od opšteg trenda je kod limonena, komponente sa daleko najvećim masenim udelom među srednjeisparljivim komponentama. Pri hidromodulu 1:5 maseni udeo za srednju brzinu



Slika 3.2.4 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:3



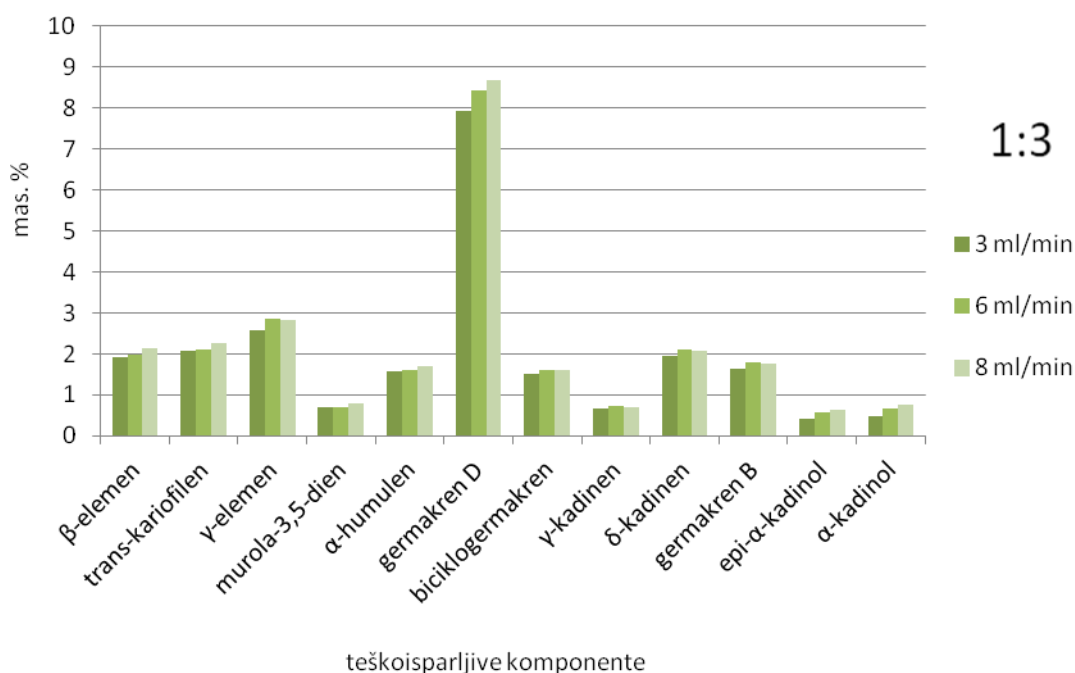
Slika 3.2.5 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:4



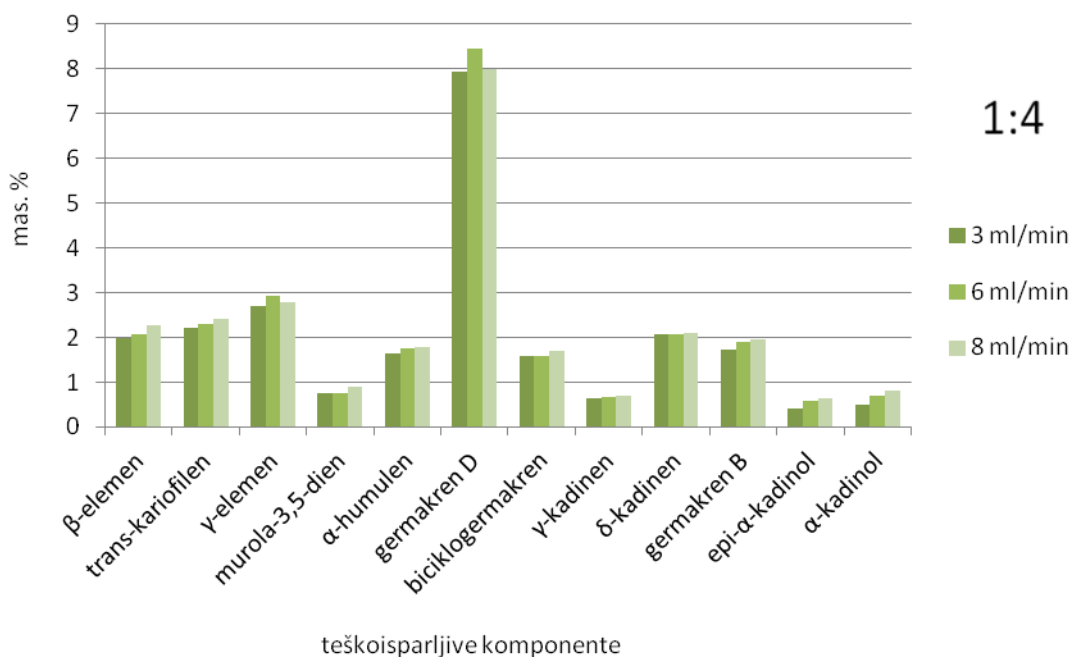
Slika 3.2.6 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:5

destilacije manji je nego za najveću brzinu destilacije (razlika je samo 0,12 %). Značajno je uočiti da je opšti trend smanjenja masenog udela sa povećanjem brzine destilacije posebno izražen kod fenola terpinen-4-ola koji ispoljava veoma korisna farmakološka svojstva, što ga čini izuzetno vrednom bioaktivnom komponentom.

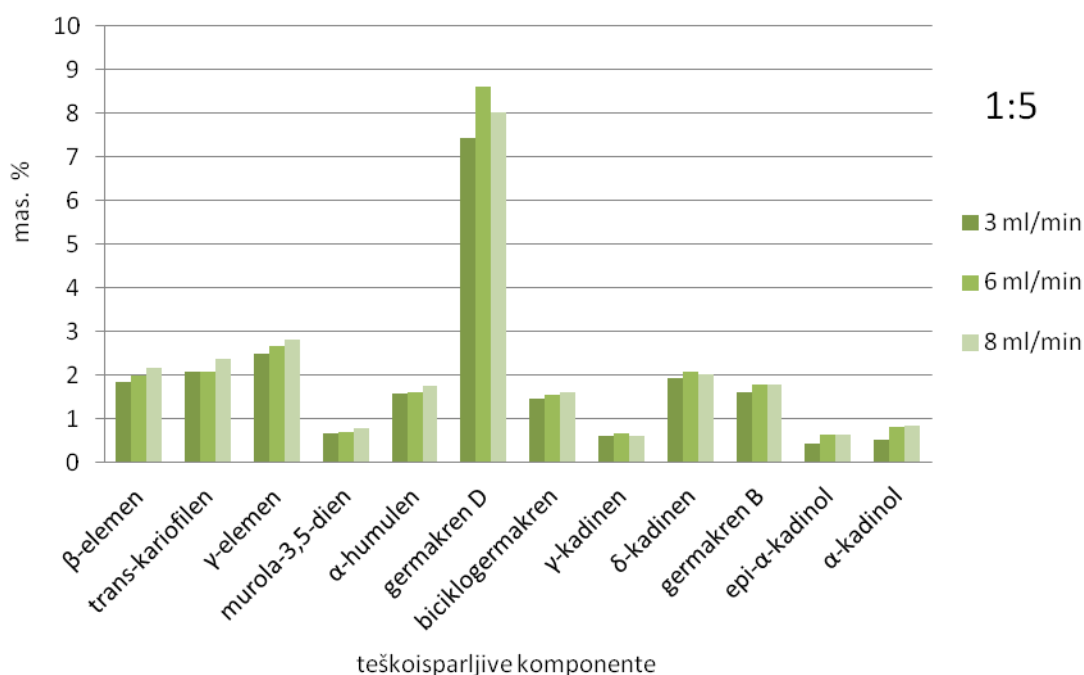
Slike 3.2.7, 3.2.8 i 3.2.9 ilustruju zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti od navedenih procesnih parametara, brzine hidrodestilacije za vrednosti 3, 6 i 8 ml/min pri hidromodulima 1:3, 1:4 i 1:5, redom. Opšti trend je suprotan onima kod lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti, odnosno prisutno je povećanje masenog udela teškoisparljivih komponenti sa povećanjem brzine hidrodestilacije – 23,42 < 25,16 < 25,94 % (najveća razlika 2,52 %) za hidromodul 1:3, 24,14 < 25,75 < 26,04 % (najveća razlika 1,90 %) za hidromodul 1:4 i 22,57 < 25,09 < 25,30 % (najveća razlika 2,73 %) za hidromodul 1:5. Pri jačem zagrevanju, tj. većoj brzini destilacije teškoisparljive komponente brže i više se izdvajaju tokom hidrodestilacije, što povećava njihov maseni udeo u odnosu na lakoisparljive i srednjeisparljive komponente. Pojedine komponente delimično malo odstupaju od opšteg trenda (γ-kadinen, δ-kadinen i germakren B), gde je najznačajniji germakren D sa daleko najvećim masenim udelom



Slika 3.2.7 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:3



Slika 3.2.8 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:4



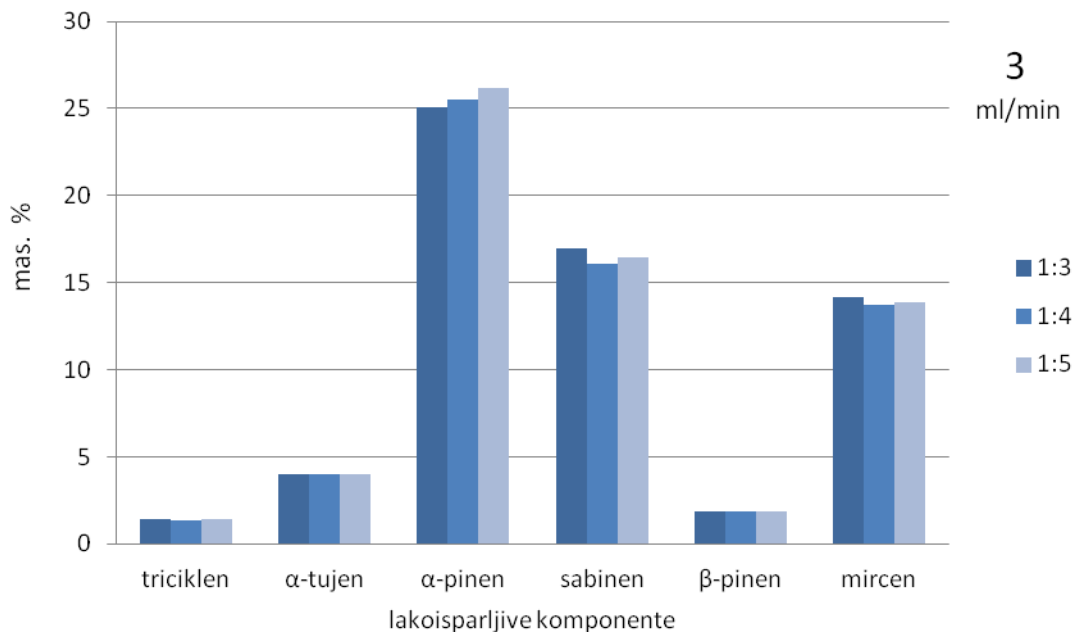
Slika 3.2.9 Uticaj brzine hidrodestilacije na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri hidromodulu 1:5

od svih teškoisparljivih komponenti (najviše 8,68 %). Dok je pri hidromodulu 1:3 promena njegovih masenih udela u skladu sa opštim trendom, pri većim hidromodulima 1:4 i 1:5 oni su veći za srednju brzinu destilacije nego za najveću brzinu destilacije (razlika je 0,45 i 0,60 %, redom). On je važan jer je farmakološki najznačajnija bioaktivna komponenta među teškoisparljivim komponentama.

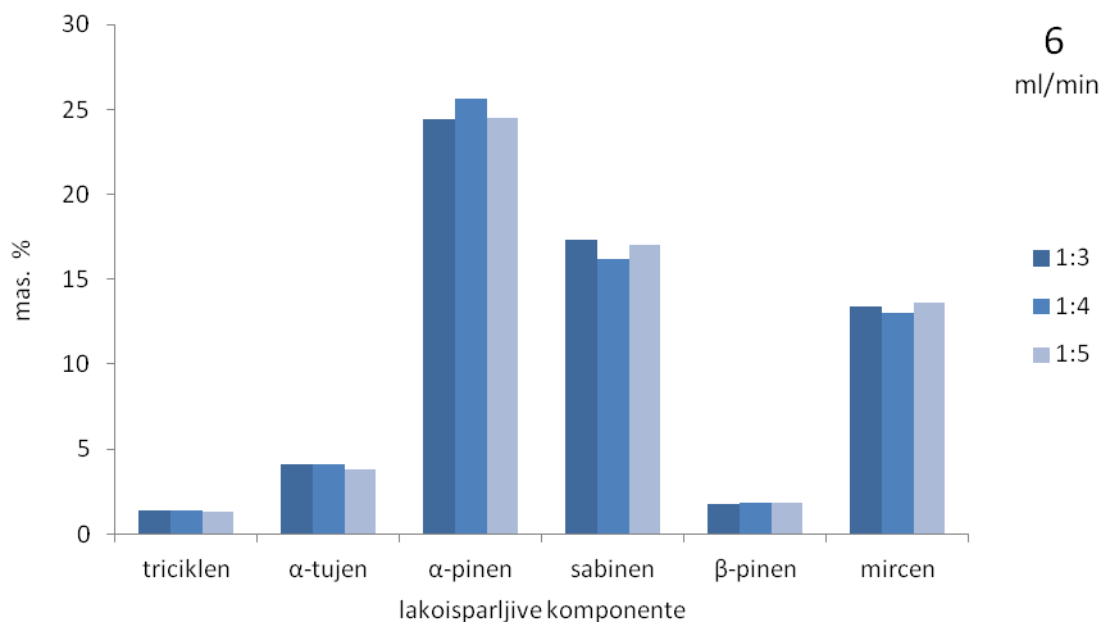
Brzina hidrodestilacije ima najveći uticaj na promenu masenog udela srednjeisparljivih (prosek za sve hidromodule 18,4 %), manji kod teškoisparljivih (prosek 10,3 %) i najmanji kod lakoisparljivih komponenti (prosek 2,2 %).

3.2.3 Uticaj hidromodula na hemijski sastav etarskog ulja

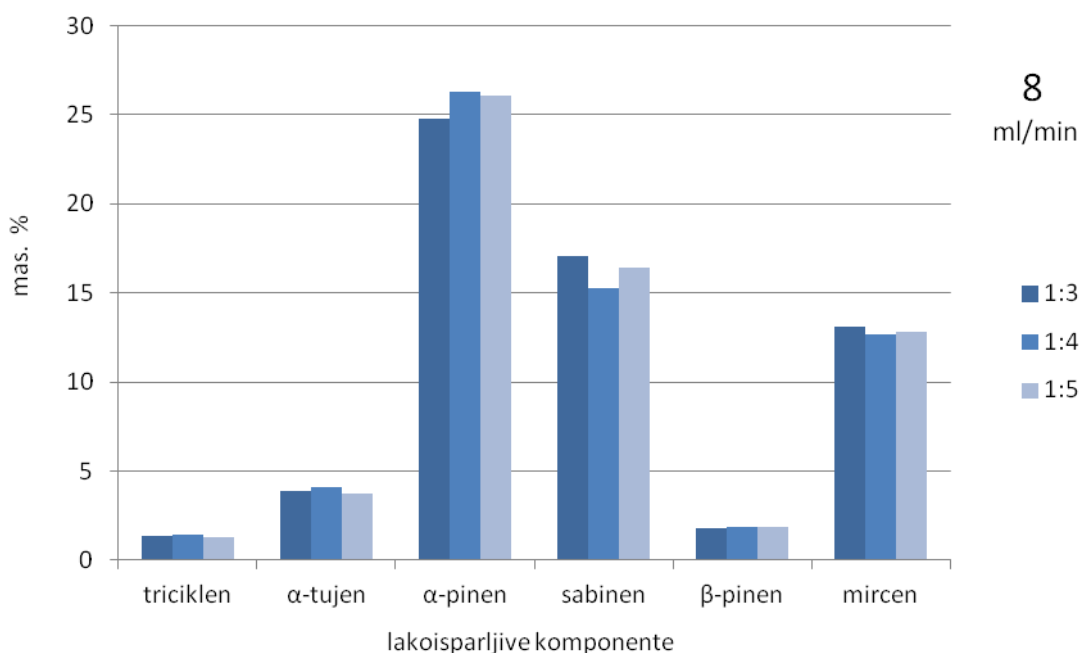
Na slikama 3.2.10, 3.2.11 i 3.2.12 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od hidromodula za vrednosti 1:3, 1:4 i 1:5 pri različitim brzinama hidrodestilacije – 3, 6 i 8 ml/min. Opšti trend je vrlo malo smanjenje masenog udela sa promenom hidromodula od 1:3 na 1:4, a zatim,



Slika 3.2.10 Uticaj hidromodula na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



Slika 3.2.11 Uticaj hidromodula na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min



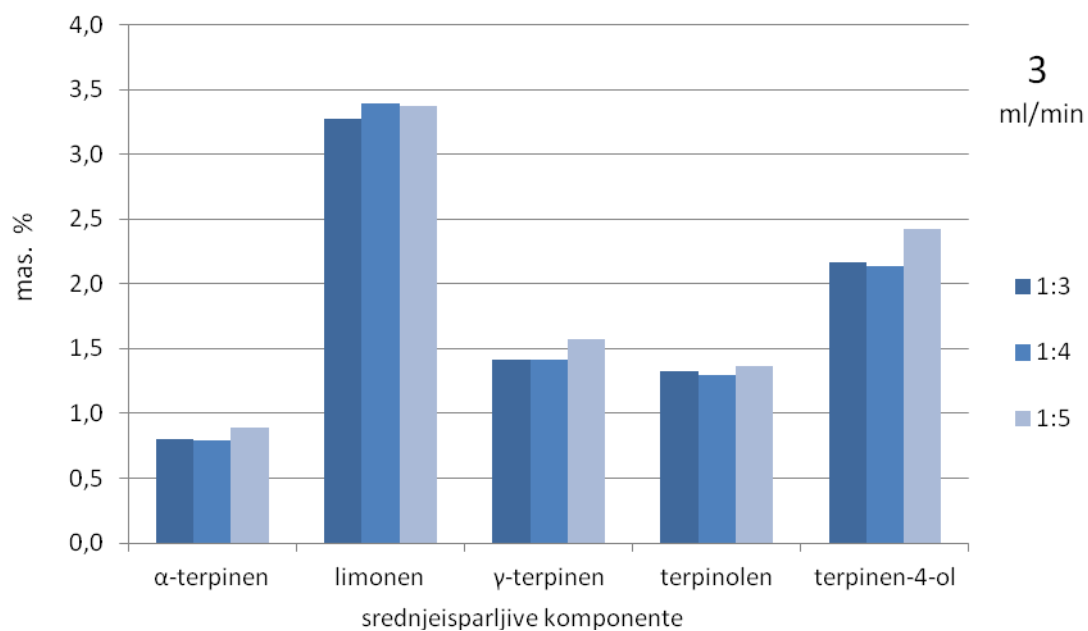
Slika 12. Uticaj hidromodula na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 8 ml/min

takođe vrlo malo povećanje sa sa promenom hidromodula od 1:4 na 1:5 – $63,55 > 62,57 < 63,81$ (najveća razlika 1,24 %) za brzinu zagrevanja 3 ml/min, $62,48 > 62,14 < 62,15$ (najveća razlika samo 0,34 %) za brzinu zagrevanja 6 ml/min i $61,95 > 61,69 < 62,15$ (najveća razlika samo 0,46 %) za brzinu zagrevanja 8 ml/min. Uočava se da su promene masenih udela u zavisnosti od hidromodula značajno manje, pogotovo za veće brzine destilacije (6 i 8 ml/min), u odnosu na prethodno navedene promene masenih udela u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima (1,24–0,34–0,46 prema 1,60–0,88–1,66 %). Slično kao na slikama 1, 2 i 3, najznačajnija bioaktivna komponenta među lakoisparljivim komponentama α-pinen pokazuje odstupanje od opšteg trenda. Za najmanju brzinu destilacije njegovi maseni udeli se povećavaju sa porastom hidromodula (razlika je 0,39 %), dok su za veće brzine destilacije, suprotno opštem trendu, najveći maseni udeli za srednji hidromodul 1:4 (razlika je 1,21 i 1,53 %, redom).

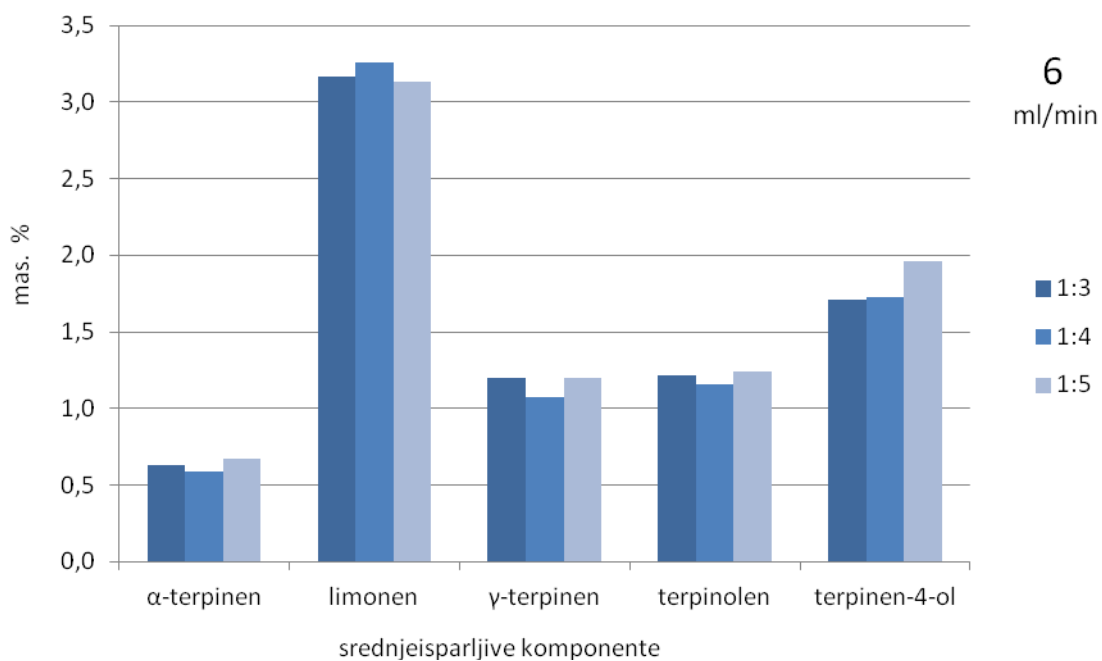
Slike 3.2.13, 3.2.14 i 3.2.15 slično prikazuje zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti od istih procesnih parametara, hidromodula za vrednosti 1:3, 1:4 i 1:5 pri brzinama hidrodestilacije 3, 6 i 8 ml/min. Nema opšteg trenda, već pojedinačnih za različite brzinu hidrodestilacije, tako se za najmanju brzinu

hidrodestilacije maseni udeli povećavaju sa porastom hidromodula – $8,98 < 9,03 < 9,61$ % (najveća razlika 0,63 %), dok se za veće brzine destilacije prvo smanjuju, pa zatim povećavaju – $7,93 > 7,81 < 8,20$ (najveća razlika 0,39 %) za brzinu hidrodestilacije 6 ml/min i $7,40 > 7,24 < 7,89$ (najveća razlika 0,65 %) za brzinu hidrodestilacije 8 ml/min. Kao u slučaju lakoisparljivih komponenti, primećuje se da su promene masenih udela u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama hidrodestilacije značajno manje u odnosu na prethodno navedene promene masenih udela u zavisnosti od brzine hidrodestilacije pri različitim hidromodulima (0,63–0,39–0,65 prema 1,58–1,79–1,72 %). Komponenta sa daleko najvećim masenim udelom među srednjeisparljivim komponentama limonen opet pokazuje malo odstupanje od ostalih, jer pri najmanjoj brzini hidrodestilacije, suprotno ostalima, ima najveći maseni udeo za srednji hidromodul 1:4 (razlika je samo 0,02 %); pri srednjoj brzini hidrodestilacije, suprotno ostalima, opet za srednji hidromodul 1:4 (razlika je 0,26 %) i pri najvećoj brzini hidrodestilacije, opet suprotno ostalima, najmanji maseni udeo ima za najmanji hidromodu 1:3 (razlika je samo 0,08 %). Sve navedene razlike su veoma male, tako je odstupanje od trendova kod srednjeisparljivih komponenti u odnosu na lakoisparljive i teškoisparljive komponente najmanje, kao i u prethodnom slučaju.

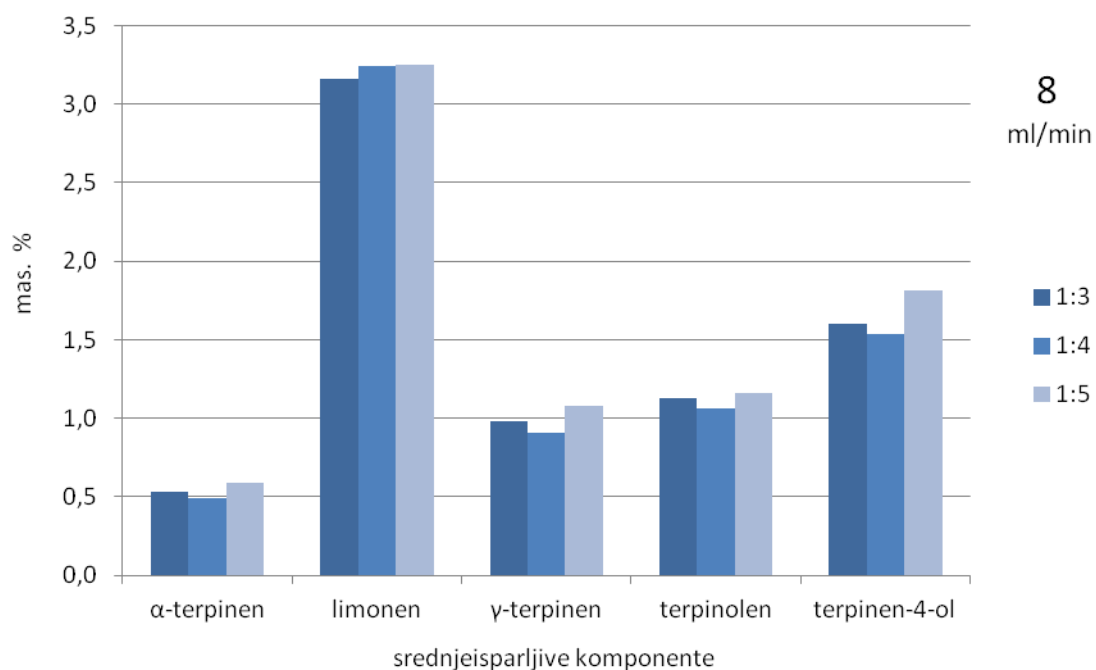
Slike 3.2.16, 3.2.17 i 3.2.18 prikazuje zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti od hidromodula (za vrednosti 1:3, 1:4 i 1:5) pri brzinama hidrodestilacije 3, 6 i 8 ml/min. Postoji opšti trend jer se maseni udeli za sve brzine destilacije porastom hidromodula prvo povećavaju, zatim smanjuju – $23,42 < 24,14 > 22,57$ (najveća razlika 1,57 %) za 3 ml/min , $25,16 < 25,75 > 25,09$ (najveća razlika 0,66 %) za 6 ml/min i $25,94 < 26,04 > 25,30$ (najveća razlika 0,74 %) za 8 ml/min. Kao u slučaju lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti, i ovde su razlike masenih udela u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama destilacije značajno manje u odnosu na prethodno navedene razlike masenih udela u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima (1,57–0,66–0,74 prema 2,52–1,90–2,73 %). Komponenta sa daleko najvećim masenim udelom germakren D pokazuje malo odstupanje od opšteg trenda jer je maseni udeo pri srednjoj brzini destilacije najveći za najveći hidromodul 1:5 (razlika je samo 0,18 %), dok je pri najvećoj brzini destilacije maseni udeo najveći za najmanji hidromodul 1:3 (razlika je 0,70 %).



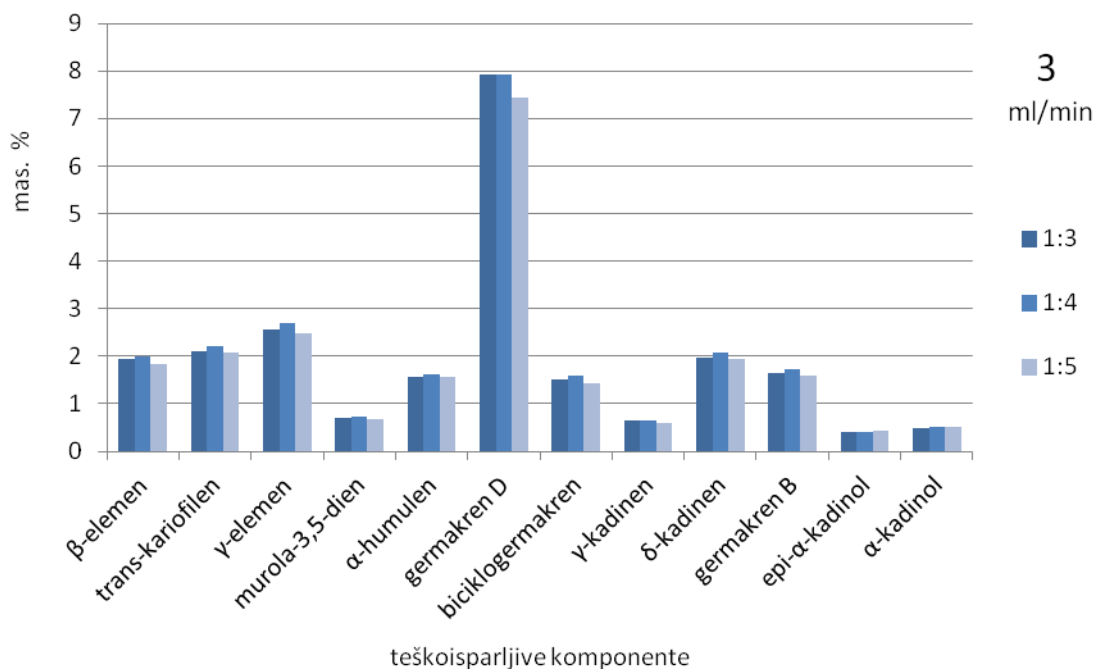
Slika 3.2.13 Uticaj hidromodula na hemijski sastav srednjisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



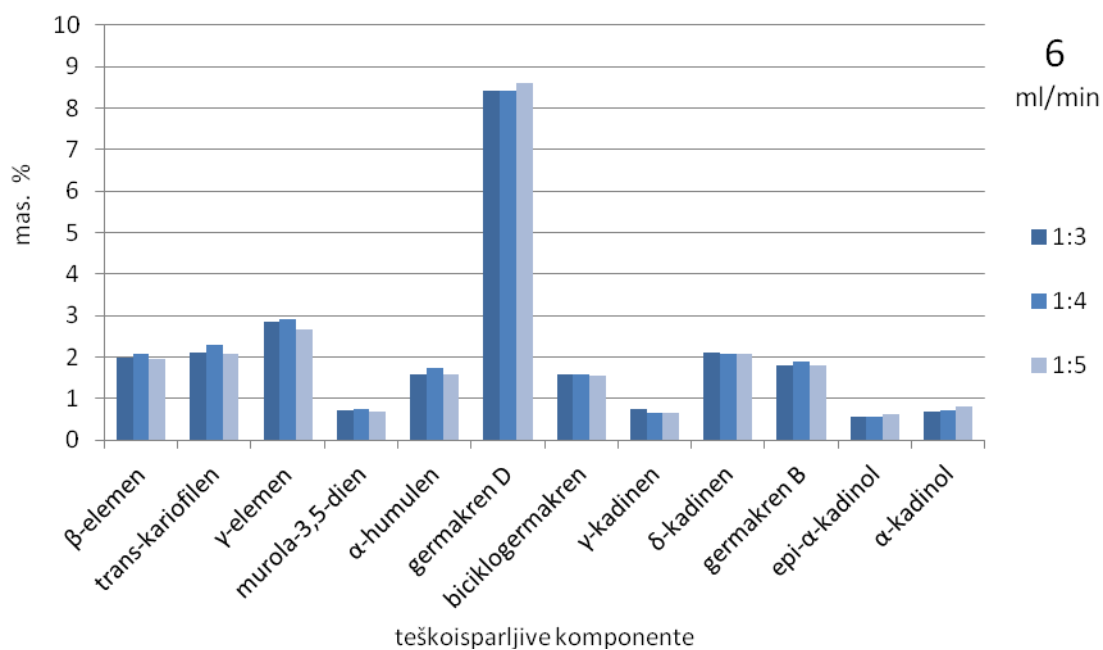
Slika 3.2.14 Uticaj hidromodula na hemijski sastav srednjisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min



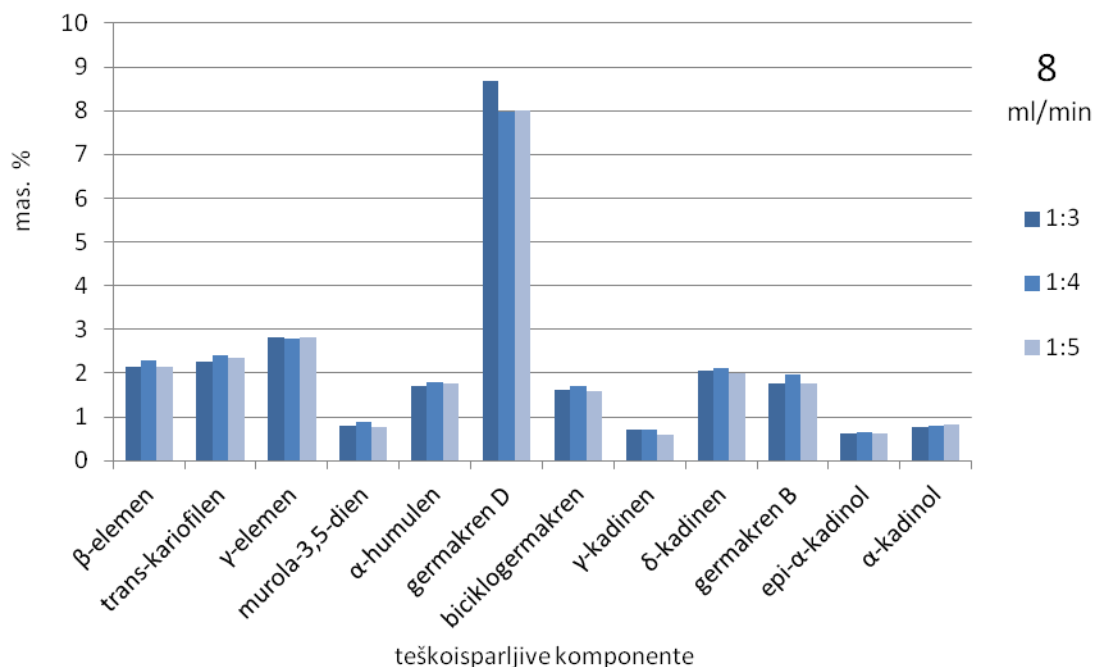
Slika 3.2.15 Uticaj hidromodula na hemijski sastav srednjisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 8 ml/min



Slika 3.2.16 Uticaj hidromodula na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 3 ml/min



Slika 3.2.17 Uticaj hidromodula na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 6 ml/min



Slika 3.2.18 Uticaj hidromodula na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri brzini hidrodestilacije 8 ml/min

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

Promene intenziteta zagrevanja, tj. brzine hidrodestilacije i odnosa masa kleka–voda (hidromodula) utiču samo na kvantitet hemijskog sastava (promenu masenih udela komponenti), a ne na njegov kvalitet (nema promene kvalitativnog sastava, tj. iste su komponente).

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

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

Pošto povećanje hidromodula utiče na kvantitativan hemijski sastav etarskog ulja vrlo malo, inženjerski gledano zanemarljivo, a smanjuje prinos i povećava utrošak energije, jasno je da ne treba koristiti hidromodul veći od 1:3. Što se tiče uticaja brzine destilacije, situacija nije tako jednostavna. Prinos može biti osetno veći pri većim brzinama destilacije, dok je pri manjim brzinama destilacije veći maseni udeo

poželjnijih bioaktivnih, lakoisparljivih i sredneisparljivih komponenti (α -pinen, sabinen i terpinen-4-ol) i manji utrošak energije (manje intenzivno zagrevanje). Zato je potrebno nastaviti ispitivanja uticaja brzine destilacije u kombinaciji sa frakcionim izdvajanjem željenih vrednih komponenti pomoću istovremene hidrodestilacije i rektifikacije, kao i određivanjem optimalnog utroška energije, odnosno optimalnog vremena hidrodestilacije. To je izuzetno važno sa tehnoeconomskog aspekta u okviru glavnog cilja – optimizacije procesa hidrodestilacije etarskog ulja kleke razvijene u laboratoriji i potvrđene primenom u industrijskoj praksi.

3.3 Uticaj načina pripreme hidrodestilacije na prinos i hemijski sastav etarskog ulja

U eksperimentu III ispitan je uticaj načina pripreme hidrodestilacije na prinos i hemijski sastav izdvojenog etarskog ulja. Usitnjavanje kleke obavljeno je klasičnim mlevenjem suvih plodova u blenderu (suvo mlevenje) i namakanjem plodova u vodi u periodu od tri dana i zatim mlevenjem takve vodene suspenzije u blenderu („mokro“ mlevenje sa vodom). Vremena mlevenja u oba slučaja su bila 1, 3 i 5 min. Odnos masa kleka–voda (hidromodul) bio je 1:4, dok je brzina hidrodestilacije bila 8 ml/min.

3.3.1 Uticaj načina pripreme hidrodestilacije na prinos etarskog ulja

U tabeli 3.3.1 prikazan je ukupan prinos etarskog ulja u zavisnosti od načina pripreme hidrodestilacije.

Tabela 3.3.1 Prinos etarskog ulja za različite načine pripreme hidrodestilacije

Način pripreme hidrodestilacije	Vreme mlevenja (min)	Vreme hidrodestilacije (h)	Prinos etarskog ulja (mas. %)
Suvo mlevenje	1	4	1,35
	3	4	1,29
	5	4	1,17
Mlevenje sa vodom	1	4	1,47
	3	4	1,58
	5	4	1,58

Kod suvog mlevenja ukupan prinos etarskog ulja se smanjuje sa produženjem vremena mlevenja od 1 do 5 min, zbog gubitka dela lakoisparljivih komponenti etarskog ulja usled zagrevanja suve biljne mase. Logično, što je duže mlevenje, veće je i

zagrevanje, time i isparavanje. To se jako dobro osetilo sve intenzivnijim mirisom kleke u prostoriji pri dužem mlevenju.

Suprotno ovome, kod mlevenja sa vodom ukupan prinos etarskog ulja se povećava sa produženjem vremena mlevenja od 1 do 3 min, i to: $1,47 < 1,58 \%$, i ostaje isti za 5 min – $1,58 \%$. Zbog prisustva vode (supstance sa najvećim specifičnim toplotnim kapacitetom, što znači da se najsporije zagreva i hladi), zagrevanje pri mlevenju je mnogo manje, time i gubitak lakoisparljivih komponenti. To se potvrdilo i mnogo manje intenzivnim mirisom kleke u prostoriji u odnosu na suvo mlevenje. Trodnevni namakanjem u vodi, ona prodire u plod kleke, što ima za posledicu da plodovi koji na početku plivaju, upijanjem vode otežaju i zatim potonu. Povećanje sadržaja vode u plodu olakšava izdvajanje etarskog ulja iz biljnih struktura, tako da se dužim mlevenjem pospešuje izdvajanje, što znači veći ukupan prinos.

Prema navedenom, logično je očekivati da će prinos pri suvom mlevenju biti manji u odnosu na mlevenje sa vodom, kao i da će se razlika u prinosima povećavati sa produženjem vremena mlevenja. Eksperiment je ovo potvrdio: za vreme mlevenja 1 min prinos pri suvom mlevenju je manji od prinosa pri mlevenju sa vodom – $1,35 < 1,47 \%$ (razlika $0,12 \%$), za 3 min isto – $1,29 < 1,58 \%$ (razlika $0,29 \%$), kao i za 5 min – $1,17 < 1,58 \%$ (razlika $0,41 \%$).

3.3.2 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav etarskog ulja

U tabeli 3.3.2 je prikazan delimičan sastav etarskog ulja kleke kroz odabrane 24 komponente (od ukupno 46 komponenti), čiji je maseni udeo veći od $0,5 \%$, u zavisnosti od načina pripreme hidrodestilacije (suvo mlevenje i mlevenje sa vodom) i vremena mlevenja (1, 3 i 5 min). Odabrane komponente predstavljaju $94\text{--}96 \%$ etarskog ulja. Glavni sastojci ovih etarskih ulja su monoterpeni ($65,79\text{--}77,87 \%$) i seskviterpeni ($12,92\text{--}23,17 \%$) ugljovodonici, dok su sadržaji oksigenovanih monoterpenih (samo cis-sabinen hidrat i terpinen-4-ol: $2,90\text{--}4,07 \%$) i oksigenovanih seskviterpenih (samo spatulenol i kariofilen oksid: $1,10\text{--}1,89 \%$) ugljovodonika znatno manji. Prema tome,

sadržaj ukupnih ugljovodonika je 89,74–90,79 %, a oksigenovanih ugljovodonika 3,88–5,58 %.

Tabela 3.3.2 Delimičan hemijski sastav etarskog ulja kleke u zavisnosti od načina mlevenja i vremena mlevenja

Komponenta		Delimičan hemijski sastav (mas. %)					
		Suvo mlevenje			Mlevenje sa vodom		
		Vreme mlevenja (min)					
		1	3	5	1	3	5
triciklen	M*	2,48	2,84	2,19	6,98	2,10	2,08
α -tujen	M	7,18	8,12	6,30	17,05	6,02	5,97
α -pinen	M	29,86	32,00	27,88	29,05	33,39	33,46
sabinen	M	10,90	13,06	9,46	8,87	11,45	11,34
β -pinen	M	1,78	2,14	1,91	1,56	2,04	2,04
miracen	M	10,80	10,48	10,22	9,06	12,62	12,10
Σ LI**		63,00	68,64	57,96	72,57	67,62	66,99
α -terpinen	M	0,45	0,69	0,52	0,35	0,86	0,54
limonen	M	5,30	6,56	5,90	3,91	5,45	5,42
γ -terpinen	M	1,10	0,72	1,41	1,04	1,32	1,52
cis-sabinen hidrat	OM	0,64	0,57	0,99	0,66	0,88	0,97
terpinen-4-ol	OM	2,26	3,10	2,92	2,12	3,19	3,06
Σ SI		9,75	11,64	11,74	8,08	11,70	11,51
α -kubeben	S	0,57	0,68	0,63	0,47	0,53	0,50
β -elemen	S	1,83	1,70	2,22	1,35	1,41	1,52
sibiren	S	0,69	0,73	0,82	0,36	0,49	0,47
trans-kariofilen	S	2,09	1,62	2,31	1,56	1,62	1,66
γ -elemene	S	2,13	1,15	2,56	1,28	1,70	1,88
cis-murola-3,5-dien	S	0,65	0,59	0,82	0,39	0,58	0,60
α -humulen	S	1,68	1,48	1,80	0,98	1,25	1,27
germakren D	S	5,04	1,95	5,88	3,31	3,57	4,16
β -selinen	S	1,43	1,01	1,66	0,76	0,92	1,01
biciklogermakren	S	2,28	1,17	2,62	1,55	1,75	1,79
δ -kadinen	S	1,91	1,05	1,85	0,91	1,21	1,32
spatulenol	OS	0,85	0,86	0,75	0,59	0,64	0,56
kariofilen oksid	OS	0,98	1,03	0,92	0,51	0,72	0,68
Σ TI		22,13	15,02	24,84	14,02	16,39	17,42
	M	69,85	76,61	65,79	77,87	75,25	74,47
	S	20,30	13,13	23,17	12,92	15,03	16,18
	OM	2,90	3,67	3,91	2,78	4,07	4,03
	OS	1,83	1,89	1,67	1,10	1,36	1,24
Σ ugljovodonici		90,15	89,74	88,96	90,79	90,28	90,65
Σ oksigenovani ugljovodonici		4,73	5,56	5,58	3,88	5,43	5,27
Σ		94,88	95,30	94,54	94,67	95,71	95,92

*M - monoterpenski ugljovodonici, OM - oksigenovani monoterpeni, S – seskviterpenski ugljovodonici i OS - oksigenovani seskviterpeni

**LI - lakoisparljive, SI- srednjeisparljive i TI – teškoisparljive komponente

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

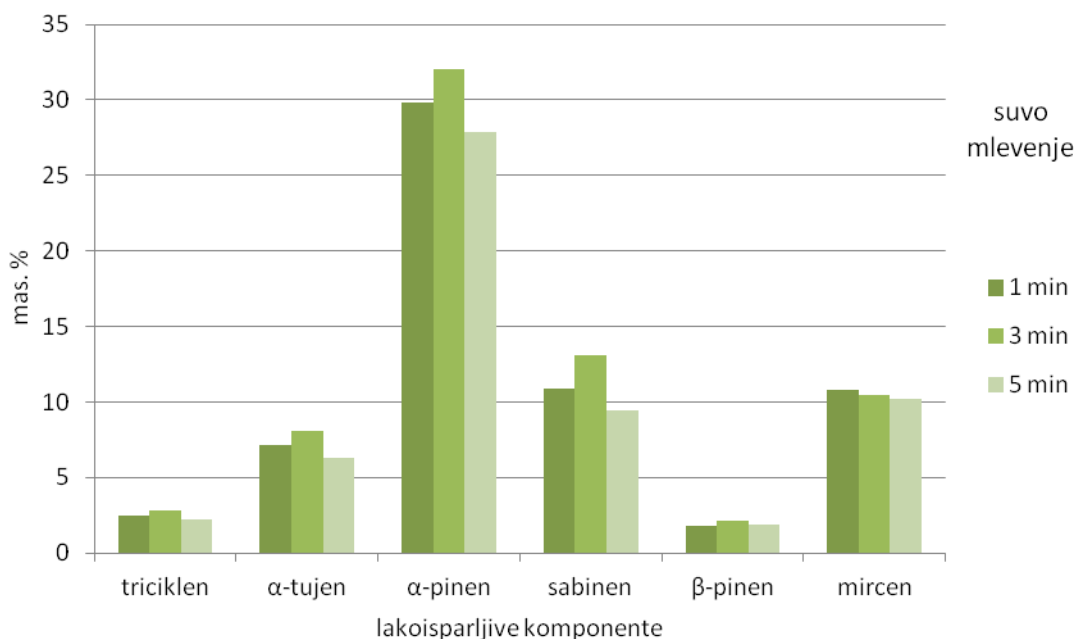
a) lakoisparljive komponente, koje čine monoterpenški ugljovodonici (tačka ključanja 153–167 °C): triciklen, α -tujen, α -pinen, sabinen, β -pinen i mircen, ukupno 57,96–72,57 %, a najviše α -pinen (27,88–33,46 %), sabinen (8,87–13,06 %) i mircen (9,06–12,62 %);

b) srednjeisparljive komponente, koje čine monoterpenški ugljovodonici (tačka ključanja 173–185 °C): α -terpinen, limonen, i γ -terpinen i oksigenovani monoterpenški ugljovodonici: cis-sabinen hidrat i terpinen-4-ol (tačka ključanja 212 °C), ukupno 8,08–11,74 %, a najviše limonen (3,91–6,56 %) i terpinen-4-ol (2,12–3,19 %); i

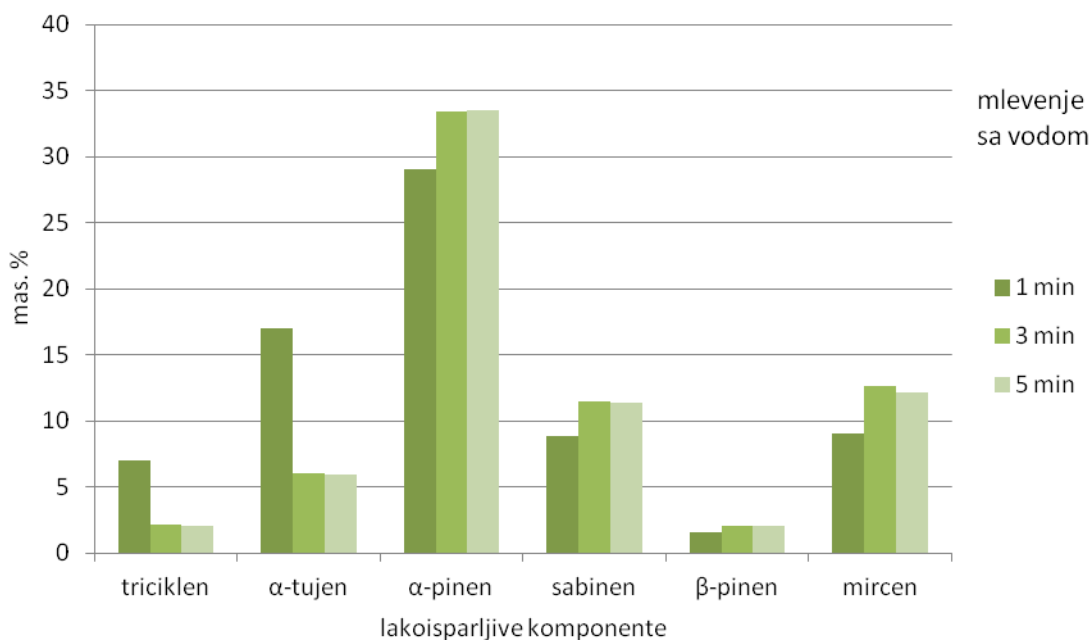
c) teškoisparljive komponente, koje čine seskviterpenški ugljovodonici (tačka ključanja 252–288 °C): α -kubeben, β -elemene, sibiren, trans-kariofilen, γ -elemen, cis-murola-3,5-dien, α -humulen, germakren D, β -selinen, biciklogermakren i δ -kadinen, i oksigenovani seskviterpenški ugljovodonici: spatulenol i kariofilen oksid, ukupno 14,02–24,84 %, a najviše germakren D (1,95–5,88 %) i biciklogermakren (1,17–2,62 %).

Na slikama 3.3.1 i 3.3.2 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od vremena mlevenja za vrednosti 1, 3 i 5 min pri različitim načinima pripreme hidrodestilacije – suvom mlevenju i mlevenju sa vodom. Pri suvom mlevenju opšti trend je povećanje masenih udela za srednje vreme mlevenja u odnosu na najkraće, zatim smanjenje za najduže vreme mlevenja – $63,00 < 68,64 > 57,96$ % (najveća razlika 10,68 %). Taj trend je prisutan kod svih komponenti osim kod mircena. Uočeni porast masenog udela za 3 min nije u skladu sa očekivanjima da će pri produženju vremena mlevenja doći do smanjenja masenog udela lakoisparljivih komponenti u etarskom ulju jer će deo njih ispariti tokom pripreme (miris kleke se dobro oseti u prostoriji). Kod mlevenja sa vodom trend je, po očekivanju, da ukupan maseni udeo opada sa produženjem vremena mlevenja – $72,57 > 67,62 > 66,99$ % (najveća razlika 5,58 %). Zanimljivo je da tome doprinose dve najisparljivije komponente – triciklen i α -tujen, dok ostale komponente imaju drugačiji trend, ali manje izražen. Navedeni maseni udeli su značajno veći nego pri suvom

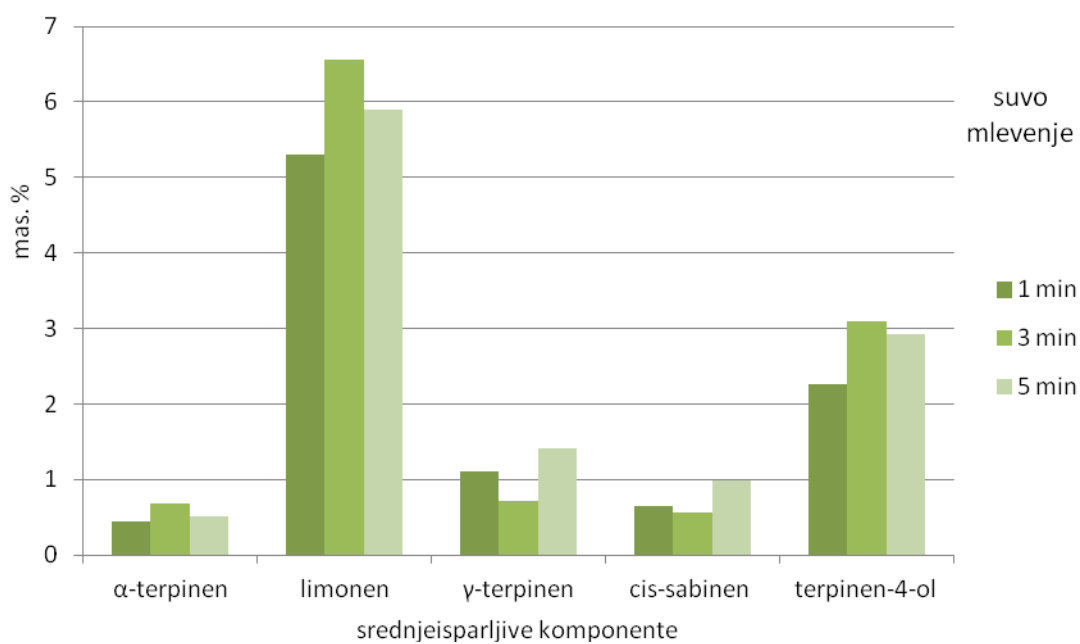
mlevenju jer je isparavanje (gubitak) lakoisparljivih komponenti mnogo manji kod mlevenja sa vodom, zbog čega je manja i najveća razlika – 5,58 < 10,68 % .



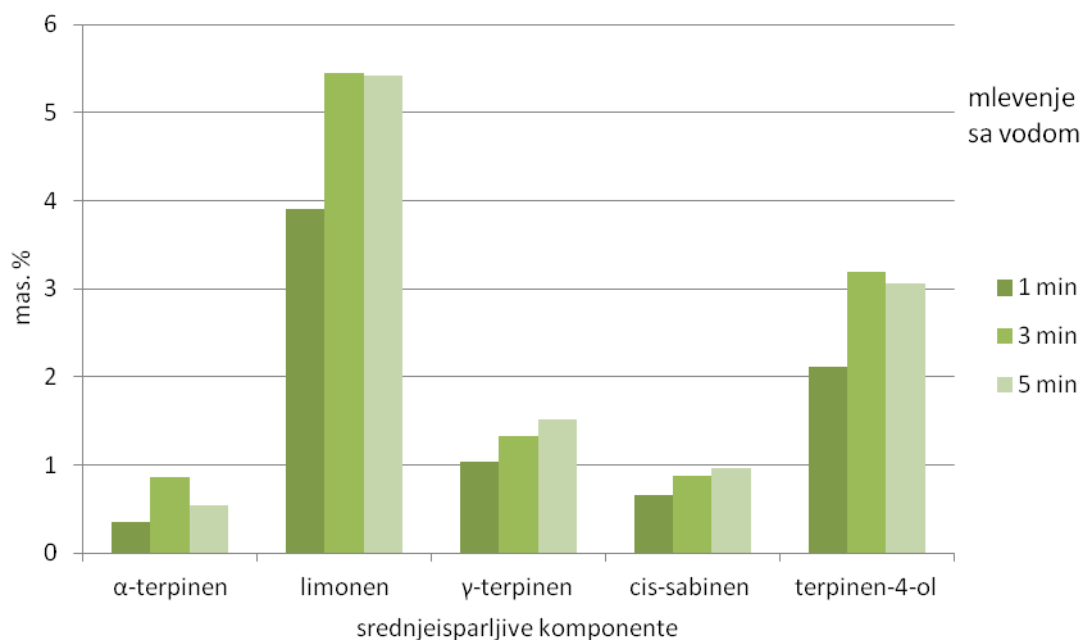
Slika 3.3.1 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri suvom mlevenju



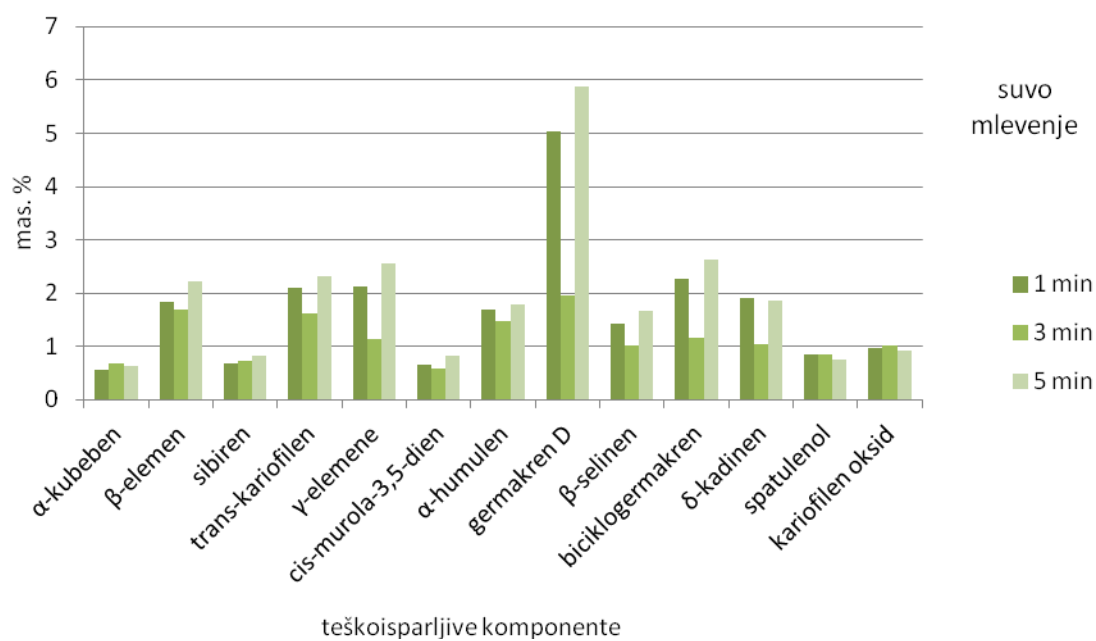
Slika 3.3.2 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti pri mlevenju sa vodom



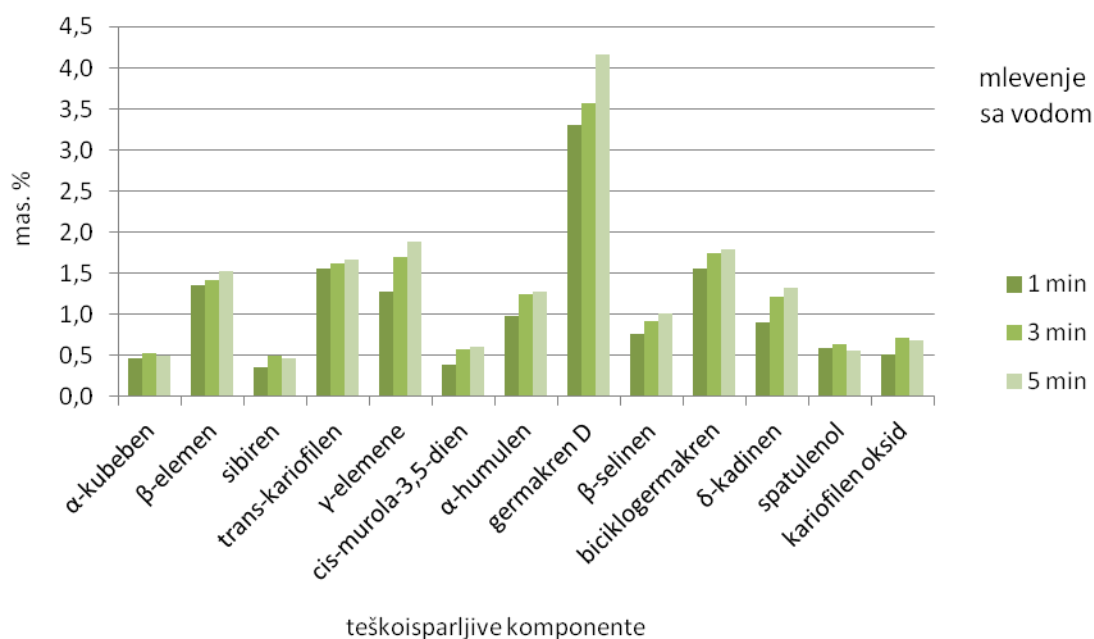
Slika 3.3.3 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri suvom mlevenju



Slika 3.3.4 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti pri mlevenju sa vodom



Slika 3.3.5 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri suvom mlevenju



Slika 3.3.6 Uticaj vremena mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti pri mlevenju sa vodom

Slike 3.3.3 i 3.3.4 prikazuju zavisnost hemijskog sastava srednjeisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od vremena mlevenja za vrednosti 1, 3 i 5 min pri različitim načinima pripreme hidrodestilacije – suvom mlevenju i mlevenju sa vodom. Kod suvog mlevenja ukupni maseni udeo se povećava od 9,75 % za 1 min na 11,64 % za 3 min i ostaje približan (malo veći) 11,74 % za 5 min (najveća razlika 1,99 %). Tri komponente (α -terpinen, limonen i terpinen-4-ol) imaju najveće vrednosti masenih udela za srednje vreme mlevenja od 3 min, dok su kod preostale dve komponente (γ -terpinen i cis-sabinen hidrat) maseni udeli najveći za najduže vreme mlevenja od 5 min. Kod mlevenja sa vodom rezultati su vrlo slični, ukupni maseni udeo se povećava od 8,08 % za 1 min na 11,70 % za 3 min i ostaje približan (malo manji) 11,51 % za 5 min (najveća razlika 3,43 %). Identično kao kod suvog mlevenja, tri iste komponente (α -terpinen, limonen i terpinen-4-ol) imaju najveće vrednosti masenih udela za srednje vreme mlevenja od 3 min, dok su kod preostale dve komponente (γ -terpinen i cis-sabinen hidrat) maseni udeli najveći za najduže vreme mlevenja od 5 min. Srednje isparljive komponente značajno manje isparavaju tokom mlevenja, tako su njihovi maseni udeli, suprotno od lakoisparljivih komponenti, veći pri dužem mlevenju. Vrednosti masenih udela za 3 i 5 min kod oba načina pripreme su vrlo bliske (u opsegu 11,51–11,74 %), što znači da i produženo vreme mlevenja (3 ili 5 min) i način pripreme (suvo mlevenje ili mlevenje sa vodom) zanemarljivo utiču na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti.

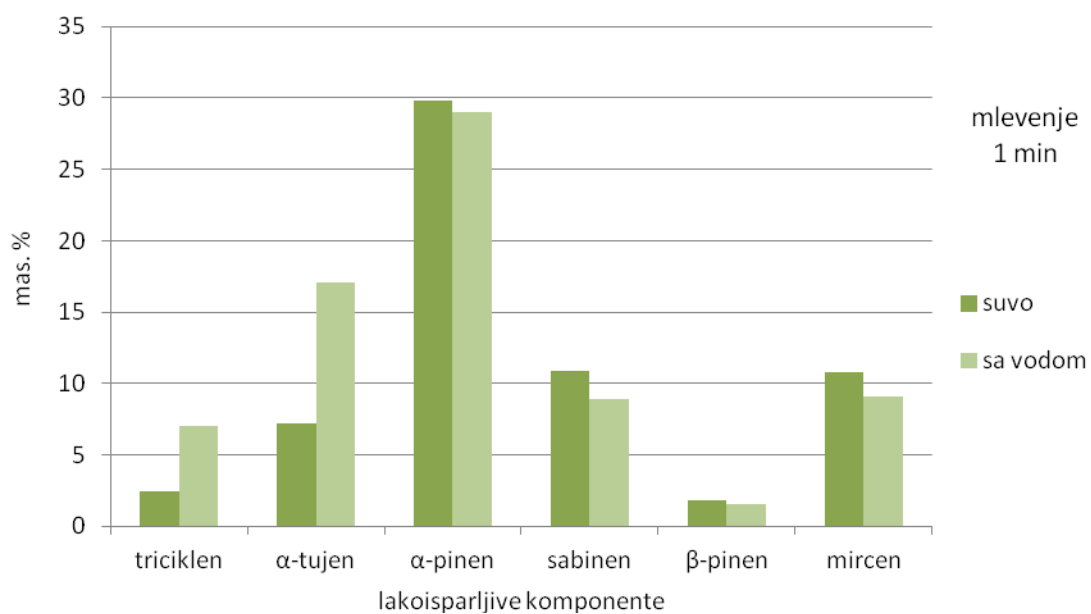
Na slikama 3.3.5 i 3.3.6 pokazana je zavisnost hemijskog sastava teškoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od vremena mlevenja za vrednosti 1, 3 i 5 min pri različitim načinima pripreme hidrodestilacije – suvom mlevenju i mlevenju sa vodom. Kod suvog mlevenja ukupni maseni udeo se smanjuje od 22,13 % za 1 min na 15,02 % za 3 min i povećava na 24,84 % za 5 min (najveća razlika 7,82 %). Opšti trend smanjenja masenih udela za 3 min (prisutan kod 9 od 13 komponenti) je posledica navedenog neočekivanog povećanja masenih udela lakoisparljivih komponenti za 3 min (uslovljava smanjenje masenih udela teškoisparljivih komponenti pri bliskim vrednostima masenih udela srednjeisparljivih komponenti za sva vremena mlevenja). Kod mlevenja sa vodom masa ukupan maseni udeo se povećava sa 14,02 % za 1 min na 16,39 % za 3 min i zatim na 17,42 % za 5 min

(najveća razlika 3,40 %). Opšti trend povećanja masenih udela sa produženjem vremena mlevenja je ispoljen kod 10 od 13 komponenti. To je očekivano jer kod lakoisparljivih komponenti, kao što je navedeno, prisutno smanjenje masenih udela sa produženjem vremena mlevenja (veće isparavanje, tj. gubitak u atmosferu), što dovodi do povećanja masenih udela teškoisparljivih komponenti pri relativno sličnim masenim udelima srednjeisparljivih komponenti za sva vremena mlevenja. Maseni udeli su značajno manji kod mlevenja sa vodom u odnosu na suvo mlevenje (14,02–16,39–17,42 prema 22,13–15,02–17,42 %), što je posledica značajno većeg isparavanja, tj. gubitka lakoisparljivih komponenti pri suvom mlevenju koje rezultira njihovim manjim masenim udelima u odnosu na mlevenje sa vodom. Pri vrlo sličnim masenim udelima srednjeisparljivih komponenti kod suvog mlevenja i mlevenja sa vodom, to uslovljava veće masene udele teškoisparljivih komponenti kod suvog mlevenja.

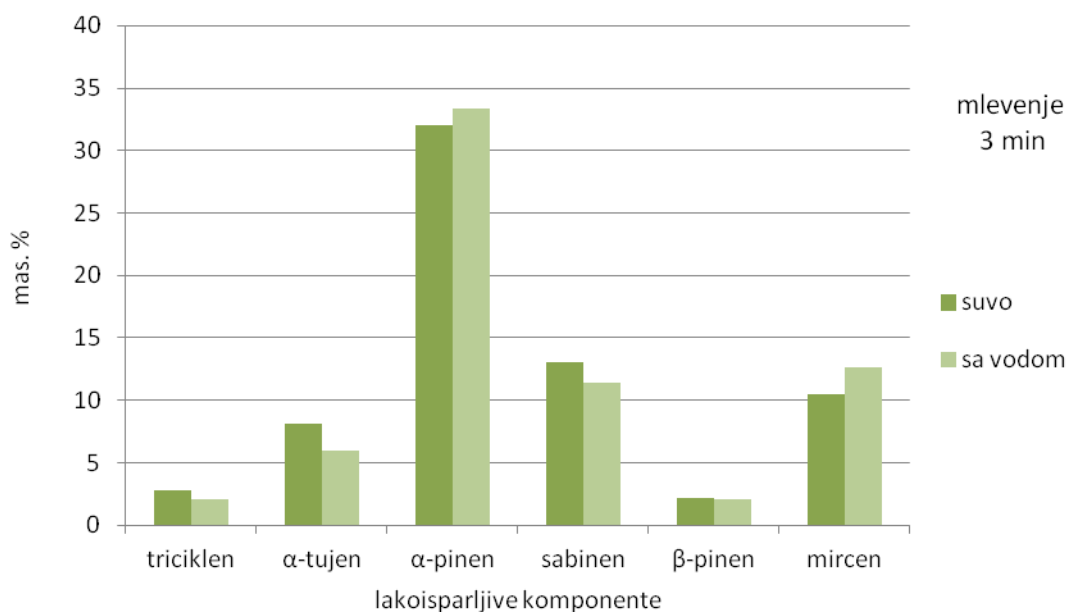
Vreme mlevenja ima najmanji uticaj na promenu hemijskog sastava kod lakoisparljivih komponenti (za oba načina mlevenja prosek 13,4 %), srednji kod srednjeisparljivih komponenti (prosek 31,5 %) i najveći kod teškoisparljivih komponenti (prosek 44,9 %). Veći uticaj je kod suvog mlevenja u odnosu na mlevenje sa vodom kod lakoisparljivih komponenti ($18,4 > 8,3$ %) i teškoisparljivih komponenti ($65,4 > 24,3$ %), dok je kod srednjeisparljivih komponenti obrnuto ($20,4 < 42,5$ %).

3.3.3 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav etarskog ulja

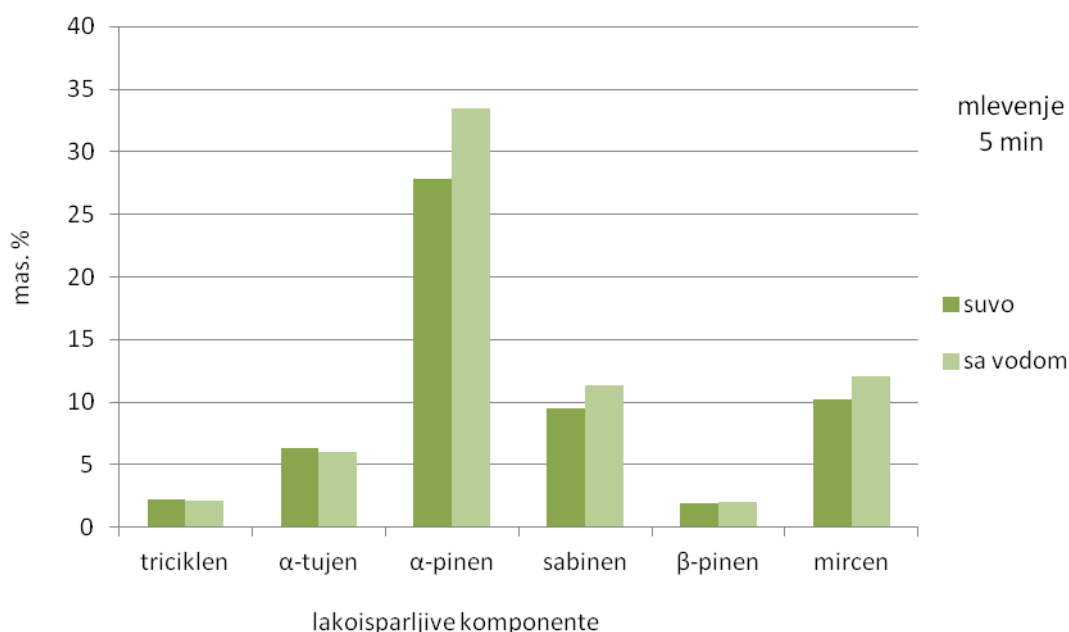
Na slikama 3.3.7, 3.3.8 i 3.3.9 predstavljena je zavisnost hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti iskazanog masenim udelima od načina mlevenja za vremena mlevenja 1, 3 i 5 min. Ukupan maseni udeo za vreme mlevenja 1 min je manji kod suvog mlevenja nego kod mlevenja sa vodom – $63,00 < 72,57$ % (razlika 9,57 %), što je očekivano zbog, već obrazloženog, intenzivnijeg isparavanja, tj. gubitka lakoisparljivih komponenti pri suvom mlevenju. To je posebno izraženo kod dve najisparljivije komponente, triciklena i α -tujena čiji je uticaj na ukupan maseni udeo dominantan. Preostale komponente, α -pinen, sabinen, β -pinen i mircen imaju suprotnu promenu, tj. njihovi maseni udeli su čak malo manji kod mlevenja sa vodom, ali to je zajedno manje u odnosu na porast kod dve najisparljivije komponente, pa je ukupan maseni udeo veći.



Slika 3.3.7 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 1 min



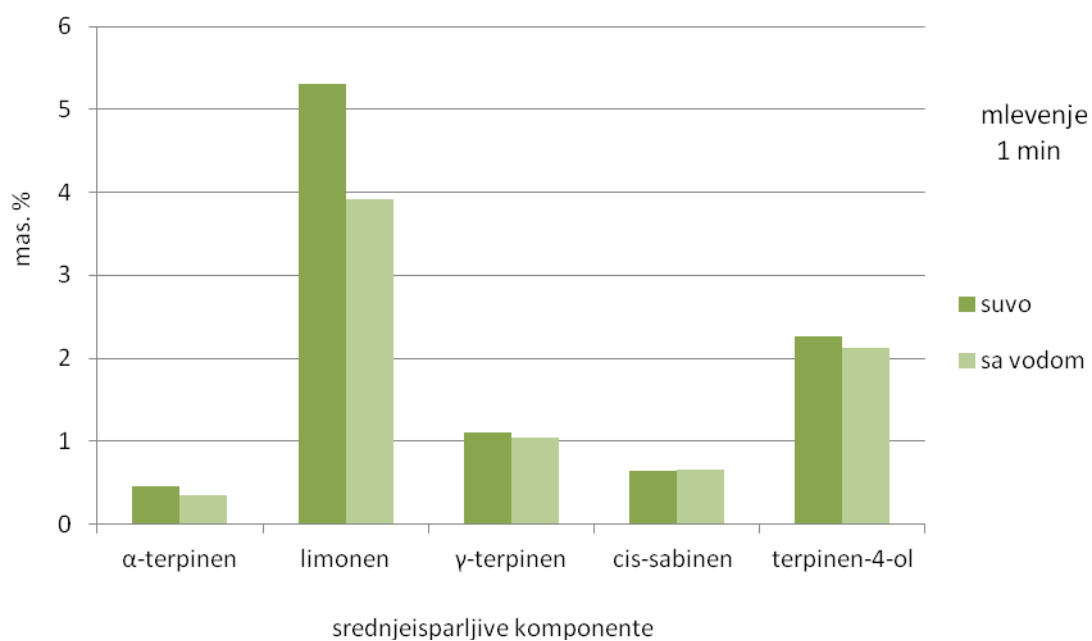
Slika 3.3.8 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 3 min



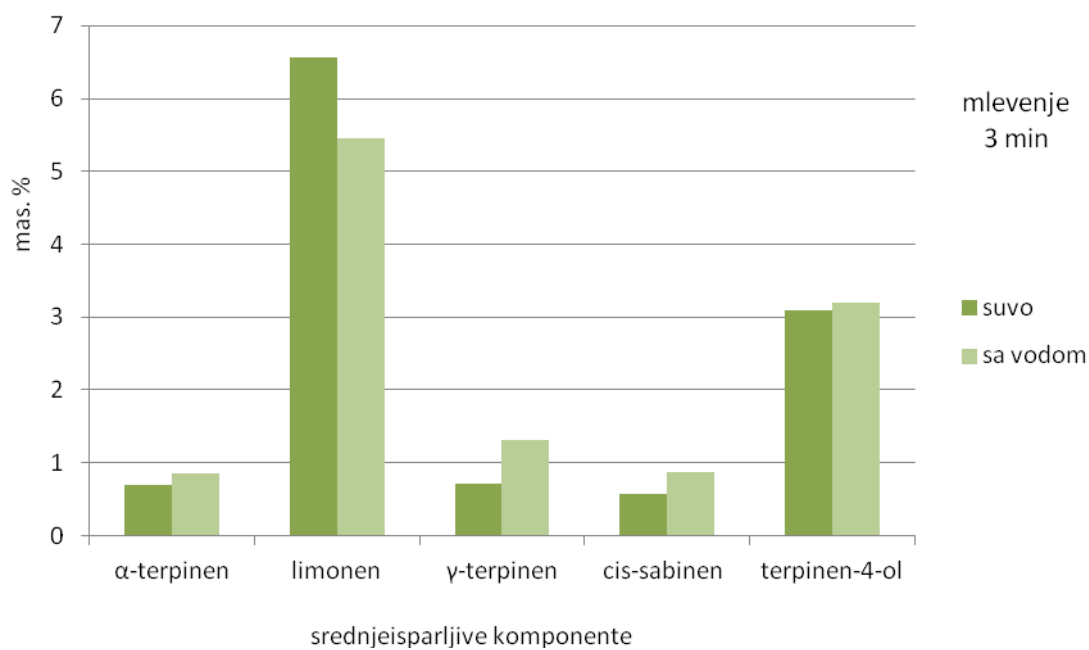
Slika 3.3.9 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav lakoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 5 min

Za vreme mlevenja 3 min ukupan maseni udeo lakoisparljivih komponenti je, suprotno očekivanom, čak malo veći kod suvog mlevenja – 68,64 > 67,62 % (razlika 1,02 %). Tome doprinose komponente triciklen, α-tujen, sabinen i β-pinen, dok je kod komponenti sa najvećim masenim udelima, α-pinena i mircena obrnuto, tj. njihovi maseni udeli su manji kod suvog mlevenja. Vrlo mala razlike ukupnih masenih udela znači da način mlevenja skoro ne utiče na promenu hemijskog sastava lakoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 3 min. To je suprotno očekivanju da način mlevenja više utiče pri dužem vremenu mlevenja.

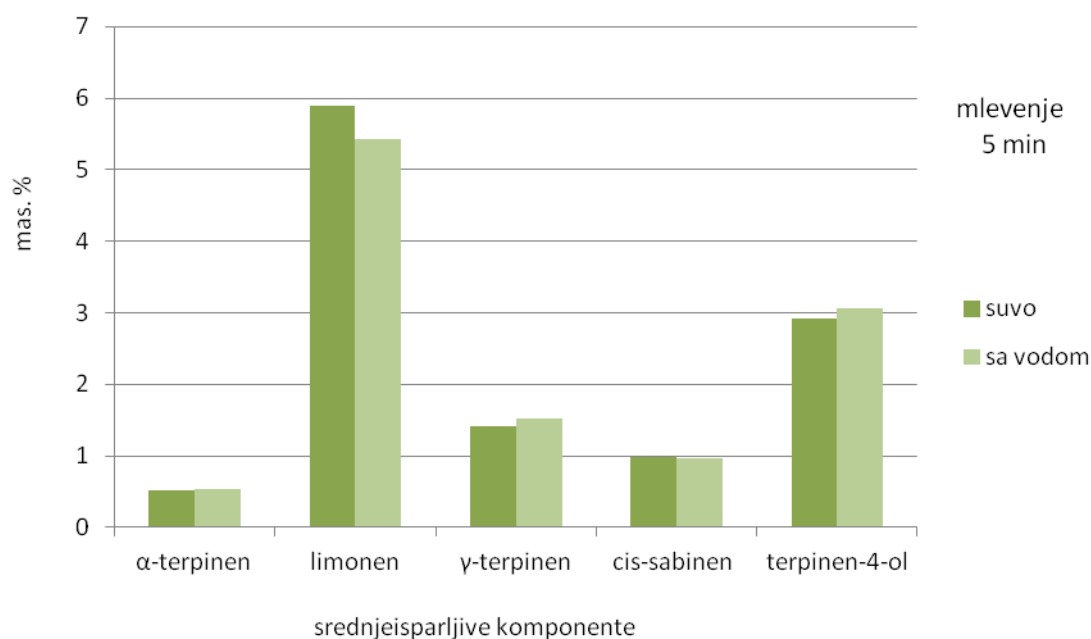
Kod vremena mlevenja 5 min ukupan maseni udeo lakoisparljivih komponenti je, po očekivanju, manji kod suvog mlevenja u odnosu na mlevenje sa vodom – 57,96 < 66,99 % (razlika 9,03 %). Za razliku od promena za vreme mlevenja 1 min, ovde je situacija sa komponentama sasvim suprotna. Dve najisparljivije komponente, triciklen i α-tujen imaju malo veće masene udele kod suvog mlevenja, ali je dominantan uticaj preostale četiri komponente, α-pinen, sabinen, β-pinen i mircen koje imaju suprotnu promenu, tj. njihovi maseni udeli su značajno manji pri suvom mleveníju. Uticaj načina mlevenja za vreme mlevenja 5 min je smerom promene isti i kvantitativno približan onome za 1 min (od njih se bitno razlikuje navedeni uticaj za vreme mlevenja 3 min).



Slika 3.3.10 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti za vreme mlevenja 1 min

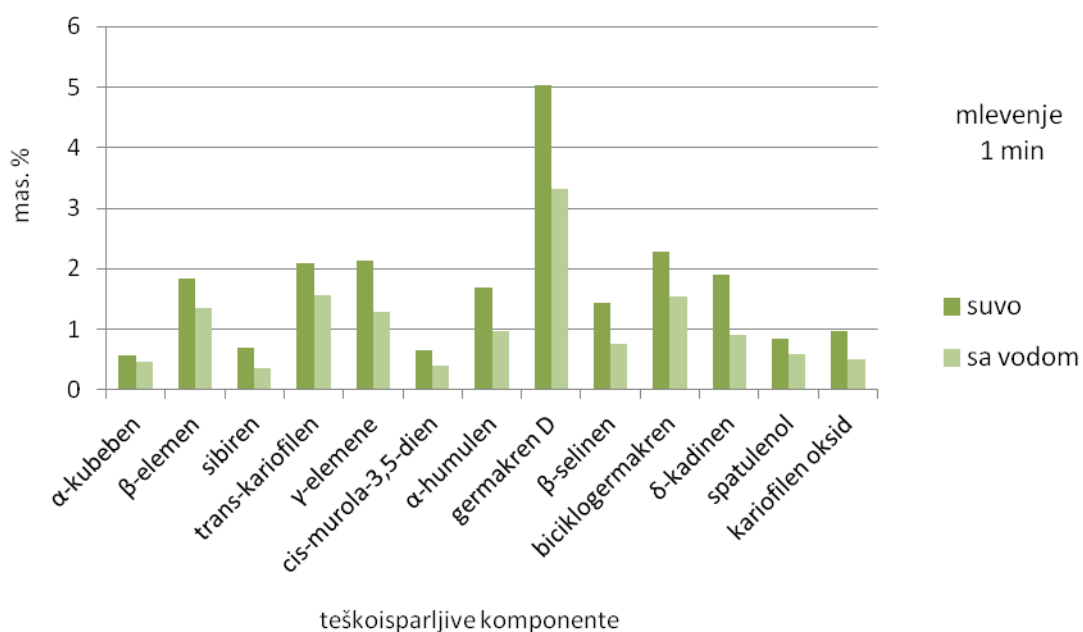


Slika 3.3.11 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti za vreme mlevenja 3 min

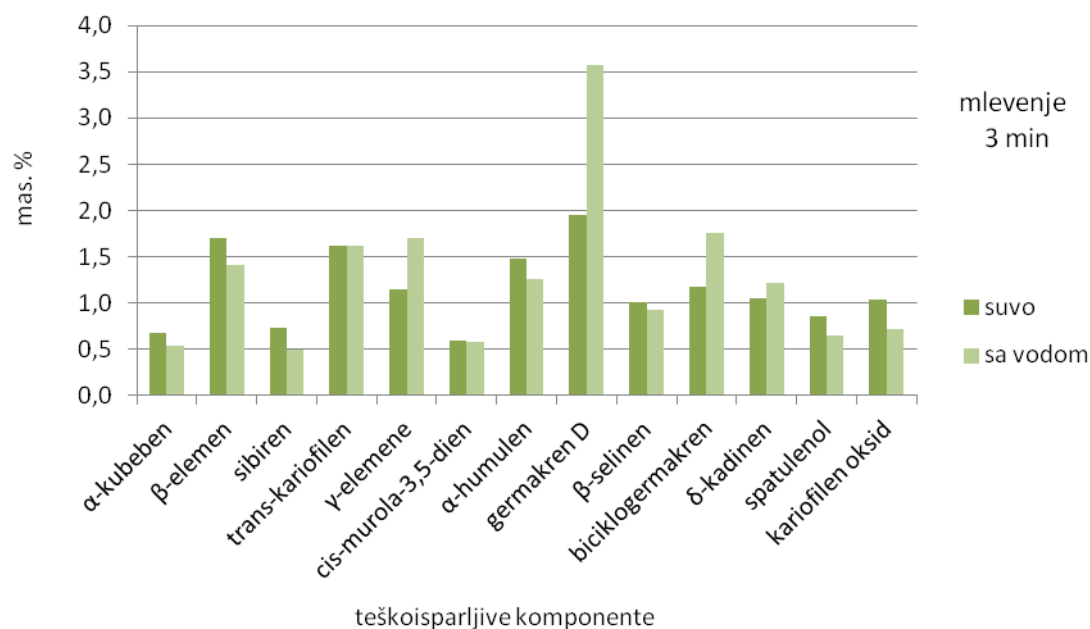


Slika 3.3.12 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti za vreme mlevenja 5 min

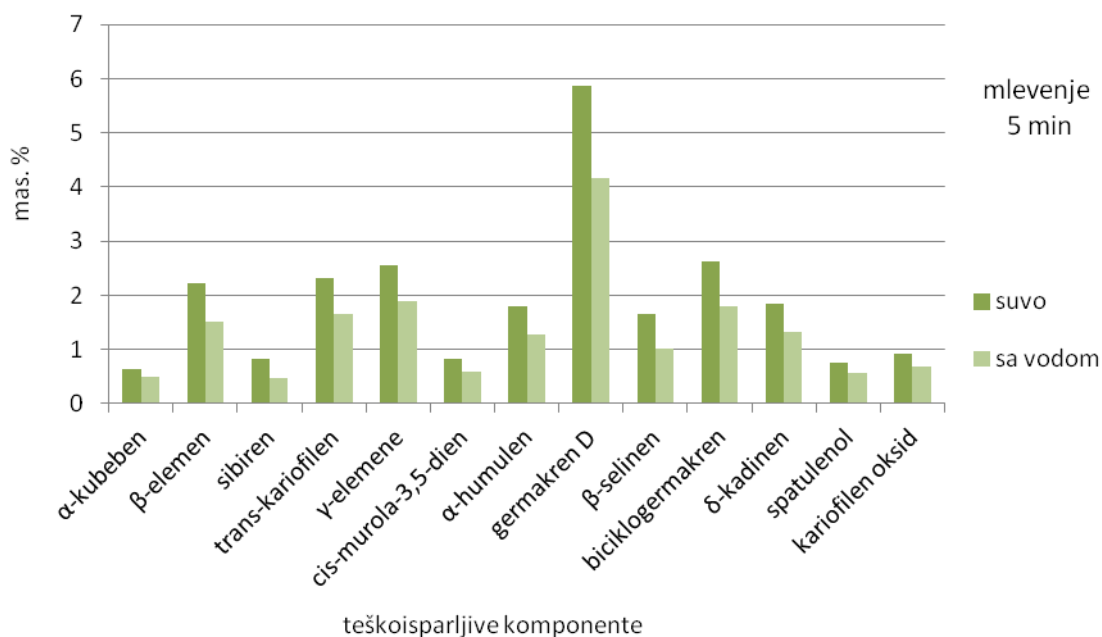
Slike 3.3.10, 3.3.11 i 3.3.12 prikazuju uticaj načina mlevenja na hemijski sastav srednjeisparljivih komponenti iskazan masenim udelima za vremena mlevenja 1, 3 i 5 min. Ukupan maseni udeo za vreme mlevenja 1 min je veći kod suvog mlevenja u odnosu na mlevenje sa vodom – 9,75 > 8,08 % (razlika 1,67 %), što je promena kod svih komponenti osim cis-sabinena. To je očekivano, jer ako je ukupan maseni udeo lakoisparljivih komponenti manji kod suvog mlevenja, ukupan maseni udeo srednjeisparljivih i teškoisparljivih komponenti mora biti veći. Za vreme mlevenja 3 min, još izraženije nego kod lakoisparljivih komponenti, ukupni maseni udeli su vrlo približni – 11,64 ~ 11,70 % (razlika zanemarljivih 0,06 %). Isto važi i za vreme mlevenja 5 min, ukupni maseni udeli su i međusobno vrlo približni – 11,74 ~ 11,51 % (razlika malih 0,23 %), kao i veoma približni onima za vreme mlevenja 3 min. U oba slučaja limonen, komponenta sa najvećim masenim udelom od svih srednjeisparljivih komponenti, ima suprotnu promenu od svih ostalih komponenti, α-terpinena, γ-terpinen cis-sabinena i terpinen-4-ola. Njegov maseni udeo je veći kod suvog mlevenja u odnosu na mlevenje sa vodom (što je izraženije za vreme mlevenja 3 min), dok je kod svih ostalih promena suprotna, tj, njihovi maseni udeli su manji kod suvog mlevenja.



Slika 3.3.13 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 1 min



Slika 3.3.14 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 3 min



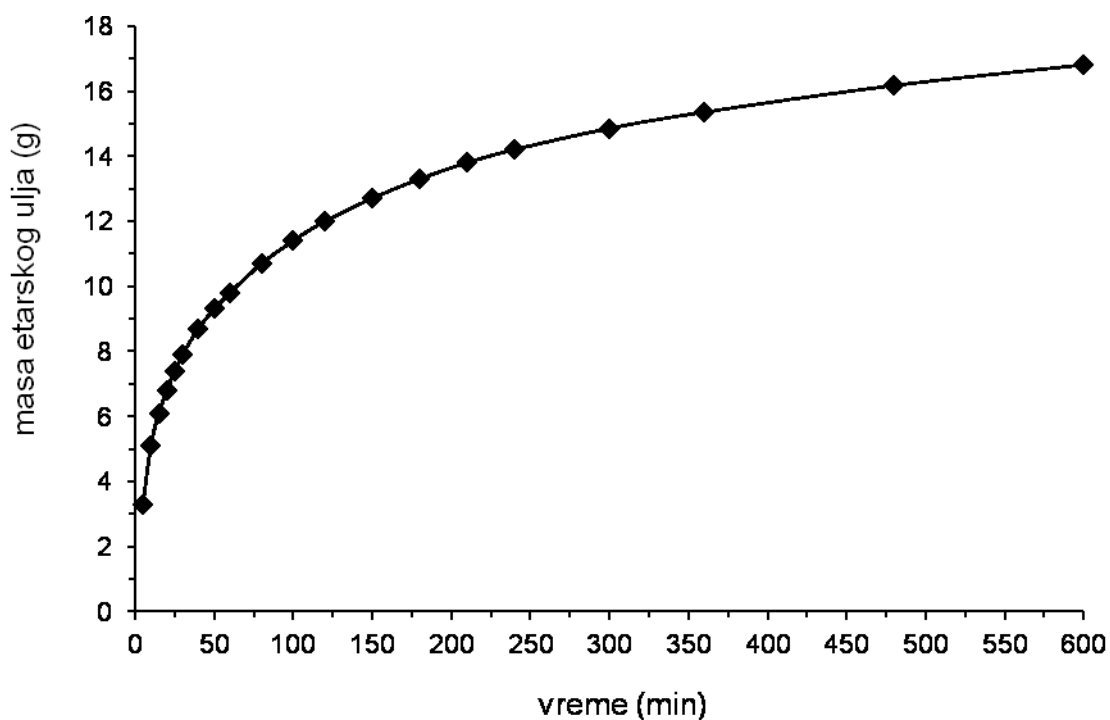
Slika 3.3.15 Uticaj načina mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 5 min

Na slikama 3.3.13, 3.3.14 i 3.3.15 pokazan je uticaj načina mlevenja na hemijski sastav teškoisparljivih komponenti iskazan masenim udelima za vremena mlevenja 1, 3 i 5 min. Ukupan maseni udeo teškoisparljivih komponenti za vreme mlevenja 1 min je veći kod suvog mlevenja nego kod mlevenja sa vodom – 22,13 > 14,02 % (razlika 8,11 %), što je po očekivanju (ranije obrazloženo). Svih 13 komponenti imaju navedenu promenu. Za vreme mlevenja 3 min, pri praktično istim ukupnim masenim udelima srednjeisparljivih komponenti i sličnim lakoisparljivih komponenti, i ukupni maseni udeli teškoisparljivih komponenti za oba načina mlevenja su sličnih vrednosti. Ovde je, naravno, promena suprotna onoj kod lakoisparljivih komponenti, tj. ukupan maseni udeo je manji kod suvog mlevenja – 15,02 < 16,39 (razlika 1,37 %). Kod vremena mlevenja 5 min, takođe pri praktično istim ukupnim masenim udelima srednjeisparljivih komponenti, promena ukupnog masenog udela teškoisparljivih komponenti je suprotna onoj za lakoisparljive komponente, tj. ukupan maseni udeo je veći kod suvog mlevenja – 24,84 > 17,42 % (razlika 7,42 %). I ovde svih 13 komponenti imaju navedenu promenu.

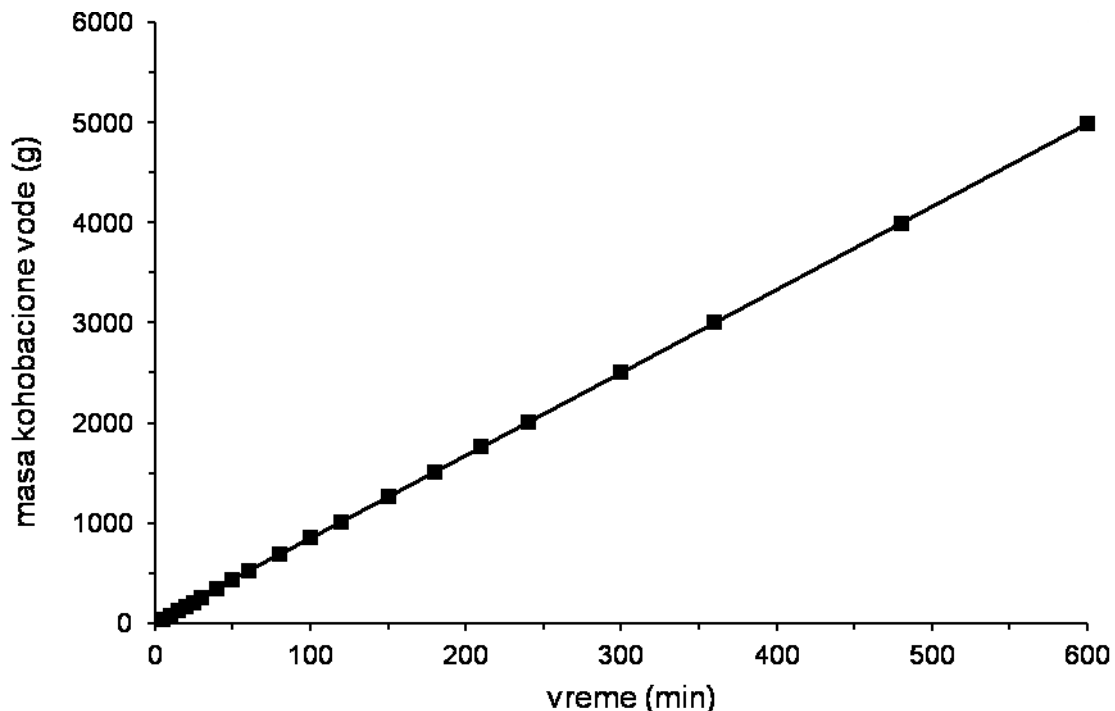
Način mlevenja ima najmanji uticaj na promenu hemijskog sastava kod srednjeisparljivih komponenti (za sva vremena mlevenja prosek 7,7 %), srednji kod lakoisparljivih komponenti (prosek 10,8 %) i najveći kod teškoisparljivih komponenti (prosek 36,59 %). Što se tiče uticaja načina mlevenja na promenu hemijskog sastava u odnosu na vreme mlevenja, on je daleko najmanji za 3 min (za lakoisparljive, srednjeisparljive i teškoisparljive komponente prosek samo 3,7 %), dosta veći za 5 min (prosek 20,1 %) i najveći za 1 min (prosek 31,2 %).

3.4 Optimizacija potrošnje energije i određivanje optimalnog vremena hidročestilacije

U eksperimentu korišćeni su zreli plodovi kleke sa područja južne strane planine Rogozne (južna Srbija). Očišćeni plodovi su sušeni prirodnim provetravanjem i odgovarajuće uskladišteni. Mleveni su u dezintegratoru (Bosh, 500W) 2 minuta i 1000 g je kvantitativno preneto u balon zapremine 5 l i dodato je 3 l destilovane vode tako da je odnos masa kleka–voda (hidromodul) bio 1:3. Hidročestilacija je vršena deset sati u laboratorijskoj aparaturi tipa Klevendžer. Zagrevanje je vršeno električnim grejačem stalnim intenzitetom tako da je postignuta brzina hidročestilacije (iskazana zapreminskim protokom kohobacione vode) od 8,4 ml/min. Polazna osnova su za sve naredne proračune su zavisnosti mase izdvojenog etarskog ulja i mase kohobacione vode od vremena prikazane na slikama 3.4.1 i 3.4.2, redom. Linearna zavisnost mase kohobacione (kondenzovane) vode od vremena ukazuje da je zagrevanje suspenzije u balonu bilo ravnomerno, pa je brzina čestilacije stalna tokom hidročestilacije.

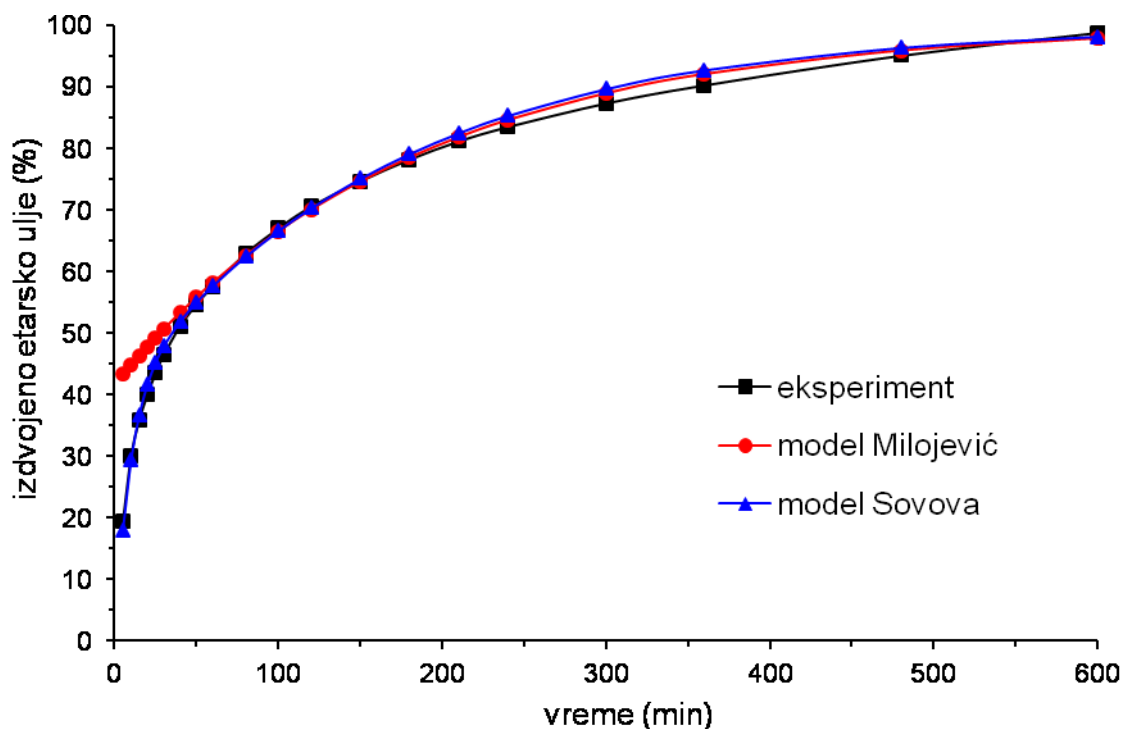


Slika 3.4.1 Masa izdvojenog etarskog ulja u zavisnosti od vremena



Slika 3.4.2 Masa kohobacione vode u zavisnosti od vremena

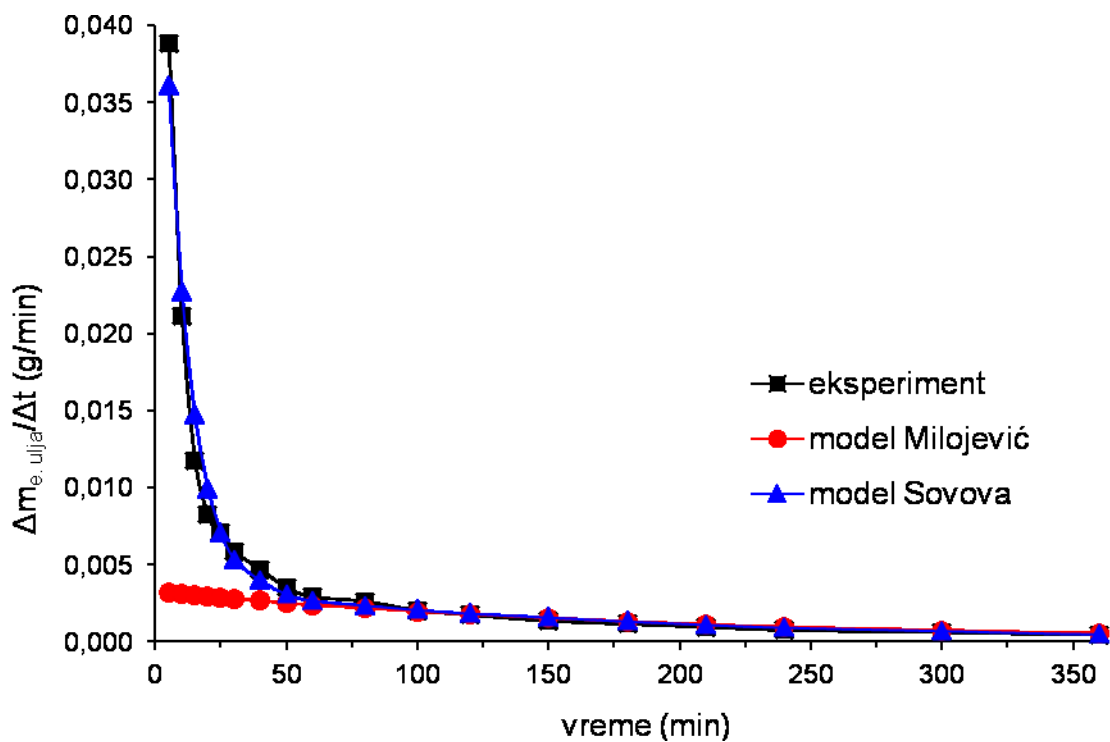
Na slici 3.4.3 predstavljena je zavisnost procenta izdvojenog etarskog ulja od vremena u eksperimentu i isto to izračunato pomoću modela Sovove i Milojevića koji su navedeni i objašnjeni u poglavljima Teorijski deo i Mikrotalasna hidrodestilacija (Sovova, 2006; Milojević, 2008). Njihovi parametri su izračunati na osnovu ekperimentalnih podataka o zavisnosti mase izdvojenog etarskog ulja od vremena. Kriva je, naravno, istog oblika kao na slici 3.4.1 jer se u oba slučaja radi o predstavljanju istog procesa, odnosno kinetike hidrodestilacije. Složeniji troparametarski model Sovove odlično opisuje kinetiku u celom opsegu vremena, odnosno i tokom početne „brze“ i tokom kasnije „spore“ faze hidrodestilacije. Jednostavniji dvoparametarski model Milojevića pokazuje odlično slaganje samo u „sporoj“ fazi (praktično isto kao i prvi model), što je značajno jer se optimizacija potrošnje energije, tj. određivanje optimalnog vremena procesa hidrodestilacije odnosi upravo na taj period. Na narednim slikama vreme je radi bolje preglednosti predstavljeno do šest sati jer je to dovoljan vremenski period za ono što želi da se pokaže.



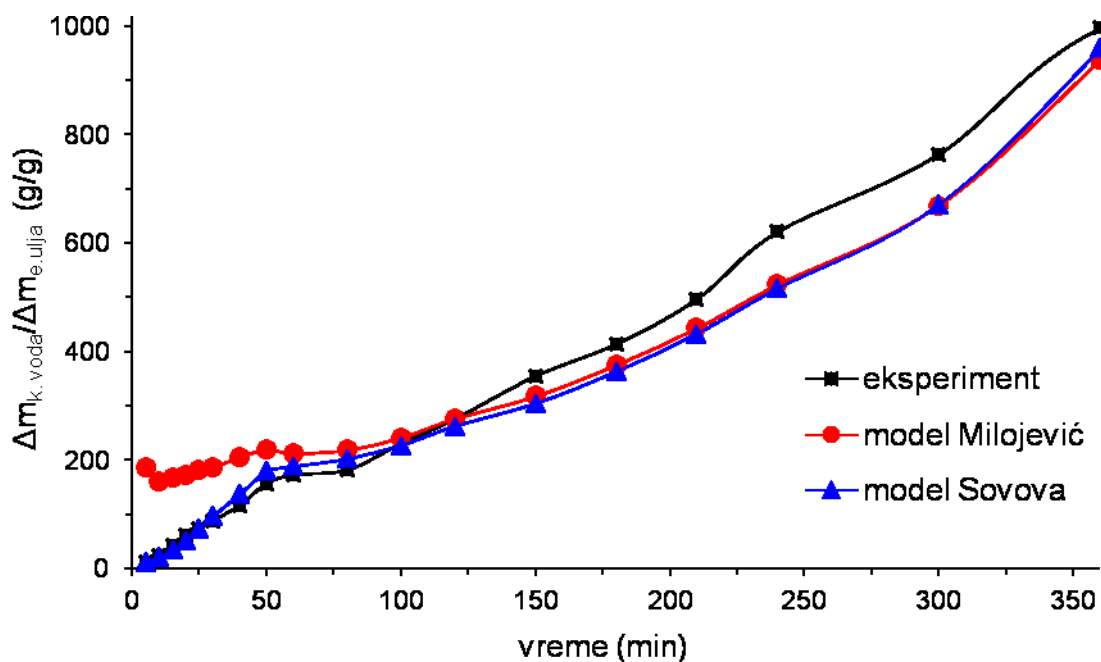
Slika 3.4.3 Procenat izdvojenog etarskog ulja u zavisnosti od vremena

Slika 3.4.4 predstavlja diferencijalnu promenu mase izdvojenog etarskog ulja po posmatranim vremenskim intervalima u eksperimentu i u oba modela. Uočljivo je mnogo manje izdvajanje tokom „spore“ faze što upućuje na zaključak da se u tom periodu mnogo vremena, a to znači i energije troši za izdvajanje malo etarskog ulja, odnosno na potrebu detaljne diferencijalne analize utroška energije.

To je potvrđeno na slici 3.4.5 koja predstavlja diferencijalnu promenu mase kohobacione vode po masi izdvojenog etarskog ulja u eksperimentu i u oba modela tokom vremena hidroddestilacije. Kohobaciona (kondenzovana) voda je direktna posledica zagrevanja, tj. njena ukupna masa je direktno proporcionalna utrošenoj energiji tokom hidroddestilacije. Uočava se da su vrednosti posle 50 minuta („spora“ faza) značajno veće u odnosu na početak („brza“ faza), tj. da taj period troši najveći deo energije i da je potrebno odrediti optimalno vreme hidroddestilacije sa tehnoeonomskog aspekta. U tom cilju je osmišljen postupak koji se zasniva na analizi diferencijalnih troškova energije hidroddestilacije pri čemu je očekivani rezultat njegove primene smanjenje vremena, tj. integralnih troškova energije hidroddestilacije.



Slika 3.4.4 Diferencijalna promena mase izdvojenog etarskog ulja u vremenskim intervalima



Slika 3.4.5 Diferencijalna promena mase kohobacione vode po masi izdvojenog etarskog ulja u vremenskim intervalima

3.4.1 Postupak određivanja optimalnog vremena hidrodestilacije

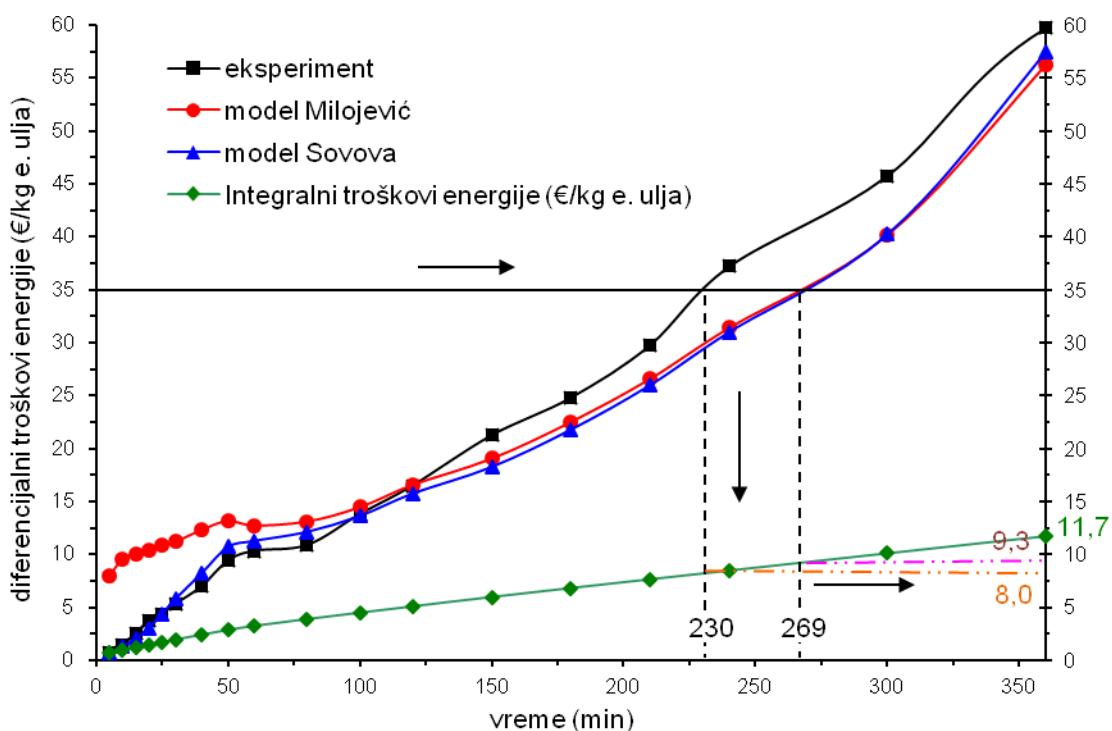
Na osnovu slike 3.4.5 predstavljena je zavisnost diferencijalnih troškova energije po masi izdvojenog etarskog ulja u eksperimentu i prema oba modela od vremena hidrodestilacije na slikama 3.4.6, 3.4.7 i 3.4.8, tako što su diferencijalne vrednosti mase kohobacione vode po kg izdvojenog etarskog ulja sa slike 3.4.5 pomnožene komercijalnom cenom vodene pare od 0,06 €/kg. Uz pretpostavku prosečnog prinosa etarskog ulja od 1,3 % (77 kg ploda kleke potrebno za 1 kg etarskog ulja) i usvojen hidromodul 1:3, za kg izdvojenog etarskog ulja trošak zagrevanja vodene suspenzije samlevenog ploda kleke od početnih 15 °C do 100 °C računa se na sledeći način:

$$77 \text{ kg} \times 4 \times 4,186 \text{ kJ}/(\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}) \times (100 - 15) ^\circ\text{C} / 2257 \text{ kJ}/\text{kg}_{\text{v. pare}} = 48,6 \text{ kg}_{\text{v. pare}}$$
$$48,6 \text{ kg}_{\text{v. pare}} \times 0,06 \text{ €/kg}_{\text{v. pare}} = 2,92 \text{ €} \approx 3 \text{ €}$$

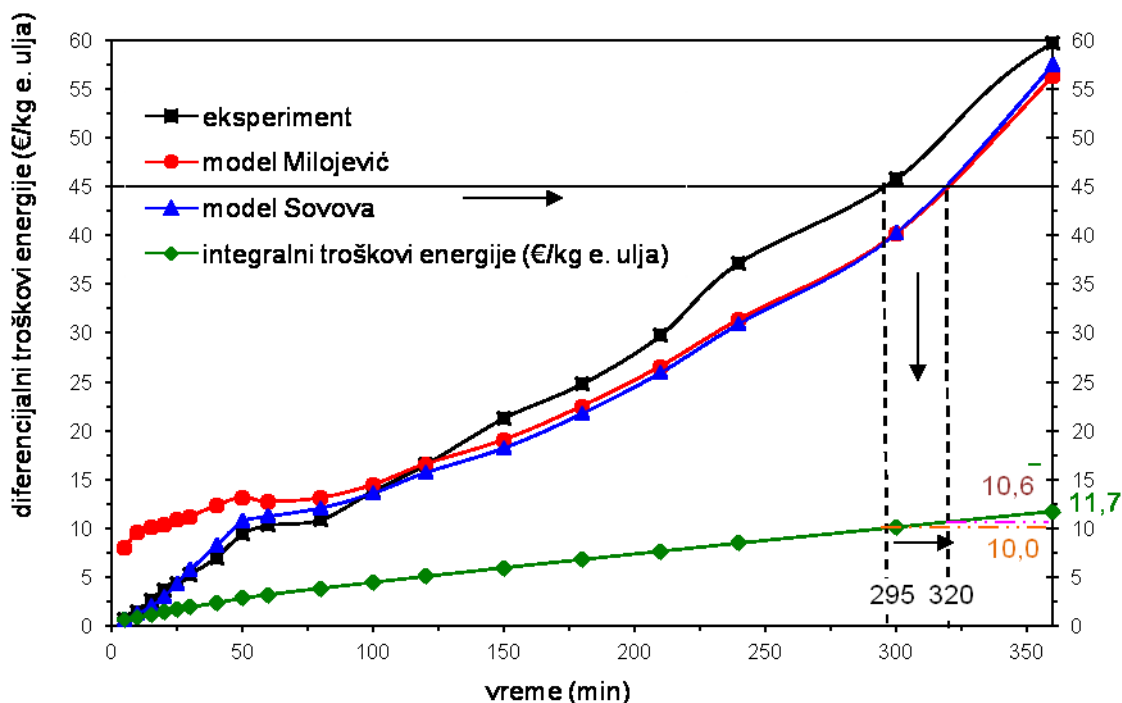
Prema rasponu cena ploda kleke (0,8–1,2 €/kg) i etarskog ulja (100–150 €/kg) na tržištu Srbije usvojena su tri scenarija za određivanje optimalnog vremena sa tehnoeconomskog aspekta utroška energije (zagrevanja). Za scenario najmanjih cena (slika 3.4.6) usvojene su vrednosti 0,8 i 100 €/kg, srednjih cena (slika 3.4.7) 1,0 i 125 €/kg i najvećih cena (slika 3.4.8) 1,2 €/kg i 150 €/kg. Proračuni su sledeći:

$$\begin{aligned} \text{scenario najmanjih cena} &- 77 \text{ kg} \times 0,8 \text{ €/kg} + 3 \text{ €} \approx 65 \text{ €}; 100 \text{ €} - 65 \text{ €} = 35 \text{ €} \\ \text{scenario srednjih cena} &- 77 \text{ kg} \times 1 \text{ €/kg} + 3 \text{ €} = 80 \text{ €}; 125 \text{ €} - 80 \text{ €} = 45 \text{ €} \\ \text{scenario najvećih cena} &- 77 \text{ kg} \times 1,2 \text{ €/kg} + 3 \text{ €} \approx 95 \text{ €}; 150 \text{ €} - 95 \text{ €} = 55 \text{ €} \end{aligned}$$

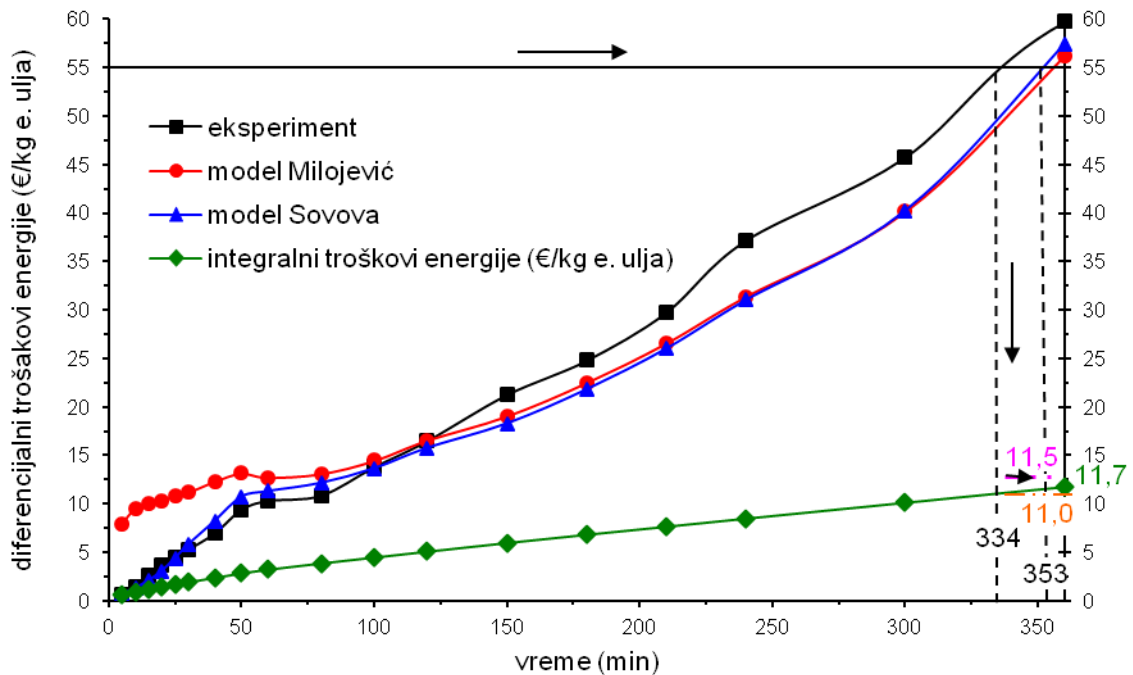
To znači da razlika vrednosti 1 kg etarskog ulja i dela troškova (cene kleke + energija za zagrevanje do 100 °C) neophodnih za njegovo izdvajanje u primeru scenarija najmanjih cena iznosi 35 €. Svesno zanemarujući troškove radne snage i amortizacije opreme radi jednostavnosti primera, dolazimo do podatka da trošak energije hidrodestilacije i zarada zajedno mogu biti tih 35 €. Na slici 3.4.6 pokazan je postupak određivanja optimalnog vremena hidrodestilacije za ovaj scenario, a na slikama 3.4.7 i 3.4.8 na isti način za ostale scenarije.



Slika 3.4.6 Određivanje optimalnog vremena i integralnih troškova hidrodestilacije za scenario najmanjih cena



Slika 3.4.7 Određivanje optimalnog vremena i integralnih troškova hidrodestilacije za scenario srednjih cena



Slika 3.4.8 Određivanje optimalnog vremena i integralnih troškova hidrodestilacije za scenario najvećih cena

Povlačenjem horizontale sa ordinate na vrednosti od 35 € do preseka sa krivama eksperimenta i modela, pa spuštanjem vertikale iz preseka do apcise očitavamo vrednosti 230 min (za eksperiment) i 269 min (za modele). To znači da su to optimalna vremena (po eksperimentu ili modelima) kada treba završiti hidrodestilaciju, jer njenim nastavljanjem počinje da se radi negativno sa tehnoekonomskog aspekta, odnosno više košta utrošena energija nego što se dobija kroz vrednost izdvojenog etarskog ulja. To znači da počinje neracionalno smanjenje do tada ostvarene zarade zarad nepotrebnog i neopravdano povećanog trošenja energije. Zavisnost integralnih troškova energije hidrodestilacije po kg etarskog ulja takođe je prikazana na slikama 3.4.6, 3.4.7 i 3.4.8 u obliku prave linije jer je zagrevanje bilo ravnomerno, tj. brzina hidrodestilacije je bila stalna, što znači direktnu, linearnu zavisnost integralnih troškova energije hidrodestilacije od vremena. Očitavanje vrednosti njenog preseka sa pomenutim vertikalama na desnoj ordinati daje 8,0 €/kg (za eksperiment) i 9,3 €/kg (za modele). Upoređivanjem tih vrednosti sa onom za integralne troškove energije za vreme od 360 min (što je uobičajeno vreme hidrodestilacije u laboratorijskoj i industrijskoj praksi) koja iznosi 11,7 €/kg može se izračunati ostvarena ušteda kod hidrodestilacije ako se ona zaustavi u određenom optimalnom vremenu.

3.4.2 Rezultati optimizacije potrošnje energije hidrodestilacije

Rezultati optimalnih vremena, odgovarajućih integralnih troškova energije hidrodestilacije i njihovih smanjenja u odnosu na 360 min određeni za eksperiment i modele pri navedenim scenarijima prikazani su u tabeli 3.4.1.

Tabela 3.4.1 Rezultati optimaizacije potrošnje energije hidrodestilacije

Scenario		Optimalno vreme (min)	Integralni troškovi energije (€/kg)	Smanjenje integralnih troškova energije u odnosu na 360 min (%)
najmanje cene	eksperiment	230	8,0	31,6
	modeli	269	9,3	20,5
srednje cene	eksperiment	295	10,0	14,5
	modeli	320	10,6	9,4
najveće cene	eksperiment	334	11,0	6,0
	modeli	353	11,5	1,7

Uštede integralnih troškova energije hidrodestilacije su u rasponu od značajnih 31,6 % kod eksperimenta za scenario najmanjih cena do malih 1,7 % kod modela za scenario najvećih cena. Uključivanjem troškova radne snage i amortizacije opreme uštede ukupnih troškova hidrodestilacije bile bi veće jer su i navedeni troškovi direktno srazmerni vremenu. Zavisnost ukupnih troškova bila bi prava linija samo većeg nagiba od one za integralne troškove energije, pa bi razlika njihovih vrednosti za određena optimalna vremena i 360 min bila veća. Naravno, uštede su još veće u slučaju poređenja sa dužim vremenima hidrodestilacije od 360 min. Predloženim skraćivanjem vremena u odnosu na uobičajena za hidrodestilaciju, ne samo da se vrlo značajno štedi energija, već se i dobija etarsko ulje koje ima više lakoisparljivih komponenti veće vrednosti zbog njihove bioaktivnosti, tako da je ono traženije i ima veću cenu, posebno sa aspekta daljeg frakcionisanja. Neizdvojena količina etarskog ulja nije izgubljena i odbačena jer

tečni i čvrsti ostatak hidrodestilacije ploda kleke nakon odgovarajuće prerade postaju komercijalni proizvodi, kada prisustvo etarskog ulja doprinosi njihovom kvalitetu i vrednosti (Pavićević i sar, 2013).

Dobro slaganje eksperimenta i modela u fazi „spore“ hidrodestilacije rezultira inženjerski prihvatljivim razlikama u određivanju optimalnog vremena kod eksperimenta i modela za scenarija najmanjih, srednjih i najvećih cena od 16,5, 8,5 i 5,7 %, redom. Posebno je opravdano korišćenje jednostavnijeg dvoparametarskog modela Milojevića čiji se parametri mogu odrediti izuzetno brzo, posle samo dva merenja u eksperimentu u ukupnom vremenu od 10 min, pa zatim pouzdano upotrebiti za određivanje optimalnog vremena u pilot i industrijskim procesima.

3.5 Antioksidativna i antimikrobna aktivnost

3.5.1 Antioksidativna aktivnost

Ispitana je antioksidativna aktivnost etarskog ulja izdvojenog hidrodestilacijom kleke 05.4.2012. (uzorak 1), kao i etarskog ulja (uzorak 2), vodene faze (uzorak 3) i čvrstog ostatka (uzorak 4) dobijenih hidrodestilacijom kleke 31.5.2014. U oba eksperimenta kleka je bila sa južnih padina Kopaonika, pripremljena suvim mlevenjem u trajanju 3 min, hidromodul je bio 1:4 i brzina destilacije 8 ml/min. U tabeli 3.5.1 prikazani su sadržaj i međusobni odnosi fenolnih jedinjenja u navedena četiri uzorka, a u tabeli 3.5.2 njihova antioksidativna aktivnost.

Tabela 3.5.1 Sadržaj i međusobni odnos fenolnih jedinjenja u uzorcima

	Etarsko ulje		Vodena faza 3	Čvrsti ostatak 4
	1	2		
Ukupni fenoli * µg (GAE)/ml	78,2±0,016	136,86±0,034	635,05±1,088	3,975±0,045 mg(GAE)/g _{s.m.}
Flavonoidi * µg (Qc)/ml	45,24±0,025	30,27±0,021	27,09±0,08	1,905±0,088 mg(Qc)/g _{s.m.}
Flavonoli * µg (Qc)/ml	49,15±0,09	65,65±0,09	243,04±0,54	2,138±0,127 mg(Qc)/g _{s.m.}
Flavonoidi/fenoli	0,578	0,22	0,04	0,48
Flavonoli/fenoli	0,63	0,48	0,38	0,54
Flavonoidi/flavonoli	0,92	0,46	0,11	0,89

* srednja vrednost ± standardna devijacija pet merenja; GAE – galna kiselina; Qc - kvercetin

Tabela 3.5.2 Antioksidativna aktivnost uzoraka

	Etarsko ulje		Vodena faza 3	Čvrsti ostatak 4
	1	2		
DPPH* (µg Trolox/ml)	6,290±0,068	6,170±0,042	5,80±0,005	0,299±0,005 mgTrolox/g _{s.m.}
ABTS* (µg Trolox/ml)	1,869±0,042	2,980±0,004	42,11±1,95	105,75±0,08 mgTrolox/g _{s.m.}
OH* (µg Trolox/ml)	5,367±0,013	8,884±0,013	7,29±0,18	2,231±0,04 mgTrolox/g _{s.m.}

* srednja vrednost ± standardna devijacija pet merenja

Prema rezultatima DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) testa svi uzorci imaju vrlo visoku antioksidativnu aktivnost. Za ispitivane uzorke dobijene su sledeće vrednosti Trolox ekvivalent antioksidativne aktivnosti (TEAC): za uzorke etarskih ulja 1 i 2 – 6,290 i 6,170 μg Trolox/ml, redom, za vodenu fazu 5,80 μg Trolox/ml i za čvrsti ostatak 0,299 mg Trolox/g_{s.m.}. Navedene vrednosti za antioksidativnu aktivnost etarskih ulja su znatno veće od onih kod Hoferla (Höferl i sar, 2014) i slične onima navedenim kod Lesjakove (Lesjak, 2011).

U velikom broju radova antioksidativna aktivnost na DPPH radikal povezuje se sa sadržajem ukupnih fenola. Ako bi se ovaj kriterijum primenio na navedene uzorke onda bi očekivani redosled antioksidativne aktivnosti bio: vodena faza > etarsko ulje 2 > etarsko ulje 1, što je obrnuto od dobijenog: etarsko ulje 1 > etarsko ulje 2 > vodena faza (6.29 > 6.17 > 5.8 μg Trolox/ml). Ako se uporede rezultati antioksidativne aktivnosti sa sadržajem flavonoida i flavonola i njihovim međusobnim odnosima i odnosima prema ukupnim fenolima u datim uzorcima, moglo bi se zaključiti da na antioksidativnu aktivnost u odnosu na DPPH radikal najveći uticaj ima sadržaj flavonoida. Ovaj zaključak se može izvesti jer je sadržaj pojedinačnih flavonoida, odnos flavonoida prema ukupnim fenolima kao i međusobni odnos flavonoida i flavonola u saglasnosti sa redosledom za antioksidativnu aktivnost uzoraka: etarsko ulje 1 > etarsko ulje 2 > vodena faza. Pojedinačni sadržaji flavonola takođe nisu u saglasnosti sa redosledom antioksidativne aktivnosti već imaju suprotan smer: vodena faza > etarsko ulje 2 > etarsko ulje 1. Međutim, ukoliko se uzme u obzir međusobni odnos flavonola i ukupnih fenola i međusobni odnos flavonoida i flavonola, onda se dobije identičan redosled antioksidativne aktivnosti kao kod razmatranja sadržaja flavonoida za date uzorke: etarsko ulje 1 > etarsko ulje 2 > vodena faza. Očigledno je da se pri razmatranju antioksidativne aktivnosti na DPPH radikal mora uzeti u obzir sadržaj flavonoida, odnos flavonoida prema ukupnim fenolima i prema flavonolima. U svakom slučaju, treba biti oprezan sa pretpostavkama i predviđanjima samo na osnovu sadržaja ukupnih fenola, na šta ukazuje ovaj primer uporedne analize sadržaja i međusobnih odnos fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti određenih uzoraka.

Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti uzoraka na ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonil) diamonijumova so) stabilni radikal ukazuju da neki uzorci imaju vrlo visoku aktivnost, slično kao i prema stabilnom DPPH radikal. Za ispitivane uzorke TEAC vrednosti iznose: za etarska ulja 1 i 2 – 1,869 i 2,980 μg Trolox/ml, redom, za vodenu fazu 42,11 μg Trolox/ml i za čvrsti ostatak 105,75 mg Trolox/g s.m. To znači da veoma veliku antioksidativnu aktivnost prema stabilnom ABTS radikal pokazuje vodena faza, a manju etarska ulja, tj. TEAC vrednosti su: vodena faza >> etarsko ulje 2 > etarsko ulje 1 (42,11 >> 2,98 > 1,87 μg Trolox/ml). Za razliku od prethodne antioksidativne aktivnosti na DPPH radikal, ovde su rezultati u skladu sa pretpostavkom da na antioksidativnu aktivnost značajno utiče sadržaj ukupnih fenola, jer njegove vrednosti potpuno odgovaraju trendu TEAC vrednosti: vodena faza >> etarsko ulje 2 > etarsko ulje 1. Isto se odnosi i na sadržaj flavonola u uzorcima koji je u potpuno u skladu sa navedenim redosledom. Nasuprot tome, sadržaj flavonoida ima suprotan redosled: etarsko ulje 1 > etarsko ulje 2 > vodena faza. Međutim, ako se uzmu u obzir međusobni odnosi sadržaja flavonola i flavonoida u uzorcima koji iznose: vodena faza >> etarsko ulje 2 > etarsko ulje 1 (9,09 >> 2,17 > 1,09), onda ovi rezultati u potpunosti odgovaraju redosledu antioksidativne aktivnosti. To znači da na ovako veliku antioksidativnu aktivnost vodene faze na stabilni ABTS radikal utiču ne samo sadržaji ukupnih fenola i flavonola, nego i međusobni odnos sadržaja flavonola i flavonoida, čiji je uticaj verovatno značajan.

Kao kod stabilnih DPPH i ABTS radikala, tako je i antioksidativna aktivnost na OH radikal vrlo visoka. Za ispitivane uzorke TEAC vrednosti iznose: za etarska ulja 1 i 2 – 5,367 i 8,864 μg Trolox/ml, redom, za vodenu fazu 7,290 μg Trolox/ml i za čvrsti ostatak 2.231 μg Trolox/g s.m. Prema tome, redosled je: etarsko ulje 2 > vodena faza > etarsko ulje 1 (8,864 > 7,290 > 5,367 μg Trolox/ml). Ako se ovi rezultati uporede sa sadržajem ukupnih fenola, flavonoida i flavonola i njihovim relativnim odnosom onda se vidi da se na ovu aktivnost ne mogu u potpunosti primeniti prethodna razmatranja. Kod uzoraka etarskih ulja sadržaj ukupnih fenola je veći u uzorku 2 u odnosu na uzorak 1 (136.86 > 78.2 μg (GAE)/ml), što je u saglasnosti sa odnosom njihovih antioksidativnih aktivnosti (8,864 > 5,367 μg Trolox/ml). Međutim, to nije slučaj sa uzorkom vodena faza jer on ima srednji rezultat antioksidativne aktivnosti (7,290 μg

Trolox/ml), iako je njegov sadržaj ukupnih fenola približno 4,5 puta veći u odnosu na etarsko ulje 2 (635,05 > 136.86 µg (GAE)/ml) i približno 8 puta veći u odnosu na etarsko ulje 1 (635,05 > 78.2 µg (GAE)/ml). Takođe, vrednosti za pojedinačne sadržaje flavonola i flavonoida, njihov međusobni odnos kao i odnose prema ukupnim fenolima u uzorcima nisu u saglasnosti sa redosledom antioksidativne aktivnosti na OH radikal. Očigledno, na nju utiču i neke druge komponente nefenolnih struktura, pre svega terpeni.

Merenjem antioksidativne aktivnosti čvrstog ostatka dobijene su sledeće vrijednosti za slobodne radikale: ABTS (105,76 mg Trolox/g_{s.m.}) >> OH (2,231 mg Trolox/g_{s.m.}) > DPPH (0,299 mg Trolox/g_{s.m.}). Iznenadjuće su velika vrednost za ABTS radikal, odnosno mala za DPPH radikal u odnosu na uzorke etarskih ulja i vodene faze, s obzirom na sadržaje ukupnih fenola, flavonoida i flavonola, te njihove međusobne odnose. Prilikom hidrodestilacije dolazi do distribucije ukupnih fenola, flavonoida i flavonola u etarsko ulje, vodenu fazu i čvrsti ostatak. Nakon hidrodestilacije u čvrstom ostatku zaostaju one fenolne komponente koje su manje rastvorljive u vodi, a imaju znatnu antioksidativnu aktivnost. Pored njih, uticaj na antioksidativnu aktivnost čvrstog ostatka imaju i nefenolne komponente, kao što su srednje isparljivi monoterpeni i teško isparljivi seskviterpeni.

Svi uzorci sadrže fenolna jedinjenja, koja su veoma bitna za njihovu antioksidativnu aktivnost, posebno jedinjenja flavonoidne i flavonolne strukture. Takođe, rezultati ispitivanja ukazuju da ovi uzorci sadrže i neka druga jedinjenja koja nemaju fenolnu strukturu, ali pokazuju antioksidativnu aktivnost, pre svega terpenke ugljovodonike. Naravno, verovatna je i mogućnost njihovog sinergetskog ili antisinergetskog delovanja sa fenolnim jedinjenjima što doprinosi utvrđenoj antioksidativnoj aktivnosti.

3.5.2 Antimikrobna aktivnost

Pošto je antimikrobna aktivnost etarskog ulja ploda kleke dobro poznata (Breimaier, 2006; Evans, 2009; Glišić 2007; Kovačević, 2002; Mirković, 1988) u

eksperimentu je ispitana antimikrobna aktivnost vodene faze i čvrstog ostatka hidrodestilacije kleke od 05.4.2014. (uzorak 1), 05.6.2014. (2), 26.9.2014. (3), 14.12.2014. (4) i samlevene kleke koja je korišćena za hidrodestilaciju 14.12.2014. (5). Rezultati u vidu minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) za vodene ekstrakte (VE1–4) i etanolne ekstrakte čvrstog ostatka i samlevene kleke (EE1–5) prikazani su u tabeli 1, gde su date i reperne vrednosti MIK za antibiotike (poslednja kolona).

Tabela 3.5.3 Antimikrobna aktivnost vodene faze i čvrstog ostatka hidrodestilacije kleke

Mikrobiološka vrsta	Minimalna inhibitorna koncentracija									
	Vodeni ekstrakti (mg/ml)				Etanolni ekstrakti (mg/ml)					AMX ^c / FLU ^d (µg/ml)
	VE1 ^a	VE2	VE3	VE4	EE1 ^b	EE2	EE3	EE4	EE5	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5	5	5	2,5	2,5	2,5	1,25	0,625	0,17 ^c
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	2,5	5	5	0,625	0,625	0,625	0,156	0,156	0,34
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	20	20	20	10	10	10	5	5	0,34
<i>Proteus hauseri</i>	5	10	10	10	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,71
<i>Shigella sonnei</i>	2,5	5	2,5	2,5	10	10	10	10	10	5,42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	20	20	20	5	5	2,5	2,5	2,5	21,68
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	5	10	5	5	10	10	10	10	5	5,42
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2,5	5	2,5	5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	10,84
<i>Candida albicans</i>	>20	>20	>20	>20	20	20	20	20	10	12,5 ^d
<i>Cryptococcus neoformans</i>	>20	>20	>20	>20	20	20	20	10	1,25	6,25

^aVE – vodeni ekstrakti, ^bEE – etanolni ekstrakti, ^cAMX – amoksicilin, ^dFLU – flukonazol

Oba tipa ekstrakata su pokazala antimikrobnu aktivnost prema svim ispitivanim sojevima bakterija, dok su prema gljivicama slabu aktivnost pokazali samo etanolni ekstrakti, dok za vodene ekstrakte nema ni nje. Može se uopšteno reći da ne postoji selektivno delovanje, kako vodenih, tako i etanolnih ekstrakata prema Gram pozitivnim (G+) ili Gram negativnim (G-) bakterijama, već aktivnost varira u zavisnosti od vrste

mikroorganizama. Ne postoji ni razlika između dejstva ekstrakata starijeg uzorka 1 iz 2012. u odnosu na uzorke 2,3 i 4 iz 2014., što znači da su aktivne komponente ostale stabilne tokom 2,5 godine. Trend boljeg delovanja jednog tipa ekstrakta (vodenog ili etanolnog) prema određenim sojevima vidljiv je kod svih vrsta osim *Y. enterocolitica*, gde je razlika zanemarljiva. Etanolni ekstrakt samlevene kleke EE5 ima sličnu aktivnost prema bakterijama u odnosu na ostale etanolne ekstrakte, naročito približnu onoj za EE4, dok kod gljivica postoji značajna razlika.

Od G+ bakterija, *S. aureus* i *L. monocytogenes* pokazale su se kao osetljivije prema ekstraktima u odnosu na *E. faecalis*, koja se pokazala kao najotpornija od svih ispitivanih bakterija na dejstvo ekstrakata uopšte. Prema sve tri vrste bakterija bolju aktivnost pokazali su etanolni od vodenih ekstrakata. Upravo najbolju zabeleženu aktivnost (u odnosu na sve bakterije, uključujući i G-) pokazali su etanolni ekstrakti prema *L. monocytogenes*, koja je u slučaju EE4 i EE5 dostigla vrednost MIK od 0,156 mg/ml, koja se može okarakterisati kao značajna. To je posebno važno jer je ova bakterija kvari namernice, tj. izaziva ozbiljna trovanja hranom. Među G+ bakterijama vidljiv je i jasan trend da etanolni ekstrakt samlevene kleke EE5 ima identičnu (*L. monocytogenes*, *E. faecalis*) ili vrlo sličnu aktivnost kao EE4 (*S. aureus*). Gledano sa mikrobiološkog stanovišta, aktivnost ovih ekstrakata (EE4 i EE5) značajno se ne razlikuju od aktivnosti EE1, EE2 i EE3 u slučaju *E. faecalis* (svi umerena aktivnost), malo više se razlikuju kod *S. aureus* (EE1, EE2, EE3 i EE4 umerena, a EE5 dobra aktivnost) i najviše kod *L. monocytogenes* gde je aktivnost 4 puta bolja (kod EE1, EE2 i EE3 dobra – MIK = 0,625 mg/ml, a kod EE4 i EE5 značajna aktivnost – MIK = 0,156 mg/ml). Vodeni ekstrakti pokazuju nešto lošiju aktivnost, umerenu *S. aureus* i *L. monocytogenes*) i slabu *E. faecalis*. Rezultati kod svih bakterija su isti za stariji uzorak (VE1) i ostale vodene ekstrakte (osim u jednom slučaju gde postoji mala razlika), što ukazuje na stabilnost aktivnih komponenti u njima tokom dužeg vremenskog perioda.

Prema G- bakterijama aktivnost ekstrakata ne pokazuje tako jasne trendove kao prema G+ bakterijama. Najbolje dejstvo ekstrakti su pokazali prema *Y. enterocolitica*, umerenu aktivnost koja se malo razlikuje za sve vodene i etanolne ekstrakte (MIK = 2,5–5 mg/ml). Bakterije *P. hauseri* i *P. aeruginosa* pokazale su se, kao i G+ bakterije, osetljivijim prema etanolnim ekstraktima, dok su *S. sonnei* i *E. coli* bile osetljivije prema

vodenim ekstraktima, što ukazuje da su različite bakterije različito osetljive prema aktivnim komponentama rastvorljivim u vodi ili etanolu. *P. aeruginosa* je najotpornija ispitivana bakterija prema vodenim ekstraktima (kod svih MIK = 20 mg/ml), dok su *E. coli* i *S. sonnei* najotpornije prema dejstvu etanolnih ekstrakata (kod svih MIK = 10 mg/ml, osim kod *E. coli* za EE5 – MIK = 5 mg/ml). Slično kao kod G+ bakterija, rezultati za starije uzorke (VE1 i EE1) u najvećem broju slučajeva su isti kao za ostale vodene, odnosno etanolne ekstrakte, što je posledica stabilnosti aktivnih komponenti tokom vremena.

Vodeni ekstrakti nisu imali dejstvo prema gljivicama (MIK > 20 mg/ml), dok su etanolni ekstrakti uopšte pokazali slabu aktivnost prema obe ispitivane vrste (MIK = 20 mg/ml), osim etanolnog ekstrakta samlevene kleke EE5 čija aktivnost je nekoliko puta bolja – za *C. albicans* MIK = 10 mg/ml i za *C. neoformans* MIK = 1,25 mg/ml (druga spada u umerene). Druga gljivica je verovatno značajnije osetljiva na isparljive aktivne komponente (terpeni i fenoli) koji se najvećim delom tokom hidrodestilacije izdvoje u etarskom ulju, a znatno manjim delom ostaju u vodenoj fazi i čvrstom ostatku.

4 ZAKLJUČAK

Klasična hidrodestilacija (HD) i mikrotalasna hidrodestilacija (MHD) etarskog ulja ploda kleke su istraživane na različitim brzinama destilacije. I HD i MAHD se odigravaju istim mehanizmom koji uključuje „brzu” (ispiranje) i „sporu” (difuzija) fazu izdvajanja etarskog ulja. Kinetičko modelovanje je potvrdilo da se ispiranje i difuzija etarskog ulja odigravaju istovremeno. Na osnovu modela Sovove i Milojevića razvijen je kinetički model koji uključuje istovremeno ispiranje i difuziju etarskog ulja, koji je izgleda od opšteg značaja, pošto je potvrđen za različite biljne materijale. Prinos etarskog ulja povećava sa porastom brzine destilacije i za HD i za MHD. Veći prinosi dobijeni su za HD nego za MHD, ali prvi proces je bio znatno duži nego drugi, što znači da je kod MHD značajno manja potrošnja energije. Još jedna prednost MHD u odnosu na HD je veći sadržaj poželjnih bioaktivnih komponenti (lakoisparljivih i srednjeisparljivih monoterpenskih ugljovodonika i fenola) koji doprinose većoj tržišnoj vrednosti etarskog ulja. Navedeno jasno preporučuje MHD za industrijsku primenu, što do sada nije bila praksa. Rezultati GC–MS analize ukazuju da nisu pronađene razlike u kvalitativnom hemijskom sastavu etarskih ulja izdvojenih pomoću HD i MHD. Međutim, način zagrevanja (HD ili MHD) ima uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava, i to najmanji kod lakoisparljivih komponenti, srednji kod teškoisparljivih komponenti i najveći kod srednjeisparljivih komponenti. Brzina hidrodestilacije kod MHD ima najmanji uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava kod lakoisparljivih komponenti, srednji kod teškoisparljivih komponenti i najveći kod srednjeisparljivih komponenti.

Prinos etarskog ulja se povećava sa porastom brzine destilacije za sve hidromodule. U slučaju povećanja hidromodula prinos je nepromenjen pri najmanjoj brzini destilacije, odnosno smanjuje se pri većim brzinama destilacije. Promene intenziteta zagrevanja, tj. brzine destilacije i hidromodula utiču samo na kvantitativni hemijski sastav (promenu masenih udela komponenti), a ne na njegov kvalitet (nema promene kvalitativnog sastava, tj. iste su komponente). Promena hemijskog sastava predstavljenog masenim udelima u zavisnosti od brzine destilacije pri različitim hidromodulima ima jasne opšte trendove prema vrsti komponenata. Kod lakoisparljivih i srednjeisparljivih komponenti za sve hidromodule maseni udeli se smanjuju sa

povećanjem brzine destilacije, dok se kod teškoisparljivih komponenti povećavaju. Ista promena u zavisnosti od hidromodula pri različitim brzinama destilacije ima manje izražene opšte trendove prema vrsti komponentata jer su razlike masenih udela mnogo manje. To znači da promena hidromodula mnogo manje utiče na kvantitativni hemijski sastav od promene brzine destilacije. U oba slučaja, najveći uticaj je kod masenog udela srednjeisparljivih komponenti, nešto manji kod teškoisparljivih komponenti i najmanji kod lakoisparljivih komponenti. Pošto povećanje hidromodula utiče vrlo malo na kvantitativan hemijski sastav etarskog ulja vrlo malo, inženjerski gledano zanemarljivo, a smanjuje prinos i povećava utrošak energije, jasno je da ne treba koristiti hidromodul veći od 1:3. Što se tiče uticaja brzine destilacije, treba nastaviti istraživanja u kombinaciji sa frakcionim izdvajanjem željenih vrednih komponenti pomoću istovremene hidrodestilacije i rektifikacije, kao i određivanjem optimalnog utroška energije, tj. optimalnog vremena hidrodestilacije.

Kod suvog mlevenja, ukupan prinos etarskog ulja se smanjuje sa produženjem vremena mlevenja zbog gubitka dela lakoisparljivih komponenti etarskog ulja usled zagrevanja suve biljne mase. Suprotno ovome, on se kod mlevenja sa vodom povećava sa produženjem vremena mlevenja zbog povećanja stepena usitnjenosti biljnog materijala i smanjenog gubitka isparavanjem. Vreme mlevenja ima najmanji uticaj na promenu hemijskog sastava kod lakoisparljivih komponenti, srednji kod srednjeisparljivih komponenti i najveći kod teškoisparljivih komponenti. Veći uticaj je kod suvog mlevenja u odnosu na mlevenje sa vodom kod lakoisparljivih i teškoisparljivih komponenti, dok je kod srednjeisparljivih komponenti obrnuto. Način mlevenja ima najmanji uticaj na promenu hemijskog sastava kod srednjeisparljivih komponenti, srednji kod lakoisparljivih komponenti i najveći kod teškoisparljivih komponenti.

Trošak energije po kg izdvojenog etarskog ulja u fazi „spore“ hidrodestilacije je veoma značajan, pa je sa tehnoeconomskog aspekta neophodno odrediti optimalno vreme do koga ima smisla voditi proces, odnosno posle koga se nepotrebno i neopravdano umanjuje do tada ostvarena zarada trošeći više na zagrevanje nego što se dobija vrednošću izdvojenog etarskog ulja, ali i nepotrebim zauzimanjem destilatora,

što smanjuje proizvodnost procesa. U tom cilju je osmišljen postupak koji se zasniva na analizi diferencijalnih troškova energije hidrodestilacije, pri čemu je očekivani rezultat određivanje optimalnog vremena hidrodestilacije, tj. optimizacija potrošnje energije. Dobro slaganje eksperimenta i modela Sovove i Milojevića u fazi „spore“ hidrodestilacije rezultira inženjerski prihvatljivim razlikama u određivanju optimalnog vremena kod eksperimenta i navedenih modela. Uštede integralnih troškova energije hidrodestilacije su u rasponu od značajnih 31,6 % kod eksperimenta za scenario najmanjih cena do malih 1,7 % kod modela za scenario najvećih cena.

Ispitivanje etarskog ulja i vodene faze hidrodestilacije pokazalo je da svi uzorci imaju visoku antioksidativnu aktivnost na DPPH, ABTS i OH stabilne radikale. Rezultati za antioksidativnu aktivnost čvrstog ostatka hidrodestilacije su iznenađujuće velika vrednost za ABTS radikal, odnosno mala za DPPH radikal u odnosu na uzorke etarskih ulja i vodene faze, s obzirom na sadržaje ukupnih fenola, flavonoida i flavonola, te njihove međusobne odnose. Svi uzorci sadrže fenolna jedinjenja, koja su veoma bitna za njihovu antioksidativnu aktivnost, posebno jedinjenja flavonoidne i flavonolne strukture. Takođe, rezultati ispitivanja ukazuju da ovi uzorci sadrže i neka druga jedinjenja koja nemaju fenolnu strukturu, ali pokazuju antioksidativnu aktivnost, pre svega terpeneske ugljovodonike, što uz verovatno sinergetsko delovanje sa fenolnim jedinjenjima doprinosi utvrđenoj antioksidativnoj aktivnosti.

Pošto je antimikrobna aktivnost etarskog ulja ploda kleke dobro poznata, ispitana je antimikrobna aktivnost vodene faze (u vidu vodenog ekstrakta) i čvrstog ostatka hidrodestilacije (u vidu etanolnog ekstrakta) određivanjem minimalnih inhibitornih koncentracija za osam vrsta bakterija i dve vrste gljivica. Oba tipa ekstrakata su pokazala antimikrobnost prema svim ispitivanim sojevima bakterija. Ne postoji selektivno delovanje, kako vodenih, tako i etanolnih ekstrakata prema G⁺ ili G⁻ bakterijama, već aktivnost varira u zavisnosti od vrste mikroorganizama. Prema G⁻ bakterijama aktivnost ekstrakata ne pokazuje tako jasne trendove kao prema G⁺ bakterijama. Vodeni ekstrakti nisu imali dejstvo prema gljivicama, dok su etanolni ekstrakti pokazali slabu aktivnost prema njima.

5 LITERATURA

Adams R.P. (2007), Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Ed., Allured Publishing Corporation

Angioni A., Barra A., Russo M., Coroneo V., Dessi S., Cabras P. (2003), Chemical Composition of the Essential Oils of Juniperus from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity, J. Agric. Food Chem. 51, 3073–3078.

Bagamboula C. F., Uyttendaele M., Debevere J. (2004), Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*, Food Microbiol. 21, 33–42.

Benyoussef E. H., Hasni S., Belabbes R., Bessiere J.M. (2002), Modelisation du transfert de matiere lors de l extraction de l huile essentielle des fruits de coriandre, Chem. Eng. J. 85, 1–5.

Benyoussef E.H., Saibi S. (2013), Flavour Fragr. J. 28, 300–307.

Bisset N.G., Wichtl M. (2001), Herbal drugs and phytopharmaceuticals, second edition, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.

Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessiere J.M. (2005), Comparative study of the kinetics extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hidrodistillation, Recents Progres en Genie des Procedes, Numero 92–2005, Lavoisier, Paris, France.

Brand–Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995), Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensm Wiss Technol.

Breitmaier E. (2006), Terpenes – Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones, Wiley Verlag GmbH, Weinheim

British Pharmacopolia (1992)

Budhirajaa S., Cullum M., Sioutis Evangelista S., Habanova S. (1999), Biological activity of malaleuca alternifolia (tea tree) oil component, terpinen-4-ol, in human myelocytic cell line HL-60, J Manipulative and Physiol Therap, 22, 74–81.

Butkienė R, Nivinskienė O., Mockutė D. (2004), Chemical composition of unripe and ripe berry essential oils of *Juniper communis L.* growing in Vilnius district, Chemija, Vol 15, 57–63.

Cassel E., Vargas R.M.F. (2006), Experiments and Modeling of the *Cymbopogon winterianus* Essential oil Extraction by Steam Distillation, J. Mex. Chem. Soc. 50, 126–129.

Chatzopoulou P.S., Katsiotis S.T. (1995), Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *Juniperus communis L.* berries, Pharm. Acta Helv. 70, 247–253.

Chatzopoulou P. S., Haan A., Katsiotis S. T. (2002), Investigation on the Supercritical CO₂ Extraction of the Volatile Constituents from *Juniperus communis* Obtained under Different Treatments of the Berries, Planta Med. 68, 827–831.

Chialva F., Gabri G., Liddle P. A. P., Ulian F. (1982), Qualitative evaluation of aromatic herbs by direct headspace GC analysis. Applications of the method and comparison with the traditional analysis of essential oils, J. High Res. Chromatogr. 5, 182–189.

CLSI (2005), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement. CLSI document M100-S15PA, USA: Wayne.

Cosentino S., Barra A., Pisano B., Cabizza M., Pirisi F.M., Palmas F. (2003), Composition and Antimicrobial Properties of Sardinian *Juniperus* Essential Oils against Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms, J. Food Protect. 66, 1288–1291.

Damjanović B. (2000), Komparativna ispitivanja uslova ekstrakcije biološki aktivnih materija ploda kleke (*Juniperus communis* L.) u standardnim, nadkritičnim i subkritičnim uslovima, magistarski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

Damjanović B., Skala D., Petrović Đakov D., Baras J. (2003), A comparison between the oil. hexane extract and supercritical carbon dioxide extract of *Juniperus communis* L., J. Essent. Oil Res., Vol 15, 91–93.

Damjanović B., Skala D., Baras J., Petrović Đakov D. (2006), Isolation of essential oil and supercritical carbon dioxide extract of *Juniperus communis* L. fruits from Montenegro, Flavour Fragr. J., Vol 21, 875–880.

Delaquis P. J., Stanich K., Girard B., Mazza G. (2002), Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, J. Food Microbiol. 74, 101–109.

Dorman H. J. D., Deans S. G. (2000), Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, J. Appl. Microbiol. 88, 308–316.

Evans W. C. (2009), Pharmacognosy, 16th Edition, Trease and Evans, London

Ferhat M., Meklati B., Chemat F. (2007), Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing. hydrodistillation and microwave ‘dry’ distillation, Flavour Fragr. J., Vol 22, 494–504.

Flórez N., Conde E., Domínguez H. (2014), Microwave assisted water extraction of plant compounds, J. Chem. Technol. Biotechnol., DOI: 10.1002/jctb.4519

Gildemeister E., Hoffman F. (1956), Die Ätherischen Öle, Band I, Akademie Verlag, Berlin

Gildemeister E., Hoffman F. (1956), Diezterischen Öle. Band IV, Akademic Verlag, Berlin

Glišić S., Milojević S., Bačić S., Dimitrijević Branković S., Orlović A., Skala D. (2004), Vacuum and supercritical fractionation of the essential oil of *Juniperus communis* L. and analysis of different fractions behavior against some bacteria, yeasts and fungus, 16th International Congress of Chemical and Process Engineering – CHISA, Praha, Czech Republic, Summaries 2, C8.3, 497.

Glišić S. (2006), Izdvajanje i frakcionisanje etraskih ulja kantariona (*Hypericum perforatum* L.) i kleke (*Juniperus communis* L.) korišćenjem natkritičnog ugljenik(IV)–oksida i analiza antimikrobne aktivnosti ulja i nekih njihovih frakcija, magistarski rad, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Glišić S., Milojević S., Dimitrijević S., Orlović A., Skala D. (2007), Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics, J. Serb. Chem. Soc 72(4), 311–320.

Golmakani M., Razaee K. (2008), Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L., Food Chem., Vol 109, 925–930.

Guether E. (1952), The Essential Oils, vol. VI. D. Van Nostrand Company, Inc., Toronto, New York, London

Günes M., Alma M. (2008), The effects of microwave irradiation power on the chemical composition of essential oil from the leaves of Turkish bay laurel, J. Electromagn. Waves Appl., Vol 22, 2205–2216.

Höferl, M., Stoilova I., Schmidt E., Wanner J., Jirovetz L., Trifonova D., Krastev L. Krastanov A. (2014), Chemical Composition and Antioxidant Properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) Essential Oil, Antioxidants 3, 81–98.

<http://webbook.nist.gov/chemistry/>

International standard ISO 8897:2010 Oil of juniper berry (*Juniperus communis* L.) (2010), 2nd Edition, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 14.

Jimenez–Arellanes A., Meckes M., Ramirez R., Torres J., Luna-Herrera J. (2010), Activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mexican plants used to treat respiratory diseases, *Phytother. Res.* 17, (2003) 903–908.

Kapás A., András C., Dobre T., Vass E., Székely G., Stroescu M., Lányi S., Ábrahám B. (2011), The kinetic of essential oil separation from fennel by microwave assisted hydrodistillation (MAHD), *Univ. Polytech. Bucharest Sci. Bull. Ser. B*, 73, 113–120.

Karakaya S., El S., Karagozlu N., Sahin S., Sumnu G., Bayramoglu B. (2014), Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from rosemary, *J. Food Sci. Technol.*, Vol 51, 1056–1065.

Käufmann B., Christen P., Veuthey J.L. (2001), *Phytochem. Anal.* 12, 327–335.

Klaus A., Kozarski M., Vunduk J., Todorovic N., Jakovljevic D., Zizak Z. (2015), Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*, *Food Research International* 67, 272–283., doi:10.1016/j.foodres.2014.11.035

Koul V.K., Gandotra B. M., Koul S., Ghosh S., Tikoo C. L., Gupta A. K. (2004), Steam distillation of lemon grass (*Cymbopogon* spp.), *Ind. J. Chem. Technol.* 11, 135-139.

Kovačević N. (2002), *Osnovi farmakognozije* (2. dopunjeno izdanje), Srpska školska knjiga, Beograd

Kumaran A., R.J. Karunakaran J.L. (2007), In vitro antioxidant activities of methanol extracts of *Phyllanthus* species from India, *Lebens-Wiss Technol.* 40, 344–352.

Lesjak M. (2011), Biopotencijal i hemijska karakterizacija ekstrakata i etarskih ulja vrsta roda *Juniperus* L. (Cupressaceae), doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno- matematički fakultet, Novi Sad

Liu Y., Wang H., J. Zhang H. (2012), Anal. Let. 45, 1894.

Matović M. (1997), Bezotpadna tehnologija u preradi plodova kleke (*Juniperus communis* L.), Kragujevac

Milojević S., Stanković T., Palić R., Lazić M., Veljković V. (2008), Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper berries (*Juniperus communis* L.), Biochem. Eng. J. 3, 574–553.

Milojević S. (2011), Kinetika hidrodestilacije, karakterizacija i frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis* L.), doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Milojević S., Radosavljević D., Pavićević V., Pejanović S., Veljković V. (2013), Modeling the kinetics of essential oil hydrodistillation from plant materials, Hem. Ind., Vol 67, 843–859.

Mirković B., Petrović S. (1998), Mikrobiološka aktivnost etarskog ulja ploda kleke – *Aethereoleum Juniperi* – *Juniperus communis* L., Arh. Farm. 6, 952–953.

Mori M., Ikeda N., Kato Y., Minamino M., Watabe K. (2002), Inhibition of elastase activity by essential oils in vitro J. Cosmetic Dermatol. 1, 183–187.

Morin P., Gunther C., Peyron L., Richard H. (1985), Etude des phénomènes physico-chimiques intervenant lors du procédé d'hydrodistillation, Bull. Soc. Chim. Fr. 5, 921–930.

Morton I. D., Meclleod A. J. (1986), Food Flavours, Part B, The Flavour of Beverages, Elsviec, Amsterdam. Oxford, New York, Tkyio.

Moyer D. A., Heath H. B. (1986), Liquid carbon dioxide extraction of essential oils – A world Perspective, Proceedings of the 10th International Congress of Essential oils, Fragrances and Flavors, Washington, D. C., 16–20.

Ordon A., Ez A.L., Gomez J.D, Vattuone M.A., Isla M.I. (2006), Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. Food Chemistry 97, 452–458.

Pharmacopea Jugoslavica (1984), Edition quatra, Savezni zakon za zdravstvenu zaštitu, Beograd

Phutdhawong W., Kawaree R., Sanjaiya S., Sengpracha W., Buddhasukh D. (2007), *Molecules* 12, 868–875.

Pavićević V., Milojević S., Radosavljević D., Veljković V, Ristić M. (2013), Energy consumption optimization of essential oil hydrodistillation from juniper berries, Proceedings of VI International Conference on Sustainable Energy and Environmental Protection (SEEP), Maribor, Slovenia, 601–607.

Pavićević V., Marković M., Milojević S., Ristić M., Povrenović D., Veljković V. (2016), Microwave-assisted hydrodistillation of juniper berry essential oil: kinetic modeling and chemical composition, J. Chem. Technol Biot. Vol 91, No 4, 883–891.

Pavićević V., Radović M., Milojević S., Marković M., Ristić M., Povrenović D. (2016), Uticaj brzine hidrodestilacije i hidromodula na hemijski sastav etarskog ulja kleke (*Juniperus communis* L.), Hem. Ind., DOI:10.2298/HEMIND151119011P

Picket R., Cates J., Sharpe F.R. (1975), Distortion of essential oil composition during isolation by steam distillation, Chem. Ind. 21, London, 571–578.

Ponomarev V. (1976), Ekstragirovanie lekarstvenogo syr'ya, Medicina, Moscow

Pornpunyapat J., Chetpattananondh P., Tongurai C. (2011), Mathematical modeling for extraction of essential oil from *Aquilaria crassna* by hydrodistillation and quality of agarwood oil, Bangladesh J. Pharmacol. Vol 6, 18–24.

Presti M.L., Ragusa S., Trozzi A., Dugo P., Visinoni F., Fazio A., Dugo G., Mondello L. (2005), *J. Sep. Sci.* 28, 27–33.

Radović M. (2012), Ispitivanje kinetike hidrodestilacije ploda kleke (*Juniperus communis* L.), diplomski rad, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999), Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26, 1231–1237.

Reverchon E. (1997), Supercritical fluid extraction of essential oils and related products, *J. Supercrit. fluids* 10, 1–37.

Rezvanpanah S., Rezaei K., Razavi S., Moini S. (2008), Use of microwave-assisted hydrodistillation to extract the essential oils from *Satureja hortensis* and *Satureja montana*, *Food Sci. Technol. Res.*, 311–314.

Rizvi S., Benado A. L., Zollweg D., Daniels, Kun J. A. (1986), Supercritical fluid extraction: Fundamental principles and modeling methods. *Food Technol.* 40, 55-65.

Romdhane M., Tizaoui C. (2005), The kinetic modeling of a steam distillation unit for the extraction of aniseed (*Pimpinella anisum*) essential oil, *J. Chem. Biotech.* 80, 759-766.

Sherwood T., Pigford R., Wilke C. (1975), *Mass Transfer*, McGraw-Hill, New York

Shin S., Lim S. (2004), Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp., *J. Appl. Microbiol.* 97, 1289–1296.

Simić M. (2011), Karakterizacija etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis*) dobijenog hidrodestilacijom mikrotalasnim grejanjem, diplomski rad, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet

Simić S. (2011), Karakterizacija etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis*) dobijenog hidrodestilacijom električnim grejanjem, diplomski rad, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet

Skala D., Žižović I., Petrović S. (1999), Etarska ulja – destilacija, ekstrakcija, izbor tehnologije i kvalitet, Hem. Ind. 53, 123–139.

Skala D., Žižović I., Gavrančić S. (2002), Primena natkritične ekstrakcije u prehrambenoj industriji, Hem. Ind. 56, 19–28.

Sovova H., Aleksovski S.A. (2006), Mathematical model for hydrodistillation of essential oils, Flavour Fragr. J. 21, 881–889.

Sowbhagya H.B., Sathiendra R.B.V., Krishnamurthy N. (2008), Evaluation of size reduction and expansion on yield and quality of cumin (*Cuminum cuminum*) seed oil, J. Food Eng. 84, 595–600.

Stanković M., Ranđelović M. (1977), Tehnološki postupak dobijanja etarskog ulja iz ploda kleke (*Juniperus communis* L.), Fabrika farmaceutskih i hemijskih proizvoda „Zdravlje“, Leskovac

Stanisavljević I., Stojičević S., Veličković D., Ristić M., Lazić M., Veljković V. (2010), Kinetics of hydrodistillation and chemical composition of essential oil from cherry laurel (*Prunus laurocerasus* var. *serbica* Pančić) leaves, J. Essent. Oil Res. 22, 564–567.

Stanković M., Veljković V., Lazić M. (1994), Bioaktivni proizvodi iz ploda kleke (*Juniperus communis* L.), Monografija, Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet Leskovac

- Sun H., Ni H., Yang Y., Chen F., Caia H., Xiao A. (2014), *Flavour Fragr. J.*, 29–36.
- Svoboda K.P., Svoboda T.G., Syred A.D. (2000), *Secretory structures of aromatic and medicinal plants a review and an atlas of micrographs*, Microscopix Publications, Middle Travelly, Beguildy, Knighton, UK
- Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissiou M., Sokmen A. (2004), Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia multicaulis*, *Food Chem.* 84, 519–525.
- Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. (2005), Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* (*Lamiaceae*), *Food Chem.* 90, 333–340.
- Tigrine-Kordjani N., Meklatib B., Chemat F. (2011), Contribution of microwave accelerated distillation in the extraction of the essential oil of *Zygophyllum album* L., *Phytochem. Anal.* 22, 1–9.
- Treybal R.E. (1985), *Mass-Transfer Operations*, third ed., McGraw-Hill, Singapore
- Tucakov J. (1948), *Farmakologija*, Naučna knjiga, Beograd
- Veljković V., Stanković M., Lazić M., Rutić D. (1993), Postupak dobijanja alkoholnog destilata iz vodenog ekstrakta ploda kleke, Patent YU 46, 196.
- Veljković V., Milenović D. (2002), Analiza ekstrakcije rezinoida kantariona (*Hypericum perforatum* L.) i poređenje modela kinetike ekstrakcije, *Hem. Ind.* 56, 60–67.
- Veljković V., Stanković B. (2003), *The Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, 2nd ed. (Eds: B. Caballero, L. Trugo, P. Finglas), Academic Press. London, 3098–3107.

Wang H.W., Liu Y.Q., Wei S.L., Yan Z.J. and Lu K. (2010), Comparison of microwave-assisted and conventional hydrodistillation in the extraction of essential oils from mango (*Mangifera indica L.*) flowers, *Molecules* 15, 7715–7723.

Wang X. Z., Li X. C., Chen D. F. (2011), Evaluation of Antioxidant Activity of Isoferulic Acid *in vitro*. *Natural Product Communications* 6, 1285–1288.

Wolfe K., Wu X., Liu R. H. (2003), Antioxidant activity of apple peels, *J. Agric. Food Chem.* 51, 609–614.

BIOGRAFIJA

Vladimir Pavićević rođen je 20.6.1960. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu školu i Devetu beogradsku gimnaziju. Studije na Tehnološko–metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu započeo je 1978. godine i diplomirao je maja 1983. godine, sa prosečnom ocenom u toku studija 9,53 i ocenom diplomskog rada 10. Na poslediplomske studije na Katedri za neorgansku hemijsku tehnologiju upisao se 1983. godine, ispite je položio sa prosečnom ocenom 9,86 i magistarski rad sa temom “Termodinamika sistema $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{–NaH}_2\text{PO}_4\text{–H}_2\text{O}$ ” odbranio je 1994. godine. Od 1984. godine radi kao asistent–pripravnik i asistent na Katedri za neorgansku hemijsku tehnologiju i Katedri za inženjerstvo zaštite životne sredine. Od 2010. je u zvanju stručnog saradnika na Katedri za inženjerstvo zaštite životne sredine. Na Visokoj školi strukovnih studija Beogradska politehnika (bivšoj Višoj politehničkoj školi u Beogradu) predavao je u zvanju višeg predavača od 1995. do 2009. godine.

U naučnom i stručnom radu bavi se inženjerstvom zaštite životne sredine (tehnologija pripreme vode, tehnologija prečišćavanja otpadnih voda, upravljanje komunalnim otpadom, upravljanje opasnim otpadom, remedijacija zagađenih sredina), bioprocenim inženjerstvom i hemijskom termodinamikom. Učestvovao je u projektima osnovnih istraživanja u hemiji, projektima tehnološkog razvoja i projektima iz oblasti zaštite životne sredine koje su finansirale Evropska agencija za rekonstrukciju (EAR), Program Ujedinjenih nacija za razvoj (UNDP), Švedska agencija za međunarodnu saradnju (SIDA), Kraljevina Norveška i Nemačka savezna agencija za zaštitu životne sredine (Umweltbundesamt), a realizovala resorna ministarstva tokom prethodnih godina. Član je Srpskog hemijskog društva (član Upravnog odbora u više mandata i Predsedništva u dva mandata), Udruženja za tehnologiju vode i sanitarno inženjerstvo (član Programsko–redakcionog odbora zadužen za opasan otpad Međunarodne konferencije Otpadne vode, komunalni čvrsti otpad i opasan otpad od 2003. godine) i Asocijacije za upravljanje čvrstim otpadom Srbije. Stekao je zvanje odgovornog projektanta tehnoloških procesa Inženjerske komore Srbije.

Izjava o autorstvu

Potpisani **Vladimir Pavićević**

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Bezotpadna tehnologija prerade ploda kleke (*Juniperus communis* L.)

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, maj 2016.



Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **Vladimir Pavićević**

Naslov rada **Bezotpadna tehnologija prerade ploda kleke (*Juniperus communis* L.)**

Mentor **dr Dragan Povrenović, vanredni profesor**

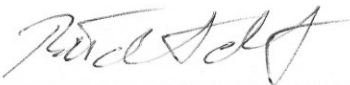
Potpisani **Vladimir Pavićević**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada. Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, maj 2016.



Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Bezotpadna tehnologija prerađe ploda kleke (*Juniperus communis* L.)

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo

2. Autorstvo – nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerađe

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerađe

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, maj 2016. godine

