

**UNIVERZITET U NOVOM SADU**

**TEHNOLOŠKI FAKULTET**

*Mr Branislava G. Nikolovski*

**KINETIKA I MODELOVANJE EKSTRAKCIJE  
ULJA IZ BOBICA KLEKE (*Juniperus communis* L.)  
I SEMENKI TIKVE (*Cucurbita pepo* L.)  
NATKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

2009.



# KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:  
RBR

Identifikacioni broj:  
IBR

Tip dokumentacije: Monografska publikacija  
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal  
TZ

Vrsta rada: Doktorska teza  
VR

Autor: Branislava Nikolovski rođena Barjaktarović  
AU

Mentor: Dr Milan Sovilj, redovni profesor  
MN Tehnološki fakultet Novi Sad

Naslov rada: Kinetika i modelovanje ekstrakcije ulja iz  
NS bobica kleke (*Juniperus communis* L.) i  
semenki tikve (*Cucurbita pepo* L.)  
natkritičnim ugljendioksidom

Jezik publikacije: srpski (latinica)  
JZ

Jezik izvoda: srpski/engleski  
JI

Zemlja publikovanja: Srbija  
ZP

Uže geografsko područje: Novi Sad, Vojvodina  
UGP

Godina: 2009  
GO

Izdavač: autorski reprint  
IZ

Mesto i adresa: 21000 Novi Sad, R. Srbija, Bul. Cara Lazara 1  
MS

Fizički opis: poglavlja IX, strana 195, slika 77, tabela 43  
FO

Naučna oblast: Hemijsko inženjerstvo  
NO

Naučna disciplina: Tehnološke operacije  
ND

Predmetna odrednica: Natkritična ekstrakcija, natkritični  
PO ugljendioksid, etarsko ulje ploda kleke, *Juniperus communis*, ulje semena tikve, *Cucurbita pepo*, matematičko modelovanje natkritične ekstrakcije

UDK

Čuva se: U biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom  
ČU Sadu, 21000 Novi Sad, R. Srbija, Bulevar Cara Lazara 1

Važna napomena: Nema  
VN

Izvod: U radu su prikazani eksperimentalni rezultati  
IZ natkritične ekstrakcije etarskog ulja bobica kleke (*Juniperus communis* L.) i ulja iz semena uljane tikve golice (*Cucurbita pepo* L.). Ispitan je uticaj pritiska, temperature, stepena usitnjenosti čestica i protoka natkritičnog ugljendioksida na promenu prinosa ulja sa vremenom. U cilju poređenja, usitnjeno seme uljane tikve ekstrahovano je i u ekstraktoru većih dimenzija, NOVA-SWISS, High pressure extraction plant, kao i heksanom i petroletrom u ekstraktoru tipa Sokslet.

Praćena je i promena kvaliteta ekstrakata sa vremenom: u etarskom ulju kleke, GC-FID i GC-MS metodama, određen je relativni sadržaj 50 terpenskih jedinjenja i sve komponente ulja su svrstane u 5 osnovnih grupa (monoterpene, seskviterpene, oksidovane monoterpene, oksidovane seskviterpene i ostale komponente).

U tikvinom ulju ekstrahovanom natkritičnim ugljendioksidom određen je masnokiselinski

sastav GC-MS analizom, sadržaj tokoferola HPLC analizom, sterola i skvalena GC-MS metodom. Određeni su uslovi koji favorizuju ekstrakciju ispitanih jedinjenja za obe sirovine.

Dat je dateljan prikaz matematičkih modela koji se koriste za opisivanje natkritične ekstrakcije etarskih ulja i masnih ulja, počevši od najopštijeg modela koji uključuje diferencijalne bilanse mase za rastvorak u masi natkritičnog fluida, u fluidu unutar pora čestica usitnjenog materijala i u čvrstoj fazi, koji se uvođenjem određenih pretpostavki pojednostavljuje i svodi na modele koji su izabrani da budu ispitani u okviru ovoga rada. Ispitani su modeli kreireni po analogiji sa hlađenjem vrele kugle u masi fluida, tj. modeli tipa jedne sfere i to: Model jedne sfere-1 (MJS-1), koji pored uticaja koeficijenta efektivne difuzije ulja u materijalu na brzinu prenosa mase uzima u obzir uticaj koeficijenta prenosa mase kroz film natkritičnog fluida oko čestice, pri čemu je njegova vrednost procenjena preko postojećih korelacija; MJS-1 (2 par), u kome je spoljašnji koeficijent prenosa mase uzet kao drugi prilagodljiv parametar modela; MJS-2, gde je koeficijent efektivne difuzije jedini prilagođeni parametar, Model karakterističnog vremena i prošireni model klipnog toka koji je predložila Sovová. Za modelovanje natkritične ekstrakcije ulja semena tikve korišćen je i kombinovani model Honga i sar. Softverskim paketima Mathcad 2001 Professional i Solver dodatka unutar Microsoft Excel 2003, određeni su parametri ispitanih modela u cilju najboljeg slaganja modela sa ekperimentalnim podacima. Za obe ispitane sirovine, među ispitanim modelima, izabrani su modeli koji najbolje opisuju njihovu ekstrakciju natkritičnim ugljendioksidom. Prošireni model klipnog toka koji je predložila Sovová pokazao se podjednako dobrim za modelovanje natkritične ekstrakcije obe sirovine i nešto bolji od ostalih primenjenih modela.

Datum prihvatanja od  
strane Naučnog odbora:  
DP

Datum odbrane:  
DO

Članovi komisije:  
KO

Predsednik:

Član:

---

Prof. dr Ratomir Paunović  
Tehnološki Fakultet, Novi Sad

Član:

---

Prof. dr Dejan Skala  
Tehnološko metalurški fakultet, Beograd

Mentor:

---

Prof. dr Zoran Zeković  
Tehnološki Fakultet, Novi Sad

---

Prof. dr Milan Sovilj  
Tehnološki Fakultet, Novi Sad

## KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type: Monographic publication

DT

Type of record: Textual material, printed

TR

Contents code: PhD Thesis

CC

Author: Branislava Nikolovski born Barjaktarović

AU

Menthor: Milan Sovilj, PhD Prof.

MN

Faculty of Technology, Novi Sad

Title: Kinetics and mathematical modeling of juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil and pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.) oil by supercritical carbon dioxide

TI

Language of text: Serbian (Roman)

LT

Publ. Place: 21000 Novi Sad, R. Serbia, Blv. Cara Lazara 1

PL

Language of abstract: Serbian (Roman)/English

LS

Country of publication: R. Serbia

CP

Locality of publication: Novi Sad, Vojvodina  
LP

Publication year: 2009  
PY

Publisher: author reprint  
PB

Publ. Place: 21000 Novi Sad, R. Serbia, Blv. Cara Lazara 1  
PL

Physical description: chapters IX, pages 195, figures 77, tables 43  
PD

Scientific field: Chemical Engineering  
SF

Scientific discipline: Unit operations  
SD

UC 664.123:66.063.5

Holding data: Library of Faculty of Technology Novi Sad,  
HD 21000 Novi Sad, R. Serbia, Bulevar Cara Lazara 1

Key words: Supercritical fluid extraction, supercritical carbon  
CW dioxide, juniper berry essential oil, *Juniperus communis*, pumpkin seed oil, *Cucurbita pepo*, mathematical modeling of supercritical fluid extraction

Note:  
N

Abstract: This study provides results of supercritical carbon  
AB dioxide (SCCO<sub>2</sub>) extraction of juniper berries (*Juniperus communis* L.) and pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L. convar. *citrullina*) in a laboratory supercritical fluid extraction apparatus. The influence of pressure, temperature, particle size and carbon dioxide flow on the extraction kinetics of pumpkin seed oil and juniper berry essential oil was studied. Ground pumpkin seeds were also extracted with supercritical carbon dioxide in NOVA-SWISS, High Pressure Extraction Plant, and with hexane and petroleum ether in a laboratory Soxhlet extractor.



This work was also aimed to investigate the evolution of the composition of juniper fruit supercritical CO<sub>2</sub> extracts with time, at different extraction pressures and to emphasize the most favorable condition for the extraction of different terpene hydrocarbon groups, reporting the qualitative differences among extracts collected during successive extraction time periods. Juniper berry extracts were analyzed by capillary gas chromatography, using flame ionization (GC-FID) and mass spectrometric detection (GC-MS). More than 200 constituents were detected in the extracts and the contents of 50 compounds were reported in the work. Dependence of the percentage yields of monoterpene, sesquiterpene, oxygenated monoterpene and oxygenated sesquiterpene hydrocarbon groups on extraction time was investigated and conditions that favored the yielding of each terpene groups were emphasized.

GC-MS analysis of FAME, prepared by transesterification of pumpkin seed oil with KOH in methanol, was performed. Fatty acid compositions of supercritical CO<sub>2</sub> pumpkin seed extract fractions collected in successive time intervals over the course of the extraction were determined. The same fractions were analyzed by high pressure liquid chromatography (HPLC), using diode-array detector (DAD) in order to determine  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol contents. Sterol and squalene contents were determined by GC-MS analysis, as well. Conditions that favored the yielding of tocopherols, squalene and sterols were emphasized.

A general mass transfer model and its simplifications were analysed. Extraction curves were evaluated by "hot sphere" mathematical models SSM-1 (*Single Sphere Model 1* – in which the external mass transfer coefficient also influences the extraction profile and film mass transfer coefficients were estimated by the correlations), SSM-1 (2 par) (film mass transfer coefficient is used as the second adjustable parameter), SSM-2 (only effective diffusivity influence is considered), Characteristic time model and by the extended Lack's plug-flow model given by Sovová. A combined model of Hong et al. was also fitted to the experimental data for pumpkin seed oil SCCO<sub>2</sub> extractions. Relative merits of the models are demonstrated. Good agreement between the extended Lack's plug-flow model and the experimental measurements was obtained.

Accepted by the Scientific  
Board on:  
ASB

Defended on:  
DE

Thesis defended board:  
DB

President:

---

Prof. PhD Ratomir Paunović  
Faculty of Technology, Novi Sad

Member:

---

Prof. PhD Dejan Skala  
Faculty of Technology and Metalurgy, Beograd

Member:

---

Prof. PhD Zoran Zeković  
Faculty of Technology, Novi Sad

Mentor:

---

Prof. PhD Milan Sovilj  
Faculty of Technology, Novi Sad

# SADRŽAJ

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Lista oznaka</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>Uvod</b>  | <b>7</b>  |
| <b>3</b> | <b>Opšti deo</b>   | <b>9</b>  |
| 3.1.     | Ekstrakcija fluidima u natkritičnom stanju – natkritična ekstrakcija                                   | 9         |
| 3.1.1.   | Natkritični ugljendioksid kao ekstragens   | 14        |
| 3.1.1.1. | Moć rastvaranja natkritičnog ugljendioksida  | 15        |
| 3.1.1.2. | Transportne osobine natkritičnog ugljendioksida, viskoznost, molekulska difuzivnost i površinski napon | 17        |
| 3.1.2.   | Mehanizmi prenosa mase u natkritičnom ugljendioksidu   | 24        |
| 3.1.2.1. | Spoljašnji prenos mase prema teoriji filma   | 24        |
| 3.1.2.2. | Unutrašnji prenos mase   | 27        |
| 3.1.3.   | Fazna ravnoteža  | 28        |
| 3.1.4.   | Rastvorljivost rastvoraka u natkritičnom ugljendioksidu  | 30        |
| 3.2.     | Matematičko modelovanje natkritične ekstrakcije  | 32        |
| 3.2.1.   | Klasifikacija matematičkih modela koji se koriste u natkritičnoj ekstrakciji                           | 33        |
| 3.2.2.   | Modeli zasnovani na diferencijalnom masenom bilansu:   | 35        |
|          | Opšti model  | 35        |
| 3.2.2.1. | Modeli neizreagovanog / neizekstrahovanog jezgra (MNJ) u poroznoj sferi                                | 38        |
| 3.2.2.2. | Modeli bazirani na mehanizmu desorpcije-rastvaranja-difuzije (DRD) u poroznoj sferi                    | 39        |
| 3.2.2.3. | Pojednostavljenja modela   | 41        |
| 3.3.     | Kleka  | 53        |
| 3.4.     | Seme tikve   | 55        |
| <b>4</b> | <b>Eksperimentalni deo</b>   | <b>61</b> |
| 4.1.     | Materijal  | 61        |
| 4.1.1.   | Kleka  | 61        |
| 4.1.2.   | Seme tikve   | 61        |
| 4.1.3.   | Hemikalije   | 63        |
| 4.2.     | Natkritična ekstrakcija  | 63        |
| 4.2.1.   | Laboratorijska aparatura za natkritičnu ekstrakciju  | 63        |
| 4.2.2.   | Pilot postrojenje za natkritičnu ekstrakciju (NOVA-SWISS, High Pressure Extraction Plant)              | 65        |
| 4.3.     | Uslovi ekstrakcije i analizirani uzorci  | 66        |
| 4.3.1.   | Bobice kleke   | 66        |
| 4.3.2.   | Seme tikve   | 67        |
| 4.4.     | Analize ekstrakata bobica kleke  | 68        |
| 4.4.1.   | GC-FID analiza ekstrakata bobica kleke   | 68        |
| 4.4.2.   | GC-MS analiza ekstrakata bobica kleke  | 68        |
| 4.5.     | Analize ekstrakata semena tikve  | 68        |
| 4.5.1.   | GC-MS analize ulja semena tikve  | 68        |
| 4.5.1.1. | Određivanje sadržaja masnih kiselina   | 69        |
| 4.5.1.2. | Određivanje sadržaja sterola i skvalena u ulju semena tikve  | 70        |
| 4.5.2.   | HPLC analiza tokoferola u ulju semena tikve  | 72        |
| 4.6.     | Matematičke metode   | 72        |
| <b>5</b> | <b>Rezultati i diskusija</b>   | <b>73</b> |
| 5.1.     | Bobice kleke   | 73        |
| 5.1.1.   | Prinos i kvalitet ekstrakata   | 73        |
| 5.1.1.1. | Uticaj pritiska i vremena ekstrakcije na prinos i kvalitet ekstrakata                                  | 73        |

|  |            |
|--|------------|
| 5.1.1.2. Uticaj veličine čestica na prinos   | 88         |
| 5.1.1.3. Uticaj protoka CO <sub>2</sub> na prinos  | 89         |
| 5.1.2. Matematičko modelovanje ekstrakcije ploda kleke natkritičnim CO <sub>2</sub>                  | 90         |
| 5.1.2.1. Određivanje $k_f$ (uticaj pritiska)   | 92         |
| 5.1.2.2. Određivanje $D_e$ (uticaj pritiska)   | 96         |
| 5.1.2.3. Rezultati primene modela koji je predložila Sovová [79] (uticaj pritiska)                   | 97         |
| 5.1.2.4. Poređenje modela po uspešnosti (uticaj pritiska)  | 100        |
| 5.1.2.5. Određivanje $k_f$ (uticaj veličine čestica materijala i protoka rastvarača)                 | 101        |
| 5.1.2.6. Određivanje $D_e$ (uticaj veličine čestica materijala i protoka rastvarača)                 | 103        |
| 5.1.2.7. Rezultati primene modela koji je predložila Sovová [79] (uticaj veličine čestica i protoka) | 103        |
| 5.1.2.8. Poređenje modela po uspešnosti (uticaj veličine čestica i protoka)                          | 104        |
| 5.2. Seme tikve  | 106        |
| 5.2.1. Prinos i kvalitet ekstrakata  | 106        |
| 5.2.1.1. Uticaj pritiska   | 106        |
| 5.2.1.2. Uticaj temperature  | 110        |
| 5.2.1.3. Uticaj veličine čestica   | 111        |
| 5.2.1.4. Uticaj protoka  | 112        |
| 5.2.1.5. Sastav ekstrakata   | 113        |
| 5.2.2. Matematičko modelovanje ekstrakcije semena tikve golice natkritičnim CO <sub>2</sub>          | 139        |
| 5.2.2.1. Određivanje $k_f$   | 145        |
| 5.2.2.2. Određivanje $D_e$   | 147        |
| 5.2.2.3. Model koji je predložila Sovová   | 148        |
| 5.2.2.4. Poređenje uspešnosti ispitivanih modela   | 149        |
| 5.2.2.5. Ekstrakcija u većem ekstraktoru   | 150        |
| <b>6 Zaključci</b>   | <b>155</b> |
| <b>7 Literatura</b>  | <b>161</b> |
| <b>8 Prilog</b>  | <b>177</b> |
| 8.1. Neophodni podaci za proračun redukovanog faktora rastvorljivosti                                | 177        |
| 8.2. Pravila mešanja – opšti principi  | 178        |
| 8.3. Principi fazne ravnoteže  | 180        |
| Hemijski potencijal i Gibbs-ovo pravilo faza   | 180        |
| Fugacitet i aktivnost  | 182        |
| Kritična tačka   | 185        |
| 8.3. Rezultati analiza ekstrakata semena tikve   | 187        |
| <b>9 Biografija</b>  | <b>195</b> |

# 1 LISTA OZNAKA

| Oznaka                  | Značenje  | Jedinica                         | Jed. u kojoj se pominje ili def. |
|-------------------------|---|----------------------------------|----------------------------------|
| $A$                     | Helmholtsova slobodna energija  | J                                | (12)                             |
| $a$                     | toplota difuzivnost   | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$       | (14)-(16)                        |
| $AARD$                  | srednja vrednost apsolutnih vrednosti relativnog odstupanja izračunatih od izmerenih vrednosti  | -                                | (114)                            |
| $A_E$                   | površina poprečnog preseka ekstraktora  | $\text{m}^2$                     | (4)                              |
| $A_H$                   | parametar u modelu koji su predložili Hong i sar. [39]  |                                  | (113)                            |
| $A_p$                   | spoljašnja površina čestice materijala  | $\text{m}^2$                     | (93)                             |
| $a_{sp}$                | specifična međufazna površina   | $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$       | (7)                              |
| $B$                     | parametar u jednačinama (18)-(20) i (23)  |                                  | (24)                             |
| $Bl$                    | parametar u jednačini (28)  |                                  | (29)                             |
| $Bi$                    | bezdimenzioni Biotov broj   | -                                | $=k_p R / D_e$                   |
| $C^*$                   | koncentracija ulja na međufaznoj površini   | $\text{kg kg}^{-1} \text{CO}_2$  | (9) i (10)                       |
| $c_0$                   | parametar u jednačini (65)  | konzistentne jedinice            | (65)-(67)                        |
| $c_0$                   | početna koncentracija rastvorka u čvrstom materijalu  | $\text{kg m}^{-3}$               | (83)                             |
| $c_1$                   | parametar u jednačini (65) koji predstavlja broj molekula natkritičnog $\text{CO}_2$ u solvato kompleksu sa jednim molekulom rastvorka                                  | -                                | (65)-(67)                        |
| $c_{1i}$ (i=0, 1 ili 2) | parametar u jednačini (66)  | konzistentne jedinice            | (66)                             |
| $c_2$                   | parametar u jednačini (65) koji predstavlja potrebnu energiju formiranja solvato kompleksa između jednog molekula rastvorka i $c_1$ molekula natkritičnog $\text{CO}_2$ | -                                | $=\Delta H/R$ (65)-(67)          |
| $c_{2i}$ (i=0 ili 1)    | parametar u jednačini (67)  | konzistentne jedinice            | (67)                             |
| $c_f$                   | koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu   | $\text{kg kg}^{-3}$              | (8)                              |
| $c_f^*$                 | koncentracija rastvorka u filmu natkritičnog fluida koji je u ravnoteži sa površinom čvrste faze  | $\text{kg m}^{-3}$               | (82)-b-d                         |
| $c_{f,izl}$             | koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu na izlazu iz ekstraktora  | $\text{kg m}^{-3}$               | (4) i (5)                        |
| $C_{izl}$               | maseni odnos rastvorka i $\text{CO}_2$ na izlazu iz ekstraktora   | $\text{kg kg}^{-1} \text{CO}_2$  | (10)                             |
| $c_k$                   | granična koncentracija rastvorka u čvrstoj fazi pri kojoj dolazi promene mehanizma sorpcije ili mehanizma prenosa mase  | $\text{kg m}^{-3}$               | (81)-d                           |
| $c_m$                   | koncentracija rastvorka u jednomolekulskom sloju na površini čvrste faze  | $\text{kg m}^{-3}$               | (58)                             |
| $\text{CO}_2$           | ugljendioksid   |                                  |                                  |
| $c_p$                   | koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu unutar pora čvrstog materijala  | $\text{kg m}^{-3}$               | (76)                             |
| $c_p$                   | specifični toplotni kapacitet   | $\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$ | (14)(15)                         |
| $c_{p0}$                | početna koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu unutar pora čvrstog materijala  | $\text{kg m}^{-3}$               | (76), (77), (82)-a i (83)        |
| $\bar{c}_s$             | srednja koncentracija rastvorka u čvrstom materijalu  | $\text{kg m}^{-3}$               | (81)-d                           |
| $c_s$                   | koncentracija rastvorka u čvrstoj fazi ili adsorbovanog na čvrstoj fazi   | $\text{kg m}^{-3}$               | (77)                             |

| Oznaka           | Značenje  | Jedinica                          | Jed. u kojoj se pominje ili def.      |
|------------------|---|-----------------------------------|---------------------------------------|
| $c_{s R}$        | koncentracija rastvorka na spoljašnjoj površini čvrste čestice  | $\text{kg m}^{-3}$                | (81)                                  |
| $c_{s0}$         | početna koncentracija rastvorka adsorbovanog na čvrstoj fazi  | $\text{kg m}^{-3}$                | (76), (77), (82)-a i (83)             |
| $c_{\text{sat}}$ | koncentracija ulja u stanju zasićenja natkritičnog $\text{CO}_2$  | $\text{kg m}^{-3}$                | (65)-(68)                             |
| $C_u$            | maseni odnos rastvorka i $\text{CO}_2$ na ulazu u ekstraktora   | $\text{kg kg}^{-1}\text{CO}_2$    | (9)                                   |
| $D$              | molekulska difuzivnost komponente u ugljendioksidu ( $D_{12}$ )   | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$        |                                       |
| $c_{\text{vu}}$  | koncentracija vezanog ulja u materijalu   | $\text{kg m}^{-3}$                |                                       |
| $c_{\text{vu}0}$ | početna koncentracija vezanog ulja u materijalu   | $\text{kg m}^{-3}$                |                                       |
| $D_{11}$         | koeficijent samodifuzije $\text{CO}_2$  | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$        | (34)                                  |
| $D_c$            | koeficijent samodifuzije $\text{CO}_2$ u kritičnoj tečki koji figuriše u jednačini (30) i (34)  | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$        | (33)                                  |
| $D_e$            | efektivni koeficijent difuzije rastvorka u čvrstom materijalu   | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$        |                                       |
| $D_L$            | koeficijent aksijalne disperzije rastvorka u natkritičnom fluidu  | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$        | (71)                                  |
| $d_p$            | prečnik čestice materijala koji se ekstrahuje   | m                                 |                                       |
| $e$              | masa ekstrahovanog rastvorka u odnosu na masu nerastvornog dela materijala  | $\text{kg kg}^{-1}$               | (3)                                   |
| $e_\infty$       | $e$ pri beskonačnom vremenu ekstrakcije   | $\text{kg kg}^{-1}$               | (95)                                  |
| $F$              | Prilagodljiv parameter u modelu koji je predložila Sovová [79]  | $\text{s}^{-1}$                   | (100)                                 |
| $f$              | funkcija koja povezuje sadržaj rastvorka u čvrstom materijalu ( $c_s^*$ ) i u fazi natkritičnog fluida sa kojim je u ravnoteži ( $c_f$ )                |                                   | (82)-a i (82)-e-f                     |
| $f^{-1}$         | funcija koja povezuje sadržaj rastvorka u fazi natkritičnog fluida ( $c_f^*$ ) i u čvrstom materijalu sa kojim je u ravnoteži ( $c_s$ )                 |                                   | (82)-b-d                              |
| $\hat{f}_i$      | fugacitet komponente i u smeši  | -                                 | (62)-a i (62)-b                       |
| $F_0$            | Furijev broj  | -                                 | (113)                                 |
| $g$              | gravitaciono ubrzanje   | $\text{m s}^{-2}$                 | $9,8 \text{ m s}^{-2}$                |
| $Gr$             | Grashofov broj  | -                                 | (42)                                  |
| $H$              | entalpija   | J                                 |                                       |
| $J$              | molski fluks  | $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ | (14)                                  |
| $J$              | ukupna brzina ekstrakcije   | $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ | (81)-a-e                              |
| $K$              | ravnotežni koeficijent sorpcije   | -                                 | $=k_{\text{sor}}/k_{\text{des}}$ (87) |
| $K'$             | zapreminski koeficijent raspodele ulja između čvrste i fluidne faze   | -                                 | (82)-g i (91)                         |
| $K_I$            | koeficijent u BET-tipu ravnotežne izoterme (58)   | -                                 | (58)                                  |
| $k_{\text{des}}$ | koeficijent desorpcije (reakcija prvog reda)  | $\text{s}^{-1}$                   | (87)                                  |
| $k_f$            | koeficijent prenosa mase u filmu natkritičnog fluida koji okružuje česticu materijala, koeficijent prelaza mase ili spoljašnji koeficijent prenosa mase | $\text{m s}^{-1}$                 |                                       |
| $k_p$            | globalni koeficijent prenosa mase koji se dobija usvajanjem linearne pogonske sile  | $\text{m s}^{-1}$                 | $=5k_f/(Bi+5)$ (81)-b                 |
| $k_{p0}$         | početna vrednost globalnog koeficijenta prenosa mase  | $\text{m s}^{-1}$                 | (95)                                  |
| $k_s$            | unutrašnji koeficijent prenosa mase ili koeficijent prelaza mase u čvrstoj fazi   | $\text{m s}^{-1}$                 | $=5D_e/R$ (81)-c                      |
| $k_{\text{sor}}$ | koeficijent sorpcije (reakcija prvog reda)  | $\text{s}^{-1}$                   | (87)                                  |
| $K_{\text{su}}$  | koeficijent raspodele slobodnog ulja između čvrste faze (slobodno ulje) i natkritičnog fluida (rastvoreno ulje)   | -                                 | $=c_{\text{sat}}/\rho_u$              |
| $K_{\text{vu}}$  | koeficijent raspodele ulja između čvrste faze   | -                                 | $=c_{\text{sat}}/c_{\text{vu}0}$      |

| Oznaka      | Značenje  | Jedinica                            | Jed. u kojoj se pominje ili def.               |
|-------------|---|-------------------------------------|--|
| $K_T$       | (vezano ulje) i natkritičnog fluida (rastvoreno ulje)<br>izotermska kompresibilnost   | Pa <sup>-1</sup>                    | (13)   |
| $L$         | rastojanje  | m                                   |  |
| $l_{kar}$   | karakteristična dimenzija   | m                                   |  |
| $m$         | masa  | kg                                  |  |
| $M$         | molarna masa  | kg mol <sup>-1</sup>                |  |
| $m_0$       | masa čvrstog materijala na početku procesa  | kg                                  | (1) i (5)                                      |
| $m_E$       | masa ekstrakta  | kg                                  | (1), (2), (3) i (4)                            |
| $m_{KBE}$   | masa ekstrakta sakupljena u za vreme trajanja perioda konstantne brzine ekstrakcije   | kg                                  | (6)  |
| $m_{nr}$    | masa nerastvornog dela materijala   | kg                                  | (3)  |
| $m_r$       | masa rastvorka u materijalu   | kg                                  | (2)  |
| $m_{r,o}$   | masa rastvorka u materijalu na početku procesa  | kg                                  | (2)  |
| $N$         | parametar u jednačini (25)  | -                                   | (26) i (27)                                    |
| $N$         | broj eksperimentalnih tačaka  | -                                   | (114) i (115)                                  |
| $NP$        | broj parametara u modelu  | -                                   | (114) i (115)                                  |
| $Nu$        | Nuseltov broj   | -                                   |  |
| $p$         | pritisak  | Pa                                  |  |
| $P_r^{sub}$ | pritisak sublimacije za rastvorak   | Pa                                  | (63)   |
| $Pe$        | Pekletov broj   | -                                   |  |
| $Pr$        | Prantlov broj   | -                                   | (16)   |
| $Q$         | parametar u jednačini (30)  | -                                   | (32)   |
| $q$         | specifična potrošnja rastvarača količina rastvarača po jedinici mase neekstraktabilnih komponenata materijala                   | kg kg <sup>-1</sup>                 | $= m_{CO_2}/m_{nr}$ ili<br>$= m_{CO_2}/m_{SM}$ |
| $\dot{q}$   | specifični protok CO <sub>2</sub>   | kg kg <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> | (100) i (101)                                  |
| $q_m$       | vrednost $q$ u kojoj počinje ekstrakcija rastvorka unutar ćelija, završetak perioda brze ekstrakcije                            | kg kg <sup>-1</sup>                 | (97)   |
| $q_n$       | vrednost $q$ u kojoj završava prelazni period i počinje period spore ekstrakcije  | kg kg <sup>-1</sup>                 | (98)   |
| $R$         | univerzalna gasna konstanta   | J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> |  |
| $R$         | poluprečnik čestice materijala  | m                                   | $=d_c/2$                                       |
| $r$         | radijalno rastojanje unutar čestice   | m                                   |  |
| $Re$        | Rejnoldsov broj   | -                                   | (40)   |
| $SD$        | standardno odstupanje   | -                                   | (115)  |
| $S$         | prilagodljiv parameter u modelu koji je predložila Sovová [79]  | s <sup>-1</sup>                     | (101)  |
| $Sc$        | Šmitov broj   | -                                   | (16)   |
| $Sh$        | Šervudov broj   | -                                   | (41)   |
| $T$         | temperature   | K                                   |  |
| $t$         | vreme   | s                                   |  |
| $t_{ud}$    | karakteristično vreme unutrašnje difuzije   | s                                   | (91)-(94)                                      |
| $U$         | unutrašnja energija gasa na trenutnoj apsolutnoj temperaturi i pritisku   | J mol <sup>-1</sup>                 |  |
| $U$         | prividna brzina rastvarača kroz sloj  | m s <sup>-1</sup>                   | $U = \dot{V}/A_E$                              |
| $u$         | stvarna brzina rastvarača kroz sloj   | m s <sup>-1</sup>                   | $u = U/\epsilon$                               |
| $V$         | zapremina   | m <sup>3</sup>                      |  |
| $V_E$       | zapremina ekstraktora   | m <sup>3</sup>                      |  |
| $V_M$       | molarna zapremina   | m <sup>-3</sup> mol                 | (11)   |
| $V_{Mc}$    | molarna zapremina u kritičnoj tački   | cm <sup>-3</sup> mol                | (35) i (36)                                    |
| $V_p$       | zapremina čestice materijala  | m <sup>3</sup>                      | (93)   |
| $\dot{V}$   | zapreminski protok  | m <sup>3</sup> s <sup>-1</sup>      | (5)  |
| $W$         | bezdimenzioni parametar u modelu koji je predložila Sovová [79], a koji je proporcionalan unutrašnjem koeficijentu prenosa mase | -                                   | (101)  |
| $w$         | stepen ekstrakcije – masa ekstrahovanog rastvorka   | kg kg <sup>-1</sup>                 | (2)  |

| Oznaka                   | Značenje  | Jedinica                            | Jed. u kojoj se pominje ili def. |
|--------------------------|---|-------------------------------------|----------------------------------|
|                          | u odnosu na polaznu količinu rastvorka u materijalu   |                                     |                                  |
| $X$                      | parametar u jednačini (30)  | -                                   | (31)                             |
| $x$                      | molski udeo rastvorka u tečnoj ili čvrstoj fazi   | mol mol <sup>-1</sup>               | (62)-a i b                       |
| $x_0$                    | maseni odnos rastvorka prisutnog u materijalu na početku procesa i nerastvornog dela materijala                                 | kg kg <sup>-1</sup> nr mat          | (60)                             |
| $x_k$                    | maseni odnos rastvorka unutar čestica (nerazorene ćelije materijala) i nerastvornog dela materijala                             | kg kg <sup>-1</sup> nr mat          |                                  |
| $Y$                      | (kumulativni) prinos ekstrakcije  | kg kg <sup>-1</sup> mat             | (1) i (5)                        |
| $y$                      | molski udeo rastvorka u natkritičnom fluidu   | mol mol <sup>-1</sup>               | (62)-a i b, (63) i (64)          |
| $y_0$                    | početna koncentracija ulja u natkritičnom fluidu  | kg kg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> | (59)                             |
| $y_r$                    | rastvorljivost ulja u natkritičnom CO <sub>2</sub>  | kg kg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> |                                  |
| $Z$                      | bezdimenzioni parametar u modelu koji je predložila Sovová [79], a koji je proporcionalan spoljašnjem koeficijentu prenosa mase | -                                   | (100)                            |
| $z_w$                    | bezdimenziona koordinata granice između zone spore i brze ekstrakcije   | -                                   | (99)                             |
| <b>Grčki symbol</b>      |   |                                     |                                  |
| $\phi$                   | toplotni fluks  | J m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>   | (14)                             |
| $\phi_r^V(p_r^{sub}, T)$ | koeficijent fugaciteta čistog čvrstog rastvorka na pritisku sublimacije   | -                                   | (63)                             |
| $\chi$                   | korekcionni faktor u jednačini (93)   | -                                   | (93)                             |
| $\varepsilon$            | poroznost sloja materijala u ekstraktoru  | -                                   | =1- $\rho_{sloj}/\rho_{priv}$    |
| $\lambda$                | koeficijent toplotne provodljivosti   | W m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>   | (14)                             |
| $\tau$                   | faktor izuvijanosti pora  |                                     | (55)                             |
| $\tau$                   | napon smicanja  | Pa                                  | (14)                             |
| $\alpha$                 | parametar u jednačini (37)  | -                                   | (37)                             |
| $\beta$                  | parametar u jednačini (37)  | -                                   | (37)                             |
| $\Psi$                   | zapreminski udeo slobodnog ulja u čvrstom materijalu  | -                                   | (105)                            |
| $\Sigma\Delta_V^{(a)}$   | suma doprinosa atoma ili atomskih grupa rastvorka kritičnoj molarnoj zapremini, metoda Ambros                                   | cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>   | (35)                             |
| $\Sigma\Delta_V^{(b)}$   | suma doprinosa atoma ili atomskih grupa rastvorka kritičnoj molarnoj zapremini, metoda Joback                                   | cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>   | (36)                             |
| $\Delta C_m$             | srednja razlika koncentracija ulja na međufaznoj površini i natkritičnom fluidu   | kg kg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> | (8)                              |
| $\varepsilon_p$          | poroznost čestice materijala  | -                                   | =1- $\rho_{priv}/\rho_s$         |
| $\varepsilon_{su}$       | zapreminski udeo razorenih ćelija u materijalu u kojima se nalazi slobodno ulje   | -                                   | (104)                            |
| $\Sigma V$               | suma atomskih difuzionih zapremina po Fuller i sar.   | -                                   | (33)                             |
| $\Delta\rho$             | razlika gustina ugljendioksida zasićenog rastvorkom i čistog ugljendioksida na uslovima ekstrakcije                             | kg m <sup>-3</sup>                  |                                  |
| $\Psi_0$                 | početna vrednost zapreminskog udela slobodnog ulja u čvrstom materijalu   | -                                   |                                  |
| $\mu$                    | koeficijent dinamičke viskoznosti   | Pa s                                |                                  |
| $\mu_0$                  | koeficijent dinamičke viskoznosti na niskom pritisku u jednačinama (18)-(20), (23)  | Pa s                                | (25) i (28)                      |
| $\nu$                    | difuzivnost količine kretanja (koeficijent kinematske viskoznosti)  | m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>      | (14)-(16)                        |
| $\delta$                 | parametar rastvorljivosti (rastvorna moć)   | J m <sup>-3</sup>                   |                                  |
| $\rho$                   | gustina CO <sub>2</sub>   | kg m <sup>-3</sup>                  |                                  |
| $\rho_c$                 | ukupna gustina čvrstog materijala (nerastvoran i rastvoran deo)   | kg m <sup>-3</sup>                  | (61)                             |



| Oznaka               | Značenje   | Jedinica           | Jed. u kojoj se pominje ili def. |
|----------------------|--|--------------------|----------------------------------|
| $\rho_{nr}$          | gustina nerastvornog dela materijala                         | $\text{kg m}^{-3}$ | (61)                             |
| $\rho_{priv}$        | prividna gustina čvrste faze (merenje Hg piknometrom)        | $\text{kg m}^{-3}$ |                                  |
| $\rho_s$             | gustina čvrste faze (merenje He piknometrom)                 | $\text{kg m}^{-3}$ |                                  |
| $\rho_{sat}$         | gustina CO <sub>2</sub> zasićenog rastvorkom                 | $\text{kg m}^{-3}$ |                                  |
| $\rho_{sloj}$        | gustina sloja  | $\text{kg m}^{-3}$ | $=m_0/V_E$                       |
| $\rho_u$             | gustina ulja   | $\text{kg m}^{-3}$ |                                  |
| <b>Gornji indeks</b> |  |                    |                                  |
| Ig                   | idealna gas  |                    |                                  |
| L                    | tečna faza   |                    |                                  |
| S                    | čvrsta faza  |                    |                                  |
| NK                   | faza natkritičnog fluida                                     |                    |                                  |
| <b>Donji indeks</b>  |  |                    |                                  |
| 0                    | veličina na početku procesa u vremenu $t=0$                  |                    |                                  |
| 1                    | komponenta 1   |                    |                                  |
| 2                    | komponenta 2   |                    |                                  |
| A                    | komponenta A   |                    |                                  |
| AT                   | $\alpha$ -tokoferol  |                    |                                  |
| C                    | veličina u kritičnoj tački                                   |                    |                                  |
| č                    | čestica  |                    |                                  |
| E                    | Ekstrakt   |                    |                                  |
| e                    | efektivni  |                    |                                  |
| GT                   | $\gamma$ -tokoferol  |                    |                                  |
| izl                  | veličina na izlazu iz ekstraktora                            |                    |                                  |
| kar                  | karakteristična vrednost                                     |                    |                                  |
| KBE                  | konstantna brzina ekstrakcije                                |                    |                                  |
| M                    | molska veličina  |                    |                                  |
| M                    | monoterpeni  |                    |                                  |
| NR                   | komponente koje se ne rastvaraju / ekstrahuju                |                    |                                  |
| o                    | veličina nana niskom (atmosferskom) pritisku                 |                    |                                  |
| O                    | ostale komponente u ekstraktu koje su svrstane u jednu grupu |                    |                                  |
| OM                   | oksisgenovani monoterpeni                                    |                    |                                  |
| OS                   | oksisgenovani seskviterpeni                                  |                    |                                  |
| P                    | na konstantnom pritisku                                      |                    |                                  |
| r                    | redukovana vrednost (u odnosu na kritičnu tačku)             |                    |                                  |
| r                    | rastvorak  |                    |                                  |
| S                    | seskviterpeni  |                    |                                  |
| sat                  | u stanju zasićenja   |                    |                                  |
| SK                   | skvalen  |                    |                                  |
| sloj                 | veličina koja se odnosi na sloj nasutog materijala           |                    |                                  |
| SM                   | Sirovi materijal   |                    |                                  |
| spec                 |  |                    |                                  |
| ST                   | steroli  |                    |                                  |
| T                    | na konstantnoj temperaturi                                   |                    |                                  |
| T                    | tokoferoli ( $\alpha+\gamma$ )                               |                    |                                  |
| u                    | ulaz   |                    |                                  |
| V                    | na konstantnoj zapremini                                     |                    |                                  |
| x                    | u x pravcu (u kartezijskom koordinatnom sistemu)             |                    |                                  |
| y                    | u y pravcu (u kartezijskom koordinatnom sistemu)             |                    |                                  |



## 2 UVOD

Ekstrakcija sa natkritičnim ugljendioksidom izuzetno je popularan proces, zahvaljujući svojim mnogobrojnim prednostima u odnosu na klasične postupke ekstrakcije organskim rastvaračima, destilaciju i presovanje semena uljarica. Prednost duguje pre svega netoksičnom, nezapaljivom, neeksplozivnom, nekorozivnom, jeftinom rastvaraču, koji je uz to i bez mirisa i boje, čija kritična temperatura ne prevazilazi značajno vrednost ambijentalne temperature i sa čijim izdvajanjem iz ekstrakta nema nikakvih poteškoća. Ovaj energetski efikasan proces, zahvalan je sa aspekta zaštite životne sredine, i kao takav nalazi značajno mesto u prehrambenoj, farmaceutskoj industriji i biotehnologiji. Ovim postupkom se dobijaju ekstrakti visokog kvaliteta, oslobođeni zaostalog rastvarača i degradacionih produkata.

U okviru ove doktorske disertacije određivani su parametri koji kontrolišu brzinu prenosa mase u procesima ekstrakcije visokovrednih komponenata iz dve biljne sirovine: bobica (ploda) kleke (*Juniperus communis* L.) i semena tikve golice (*Cucurbita pepo* L.), ugljendioksidom u natkritičnom stanju (natkritični, ili kako se u literaturi još može naći, superkritični ugljendioksid).

Na bazi provere primenljivosti postojećih matematičkih modela na eksperimentalnim rezultatima ovog rada, odabrani su oni koji najbolje opisuju kinetiku ekstrakcije etarskog ulja kleke i ulja iz semena tikve natkritičnim ugljendioksidom, pri čemu su određeni i odgovarajući kinetički parametri ekstrakcije. Analiziran je sadržaj pojedinih karakterističnih komponenata u dobijenim ekstraktima, uticaj radnih parametara, kao što su pritisak, temperatura, vreme ekstrakcije, kao i protok rastvarača i veličina čestica organskog materijala na prinos ekstrakta i njegov kvalitet. Dobijeni eksperimentalni rezultati omogućavaju određivanje parametara kinetike ekstrakcije pojedinih grupa jedinjenja, koje su prisutne u etarskom ulju kleke, kao što su monoterpeni, seskviterpeni i oksidovani terpeni, čiji sadržaj određuje kvalitet ulja i diktira mogućnost primene. Kod ulja tikve golice praćeno je izdvajanje važnih mikronutrijenata kao što su:  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol, steroli i skvalen u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom.

Polazne biljne sirovine za ekstrakciju su odabrane iz više razloga. Kao prvo, zbog različitog tipa i sadržaja materija koje je potrebno ekstrahovati, što uzrokuje različitu kinetiku i mehanizme ekstrakcije i omogućava proveru matematičkih modela različitog tipa. Uz to, ove sirovine imaju svoj medicinski i industrijski značaj, tako da postoji veliki broj naučno-istraživačkih radova koji se njima bave s različitih aspekata. Naravno, odlučujući razlog za izbor ovih biljnih sirovina svakako je bio nepostojanje odgovarajućih eksperimentalnih podataka u literaturi. Naime, do sada, prema saznanju autora, nema literaturnih podataka koji bi bili osnova za modelovanje ekstrakcije etarskog ulja kleke (*Juniperus communis* L.) natkritičnim ugljendioksidom, odnosno nije prikazana zavisnost prinosa i sastava ekstrakata od vremena, iako je vreme, pored pritiska, temperature, veličine čestica organskog materijala i drugih parametara ekstrakcije, važan faktor natkritične ekstrakcije kao klasičnog diskontinualnog procesa. Takođe, u ovom trenutku u literaturi nisu dostupni podaci o kinetici natkritične ekstrakcije i kvalitetu ulja iz semena uljane tikve golice (*Cucurbita pepo* L.) koje se dobija ovim postupkom.

Ovo istraživanje, kao i svi radovi ovoga tipa, doprinose boljem poznavanju ekstrakcionih mehanizama i dubljem razumevanju osnovnih fenomena prenosa mase u savremenom separacionom postupku, kakav je natkritična ekstrakcija.

Pravilnim odabiranjem uslova natkritične ekstrakcije (pritiska, temperature, vremena ekstrakcije) mogu se dobiti visokovredni proizvodi iz odabranih biljnih sirovina različite prirode, čija se ekstrakcija može opisati različitim matematičkim modelima, pri čemu izbor modela zavisi od ekstrakcionih mehanizama.

Ekstrakcija prirodnih proizvoda iz čvrstog materijala koji formira sloj punjenja osnova je većine savremenih komercijalizovanih postupaka ekstrakcije natkritičnim fluidima. Uprkos tome, dublje razumevanje osnovnih fenomena koji kontrolišu proces natkritične ekstrakcije još uvek nije u potpunosti postignuto, tako da postoji prostor za ovakva naučna istraživanja.

Takođe, razvoj poboljšanih metoda za ekstrakovanje visokovrednih komponenata iz biljnog materijala i projektovanje komercijalne opreme nemogući su bez poznavanja ekstrakcionih mehanizama i parametara koji kontrolišu brzinu prenosa mase.

## 3 OPŠTI DEO

### 3.1. EKSTRAKCIJA FLUIDIMA U NATKRITIČNOM STANJU – NATKRITIČNA EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija fluidima u natkritičnom stanju, natkritična ekstrakcija, ili, prema navodima nekih autora, superkritična ekstrakcija, je operacija prenosa mase bazirana na činjenici da pojedini gasovi postaju izuzetno moćni rastvarači/ekstragensi za određene vrste hemijskih jedinjenja u blizini svoje kritične tačke, ili u svojoj natkritičnoj oblasti.

U toku ekstrakcije fluidima koji su u stanju bliskom kritičnoj tački, ili u natkritičnom stanju, fluid se prvo dovede na željene uslove podešavanjem pritiska i temperature, a zatim se pusti da pod pritiskom kontinualno protiče kroz nasuti sloj čestica usitnjenog materijala i rastvara pojedine rastvorne materije iz čvrste faze. Rastvorak koji se ekstrahuje najčešće je neka manje ili više isparljiva tečnost, ili čvrsta supstanca na određeni način raspoređena unutar poroznog nerastvornog dela materijala. Nakon prolaska kroz sloj, iza ekstraktora, smanjenjem pritiska rastvora, natkritični fluid (rastvarač) se prevodi u gasovito stanje, čime mu se drastično smanjuje moć rastvaranja. Rastvorak se izdvaja iz gasne faze i taloži u separatoru, a gasoviti rastvarač, čist i ponovo spreman za vraćanje na početak procesa, izvodi se sa vrha separatora. U ovom procesu dobija se ekstrakt oslobođen rastvarača. Masu ekstrakta je moguće izmeriti i nema potrebe za njegovim dodatnim prečišćavanjem od ostataka rastvarača, kao što je to slučaj u procesima ekstrakcije klasičnim organskim rastvaračima.

Proces ekstrakcije je najlakše prikazati pomoću ekstrakcione krive, koja daje zavisnost mase sakupljenog ekstrakta,  $m_E(t)$ , od vremena ekstrakcije,  $t$ , ili utrošene mase ugljendioksida,  $m_{CO_2}$ . Masa ekstrakta se vrlo često iskazuje relativno u odnosu na različite veličine. U tim slučajevima, na ordinatu dijagrama koji prikazuje ekstrakcione krive nanose se sledeće veličine:

- Masa ekstrahovanog rastvorka (ekstrakta) u odnosu na početnu masu usitnjenog materijala ( $m_0$ ) – (kumulativni) prinos,  $Y(t)$  (Slika 1):

$$Y(t) = \frac{m_E(t)}{m_0} \cdot 100 \% \quad (1)$$

- Masa ekstrahovanog rastvorka u odnosu na polaznu količinu rastvorka u materijalu ( $m_{r,0}$ ) – stepen ekstrakcije,  $w(t)$ :

$$w(t) = \left( 1 - \frac{m_r(t)}{m_{r,0}} \right) \cdot 100 \% = \frac{m_E(t)}{m_{r,0}} \cdot 100 \% \quad (2)$$

- Masa ekstrahovanog rastvorka u odnosu na masu nerastvornog dela materijala ( $m_{NR}$ ),  $e(t)$ :

$$e(t) = \frac{m_E(t)}{m_{NR}} \cdot 100 \% \quad (3)$$

Ukoliko se na apscisu dijagrama nanosi masa utrošenog ugljendioksida, ona se takođe izražava relativno u odnosu na istu veličinu kao i masa ekstrahovanog rastvorka na ordinati, odnosno izražava se kao specifična potrošnja ugljendioksida,  $q$ .

Koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu na izlazu iz ekstraktora, tj. po izlazu iz sloja ekstrahovanog materijala,  $c_{f,izl}$  ( $\text{kg m}^{-3}$ ) ili  $C_{izl}$  ( $\text{kg kg}^{-1} \text{CO}_2$ ), menja se sa vremenom ili sa stepenom ekstrakcije, a dva tipična oblika zavisnosti izlazne koncentracije rastvorka  $c_{f,izl}(t)$  i kumulativnog prinosa ekstrakcije  $Y(t)$  od vremena, prikazuje Slika 1 [1]. Zavisnost „Tip I“ i „Tip II“ odgovaraju, redom, sirovinama sa velikim i malim polaznim sadržajem rastvorka.

Veličine  $c_{f,izl}(t)$  i  $Y(t)$  povezuje sledeća jednačina:

$$m_E(t) = \int_0^t c_{f,izl}(t) U(t) A_E dt \quad (4)$$

gde je prividna brzina rastvarača kroz sloj  $U(t)$ , a površina poprečnog preseka ekstraktora  $A_E$ .

Ukoliko je prividna brzina rastvarača kroz sloj konstantna, promena prinosa ekstrakcije u vremenu ekstrakcije može se dobiti iz sledećeg izraza:

$$Y(t) = \frac{\dot{V}}{m_0} \int_0^t c_{f,izl}(t) dt \quad (5)$$

pri čemu je  $\dot{V}$  zapreminski protok rastvarača.

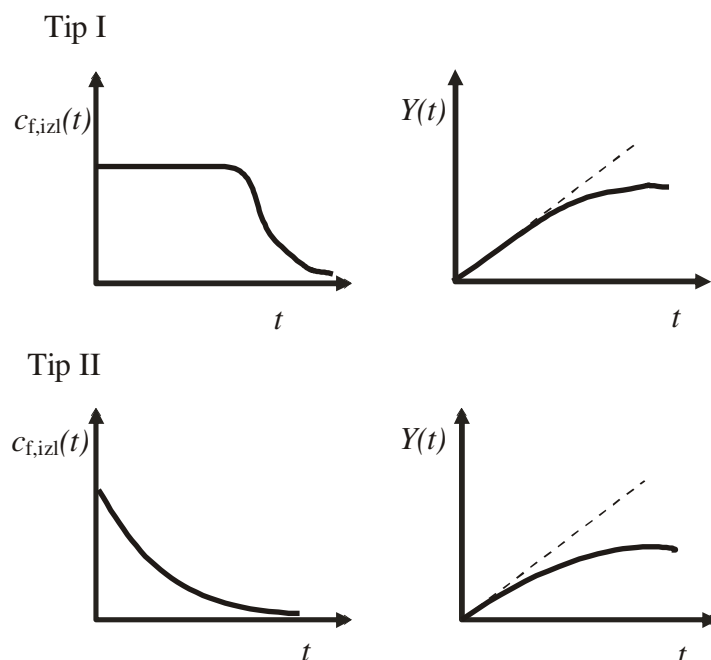
„Tip I“ zavisnosti izlazne koncentracije rastvorka  $c_{f,izl}(t)$  i kumulativnog prinosa ekstrakcije  $Y(t)$  od vremena (Slika 1), odgovara ekstrakciji sirovina bogatih rastvorkom, kao što su semena uljarica. Proces ekstrakcije ulja u ovom slučaju je stacionaran na svom početku, odnosno izlazna koncentracija rastvorka u rastvaraču se ne menja. Nakon početnog stacionarnog perioda, dolazi do smanjenja koncentracije rastvorka u solventu na izlazu iz ekstraktora, odnosno proces postaje nestacionaran.

U slučajevima ekstrakcije komponenata čiji sadržaj u polaznom materijalu u samom startu nije veliki, tipične krive ekstrakcije odgovaraju „Tipu II“ (Slika 1). Proces je od samog starta nestacionaran, a koncentracija rastvorka u rastvaraču na izlazu iz ekstraktora neprekidno se smanjuje u toku procesa.

U većini savremenih komercijalizovanih postupaka ekstrakcije prirodnih proizvoda natkritičnim fluidima, ekstrakt se dobija iz nasutog sloja čvrstog materijala u ekstraktoru. Raznovrsni i mnogobrojni faktori utiču na proces ekstrakcije, a najznačajniji među njima su:

- pritisak, temperatura i protok rastvarača (solventa);
- gustina, viskoznost i difuzivnost rastvarača i materije koja se ekstrahuje;
- interakcije između molekula rastvarača, rastvorka i nerastvornog dela čvrstog materijala (matriksa) u kome se nalazi rastvorak, koje utiču na faznu ravnotežu i koeficijente difuzije;
- oblik, veličina i raspodela veličina čestica materijala u sloju, poroznost čestica i poroznost sloja.

Ova svojstva određuju, između ostalog, način kretanja rastvorka kroz sloj (uključujući aksijalnu difuziju) i stepen efektivne difuzije rastvorka unutar pora čestica.



**Slika 1.** Tipični oblici zavisnosti izlazne koncentracije rastvorka  $c_{f,izl}$  i kumulativnog prinosa  $Y$  od vremena.

Tip I – sirovina sa velikim početnim sadržajem rastvorka, Tip II – sirovina sa malim početnim sadržajem rastvorka.

Pored ovih osnovnih faktora, savremeni pristup matematičkom opisivanju procesa nameće i potrebu poznavanja botaničkih karakteristika materijala i/ili analize materijala optičkim ili elektronskim mikroskopom, kao i poznavanje položaja i raspodele rastvorka u materijalu i strukture razorenih i nerazorenih ćelija.

Upotreba fluida u natkritičnom stanju za ekstrakciju nekog rastvorka uslovljena je, pre svega, rastvorljivošću i faznom ravnotežom komponenata prisutnih u polaznom materijalu u komprimovanom gasu. Rastvorak mora biti rastvorljiv u natkritičnom fluidu na umerenim pritiscima i temperaturama. Promenom pritiska i temperature mogu se u širokom opsegu vrednosti menjati rastvorljivost i fazna ravnoteža. Pored rastvorljivosti, najbitniju ulogu u procesu ekstrakcije ima prenos mase.

Na početku procesa, u toku prve faze ekstrakcije, efikasnost ekstrakcije je ograničena rastvorljivošću u raspoloživoj količini rastvarača. Veća rastvorljivost, a time i kraće vreme ekstrakcije može se postići povećanjem pritiska procesa, pošto se na taj način povećava gustina rastvarača, a time i njegova moć rastvaranja. Porast temperature izaziva smanjenje gustine rastvarača, ali i porast napona pare rastvorka. Porast temperature na višim pritiscima ima povoljan uticaj na ekstrakciju, odnosno povećava rastvorljivost. To je posledica toga što je na višim pritiscima porast napona pare rastvorka veći u odnosu na smanjenje gustine rastvarača pri porastu temperature. Za svaki rastvorak postoji vrednost pritiska na kojoj temperatura nema uticaja na prinos, i ta vrednost je u literaturi poznata kao prelazni pritisak

(*engl. crossover*), a sam efekat se naziva „temperaturna inverzija“. Na pritiscima ispod prelaznog pritiska, porastom temperature, usled smanjenja gustine natkritičnog fluida, smanjivaće se i njegova moć rastvaranja, odnosno, u ovom slučaju, rastvorljivost rastvorka u natkritičnom fluidu će se smanjivati. Brzina druge faze ekstrakcije ograničena je brzinom difuzije i ovaj deo procesa značajno produžava trajanje procesa. U cilju što veće isplativosti, treba podesiti uslove ekstrakcije tako da se dobije željeni prinos unutar prve faze, ukoliko je to moguće.

Masa ekstrakta koji se u jedinici vremena dobija u prvoj fazi procesa ekstrakcije čvrstog materijala natkritičnim fluidom ( $m_{\text{KBE}}$ ), za vreme dok je brzina procesa kontrolisana rastvorljivošću, proporcijalno raste sa porastom koeficijenta prenosa mase ( $k_f$ ), specifične međufazne površine, zapremine sloja i srednje pogonske sile za prenos mase [2]:

$$m_{\text{KBE}} = k_f a_{\text{sp}} V_s \rho \Delta C_m \quad (6)$$

$$a_{\text{sp}} = 6(1 - \varepsilon)/d \quad (7)$$

gde su:  $a_{\text{sp}}$  – specifična međufazna površina ( $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$ ),  $V_s$  – zapremina fiksnog sloja usitnjenog materijala ( $\text{m}^3$ ),  $\varepsilon$  – poroznost sloja (-),  $d$  – srednji prečnik čestica materijala u sloju (m),  $\Delta C_m$  – srednja razlika koncentracija ulja na međufaznoj površini i natkritičnom fluidu ( $\text{kg ulja kg}^{-1} \text{CO}_2$ ) i  $\rho$  - gustina natkritičnog ugljendioksida ( $\text{kg m}^{-3}$ ).

Za vrednost srednje razlike koncentracija ekstrakta (ulja) može se uzeti srednja logaritamska razlika koncentracija ulja na međufaznoj površini i u natkritičnom fluidu na ulazu i na izlazu iz ekstraktora [3], odnosno:

$$\Delta C_m = \frac{\Delta C_u - \Delta C_{\text{izl}}}{\ln(\Delta C_u / \Delta C_{\text{izl}})} \quad (8)$$

$$\Delta C_u = C^* - C_u \quad (9)$$

$$\Delta C_{\text{izl}} = C^* - C_i \quad (10)$$

gde je:  $C^*$  - koncentracija ulja na međufaznoj površini, koja se eksperimentalno može proceniti na osnovu tačke u kojoj je brzina ekstrakcije najveća, a predstavlja ordinatnu vrednost maksimuma na grafiku zavisnosti veličine ( $\text{kg ulja kg}^{-1} \text{CO}_2$ ) od veličine ( $\text{kg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  sirovog materijala), dok se  $C_{\text{izl}}$  može odrediti iz nagiba ekstrakcione krive za prvi period ekstrakcije sa linije koja daje zavisnost veličine ( $\text{kg ulja kg}^{-1}$  sirovog materijala) od veličine ( $\text{kg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  sirovog materijala) [3].

Na ubrzanje procesa prenosa mase može se uticati povećanjem brzine difuzije, odnosno skraćanjem difuzionog puta. Za čvrste materijale ovo se postiže smanjenjem prečnika čestice, što dodatno doprinosi povećanju specifične međufazne površine. Međutim, jako sitne čestice izazivaju pojavu kanala u sloju tokom ekstrakcije, što ima negativan uticaj na sam proces, tako da se mora pronaći optimum. Difuzija, takođe, zavisi i od polazne raspodele rastvorka unutar čvrstog materijala. Druga mogućnost da se poveća prinos ekstrakcije jeste povećanje protoka fluida. Veći protoci izazivaju povećanje koncentracionog gradijenta, jer je koncentracija rastvorka u fluidu manja. Povećanje brzine takođe ima



pozitivan efekat na mešanje u ekstraktoru, tako da na određenim uslovima sloj može postati fluidizovan. S druge strane, veliki protok CO<sub>2</sub> može izazvati tzv. „fenomen ispiranja“, što se negativno odražava na proces.

U većini slučajeva veličine srednjeg prečnika čestica materijala u sloju kreću se od 0,4 do 0,8 mm. Oblik čestica i raspodela veličina čestica imaju najveći uticaj na hidrodinamiku i utiču na potreban odnos dužine i prečnika ekstraktora. Pošto su troškovi primene kratkog ekstraktora velikih prečnika veliki, poželjno je projektovati duže ekstraktore manjeg prečnika. Za sloj punjenja sa uobičajenom raspodelom veličina čestica vrednost ovog odnosa 6:1, osim ako materijal teži bubrenju, kada se primenjuje odnos 3:1. Još jednu mogućnost za povećanje efikasnosti ekstrakcije supstanci koje se inače slabo rastvaraju u natkritičnom fluidu, daje uvođenje korastvarača, odnosno kosolventa, ili modifikatora. S jedne strane, korastvarač može da menja polarnost rastvarača. Alkohol ili čak i voda, čija je rastvorljivost u natkritičnom ugljendioksidu svega oko 0,3%, kada se koriste kao korastvarači u procesu ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom, značajno povećavaju rastvorljivost polarnih supstanci. S druge strane, korastvarač može da deluje kao modifikator poroznog nerastvornog dela materijala (osnovnog matriksa) i time poveća ili smanji dostupnost rastvorka koga treba ekstrahovati. Na primer, prisustvo vlage u materijalu može imati uticaj na ekstrakciju ulja iz materijala zbog dva različita efekta koje voda ima na materijal. Naime, povećanje vlage u materijalu povećava permeabilnost ćelijskog zida, što pospešuje ekstrakciju ulja, dok, sa druge strane, povećava i elastičnost čvrste faze, što pak smanjuje prinose pri većem sadržaju vlage [4]. Naravno, negativni efekat primene korastvarača je dobijanje proizvoda koji nije oslobođen rastvarača.

Postoji veliki broj istraživanja posvećenih merenju i modelovanju brzine prenosa mase iz sloja organskog materijala u procesu ekstrakcije fluidima u natkritičnom stanju. Uprkos tome, potpuno razumevanje osnovnih fenomena koji kontrolišu proces natkritične ekstrakcije još uvek nije postignuto. U većini slučajeva, pažnja autora je usmerena na rastvorljivost različitih jedinjenja u natkritičnom fluidu i kvalitet dobijenog ekstrakta, uticaj radnih parametara, pritiska i temperature, kao i protoka rastvarača i veličine čestica organskog materijala na prinos ekstrakta i njegov kvalitet.

Fluidima u natkritičnom stanju ekstrahovane su različite biljne sirovine. Ovim postupkom mogu se dobiti etarska i masna ulja, aromatične komponente i začini, farmakološki aktivne supstance i komponente sa antioksidativnim i antibakterijskim dejstvom. Dva najznačajnija tipa proizvoda su etarska ulja i masna ulja, tj. biljna ulja i masti. Postoje pregledni radovi o natkritičnoj ekstrakciji kako etarskih ulja [5, 6], tako i jestivih ulja [5, 7], kao i primeni natkritičnog ugljendioksida u farmaciji [8], prehrambenoj industriji [9, 10] i za ekstrakciju i prečišćavanje nutritivnih jedinjenja [11]. Postoji veliki broj knjiga koje, takođe, daju pregled onoga što je do sada urađeno u oblasti natkritične ekstrakcije biljnih sirovina [12, 13]. Pregledni rad na srpskom jeziku u kome se mogu naći primeri primene natkritične ekstrakcije na biljne materijale napisali su Skala i sar. [15], a mogućnosti primene u prehrambenoj industriji Cygnarowicz [14].

Klasični postupci dobijanja etarskih ulja su hidrodestilacija (destilacija vodom, destilacija vodom i vodenom parom i destilacija vodenom parom, koja je ujedno i najzastupljenija) i ekstrakcija organskim rastvaračima (petroletar, benzen, aceton, alkohol i dr.). Usled povišene temperature i prisustva vlage, prilikom hidrodestilacije može doći do različitih promena etarskog ulja. Čak i kada ne dolazi do hemijskih promena etarskog ulja u toku hidrodestilacije, deo najlakše isparljivih komponenata direktno može da ispari, u vodi mogu da se rastvore neke komponente, a do promene mirisa može doći i zbog razlaganja neisparljivih sastojaka biljke. Ekstrakcija etarskih ulja organskim rastvaračima se primenjuje kada biljni materijal sadrži temperaturno nestojiva jedinjenja, i ovim postupkom se

dobijaju ekstrakti koji se koriste u industriji parfema i kozmetičkoj industriji. Prisustvo zaostalih organskih rastvarača može biti problem za dobijanje ekstrakata koji se mogu koristiti u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Etarsko ulje se može dobiti i presovanjem, odnosno mehaničkim putem, ukoliko je ono smešteno u perifernim rezervoarima biljke (perikarp agruma), a ceđenjem se dobija emulzija koju gradi etarsko ulje sa sokom iz biljne sirovine. Etarsko ulje se izdvaja iz ove emulzije centrifugiranjem, filtriranjem, primenom enzima, ili naknadnom destilacijom. Dobijeno ovim postupkom, etarsko ulje je boljeg kvaliteta nego proizvedeno destilacijom vodenom parom [15].

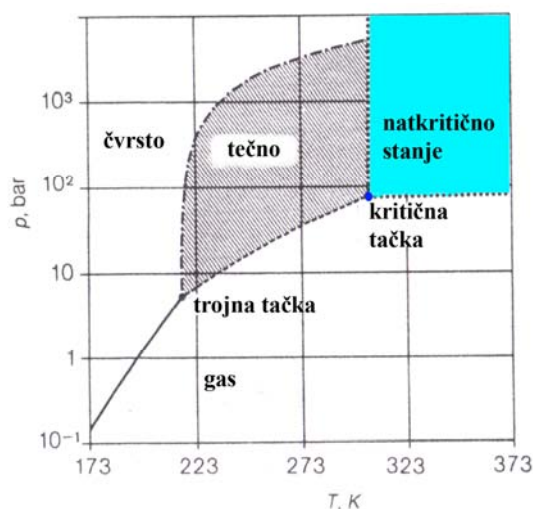
Biljna ulja i masti, tj. masna ulja, čiji su osnovni sastojak trigliceridi, klasično se proizvode ekstrakcijom organskim rastvaračima i hladnim presovanjem (hladno ceđena ulja). Jestiva ulja mogu biti rafinisana (hemijski ili fizički) i nerafinisana. Imperativ zdravog života, očuvanja životne sredine, prirodne hrane, čistih nekontaminiranih namirnica koje su sačuvala izvorne nutritivne vrednosti, daje prednost upotrebi hladno ceđenog nerafinisanog ulja ili hladno ceđenog ulja rafinisanog fizičkom rafinacijom, nad tehnološkim procesima izdvajanja ulja ekstrakcijom i hemijskom (alkalnom) rafinacijom [16]. Jedini problem kod dobijanja ulja mehaničkim presovanjem je zaostajanje velike količine ulja u pogači, odnosno relativno niski prinosi u odnosi na ekstrakciju rastvaračima.

Pored toga što u ekstraktima dobijenim natkritičnim ugljendioksidom nema ostataka rastvarača, tako da nema ni potrebe za dodatnim prečišćavanjem, trošenjem vremena i energije, što je slučaj u postupcima ekstrakcije klasičnim rastvaračem, izbegava se i čest problem termičke razgradnje osetljivih supstanci i/ili denaturacije proteina ukoliko je potrebno dobiti ih iz semena uljarica nakon ekstrakcije ulja. Naravno, prednost primene natkritične ekstrakcije za dobijanje etarskih ulja i masnih ulja leži i u tome što se na kvalitet ulja može jednostavno uticati, promenom parametara ekstrakcionog procesa. Manji prinosi etarskog ulja u postupku dobijanja mehaničkim presovanjem i problemi sa separacijom produkata dobijenih ovim postupkom, daju prednost ekstrakciji natkritičnim fluidima. Što se tiče ekstrakcije masnih (jestivih) ulja, ekstrakcijom fluidima u natkritičnom stanju dobijaju se veće količine ulja u odnosu na postupak hladnog presovanja, i približno iste količine kao u postupcima ekstrakcije klasičnim organskim rastvaračima [17].

### 3.1.1. NATKRITIČNI UGLJENDIOKSID KAO EKSTRAGENS

Kritična tačka za neku supstancu definiše se vrednostima kritične temperature,  $T_c$  i kritičnog pritiska,  $p_c$ . Kritična temperatura i pritisak za ugljendioksid su  $31,06^\circ\text{C}$  i  $7,386\text{ MPa}$ , a na vrednostima temperature i pritiska iznad navedenih kritičnih vrednosti, ugljendioksid postaje natkritični fluid, odnosno fluid u natkritičnom stanju (Slika 2). Zbog niske vrednosti kritične temperature, ugljendioksid je jedan od najčešće primenjivanih fluida u natkritičnoj ekstrakciji supstanci iz prirodnih izvora, po pravilu osetljivih i nestabilnih na povišenim temperaturama. Njegova hemijska inertnost onemogućava pojavu toksičnih primesa u ekstraktu, a eventualna oksidacija proizvoda u toku ekstrakcije je onemogućena, pošto nema slobodnog kiseonika u ekstraktoru. Takođe, ugljendioksid je rastvarač bez mirisa i boje. Uz to, prednosti ekstrakcije ugljendioksidom leže i u tome što ugljendioksid nije otrovan i fiziološki aktivan, tako da ne izaziva štetne posledice po ljudski organizam, nezapaljiv je, neeksplozivan i nekorozivan, a dostupan je u velikim količinama i nije skup.

Ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom jedne sirovine može se dobiti više različitih ekstrakata, ili se njime mogu naknadno frakcionisati ekstrakti, a neekstrahovani materijal se može iskoristiti u druge svrhe, pošto nema primesa rastvarača koje su uobičajne kada se kao ekstragensi koriste organski rastvarači [18].



**Slika 2.** Fazni  $p$ ,  $T$ - dijagram za ugljendioksid.

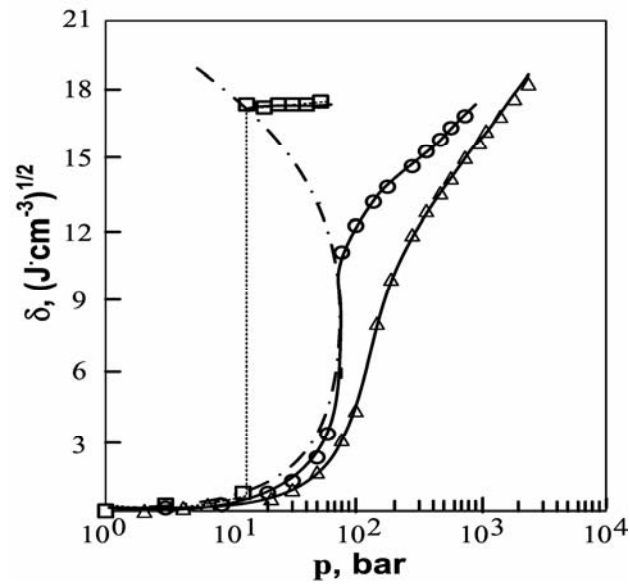
### 3.1.1.1. Moć rastvaranja natkričnog ugljendioksida

Tečni ugljendioksid, u subkritičnom stanju, na povišenim pritiscima i temperaturama nižim od 31°C, izrazito je nepolaran rastvarač, a njegova moć rastvaranja nije velika u poređenju sa klasičnim tečnim rastvaračima [18]. Moć rastvaranja ugljendioksida u natkričnom stanju moguće je menjati u širokom opsegu, malim promenom temperature i/ili pritiska [19].

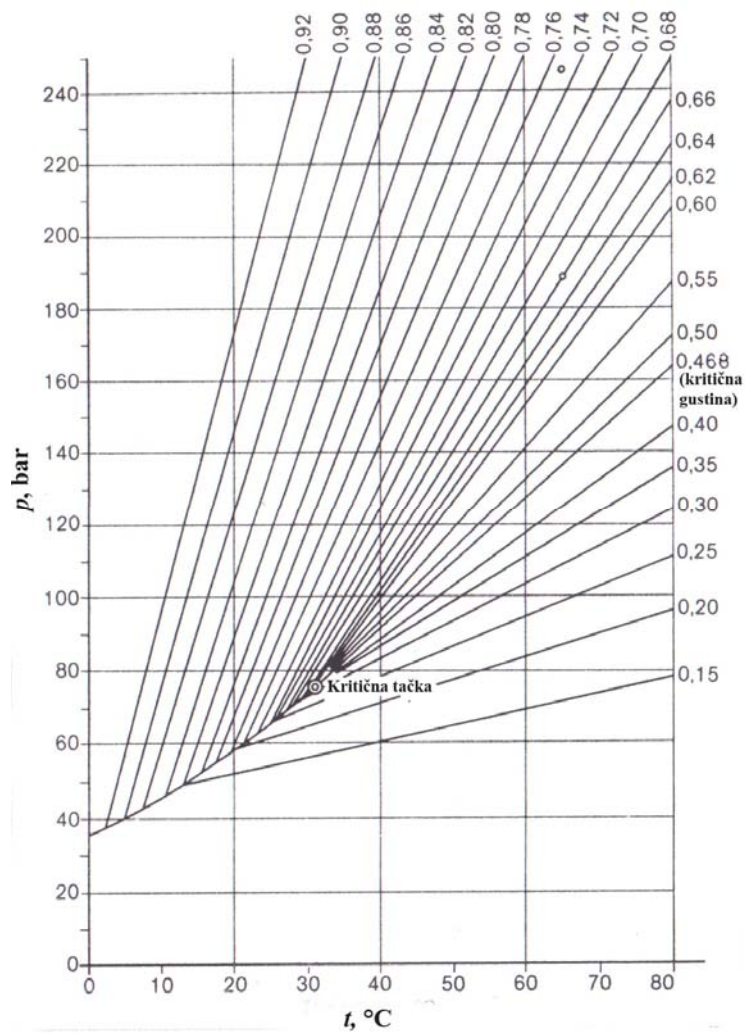
U literaturi postoji nekoliko pokušaja matematičkog opisivanja rastvorne moći komprimovanog gasa, uvođenjem kvantitativne mere snage (moći), odnosno kapaciteta jednog fluida da rastvara različite supstance. Jedna od veličina kojom se može proceniti sposobnost nekog rastvarača da rastvori neku supstancu je njegov parametar rastvorljivosti,  $\delta$ , definisan kao kvadratni koren unutrašnjeg pritiska, ili gustine kohezivne energije [20]. Ovaj parametar je poznat i kao Hildebrandov parametar rastvorljivosti [9] koji je autor definisao za tečne rastvarače.

Giddings i sar. [21] predložili su jednostavan empirijski izraz za izračunavanje parametra rastvorljivosti za natkrične fluide, koji na žalost, ne daje dovoljno tačne rezultate i služi za grubu procenu rastvorne moći natkričnog fluida. Na atmosferskom pritisku, vrednost ovog parametra rastvorljivosti je nula, dok sa porastom pritiska vrednosti parametra rastvorljivosti rastu, pri čemu su najveće promene u blizini kritične tačke [22]. Na ovaj način izračunate vrednosti parametra rastvorljivosti mogu se uspešno koristiti za procenu rastvorljivosti samo pojedinih rastvoraka u natkričnim fluidima, ali ne i u slučajevima rastvaranja estara, ketona, alkohola i drugih polarnih supstanci.

Slika 3 prikazuje zavisnost parametra rastvorljivosti ugljendioksida od pritiska, na tri različite temperature. Vrednost parametra rastvorljivosti za gasoviti ugljendioksid je nula, dok je za tečni ugljendioksid uporediva sa vrednošću za pentan. Zavisnost parametra rastvorljivosti nekog fluida od pritiska je slična zavisnosti njegove gustine od pritiska, odnosno, moć rastvaranja fluida u natkričnom stanju može se povezati sa njegovom gustinom u kritičnom regionu. Zavisnost gustine ugljendioksida od pritiska i temperature prikazuje Slika 4.



Slika 3. Parametar rastvorljivosti za ugljendioksid: (□) -30°C, (○) 31°C, (△) 70°C.

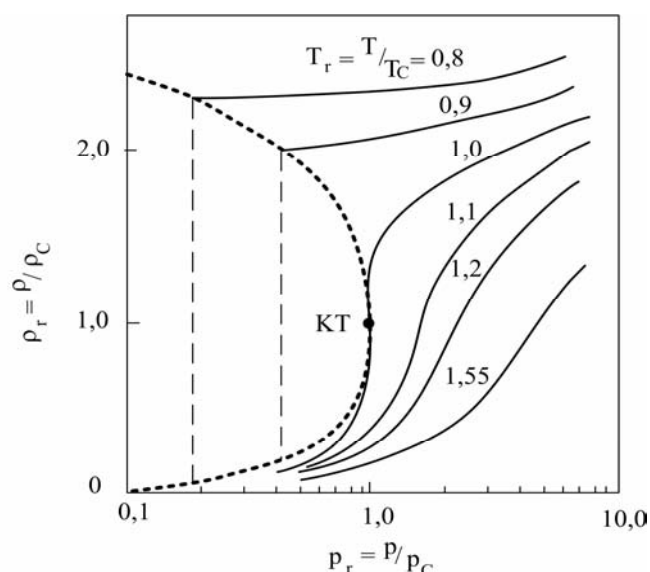


Slika 4. Izohore za ugljendioksid (linije konstantne gustine u jedinicama  $\text{g cm}^{-3}$ ).

Slika 5 prikazuje zavisnost redukovane gustine,  $\rho_r$ , od redukovanog pritiska,  $p_r$ , i redukovane temperature,  $T_r$ , koji se računaju iz izraza:

$$p_r = \frac{p}{p_c} \text{ i } T_r = \frac{T}{T_c} \quad (11)$$

Redukovana gustina (Slika 5) se računa u odnosu na gustinu ugljendioksida u kritičnoj tački,  $\rho_c$ , čija je vrednost  $467,6 \pm 1,1 \text{ kg m}^{-3}$  [24]. Za opseg vrednosti redukovane temperature od 0,9 do 1,2 i redukovanog pritiska većeg od 1,0, redukovana gustina rastvarača može se menjati od vrednosti oko 0,1 (gustine gasa) do oko 2,5 (gustine tečnosti). Kako vrednosti redukovane gustine ugljendioksida postaju reda veličine gustina tečnosti, natkritični fluid počinje da se ponaša kao tečni rastvarač.



**Slika 5.** Zavisnost redukovane gustina ugljendioksida od redukovanog pritiska i redukovane temperature.

Konačna ocena rastvorljivosti nekog rastvorka u natkritičnom fluidu ipak treba da bude potvrđena eksperimentalnim rezultatima, s obzirom da se ni klasična teorija rastvora ne može primeniti u slučaju natkritičnih fluida [13].

### 3.1.1.2. Transportne osobine natkritičnog ugljendioksida, viskoznost, molekulska difuzivnost i površinski napon

Fluidi u natkritičnom stanju smatraju se izuzetnim rastvaračima ne samo zbog mogućnosti finog podešavanja njihove rastvorne moći, koja je znatno veća u odnosu na rastvornu moć običnih gasova i uporediva sa vrednostima za tečnosti, nego i zbog specifičnih vrednosti transportnih veličina, nižih vrednosti koeficijenata viskoznosti i viših vrednosti koeficijenata difuzije u poređenju sa odgovarajućim veličinama za klasične, tečne rastvarače. Takođe, u blizini kritične tačke, površinski napon fluida u natkritičnom stanju je jednala nuli, što dodatno čini ovakve fluide idealnim ekstragensom.

Uslovi za kritičnu tačku čiste komponente su:

$$\left(\frac{\partial p}{\partial V_M}\right)_T = -\left(\frac{\partial^2 A}{\partial V_M^2}\right)_T = 0 \quad \text{i} \quad \left(\frac{\partial^2 p}{\partial V_M^2}\right)_T = -\left(\frac{\partial^3 A}{\partial V_M^3}\right)_T = 0 \quad (12)$$

gde je  $A$  Helmholdsova slobodna energija (J).

Na osnovu ovih uslova, izotermska kompresibilnost,  $K_T$ , ima beskonačnu vrednost u kritičnoj tački, zato što je:

$$K_T \equiv -\frac{1}{V_M} \left(\frac{\partial V_M}{\partial p}\right)_T \quad (13)$$

U toku izvođenja procesa ekstrakcije najčešće se istovremeno odvija prenos količine kretanja, toplote i mase, a bez poznavanja transportnih osobina sistema, nemoguće je odrediti potrebno vreme trajanja procesa. Najbitnije transportne osobine fluida/rastvarača figurišu u osnovnim zakonima kojima se, pri njegovom laminarnom strujanju, opisuju prenos količine kretanja (Njutnov zakon), prenos toplote (Furijeov zakon) i prenos mase (Fikov zakon), a koji glase:

$$\tau_{yx} = -v \frac{\partial(\rho U_x)}{\partial y}, \quad \phi_y = -a \frac{\partial(\rho c_p T)}{\partial y} \quad \text{i} \quad J_{Ay} = -D \frac{\partial(c_A)}{\partial y} \quad (14)$$

i to su difuzivnost količine kretanja,  $v$ , toplotna difuzivnost,  $a$ , i molekulska difuzivnost,  $D$ .

Za idealan gas, za koji važi kinetička teorija gasova, pokazano je da postoji sledeća veza između transportnih osobina gasa:

$$a = \frac{\lambda}{\rho \cdot c_p} = v = \frac{\mu}{\rho} = D \quad (15)$$

Takođe, vrednosti bezdimenzionih kriterijuma sličnosti značajnih za prenos mase i toplote, odnosno Šmitovog,  $Sc$ , i Prantlovog broja,  $Pr$ , za idealne gasove jednake su jedinici.

$$Sc = \frac{v}{D} = 1 \quad \text{i} \quad Pr = \frac{v}{a} = 1 \quad (16)$$

Nije poznato da li su fluidi pod visokim pritiskom Njutnovski fluidi ili ne, i da li se ponašaju prema osnovnim zakonima navedenim u prethodnim izrazima. Kod Njutnovskih fluida koeficijent kinematske viskoznosti zavisi od temperature i pritiska, ali ne i od gradijenta brzine. S druge strane, koeficijent molekulske difuzije, koji figuriše u Fikovom zakonu, često zavisi od koncentracije rastvorka, ne samo u ekstrakciji fluidima u natkritičnom stanju nego i u slučaju difuzije gasova na niskim pritiscima, difuzije u tečnosti i u poroznim medijima [28].

Za ugljendioksid na visokim pritiscima, tj. u kritičnoj tački, uočene su visoke vrednosti Prantlovog broja i koeficijenta toplotne provodljivosti,  $\lambda$ , i visoke vrednosti pojedinih ravnotežnih veličina, kao što su specifični toplotni kapacitet pri konstantnom pritisku,  $c_p$ , i konstantnoj zapremini,  $c_v$ , i izotermska kompresibilnost,  $K_T$ . Na osnovu

analogije sa vrednostima Pr i Sc broja za idealne gasove (16), i vrednosti Šmitovog broja za ugljendioksid u blizini kritične tačke bi trebale biti visoke. U blizini kritične tačke, gustina i koeficijent dinamičke viskoznosti imaju neke konačne vrednosti, za razliku od vrednosti difuzivnosti koje se drastično smanjuju i nestaju u kritičnoj tački. Stoga, u regionu oko kritične tačke, vrednosti Prantlovog i Šmitovog broja mogu se kretati u opsegu od 2 do 20. Ovako velike vrednosti ovih brojeva delimično objašnjavaju veliki kapacitet natkritičnih fluida za transport toplote i mase. Treba napomenuti da su za tečnosti na normalnim pritiscima, vrednosti Prantlovog broja oko 10, a Šmitovog broja tipično oko 1000.

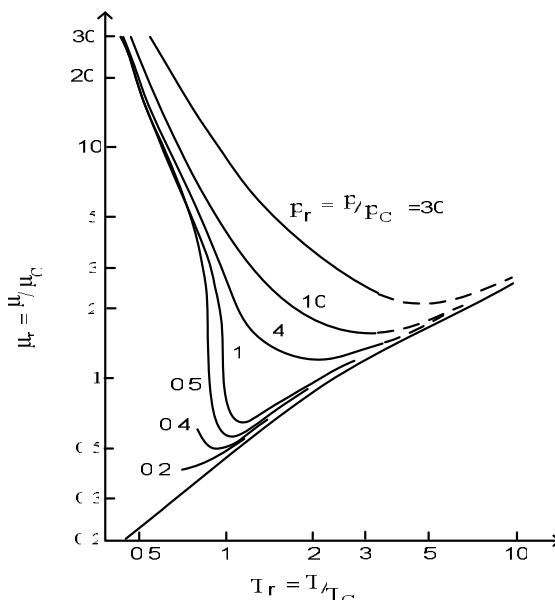
#### Viskoznost ugljendioksida na visokom pritisku

Viskoznost ugljendioksida se veoma brzo menja u blizini kritične tačke i u natkritičnom regionu, ali čak i na visokim vrednostima pritiska od 30-40 MPa, ne iznosi više od  $9 \times 10^{-5}$  Pa s, što je jedan red veličine manje od tipičnih organskih rastvarača. Slika 6 prikazuje zavisnost redukovano koeficijenta dinamičke viskoznosti,  $\mu_r$ , od redukovano pritiska i redukovane temperature. U kritičnoj tački viskoznost teži minimumu ( $3,220 \cdot 10^{-5}$  Pa s) [29], a u blizini kritične tačke, na konstantnom pritisku, postoje dve grane, jedna u kojoj viskoznost raste sa porastom temperature (ponašanje gasa), a druga u kojoj viskozitet opada sa porastom temperature (ponašanje tečnosti) [28].

Kritična vrednost koeficijenta dinamičke viskoznosti neke supstance, molarne mase  $M$ , može se proceniti iz empirijske jednačine koju su predložili Uryehara i Watson [30]:

$$\mu_c = 7,70 \frac{M^{1/2} p_c^{2/3}}{T_c^{1/6}} \quad (17)$$

Da bi se kritična vrednost koeficijenta dinamičke viskoznosti dobila u jedinicama  $\mu P$ , molarna masa se uvrštava u izraz (17) u jedinicama  $[g \cdot mol^{-1}]$ , kritični pritisak u [bar], a kritična temperatura u [K].



**Slika 6.** Zavisnost redukovano koeficijenta dinamičke viskoznosti ugljendioksida od redukovano pritiska i redukovane temperature.

Postoji nekoliko metoda za procenu vrednosti koeficijenta dinamičke viskoznosti čistih gasova na povišenim pritiscima, a Ried i sar. [25] navode pet najznačajnijih metoda: Reichenberg metod, Lucas metod, Jossi, Stiel i Thodos metod, metod koji su predložili Chung i sar. i metod koji su predložili Brulé i Starling. Ipak, u literaturi iz oblasti natkritične ekstrakcije najčešće se za izračunavanje koeficijenta dinamičke viskoznosti natkritičnog ugljendioksida koristi Jossi, Stiel i Thodos metod, primenljiv na nepolarne i polarne gasove koji nisu ugljovodoničnog porekla. Koeficijent dinamičke viskoznosti zavisi od vrednosti redukovane gustine, kojom se koriguje vrednost koeficijenta dinamičke viskoznosti gasa na niskom pritisku,  $\mu_0$ . Jossi, Stil i Thodos [25] su predložili sledeće jednačine:

Za polarne gasove:

Za  $\rho_r \leq 0,1$

$$(\mu - \mu_0) B = 1,656 \times 10^{-7} \rho_r^{1,111} \quad (18)$$

Za  $0,1 \leq \rho_r \leq 0,9$

$$(\mu - \mu_0) B = 0,0607 \times 10^{-7} (9,045 \rho_r + 0,63)^{1,739} \quad (19)$$

Za  $0,9 \leq \rho_r < 2,6$

$$\log \left\{ 4 - \log \left[ (\mu - \mu_0) B \times 10^7 \right] \right\} = 0,6439 - 0,1005 \rho_r - d \quad (20)$$

gde je za  $0,9 \leq \rho_r \leq 2,2$

$$d = 0 \quad (21)$$

a za  $2,2 < \rho_r < 2,6$

$$d = 4,74 \times 10^{-4} (\rho_r^3 - 10,065)^2 \quad (22)$$

Za nepolarne gasove, u opsegu vrednosti redukovane gustine  $0,1 \leq \rho_r < 3$ , koeficijent dinamičke viskoznosti može se izračunati iz sledećeg izraza:

$$\begin{aligned} [(\mu - \mu_0) B \times 10^7 + 1]^{1/4} &= 1,0230 + 0,23364 \rho_r \\ &+ 0,58533 \rho_r^2 - 0,40758 \rho_r^3 + 0,093324 \rho_r^4 \end{aligned} \quad (23)$$

U svim navedenim jednačinama (18)-(20) i (23)  $B$  je:

$$B = 2173,424 T_c^{1/6} M^{-1/2} p_c^{-2/3} \quad (24)$$

Koeficijent dinamičke viskoznosti u jednačinama (18)-(20) i (23) je u jedinicama [Pa s], a u jednačini (24)  $T_c$  je u [K],  $p_c$  u [Pa], a molska masa u [g mol<sup>-1</sup>].

Vrednost koeficijenta dinamičke viskoznosti gasa na niskom pritisku ( $p_r < 0,6$ ),  $\mu_0$ , koji figuriše u jednačinama (18)-(20), (23) i (24), može se proceniti preko izraza predloženog od istih autora (Stil i Thodos) [25]:



$$\mu_0 = 4,60 \times 10^{-7} N M^{1/2} p^{2/3} T_c^{-1/6} \quad (25)$$

sa

$$N = 0,00034 T_r^{-0,94} \text{ za } T_r < 1,5 \quad (26)$$

$$N = 0,0001778 (4,58 T_r - 1,67)^{0,625} \text{ za } T_r > 1,5 \quad (27)$$

U jednačini (25),  $T_c$  je u [K],  $p_c$  u [Pa], a molska masa u [ $\text{g mol}^{-1}$ ].

Drugi veoma često korišćen metod za procenu dinamičke viskoznosti ugljendioksida na niskom pritisku je predložio Lucas [25]. S obzirom da je vrednost dipolnog momenta za ugljendioksid 0, određivanje vrednost koeficijenta dinamičke viskoznosti ugljendioksida na niskom pritisku ( $p_r < 0,6$ ),  $\mu_0$ , koji figuriše u jednačinama (18)-(20), (23) i (24), svodi se na:

$$\begin{aligned} \mu_0 B I \times 10^7 = & 0,807 T_r^{0,618} - 0,357 \exp(-0,449 T_r) + \\ & + 0,340 \exp(-4,058 T_r) + 0,018 \end{aligned} \quad (28)$$

$$B I = 379,18 T_c^{1/6} M^{-1/2} p_c^{-2/3} \quad (29)$$

U jednačini (29),  $T_c$  je u [K],  $p_c$  u [Pa], a molska masa u [ $\text{g mol}^{-1}$ ].

#### *Koeficijent difuzivnosti ugljendioksida na visokom pritisku i procena koeficijenata difuzije rastvoraka u ugljendioksidu visokog pritiska*

Koeficijent difuzije,  $D$ , na način kako je definisan Fikovim zakonom (jednačina (14)), je molekulski parametar i obično se eksperimentalno određuje kao binarni difuzioni koeficijent pri beskonačnom razblaženju. Figuriše u Šmitovom ( $Sc$ ) i Šervudovom broju ( $Sh$ ), čije vrednosti izrazito zavise od pritiska. U blizini kritične tačke rastvarača, vrednosti  $Sc$  i  $Sh$  broja su velike. Vrednosti koeficijenta difuzije rastvoraka u fluidima u natkritičnom stanju su oko 10 puta veće nego u tečnosti i oko 100-1000 puta manje nego u gasu. Koeficijent difuzije je obrnuto proporcionalan pritisku, pa se na konstantnoj temperaturi smanjuje sa povećanjem pritiska. S druge strane, na konstantnom pritisku difuzivnost gasa se povećava sa porastom apsolutne temperature u zavisnosti  $T^{1,5}$ . Catchpole i King [32] su na osnovu velikog broja eksperimentalno određenih vrednosti koeficijenata difuzije rastvoraka većih molekulskih masa u natkritičnom ugljendioksidu predložili jednostavnu korelaciju za procenu koeficijenta samodifuzije i binarnog difuzionog koeficijenta, u opsegu intervala vrednosti redukovane gustine  $\rho_r$  od 1 do 2,5.

Binarna difuzivnost rastvoraka u ugljendioksidu,  $D_{12}$ , koja može biti označena i kao  $D$ , se određuje iz sledećeg izraza:

Za  $1 < \rho_r < 2,5$

$$D = 5,152 D_c T_r \left( \rho_r^{-2/3} - 0,4510 \right) Q / X \quad (30)$$

gde je  $D_c$ , koeficijent samodifuzije ugljendioksida (rastvarača) u njegovoj kritičnoj tački, a  $X$  i  $Q$  su parametri koji se izračunavaju iz sledeća dva izraza:

$$X = \left[ 1 + (V_{Mc2}/V_{Mc1})^{1/3} \right]^2 / (1 + M_1/M_2)^{1/2} \quad (31)$$

gde se indeks 1 se odnosi na rastvarač (ugljiendioksid  $M_1=44 \text{ g mol}^{-1}$ ), indeks 2 na rastvorak, a  $V_{Mc}$  je kritična molarna zapremina koje se može odrediti metodom koju je predložio Ambrose [25] ili metodom koju je predložio Joback [25], a koja je modifikacija Lydersen metoda [25].

$$Q = 1,0 \pm 0,1 \quad \text{za } 2 < X \text{ i}$$

$$Q = 0,664X^{0,17} \pm 0,1 \quad \text{za } 2 \leq X < 10 \quad (32)$$

Koeficijent samodifuzije ugljendioksida u kritičnoj tački je procenjen iz modifikovane Fuller-Schettler-Giddings empirijske korelacije:

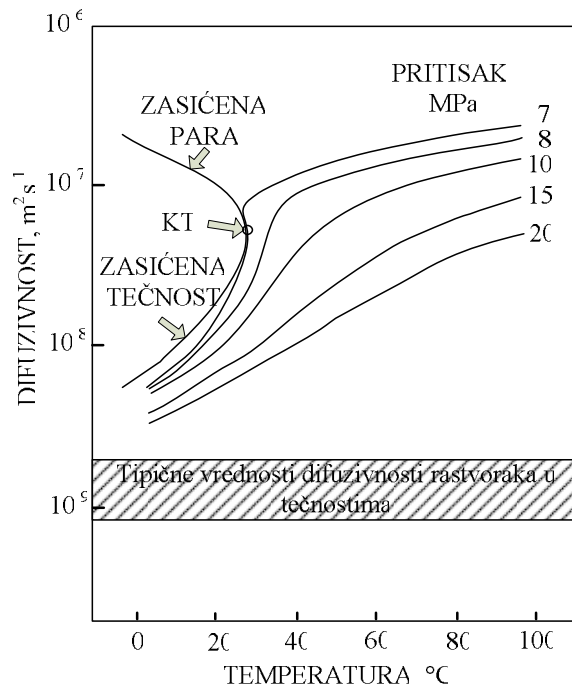
$$D_c = 4,30 \times 10^{-7} \frac{M_1^{1/2} T_c^{0,75}}{(\sum v)^{2/3} \rho_c} \quad (33)$$

gde je  $\sum v$  suma atomskih difuzionih zapremina onako kako su to definisali Fuller i sar. [25], pri čemu se podaci mogu naći u Tabeli 11-1, na strani 588 u knjizi čiji su autori Ried i sar. [25]. Za ugljendioksid  $\sum v = 26,9$ , tako da je  $D_c = 4,944 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

Koeficijent samodifuzije ugljendioksida može se izračunati iz izraza [32]:

$$D_{11} = 1,8215 D_c T_r (\rho_r^{-2/3} - 0,4510) \quad (34)$$

Vrednosti koeficijenta samodifuzije ugljendioksida u širokom opsegu temperatura i pritiska prikazuje Slika 7. Vrednosti difuzivnosti ugljendioksida su za oko 1-2 reda veličine veće od difuzivnosti rastvoraka u tečnostima.



**Slika 7.** Difuzivnost ugljendioksida (koeficijent samodifuzije).

Kritična molarna zapemina rastvorka potrebna za izračunavanje faktora  $X$ , koji figuriše u jednačini (31), prema metodi koju je predložio Ambros [25] glasi:

$$V_{Mc} = 40 + \sum \Delta_v^{(a)} \quad [\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}] \quad (35)$$

$\sum \Delta_v^{(a)}$  u jednačini (35) je veličina koja se dobija sumiranjem vrednosti doprinosa atoma ili atomskih grupa prisutnih u rastvorku kritičnoj molarnoj zapremini ( $\Delta_v^{(a)}$ ). Vrednosti  $\Delta_v^{(a)}$  za različite atome ili atomske grupe mogu se naći u Tabeli 2-1, na strani 13 u literaturi [25].

Kritična molarna zapemina rastvorka potrebna za izračunavanje faktora  $X$ , koji figuriše u jednačini (31), prema metodi doprinosa grupa kritičnoj molarnoj zapremini koju je predložio Joback glasi:

$$V_{Mc} = 17,5 + \sum \Delta_v^{(b)} \quad [\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}] \quad (36)$$

$\sum \Delta_v^{(b)}$  u jednačini (36) je veličina koja se dobija sumiranjem vrednosti doprinosa atoma ili atomskih grupa prisutnih u rastvorku kritičnoj molarnoj zapremini ( $\Delta_v^{(b)}$ ). Vrednosti  $\Delta_v^{(b)}$  za različite atome ili atomske grupe mogu se naći u Tabeli 2-2, na strani 15 u literaturi [25].

Pored korelacije koju su koristili Catchpole i King [32], u literaturi se za procenu koeficijenta samodifuzije  $D_{11}$  koristi i korelacija autora Liu-Silva-Macedo [33], dok se binarna difuzivnost rastvorka u ugljendioksidu može proceniti i iz Liu-Silva-Macedo modela [34], Funazukuri-Ishiwata-Wakao modela [35], Fanazukuri-Hachisu-Wakao modela [36], He-Yu-Su korelacije [37], Wilke-Chang jednačine [25], Tyn-Calus jednačine [25], Scheibel jednačine [38], Reddy-Doraiswamy jednačine [38] ili Lusi-Ratcliff jednačine [38].

Hong i sar. [39] su izračunali binarni koeficijent difuzije za sistem natkritični  $\text{CO}_2$  – sojino ulje, u opesegu pritiska od 27,4 do 35,5 MPa, na temperaturama od 50 do 70°C, i dobili vrednosti od 7,07 do  $8,95 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Na osnovu ovih rezultata, King i sar. [10] su za sistem ulje noćurka – ugljendioksid, na svim ispitivanim uslovima, koristili srednju vrednost binarnog koeficijenta difuzije od  $8 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , iako sa porastom pritiska vrednost koeficijenta difuzije opada [41]. Fanazukari i sar. [41] su na osnovu sopstvenih eksperimentalnih podataka predložili sledeću korelaciju za procenu vrednosti binarnog koeficijenta difuzije,  $D_{12}$  ( $\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$ ), za sistem  $\text{CO}_2$  – lipidi [41]:

$$D_{12} = T \alpha \mu^\beta \quad (37)$$

Parametri  $\alpha$  i  $\beta$  u jednačini (37) eksperimentalno su procenjeni. Za triolein, vrednosti parametara  $\alpha$  i  $\beta$  redom iznose  $1,986 \times 10^{-14}$  i  $-0,685$ . Na pritisku od 11 MPa i temperaturi 40°C izmerena vrednost binarnog koeficijenta difuzije za triolein je  $5,3 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

#### *Površinski napon ugljendioksida na visokom pritisku*

Površinski napon nije transportna veličina, nego ravnotežna i ima značaja u natkritičnoj ekstrakciji kada postoji razvijena međufazna površina fluid-fluid. Vrednost površinskog napona natkritičnih fluida jednaka je nuli, tako da oni mogu lako prodirati u

mikroporozne materijale [13]. Gas pod visokim pritiskom u kontaktu sa tečnom fazom rastvara se u njoj i smanjuje površinski napon tečne faze. Površinski napon se smanjuje linearno sa molskim udelom rastvorenog gasa.

### 3.1.2. MEHANIZMI PRENOSA MASE U NATKRITIČNOM UGLJENDIOKSIDU

U toku ekstrakcije fluidima u natkritičnom stanju, ili uopšteno, fluidima pod visokim pritiskom, rastvorak (jedan ili više njih) sa površine materijala prenosi se u fluid koji protiče kroz sloj materijala u ekstratoru. Rastvorljivost rastvorka u komprimovanom fluidu je značajno veća od njegove rastvorljivosti u gasu na niskim pritiscima. Rastvorak može biti povezan sa nerastvornim delom čvrstog materijala silama adhezije i površinskog napona u lumenima ćelija i makrokapilarima (sekretorni kanali, sekretorne šupljine), kada se smatra „slobodnim”, i/ili čvrsto vezan molekulskim vezama za ćelijske zidove i unutrašnje strukture materijala, kada ga je teže osloboditi, odnosno rastvoriti i ekstrahovati, jer je njegovo kretanje u nerazorenom materijalu svedeno na difuziju kroz provodne elemente zidova ćelija, međućelijske prostore i kroz veoma male otvore (pore) ćelijskih membrana. Prenos mase u toku natkritične ekstrakcije (rastvorka iz sirovine u natkritični fluid) je složen proces, koji obuhvata prenos mase u fazi natkritičnog fluida (spoljašnji prenos mase) i prenos mase u čvrstoj fazi (unutrašnji prenos mase).

#### 3.1.2.1. Spoljašnji prenos mase prema teoriji filma

Maseni fluks rastvorka,  $J_{Ay}$ , odnosno masa rastvorka ( $A$ ) koja u jedinici vremena prelazi sa jedinice spoljašnje površine čestice materijala, tj. sa jedinice međufazne površine, u natkritični fluid koji struji kroz sloj materijala, može se opisati Fikovim zakonom. Naime, rastvorak se kroz nepokretne elemente fluida, koji su neposredno uz granicu faza prenosi molekulskim mehanizmom, pa sledi da je maseni fluks rastvorka:

$$J_{Ay} = -D \left( \frac{\partial c_A}{\partial y} \right)_{y=0} \quad (38)$$

gde je  $y$  normala na granicu faze. Ovako definisan fluks na granici faza naziva se konvektivni fluks. Izračunavanje fluksa na granici faza formalno se pojednostavljuje definisanjem difuzionog otpora i difuzione pogonske sile, pri čemu je recipročna vrednost difuzionog otpora veličina koja se naziva brzina prelaza mase i/ili koeficijent prelaza mase i/ili koeficijent konvektivnog prenosa mase. Pošto se prelaz mase odvija kroz natkritični fluid, ovaj koeficijent je poznat i kao koeficijent spoljašnjeg prenosa mase ili koeficijent prenosa mase kroz natkritični fluid,  $k_f$ . Upotreba koeficijenta prenosa mase je pojednostavljenje problema prenosa, koje uključuje linearizaciju gradijenata koncentracije ( $\frac{\partial c_A}{\partial y}$ ) unutar graničnog sloja. Konvektivni fluks iskazan preko ovog lokalnog koeficijenta prenosa mase je:

$$-D \left( \frac{\partial c_A}{\partial y} \right)_{y=0} = k_f (c_{Ai} - c_{A0}) \quad (39)$$

Indeksi u jednačini (39) odnose se na stanje veličine (koncentracije komponente  $A$ ) na površini (oznaka  $i$ ) i u masi fluida (oznaka  $0$ ).

Da bi se odredio koeficijent prenosa mase u fazi natkritičnog fluida,  $k_f$ , (slično važi i za koeficijent prelaza toplote), koriste se kriterijalne jednačine u kojima su kriterijumi sličnosti povezani u odgovarajuće relacije. Bezdimenzioni kriterijumi sličnosti koji igraju ulogu u prenosu mase su: Rejnoldsov (Re), Šervudov (Sh) i Grashofov broj (Gr), koji redom glase:

$$\text{Re} = \frac{U \cdot l_{\text{kar}}}{\nu} \quad (40)$$

$$\text{Sh} = \frac{k_f \cdot l_{\text{kar}}}{D} \quad (41)$$

$$\text{Gr} = \frac{g \cdot l_{\text{kar}}^3 |\Delta\rho|}{\nu^2 \rho_{\text{sat}}} \quad (42)$$

gde su  $l_{\text{kar}}$  karakteristična dimenzija za sistem (čestice materijala),  $U$  brzina fluida,  $g$  gravitaciono ubrzanje, a  $|\Delta\rho|$  apsolutna vrednost razlike između gustina fluida na granici faza (fluid zasićen rastvorkom gustine  $\rho_{\text{sat}}$ ) i u masi fluida (čist rastvarač gustine  $\rho$ ). U slučaju da se čestice usitnjenog materijala mogu smatrati sferama, karakteristična dimenzija je srednji prečnik čestica  $d_p$ .

Povezivanjem kriterijuma sličnosti, na osnovu teorije graničnog sloja, dobijaju se kriterijalne jednačine, koje daju vezu između Sh, Re i Sc broja, definisanog jednačinom (16), u slučaju prinudnog konvektivnog prenosa mase:

$$\text{Sh} = f(\text{Re}, \text{Sc}) \quad (43)$$

i vezu između Sh,  $\text{Gr}_D$  i Sc, u slučaju prirodnog (slobodnog) konvektivnog prenosa mase:

$$\text{Sh} = f(\text{Gr}, \text{Sc}) \quad (44)$$

Pošto je uobičajeno da je specifični protok natkritičnog fluida u ovom tipu procesa mali (od 5 do 15 kg fluida po času i po litru zapremine ekstraktora) i da su prividne brzine fluida u opsegu od 0,5 do 10 mm s<sup>-1</sup>, prirodna konvekcija je značajan mehanizam prenosa mase rastvorka. Da bi prirodna konvekcija imala značajan uticaj u odnosu na druge vidove konvektivnog transporta sledeći odnos mora biti veliki:

$$\frac{\text{Gr}}{\text{Re}^2} = \frac{\text{sile potiska}}{\text{inerzione sile}} \gg 1 \quad (45)$$

Koeficijent prenosa mase u fazi natkritičnog fluida izračunava se iz vrednosti Šervudovog broja, na osnovu jednačine (41):

$$k_f = \frac{\text{Sh} \cdot D}{l_{\text{kar}}} \quad (46)$$

Lee i Holder [42] su predložili korelaciju za određivanje Šervudovog broja koja pokriva i laminarni i turbulentni režim proticanja, odnosno prirodni i prinudni konvektivni način prenosa mase, pošto je u nasutom sloju prelaz sa laminarnog na turbulentni način proticanja u opsegu Re brojeva od 90 do 120:

$$\frac{Sh}{\sqrt[4]{ScGr}} = 0,5265 \frac{(Re^{1/2} Sc^{1/3})^{1,6808}}{\sqrt[4]{ScGr}} + 2,4800 \left[ \left( \frac{Re^2 Sc^{1/3}}{Gr} \right)^{0,6439} - 0,8768 \right]^{1/0,6439}$$

važi za  $0,3 < Re < 135$

(47)

Korelacije koje se najčešće koriste u literaturi za određivanje Šervudovog broja u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog materijala, daju prednost prinudnom konvektivnom prenosu mase u odnosu na prirodni konvektivni transport. Neke od najčešće primenjivanih korelacija predložene su od strane navedenih autora:

Wakao i Kaguei [43]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} = \frac{2}{\sqrt[3]{Sc}} + 1,1 Re^{0,6}$$

koja važi za  $3 < Re < 3000$   $0,5 < Sc < 10000$

(48)

Tan i sar. [44]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} = 0,38 Re^{0,83}$$

koja važi za  $2 < Re < 40$   $2 < Sc < 40$

(49)

King i Catchpole [45]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} = 0,82 Re^{0,6}$$

koja važi za  $1 < Re < 40$   $2 < Sc < 11$

(50)

Puiggené i sar. [46]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} = 0,206 Re^{0,8}$$

koja važi za  $10 < Re < 100$   $Sc < 10$

(51)

Hong i sar. [39]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} \{1 + 1,5 (1 - \epsilon)\} = 0,035 Re^{1/2}$$

(52)

koja važi za  $1 < Re < 50$   $Sc < 15$

King i sar. [40] su umesto koeficijenta 0,035 u jednačini (52), za natkritičnu ekstrakciju ulja noćurka ugljendioksidom, dobili vrednost 0,2548.

King i sar. [39]

$$\frac{Sh}{\sqrt[3]{Sc}} \{1 + 1,5 (1 - \epsilon)\} = 0,2548 Re^{1/2}$$

(53)

### 3.1.2.2. Unutrašnji prenos mase

Predtretmanom biljnog materijala (drobljenjem, mlevenjem, sečenjem ili nekim drugim načinom razaranja ćelijske strukture) nastaju čestice različitih oblika, veličina i slobodne površine. U toku ekstrakcije, rastvorak difunduje iz unutrašnjosti ka površini čestice. Unutrašnja difuzija se matematički opisuje ili uvođenjem koeficijenta efektivne difuzije ili koeficijenta prenosa mase u čvrstoj fazi. Objavljene su relacije koje povezuju ova dva koeficijenta, i to za čestice različitih oblika (sfera, cilindara, pločica) [47].

Brzina difuzije rastvorka u uslovima kada nema proticanja fluida odnosno konvektivnog prenosa mase, kao što je to slučaj pri transportu rastvorka ka površini čestice usitnjenog materijala kroz fluid koji ispunjava njenu porozu strukturu, može se opisati Fikovim zakonom. Ukoliko se čestica materijala posmatra kao sfera, tada se fluks komponente  $A$  u radijalnom pravcu,  $J_{Ar}$ , baziran na efektivnoj jedinici površine, odnosno jedinici površine pseudohomogene čestice, zapreminske poroznosti  $\varepsilon_p$ , može izraziti na sledeći način:

$$J_{Ar} = -D_e \frac{\partial c_p}{\partial r} \quad (54)$$

gde je  $r$  radijalna pozicija od centra, a  $D_e$  efektivni koeficijent difuzije (efektivna difuzivnost). Praktično, difuzija rastvorka se neće odvijati pravolinijski, radijalno u smeru ka površini, već će rastvorak difundovati kroz složenu mrežu pora, krivolinijskom putanjom, sve dok ne stigne na površinu čestice. Ako se faktor izuvijanosti (tortuoznosti) pora označi sa  $\tau$ , onda će veza između koeficijenata molekulske ( $D$ ) i efektivne difuzije ( $D_e$ ) biti sledeća:

$$D_e = \frac{\varepsilon_p D}{\tau} \quad (55)$$

Vrednosti faktora izuvijanosti pora su veće od jedinice i u literaturi postoje vrednosti za različite katalizatore, ali se retko mogu naći za sisteme na visokom pritisku. Ukoliko su poznati podaci o poroznoj strukturi materijala, može se na osnovu zastupljenosti makropora i mikropora, kao i koeficijenata difuzije u jednim i drugim porama, proračunati efektivna difuzivnost. Ukoliko su u materijalu zastupljene samo makropore, može se pokazati da je faktor izuvijanosti pora jednak recipročnoj vrednosti ukupne poroznosti čestice [48], odnosno:

$$D_e = \varepsilon_p^2 D \quad (56)$$

Slično tome, Goto i sar. [49] su predložili sledeću vezu:

$$D_e = \frac{\varepsilon_p}{2 - \varepsilon_p} D \quad (57)$$

S druge strane, ukoliko materijal ima samo mikroporoznu strukturu, proračun je daleko komplikovaniji [28]. U trofaznim sistemima (čvrsto-tečno-gas) često se dobijaju vrednosti tortuoznosti manje od jedinice, što se može objasniti, još nedovoljno istraženim mehanizmom površinske difuzije, koja se istovremeno odvija sa difuzijom kroz poroznu strukturu čvrste faze [28].

### 3.1.3. FAZNA RAVNOTEŽA

Za opisivanje različitih procesa sa fluidima u natkritičnom stanju od esencijalne važnosti je poznavanje termodinamičkih svojstava i fazne ravnoteže. Osnovni principi fazne ravnoteže dati su u Prilogu, u delu 8.3.

Jednačina ravnoteže povezuje koncentraciju ulja/rastvorka u filmu natkritičnog fluida, na infinitenzimalnom rastojanju od površine čvrstog materijala ( $c_f^*$ ), sa koncentracijom rastvorka na površini čvrstog materijala ( $c_s|_R$  ili  $c_s^*$ ). Ova zavisnost uslovljena je odnosom intenziteta privlačnih sila molekula čvrste faze i natkritičnog fluida sa molekulima rastvorka, i  $c_f^*$  nikada nije veća od koncentracije zasićenja rastvorka u natkritičnom fluidu ( $c_{sat}$ ).

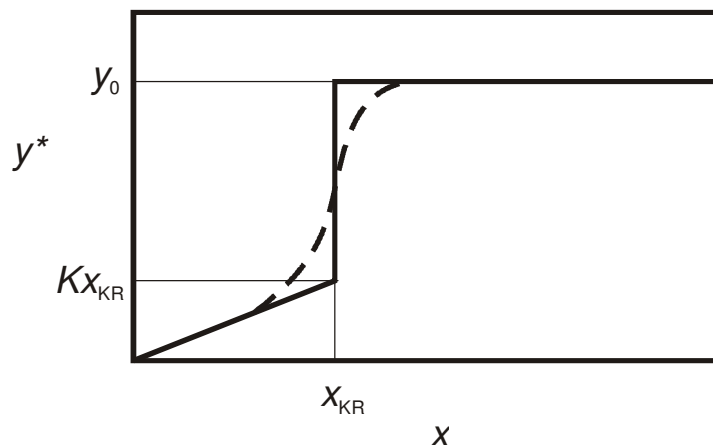
Ravnoteža koja se uspostavlja u toku ekstrakcije rastvorka rastvaračem u natkritičnom stanju zavisi od pritiska i temperature procesa, kao i sadržaja rastvorka (ulja, etarskog ulja) u materijalu, ali zavisi i od osobina rastvarača i nerastvornog dela materijala (matriksa). Fazna ravnoteža kontroliše prvi deo procesa ekstrakcije u slučajevima kada je faza fluida koji napušta ekstraktor u ravnoteži sa čvrstom fazom ili nije mnogo udaljena od ravnotežnog stanja. Stoga, prvi deo ekstrakcione krive daje informacije o tipu ravnoteže između čvrste i fluidne faze. Kada je početna koncentracija rastvorka u čvrstoj fazi velika, kao što je to slučaj sa biljnim uljima u semenu uljarica, ravnotežna koncentracija rastvorka u fluidu je nezavisna od matriksa i jednaka je rastvorljivosti. Kada je polazna koncentracija rastvorka u biljnom materijalu reda veličine nekoliko procenata ili manje, što je tipično za etarska ulja, ravnotežu kontroliše, pre svega, interakcija rastvorak - matriks i koncentracija rastvorka u fluidnoj fazi mnogo je niža od rastvorljivosti. Ravnoteža se u ovom slučaju matematički predstavlja linearnom zavisnošću koncentracija rastvorka u čvrstoj i u fluidnoj fazi, a konstanta proporcionalnosti se naziva koeficijent raspodele [6]. Goto i sar. [50] su predložili ravnotežnu jednačinu za procese sa natkritičnim fluidima u kojima je rastvorak u nekoj vrsti interakcije sa molekulima čvrste faze, koja je poznata kao BET-tip ravnotežne zavisnosti. BET adsorpciona izoterma, koja se može primeniti za simulaciju glatkog prelaza između ravnotežnog stanja slobodnog rastvorka u slučaju njegove visoke koncentracije i ravnotežnog stanja u slučaju interakcije rastvorak - matriks pri niskim koncentracijama rastvorka u materijalu, glasi:

$$\frac{c_s}{c_m} = \frac{KI(c_f^*/c_{sat})}{[1 - (c_f^*/c_{sat})][1 + (KI - 1)(c_f^*/c_{sat})]} \quad (58)$$

gde su  $KI$  konstanta, koja se često naziva koeficijent raspodele (ravnotežna konstanta) i  $c_m$ , koncentracija rastvorka u jednomolekulskom sloju na površini čvrste faze.

Različit pristup predložen je od strane autora Perrut i sar. [51], koji su simulirali ekstrakciju suncokretovog ulja natkritičnim fluidom uz primenu diskontinualne ravnotežne zavisnosti sa tačkom prekida za vrednost kritične koncentracije rastvorka u čvrstoj fazi ( $x_{KR}$ ). Slika 8 daje šematski prikaz diskontinualne ravnotežne zavisnosti za sistem masno ulje - natkritični ugljendioksid [51]. Za vrednosti koncentracije rastvorka u čvrstoj fazi veće od kritične ( $x \geq x_{KR}$ ), ravnotežna koncentracija rastvorka u fluidu smatra se jednakom vrednosti rastvoljivosti ( $y_0$ ), dok je za koncentracije rastvorka u čvrstoj fazi niže od kritične ( $x < x_{KR}$ ) određena koeficijentom raspodele ( $y_0 = K x_{KR}$ ).





**Slika 8.** Šematski prikaz ravnotežne krive za sistem masno ulje-natkritični ugljendioksid: isprekidana linija - realan oblik; puna linija - model Perrut i sar. [51]

Perrut i sar. [51] rastvorljivost ulja u natkritičnom ugljendioksidu ( $y_0$ ), odnosno polaznu koncentraciju ulja u natkritičnom fluidu, procenjuju na osnovu eksperimentalno dobijenih ekstrakcionih krivih ( $Y=f(q)$ ), kao nagib njihovog linearnog dela:

$$y_0 = \frac{m_E}{m_{CO_2}} = \frac{m_E}{m_0} \frac{m_0}{m_{CO_2}} = \frac{Y}{m_{CO_2}/m_0} = \frac{Y}{q} \quad (59)$$

Početni sadržaj ulja u materijalu,  $x_0$ , izražen kao masa ulja po jedinici mase nerastvornog dela materijala, može se proceniti na osnovu asimptotske vrednosti prinosa pri beskonačno dugom vremenu ekstrakcije,  $Y_\infty$ :

$$x_0 = \frac{Y_\infty}{1 - Y_\infty} \quad (60)$$

Na osnovu ukupnog masenog bilansa, Perrut i sar. [51] izvode vezu između gustine nerastvornog dela čvrstog materijala,  $\rho_{nr}$  ( $=\rho_s$ ), i ukupne gustine čvrstog materijala,  $\rho_c$ :

$$\rho_s x_0 = \rho_c Y_\infty \quad (61)$$

### Proračun fazne ravnoteže pri visokom pritisku

Proračun fazne ravnoteže daje mogućnost predviđanja termodinamičkih osobina smeša, bez direktnih eksperimentalnih merenja veličina, kao i mogućnost ekstrapolacije postojećih eksperimentalnih podataka na temperature i pritiske na kojima veličine nisu merene. Da bi se bilo koji termodinamički proračun mogao uraditi, mora se odabrati odgovarajući termodinamički model i moraju se znati vrednosti parametara izabranog modela. U slučaju fazne ravnoteže pri visokom pritisku, obično se kao termodinamički model koristi neka jednačina stanja, koja može da opiše osobine obe faze. Opšta polazna jednačina, koja može da se napiše za svaku komponentu u sistemu, je jednakost fugaciteta komponente u obe prisutne faze, tečnoj i fazi natkritičnog fluida ili čvrstoj i fazi natkritičnog fluida, pri čemu se detalji izvođenja nalaze u Prilogu 8.3.:

$$\hat{f}_i^L(T, p, x_i) = \hat{f}_i^{NK}(T, p, y_i) \quad (62a)$$

$$\hat{f}_i^S(T, p, x_i) = \hat{f}_i^{NK}(T, p, y_i) \quad (62b)$$

Ukoliko se pretpostavi da se ugljendioksid ne rastvara u čvrstoj fazi, rastvorljivost čvrste supstance (rastvorka), izražena kao molski udeo, u sistemu natkritični fluid - čvrsta faza može se izračunati iz sledećeg izraza, čije je izvođenje dato u Prilogu 8.3:

$$y_r = \frac{\phi_r^V(P_r^{sub}, T) P_r^{sub} \exp\left(\int_{P_i^{sub}}^P \frac{V_{M,r}^S}{RT} dp\right)}{\hat{\phi}_r^{NK} p} \quad (63)$$

Koeficijent fugaciteta čistog čvrstog rastvorka na pritisku sublimacije,  $\phi_r^V(P_r^{sub}, T)$ , zbog malog napona pare čvrste faze jednak je jedinici, a fugacitet rastvorka u fazi natkritičnog fluida se računa iz jednačine stanja u kombinaciji sa odabranim pravilom mešanja.

Ukoliko je čvrsta faza nekompresibilna, a njena molarna zapremina,  $V_{M,r}^S$ , nezavisna od pritiska, izraz (63) se pojednostavljuje:

$$y_r = \frac{P_r^{sub} \exp\left(V_{M,r}^S \frac{p - P_r^{sub}}{RT}\right)}{\hat{\phi}_r^{NK} p} \quad (64)$$

Kao što je već rečeno, ukoliko se raspoláže adekvatnom analitičkom zavisnošću – jednačinom stanja koja treba da ima oblik  $p=p(T, V, n_i, \dots)$ , mogu se dobiti i analitički izrazi za funkciju  $\hat{\phi}_i$  (Prilog 8.3).

#### 3.1.4. RASTVORLJIVOST RASTVORAKA U NATKRITIČNOM UGLJENDIOKSIDU

Pored mnogih dugih faktora prenosa mase, kao što su spoljašnji koeficijent prenosa mase, unutrašnji koeficijent prenosa mase (difuzivnost rastvorka u čvrstoj fazi) i aksijalna disperzija, brzina ekstrakcije ulja iz biljnog materijala zavisi i od njegove rastvorljivosti u natkritičnom ugljendioksidu i načina na koji je ulje vezano za čvrst materijal iz koga se ekstrahuje.

Chrastil [52] je predložio linearnu ln-ln vezu između rastvorljivosti rastvorka,  $c_{sat}$ , i gustine čistog rastvarača, odnosno gustine natkritičnog ugljendioksida,  $\rho$ , koja je primenljiva u slučaju da je  $c_{sat} \leq 200 \text{ kg m}^{-3}$ :

$$\ln(c_{sat}) = c_0 + c_1 \ln(\rho) + \frac{c_2}{T}, \text{ odnosno}$$

$$c_{sat} = \rho^{c_1} \exp\left(c_0 + \frac{c_2}{T}\right) \quad (65)$$

gde su  $c_0$ ,  $c_1$  i  $c_2$  parametri. Parametar  $c_0$  zavisi od molekulske mase rastvorka i rastvarača i parametra  $c_1$ . Parametar  $c_1$  je broj molekula u solvato kompleksu, a parametar  $c_2$  zavisi od ukupne toplote reakcije rastvaranja. Jedinica za rastvorljivost i gustinu su [ $\text{g dm}^{-3}$ ].

Adachi i Lu [53] su modifikovali ovu jednačinu na način da su konstantu  $c_1$  iz izraza (65) prikazali zavisnom od gustine fluida, i to prema izrazu:

$$c_1 = c_{10} + c_{11} \rho + c_{12} \rho^2, \text{ odnosno jednačina glasi}$$

$$c_{sat} = \rho^{c_{10} + c_{11}\rho + c_{12}\rho^2} \exp\left(c_0 + \frac{c_2}{T}\right) \quad (66)$$

Del Valle i Aguilera [54] su konstantu  $c_2$  iz izraza (65) prikazali u zavisnosti od temperature:

$$c_2 = c_{20} + \frac{c_{21}}{T}, \text{ odnosno jednačina glasi}$$

$$c_{sat} = \rho^{c_1} \exp\left(c_0 + \frac{c_{20}}{T} + \frac{c_{21}}{T^2}\right) \quad (67)$$

Del Valle i Aguilera [54] su na osnovu velikog broja eksperimentalnih podataka odredili parametre u korelaciji (67) koju su predložili za procenu rastvorljivosti masnih ulja. Dobili su sledeći izraz, primenljiv za pritiske u opsegu od 152 do 892 bar, za temperature od 20 do 80°C i za rastvorljivost ulja manju od 100  $\text{kg m}^{-3}$ :

$$c_{sat} = (0,001 \rho)^{10,742} \exp\left(40,361 - 18708/T + 2186840/T^2\right) \pm 2,7 \quad (68)$$

gde je  $c_{sat}$  u [ $\text{kg ulja m}^{-3} \text{ CO}_2$ ],  $\rho$  u [ $\text{kg m}^{-3}$ ], a  $T$  u [K].

Na osnovu velikog broja eksperimentalnih podataka o rastvorljivosti različitih masnih kiselina, mono-, di- i triglicerida i estara masnih kiselina, Güçlü-Üstündağ i Temelli [55] su odredili vrednosti parametara  $c_0$ ,  $c_1$  i  $c_2$  u jednačini (65) za svaku od navedenih grupa jedinjenja. Richter i Sovová [56] su odredili vrednosti istih parametara za neke monoterpene, kao i vrednosti parametara u Adachi i Lu zavisnosti (66), za iste monoterpene.

Sovová i sar. [57] predlažu da se rastvorljivost masnih ulja, za pritiske niže od 600 bar, temperature u opsegu 40-100°C i rastvorljivosti niže od 0,5 g ulja po 1 kg  $\text{CO}_2$ , procenjuje iz sledeće korelacije:

$$c_{sat} = \rho^{1,4 + 0,0048\rho - 0,000002\rho^2} \exp\left(-3,232 - \frac{5000}{T}\right) \quad (69)$$

odnosno da je maseni odnos ulja i ugljendioksida u natkritičnom ugljendioksidu zasićenom uljem:

$$y_r = \left[ \rho^{1,4 + 0,0048\rho - 0,000002\rho^2} \exp\left(-3,232 - \frac{5000}{T}\right) \right] / \rho \quad (70)$$

gde su  $c_{sat}$  u [ $\text{kg ulja m}^{-3} \text{ CO}_2$ ], a  $\rho$  u [ $\text{kg m}^{-3}$ ].

### 3.2. MATEMATIČKO MODELOVANJE NATKRITIČNE EKSTRAKCIJE

Kada se izvođenjem eksperimenata na laboratorijskoj aparaturi dobiju krive slične onima prikazanim na Slici 1, odnosno eksperimentalno se odredi zavisnost prinosa ekstrakcije od vremena za određene vrednosti parametara procesa, ukoliko se želi optimizovati proces, odnosno obezbediti najveći mogući prinos za najkraće vreme uz najmanji utrošak rastvarača i energije, ili je potrebno povećati kapacitet i dimenzije uređaja, potrebno je matematički opisati proces prenosa mase odgovarajućim modelom. Fenomenološki modeli za opisivanje ekstrakcije sastoje se od jednačina masenog bilansa rastvorka u čvrstoj fazi i fluidnoj fazi. Integracijom ovih diferencijalnih jednačina dobijaju se vremenski zavisni koncentracioni profili u obe faze. Ekstrakciona kriva se može izračunati na osnovu koncentracije rastvorka u fluidnoj fazi na izlazu iz ekstraktora, primenom jednačine (5). Matematički modeli koji se koriste za opisivanje procesa natkritične ekstrakcije najčešće imaju jedan, dva ili više parametara, koje je neophodno proračunati, odnosno prilagoditi njihove vrednosti eksperimentalnim podacima. Kao rezultat matematičkog modelovanja dobijaju se vrednosti parametara modela, tako da se minimizuje odstupanje vrednosti prinosa izračunatih modelom od odgovarajućih izmerenih vrednosti.

Matematički modeli se primenjuju u cilju kvantitativnog opisivanja kinetike nekog ekstrakcionog procesa. Niti jedan od matematičkih modela koji postoje u literaturi u potpunosti ne zadovoljava krajnje zahtevne potrebe jednog univerzalnog matematičkog modela kojim bi se opisao proces natkritične ekstrakcije. Razlog za to je izuzetno velika šarolikost ekstrakcionih procesa koji obuhvataju mnogo različitih tipova osnovnih matriksa koji potiču iz različitih prirodnih sirovina, i za koje mogu biti vezana različita hemijska jedinjenja. Stoga su raspoloživi matematički modeli najčešće primenljivi ili samo za određene sisteme, ili imaju neko drugo ograničenje u primeni [58].

U većini slučajeva, pri ekstrakciji prirodnih materijala, bilo da su oni biljnog ili životinjskog porekla, komponente koje se ekstrahuju nalaze se u tečnom stanju, slobodne u ćelijama i/ili adsorbovane na ćelijama osnovnog, nosećeg matriksa. Gotovo nikada se ne ekstrahuje samo jedno jedinjenje u toku procesa, već se dobija višekomponentni ekstrakt. Karakteristike komponenata koje se ekstrahuju, kao i sličnosti i razlike odgovarajućih karakteristika prisutnih komponenata, imaju veliki uticaj na izbor matematičkog modela kojim je moguće opisati proces. Generalno, mogu se uočiti dve osnovne grupe materijala koji se ekstrahuju: semena biljaka uljarica iz kojih se ekstrahuju masna ulja (jestiva ulja) i biljke, odnosno pojedini njihovi delovi, iz kojih se ekstrahuju etarska ulja. Naravno, ova podela nije toliko striktna, pošto se u plodovima pojedinih familija biljaka nalaze i etarska ulja i trigliceridi, ali locirani u različitim delovima ploda [59]. Komponente koje se ekstrahuju iz semena biljaka uljarica i sličnih biljaka (trigliceridi), po svojim fizičko-hemijskim svojstvima su veoma slične, imaju približno istu molekulsku masu, slične relativne isparljivosti i rastvorljivosti u različitim rastvaračima, i gotovo da su sve nerastvorljive u vodi. S druge strane, sekretorna struktura osnovnog matriksa biljaka koje sadrže etarska ulja, a koju čine sekretorni kanali, sekretorne šupljine i sekretorne ćelije, komplikovanija je u odnosu na lociranost ulja u semenu biljaka uljarica. Takođe, neke komponente etarskih ulja su rastvorne u vodi, relativne molekulske mase komponenata se kreću u širokom opsegu od 50 do 200, a relativne isparljivosti komponenata etarskih ulja se mogu mnogo razlikovati. U slučaju masnih biljnih ulja, prinosi ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom su veliki i proces se može matematički opisati kao jednostepena ekstrakcija jedne pseudokomponente. Kod ekstrakcije etarskih ulja natkritičnim ugljendioksidom, prinosi su mali, a sam proces ekstrakcije je složen, pri čemu je proizvod koji se dobija sastavljen od mnogo jedinjenja koja

spadaju u grupu terpena i njihovih derivata. Zbog svega toga, većina matematičkih modela primenljiva je ili na ekstrakciju etarskih ulja [47, 59-70] ili na ekstrakciju masnih ulja (triglicerida) [2, 39, 51, 71-74]. Noviji pregled matematičkih modela koji se koriste za opisivanje natkritične ekstrakcije masnih ulja dali su del Valle i de la Fuente [7]. Ima svega nekoliko modela koji se mogu primeniti za ekstrakciju obe vrste sirovina [63, 75-79].

Prenos mase u toku natkritične ekstrakcije (rastvorka iz sirovine u natkritični fluid) je složen proces, koji obuhvata prenos mase u fazi fluida (spoljašnji prenos mase) i prenos mase u čvrstoj fazi (unutrašnji prenos mase). Pored mehanizama prenosa mase, jedan matematički model, takođe, treba da opiše faznu ravnotežu i način proticanja fluida.

Da bi se rešio problem opisivanja pojave naglog smanjenja brzine ekstrakcije nakog početnog perioda, uočen naročito pri ekstrakciji masnih ulja iz semena različitih biljaka, uveden je koncept razorenih i nerazorenih ćelija [77, 79-83]. Osnovna pretpostavka ovog koncepta je da je deo biljnih ćelija iz kojih se ekstrahuje ulje (nije tačno definisano koja je to vrsta ćelija, nego se hipotetično smatra da su to pojedinačni rezervoari ulja koji mogu biti vakuole, šupljine ili druge strukture) razoren mlevenjem u procesu usitnjavanja semena, tako da je ulju koje treba izdvojiti iz tih ćelija, praktično otvoren put, odnosno ekstrahovana količina ulja je ograničena njegovom rastvorljivošću u rastvaraču na uslovima procesa ( $p$ ,  $T$ ). Ovakav lako dostupan rastvorak se prvi uklanja iz biljnog materijala, a zatim se ekstrahuje rastvorak iz nerazorenih ćelija, pri čemu je taj proces spor, jer je rastvorak zaštićen ćelijskim zidom. Reverchon i sar. [74, 77, 83, 84] su broj parametara koji figurišu u modelima ovoga tipa uspeli da smanje posmatranjem unutrašnje strukture materijala elektronskim mikroskopom, što im je dalo mogućnost da izračunaju zapreminski odnos razorenih i nerazorenih ćelija u materijalu.

Zbog kompleksnosti sirovina, složenosti matematičkog opisa velikog broja fenomena uključenih u ekstrakciju fluidima u natkritičnom stanju, kao i problema nedostatka eksperimentalno određenih vrednosti relevantnih veličina, neophodno je pojednostaviti stvarni proces, kako bi model bio što jednostavniji, ali tako da se u modelu pojave najbitniji parametri procesa i najvažnije komponente, da bi model ostao realan.

### 3.2.1. KLASIFIKACIJA MATEMATIČKIH MODELA KOJI SE KORISTE U NATKRITIČNOJ EKSTRAKCIJI

Stacionarnost procesa (Slika 1) nameće se kao jedan od prvih faktora na osnovu kojih bi se modeli mogli podeliti na:

- stacionarne modele i
- nestacionarne modele.

Stacionarnim modelima se može opisati samo početna faza ekstrakcije sirovina kod kojih se dobija zavisnost Tipa I izlazne koncentracije rastvorka  $C_{izl}(t)$  i prinosa ekstrakcije  $Y(t)$  od vremena, koje prikazuje Slika 1. Stoga bi možda pravilnije bilo nazvati ovakve stacionarne modele, kombinovanim modelima.

Dalja moguća podela, pre svega nestacionarnih modela, bazira se na rasčlanjavanju ekstrakcionog procesa na osnovne faze, uočavanju faza procesa koje imaju presudan uticaj na brzinu prenosa mase, zanemarivanju pojedinih faza i pojednostavljenju problema uvođenjem određenih pretpostavki.

Modele za natkritičnu ekstrakciju etarskih ulja i sličnih proizvoda Reverchon [6] je podelio na:

1. empirijske modele,
2. modele bazirane na analogiji prenosa mase i toplote i
3. modele zasnovane na diferencijalnom bilansu mase.

Sa fenomenološke tačke gledišta, sveobuhvatnija klasifikacija [58], koja bi bila primenljiva na ekstrakciju šireg opsega materijala, kao što su lignin, jestiva i etarska ulja, vitamini i ekstrakti iz mesa i ribe, je na:

- a. modele u kojima je ekstrakcija objašnjena kao hemijska reakcija i
- b. modele u kojima je ekstrakcija posmatrana kao fizički fenomen
  - b-1. modele zasnovane na diferencijalnom masenom bilansu
    - Model neizreagovanog jezgra
    - Model desorpcija-rastvaranje-difuzija (DRD)
  - b-2. ostali modeli
    - Modeli koji reprezentuju ćelijsku strukturu
    - Empirijski desorpcioni modeli

Iako je po definiciji ekstrakcija fizički fenomen, postojanje prve grupe modela odnosno modela baziranih na hemijskoj reakciji, može se opravdati praktičnim razlozima. Naime, dostupnost nekih materija koje treba ekstrahovati je u potpunosti zavisna od hemijskih reakcija kojima se one dobijaju u prirodnom matriksu. Iako su ovakvi modeli korišćeni uglavnom za ekstrakciju lignina iz biomase, odnosno iz drveta, slični modeli su takođe korišćeni i za natkritičnu ekstrakciju etarskih ulja. Kandiah i Spiro [60] su primenili reakcioni model za natkritičnu ekstrakciju đumbira. Ovi autori su primetili jaku zavisnost brzine ekstrakcije od veličine čestica đumbira. Modele bazirane na hemijskoj reakciji ima smisla primenjivati samo u slučajevima kada je hemijska reakcija u toku ekstrakcionog procesa najsporiji i samim tim kontrolišući faktor, dok su brzine desorpcije, rastvaranja i difuzije komponenata koje su ekstrahovane suviše velike da bi usporavale proces, što nikako nije slučaj kod ekstrakcije jestivih i etarskih ulja, koja se ne sintetišu u prirodnom matriksu u toku ekstrakcije, već kao takva postoje u njemu i nisu hemijski vezana za njega.

S druge strane, modeli bazirani na fizičkim fenomenima, akcentiraju na fizičke fenomene tokom ekstrakcije. Većina matematičkih modela u literaturi posmatra ekstrakciju fluidima u natkritičnom stanju kao čisto fizički fenomen i bazira se na diferencijalnom masenom bilansu. Suštinski, proces se odigrava u pet uzastopnih faza (stadijuma) [43]:

- 1) difuzija natkritičnog fluida do površine čestice kroz film fluida koji je okružuje;
- 2) prodiranje i difuzija natkritičnog fluida kroz sloj spoljašnjeg sfernog omotača čvrstog inertnog materijala;
- 3) kontakt natkritičnog fluida sa rastvorkom na površini neizreagovanog jezgra i ekstrakcija/rastvaranje rastvorka;
- 4) difuzija rastvora rastvorka (ulja) u natkritičnom fluidu kroz sloj spoljašnjeg sfernog omotača čvrstog inertnog materijala na spoljašnju površinu čestice;
- 5) difuzija rastvora rastvorka (ulja) u natkritičnom fluidu kroz film natkritičnog fluida koji okružuje česticu u glavnu struju fluida.

Sve ostale podele modela i razlike između njih proizilaze iz zanemarivanja pojedinih od ovih pet stadijuma ili njihovog pojednostavljenja uvođenjem nekih pretpostavki. Ovakvi modeli omogućavaju uključivanje velikog broja mogućih efekata, kao što je na primer i adsorpcija/desorpcija. King i Catchpole [45] su koristili linearni ravnotežni uslov na površini

čestice i linearnu pogonsku silu. Ipak, kada se matematički opisuje ekstrakcija natkritičnim ugljendioksidom, stadijumi 1) i 2) se ne razmatraju.

Brunner [85], koji daje detaljnu diskusiju o osnovama modelovanja natkritične ekstrakcije, jedan proces ekstrakcije deli na:

- a) transport supstanci (rastvoraka) unutar čvrstog materijala na površinu čvrste faze,
- b) prelaz supstance sa čvrste faze u fluid na međufaznoj površini i
- c) transport rastvoraka u masi ekstragensa, tj. kroz fluidnu fazu.

Otpori pojedinih stadijuma se veoma razlikuju jedan od drugog, a stadijum sa najvećim otporom upravlja brzinom procesa. Razvijen je veliki broj modela koji uzimaju u razmatranje lokalnu faznu ravnotežu tečno/tečno i čvrsto/tečno, transport mase u čestici, transport ekstrahovanog materijala sa površine čestice u masu fluida. Ovakvi modeli omogućavaju uključivanje velikog broja mogućih efekata i razlikuju se međusobno prema načinu opisivanja fazne ravnoteže, načina proticanja fluida, difuzije rastvoraka u čvrstoj fazi.

Sovová [75] je dala pregled fenomenoloških modela baziranih na jednačinama diferencijalnog masenog bilansa, koji su primenjeni na ekstrakciju prirodnih proizvoda ugljendioksidom u blizini kritične tačke.

Takođe, razvijeni su kompleksniji matematički modeli, kao što je na primer model koji je predložio Hortaçsu [58], koji je opisao biljni supstrat sa tri strukturne komponente značajne za ekstrakciju rastvoraka: ćelije (parenhimsko tkivo), pore pravilnog oblika (vaskularno tkivo) i pore nepravilnog oblika (mreža pora koju formira međućelijski prostor), pri čemu ovaj model nije našao praktičnu primenu zbog kompleksnosti matematičkog proračuna za dobijanje analitičkog rešenja, kao i zbog nedostataka eksperimentalno dobijenih podataka za parametre modela. Žižović i sar. [68, 59] su razvili matematički model baziran na specifičnoj unutrašnjoj sekretornoj strukturi određenih familija biljaka, bez parametara koje treba optimizovati na osnovu eksperimentalnih rezultata prinosa u funkciji vremena. Ovi autori u svom radu ističu kako se etarska ulja i trigliceridi u plodovima biljaka iz pojedinih familija (*Apiaceae*) nalaze locirana u različitim delovima ploda, tj. da su etarska ulja locirana u merikarpu, odnosno u posebnim sekretornim kanalima merikarpa (6 kanala koji su poznati kao *Vittae*), a da je rezervno ulje, čiji su glavni sastojci trigliceridi, locirano u endospermu semena. Sekretorne strukture biljnog tkiva pored sekretornih kanala čine i sekretorne šupljine i sekretorne ćelije. Model je uspešno primenjen za opisivanje ekstrakcije etarskih ulja iz biljaka familije *Asteraceae*, *Apiaceae* i *Lamiaceae*, koje sve imaju sekretorne kanale. Sekretorni kanali su prisutni i u familijama *Hypericaceae*, *Pinaceae* i *Coniferae*. Modelovanje na mikro-skali, iako matematički složeno i zahtevno u smislu poznavanja dimenzija sekretornih struktura, do kojih se dolazi na osnovu statističke analize snimaka sa elektronskog mikroskopa (*engl. SEM statistical analysis*) ima veoma veliki značaj za razumevanje fenomena prenosa mase unutar čestica usitnjenog materijala i daje mogućnost optimizacije procesa natkritične ekstrakcije sa znatnom uštedom energije [59, 68, 111]

### 3.2.2. MODELI ZASNOVANI NA DIFERENCIJALNOM MASENOM BILANSU: OPŠTI MODEL

Del Valle i de la Fuente [7] su napravili sveobuhvatan pregled modela korišćenih za opisivanje ekstrakcije uljarica natkritičnim ugljendioksidom. S obzirom da ovaj pregled kreće od osnovnog modela, koji važi za ekstrakciju i etarskih i masnih ulja natkritičnim fluidom, i da kasnije navodi uglavnom sve mogućnosti za pojednostavljenje tog modela, dalji tekst je

koncipiran na sličan način, polazeći od istog opšteg modela kao kod del Valle i de la Fuente [7].

Osnovni – opšti model, baziran na diferencijalnim bilansima mase za rastvorak u masi natkritičnog fluida, u fluidu u porama čvrste faze i u čvrstoj fazi, predložili su Akgerman i Madras [86] (Tabela 1). Sledeće pretpostavke se odnose na ovaj opšti model:

- čestice materijala iz koga se ekstrahuje rastvorak su porozne sfere (poluprečnika  $R$  i poroznosti  $\varepsilon_p$ ) i formiraju nasuti sloj;
- fluid u natkritičnom stanju struji između čestica materijala u sloju konstantnom brzinom  $u=U/\varepsilon$ , gde je  $\varepsilon$  poroznost sloja, koja ostaje konstantna;
- fizička svojstva fluida u natkritičnom stanju i materijala ostaju konstantna;
- pad pritiska i temperaturni gradijenti u sloju mogu da se zanemare;
- rastvorak je aksijalno dispergovan u natkritičnom fluidu.

**Tabela 1.** Opšti model [86] za natkritičnu ekstrakciju čvrstog materijala u nasutom sloju [7].

#### Diferencijalni bilans mase rastvorka u masi fluida

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} + u \frac{\partial c_f}{\partial z} - D_L \frac{\partial^2 c_f}{\partial z^2} = \frac{3}{R} \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} J \quad (71)$$

**Početni uslov:**  $c_f = 0$  (za  $t=0$ , za svako  $z$ ) (72)

**Granični uslovi:**  $D_L \frac{\partial c_f}{\partial z} = u c_f$  (za  $z=0$ , za svako  $t$ ) (73)

$$\frac{\partial c_f}{\partial z} = 0 \quad (za \ z=L, \ za \ svako \ t) \quad (74)$$

#### Diferencijalni bilans mase rastvorka u fluidu unutar pora čvrstog materijala

$$\frac{\partial c_p}{\partial t} + \frac{1}{\varepsilon_p} \frac{\partial c_s}{\partial t} = -\frac{D_e}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_p}{\partial r} \right) \quad (75)$$

**Početni uslovi:**  $c_p = c_{p0}$  (za  $t=0$ , za svako  $r$  i  $z$ ) (76)

$$c_s = c_{s0} \quad (za \ t=0, \ za \ svako \ r \ i \ z) \quad (77)$$

**Granični uslovi:**  $\frac{\partial c_p}{\partial r} = 0$  (za  $r=0$ , za svako  $z$  i  $t$ ) (78)

$$\frac{\partial c_s}{\partial r} = 0 \quad (za \ r=0, \ za \ svako \ z \ i \ t) \quad (79)$$

$$\varepsilon_p D_e \frac{\partial c_p}{\partial r} = -J \quad (za \ r=R, \ za \ svako \ z \ i \ t) \quad (80)$$

#### Definicije:

**Brzina prenosa mase:**  $J = k_f (c_p|_R - c_f)$  (81)

**Fazna ravnoteža**  $c_s = f(c_p)$  (82)



U skladu sa poslednjom pretpostavkom, rastvorak (ulje) iz materijala, rastvoreno u natkritičnom fluidu difunduje duž nasutog sloja materijala u ekstraktoru (koeficijent disperzije/aksijalne difuzije  $D_L$ ) kao posledica postojanja aksijalnog koncentracionog gradijenta. U čvrstom matriksu rastvorak se može naći adsorbovan na čvrstu materiju (koncentracija  $c_s$ ) i rastvoren u fluidnoj fazi unutar pora materijala (koncentracija  $c_p$ ). Početne koncentracije  $c_{s0}$  i  $c_{p0}$  zavise od ukupne početne koncentracije rastvorka ( $c_0$ ) i fazne ravnoteže (jednačina (82)), odnosno:

$$c_{s0} = f(c_{p0}) \quad (82)\text{-a}$$

$$c_0 = \varepsilon_p c_{p0} + (1 - \varepsilon_p) c_{s0} \quad (83)$$

Kao rezultat ovih pretpostavki, koncentracije rastvorka u čvrstom matriksu,  $c_s$  i  $c_p$ , zavise od radijalne pozicije unutar čestice,  $r$ , aksijalne pozicije duž sloja,  $z$ , i vremena ekstrakcije,  $t$ , dok koncentracija rastvorka u natkritičnom fluidu zavisi samo od  $z$  i  $t$ .

### ***Ograničenja opšteg modela***

Odgovarajuće projektovan ekstrakcioni sistem, uz pravilno odabrane procesne parametre, omogućava da većina pretpostavki (ali ne i sve) opšteg modela budu zadovoljene. Na primer, veliki odnos dužine i unutrašnjeg prečnika industrijskih ekstraktora omogućava ekstrahovanje većih količina materijala. Što je materijal usitnjeniji i poroznost sloja manja, a stvarna brzina fluida u natkritičnom stanju u sloju veća, veće količine čvrstog materijala mogu biti ekstrahovane i mogu se dobiti veće količine ekstrahovanog ulja. Međutim, ove promene u procesu dovode do većeg pada pritiska u sloju i većih gubitaka u poređenju sa uređajima manjih dimenzija. Nakon odgovarajućeg optimalnog usitnjavanja čestica pre ekstrakcije, biljni materijal je mikrostrukturno heterogen i geometrijski nepravilan. Što se tiče daljih ograničenja opšteg modela, on ne uzima u obzir da se fizička svojstva čvrstog materijala tokom ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom menjaju, kao rezultat impregnacije materijala natkritičnim fluidom i uklanjanja rastvorka, pogotovo kada su njegove količine u materijalu značajne, kao što je to slučaj kod ekstrakcije triglicerida iz semena uljarica. U ovom kontekstu, značajno je pomenuti da Eggers [87] navodi značajno povećanje poroznosti čestice u toku ekstrakcije triglicerida iz kukuruznih klica natkritičnim ugljendioksidom. U većini matematičkih modela prenosa mase koriste se srednje vrednosti parametara modela koji se menjaju u toku procesa [7].

Što se tiče geometrije čestica usitnjenog materijala, Reverchon [47] je uspeo da poboljša rezultate fitovanja eksperimentalnih podataka ekstrakcije etarskog ulja iz lista žalfije natkritičnim ugljendioksidom, kada je u model prenosa mase sa unutrašnjom difuzijom kao upravljajućim faktorom uključio pretpostavku da su velike čestice usitnjenog materijala oblika ploče, a ne sfere. Mikroskopska posmatranja su zaista pokazala da su velike čestice prečnika većeg od 0,75 mm, odgovarale ravnim delićima lista debljine 0,29 mm [7]. Moguće je dobiti analitičko rešenje i za druge pravilne geometrijske oblike čestica (paralelopipede, diskove, cilindre), primenom teoreme superpozicije za osnovne geometrijske oblike (beskonačna ploča, beskonačni cilindar) (Stüber i sar. [88]).

Svi modeli bazirani na diferencijalnom bilansu mase proizilaze iz opšteg modela i gotovo kod svih jednačine za prenos mase u fazi natkritičnog fluida su u osnovi iste. U literaturi se mogu naći primeri modela ekstrakcije masnih ulja natkritičnim ugljendioksidom, koji pretpostavljaju da otpor prenosu mase kroz čvrstu fazu može da se zamenari u odnosu na otpor kroz fazu natkritičnog fluida [51, 71, 89-92]. Ipak, u većini slučajeva ono po čemu se

razlikuju modeli bazirani na diferencijalnom bilansu mase su različiti mehanizmi unutrašnjeg prenosa mase. Prenos mase u čvrstoj fazi može kontrolisati desorpcija rastvorka sa čvrste faze, rastvaranje u natkritičnom fluidu i/ili difuziono kretanje kroz čvrst materijal i/ili njegove pore.

### 3.2.2.1. Modeli neizreagovanog / neizekstrahovanog jezgra (MNJ) u poroznoj sferi

Jedan od načina matematičkog opisivanja mehanizma unutrašnjeg prenosa mase je pomoću modela neizreagovanog jezgra ili SC modela (*engl. Shrinking Core model*). Model su originalno predložili za opisivanje sagorevanja uglja i drveta Yagi i Kunii [93], a prvi put su koncept neizreagovanog jezgra uveli u oblast ekstrakcije prirodnih materijala fluidima u natkritičnom stanju King i Catchpole [45], da bi matematički opisali ekstrakciju ulja iz kikirikija.

Ovi modeli pretpostavljaju da je na početku ekstrakcije rastvorak uniformno raspoređen u porama čvrstog materijala i da ga u poroznoj strukturi drže mehaničke ili kapilarne sile. Ekstrakcija rastvorka se najpre odigrava na spoljašnjoj površini čestice, a zatim se ekstrakciona zona pomera ka unutrašnjosti čvrste čestice. U svakom trenutku od početka ekstrakcije postoji jasno definisana (pokretna) granica između unutrašnjeg dela čestice (neizekstrahovanog jezgra), u kome su pore ispunjene kondenzovanim rastvorkom, i spoljašnjeg sfernog omotača od čvrstog inertnog materijala, u čijim je porama nezasićeni rastvor rastvorka u natkritičnom fluidu [94].

Da bi se dobilo neko aproksimativno matematičko rešenje ovog problema sa promenljivim graničnim uslovom, u smislu da se granica sistema pomera u toku procesa, mora se pretpostaviti da se difuzija rastvorka u spoljašnjem sfernom omotaču odvija u pseudo-stacionarnim uslovima, odnosno da je uticaj brzine promene položaja granice zanemarljiv. Bilans mase, početni uslovi i granični uslovi za fluid u natkritičnom stanju ostaju isti kao u jednačinama (71)-(74) (Tabela 1), ali se jednačina (75) zamenjuje sledećom jednačinom [95]:

$$\frac{D_e}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_p}{\partial r} \right) = 0$$

(75)-a

Nadalje, uslovi dati jednačinama (77) i (79), kao i relacije (82)-a i (83) su eliminisani, a početni uslov jed. (76) i granični uslov jed. (78) su promenjeni u:

$$c_{p0} = \frac{c_0}{\epsilon_p} \quad (\text{za } t=0, \text{ za svako } r \text{ i } z)$$

(76)-a

$$c_p = c_{\text{sat}} \quad (\text{za } r=r_c, \text{ za svako } z \text{ i } t)$$

(78)-a

Konačno, sledeći vremenski zavisani maseni bilans se koristi za procenu promene radijusa jezgra ( $r_c$ ) sa vremenom:

$$r_c = R \quad (\text{za } t=0, \text{ za svako } z)$$

(84)

$$\frac{c_p}{c_{p0}} = \left(\frac{r_c}{R}\right)^3 \quad (\text{za svako } z \text{ i } t)$$

(85)

Analiza ovog modela pokazuje da takav model, ili modeli koji bi proizašli iz njegovog pojednostavljenja mogu da se uspješnije primene na ekstrakciju semena uljarica (triglicerida), odnosno materijala iz kojih se ekstrahuju supstance sličnih karakteristika, nego na ekstrakciju etarskih ulja, koja sadrže veliki broj supstanci različitih karakteristika [7]. Ovakvo razmišljanje je bazirano na činjenici da je spoljašnji sferni omotač od čvrstog inertnog materijala oslobođen prisustva bilo kakvog rastvorka, a u nekim slučajevima pojedine supstance, na svom putu ka površini čestice, mogu se adsorbovati na zidove pora. Ukoliko se to desi, model podrazumeva da mehanizmi kao što su adsorpcija i desorpcija ne upravljaju brzinom procesa. Takođe, polazna pretpostavka modela je da su čestice idealne sfere, što u praksi nikada nije slučaj. Ukoliko fluid protiče klipnim tokom, u modelu figurišu dva parametra, koeficijent prelaza mase sa čvrste faze na fluid i difuzivnost unutar čestice. Treći parametar se pojavljuje kada se razmatra dispergovani klipni tok, odnosno ako postoji aksijalna disperzija [95].

Model neizekstrahovanog jezgra je primenjen na natkritičnu ekstrakciju đumbirovog ulja [96] i pokazalo se da je bolje opisivao ekstrakciju većih čestica. King i Catchpole [45] su razvili jedno kvazistacionarno rešenje modela neizekstrahovanog jezgra, za slučaj klipnog toka. Ukoliko je promena radijusa jezgra mala za vreme boravka fluida u ekstraktoru, promene u ekstraktoru od tačke do tačke su, takođe, veoma male. Tada se analitička, implicitna zavisnost radijusa jezgra sa vremenom ekstrakcije može dobiti na izlazu iz sloja ( $z=L$ ). Pored toga, dobija se i koncentracija rastvorka u fluidu na izlazu iz ekstraktora, pa je moguće dobiti i zavisnost prinosa od vremena ekstrakcije. Goto i sar. [95] su numerički rešili model u nasutom sloju čestica sa aksijalnom disperzijom. Model, uz primenu vrednosti parametara nezavisnih od ekstrakcionih rezultata, daje dobro slaganje sa eksperimentalnim rezultatima u literaturi [95].

Goto i sar. [95] su predložili izraz iz koga se može brzo proceniti koliko bi trebalo da traje proces da bi se iz sloja, poroznosti  $\epsilon$ , ekstrahovala celokupna količina ulja. Minimalno vreme potrebno da bi se stehiometrijska količina fluida zasitila uljem je:

$$t^{\text{sat}} = \frac{(1-\epsilon) L c_0}{u c_{\text{sat}}}$$

(86)

Realno vreme trajanja procesa trebalo bi da bude 10-20% duže.

Tezel i sar. [97] su modifikovali model neizreagovanog jezgra u cilju modelovanja procesa nakritične ekstrakcije višekomponentnog sistema (masnih ulja).

### 3.2.2.2. Modeli bazirani na mehanizmu desorpcije-rastvaranja-difuzije (DRD) u poroznoj sferi

U modelima baziranim na mehanizmu desorpcije-rastvaranja-difuzije u poroznoj sferi, u engleskoj literaturi poznatim kao *DDD* (*engl. desorption-dissolution-diffusion*) modeli, podrazumeva se da je rastvorak prisutan i raspoređen u čitavoj zapremini čestice u toku svih faza ekstrakcionog procesa, bilo adsorbovan na zidovima pora ili kao slobodna tečnost u porama. U toku ekstrakcije neprekidno se odvijaju desorpcija rastvorka, njegovo rastvaranje u rastvaraču i difuzija kroz česticu, sve do njenog napuštanja. Ekstrahovani

materijal koji napušta čestice tada biva prenesen u glavni tok natkritičnog fluida kroz nasuti sloj.

### **Desorpcija**

Desorpcija kao mehanizam unutrašnjeg prenosa mase uključena je u modele bazirane na mehanizmu desorpcije-rastvaranja-difuzije u poroznoj sferi.

Ukoliko se želi korektno opisati kinetika desorpcije, u opštem modelu član  $\partial c_s / \partial t$  u jednačini (75) (Tabela 1), treba da bude definisan na sledeći način [7]:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = k_{\text{sor}} c_p - k_{\text{des}} c_s = k_{\text{sor}} \left( c_p - \frac{c_s}{K} \right) \quad (87)$$

gde su:  $k_{\text{sor}}$  i  $k_{\text{des}}$  koeficijenti sorpcije i desorpcije, koje se tretiraju kao reakcije prvog reda, dok je  $K (= k_{\text{sor}} / k_{\text{des}})$  ravnotežni koeficijent sorpcije.

*DRD* model je često primenjivan za ekstrakciju natkritičnim ugljendioksidom, uglavnom etarskih ulja iz biljaka (Goto i sar. [98]), ali ne i triglicerida iz semena uljarica [7]. To se može objasniti time da desorpcija, kao jedan od koraka u mehanizmu unutrašnjeg prenosa mase, nema veliki udeo u ukupnom otporu prenosu mase u toku ekstrakcije biljnih ulja (triglicerida). Jedini rad u kome je ovaj model iskorišćen za modelovanje natkritične ekstrakcije kokosovog ulja (trigliceridi su glavni sastojci) ugljendioksidom je rad autora Škerget i Knez [99]. Međutim, koeficijent  $K$  može da se interpretira i kao koeficijent raspodele, pre nego kao ravnotežni koeficijent sorpcije, tako da se *DRD* model može primeniti i ako ulje nije adsorbovano na čvrstoj fazi [7] - specijalan slučaj  $K=0$ .

Model porozne sfere sa *DRD* mehanizmom prenosa mase proširen je na primenu u višekomponentnim sistemima, kako bi simulirao natkritičnu ekstrakciju etarskog ulja [97].

### **Difuzija**

U nekim slučajevima, čvrsta faza se posmatra kao jedinstvena faza, odnosno homogeni matriks, a difuzija se smatra jedinim mehanizmom prenosa mase. U tim slučajevima, nema razlike između koncentracije rastvorka u čvrstom matriksu i u njegovim porama i sve jednačine diferencijalnog prenosa mase u čvrstoj fazi su funkcije samo  $c_s$  [7]. Maseni bilans, početni i granični uslovi za fazu natkritičnog fluida mogu se opisati jednačinama (71)-(74) (Tabela 1), a jednačina (75) se zamenjuje sledećom jednačinom [100]:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = \frac{D_e}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_s}{\partial r} \right) \quad (75)\text{-b}$$

Nadalje, početni uslov jed. (76) i granični uslov jed. (78) su eliminisani, granični uslov jed. (79) je zadržan, a početni uslov jed. (77), granični uslov jed. (80) i definicije (81) i (82) su promenjeni u:

$$c_s = c_0 \quad (\text{za } t=0, \text{ za svako } r \text{ i } z) \quad (77)\text{-a}$$

$$D_e \frac{\partial c_s}{\partial r} = -J \quad (\text{za } r=R, \text{ za svako } z \text{ i } t) \quad (80)\text{-a}$$

$$J = k_f (c_f^* - c_f) \quad (81)\text{-a}$$

$$c_f^* = f^{-1}(c_s|_R) \quad (82)\text{-b}$$

Pojednostavljen model u odnosu na ovaj primenili su Esquivel i sar. [100] na modelovanje ekstrakcije koštica masline natkritičnim ugljendioksidom [7]. Prekursor za razvoj i primenu ovih modela može se naći u radu autora Bartle i sar. [61], koji su prvi primenili Fikov zakon difuzije na natkritičnu ekstrakciju 1,8-cineola iz sfernih čestica usitnjenog ruzmarina. *DRD* modeli se smatraju modelima baziranim na analogiji sa prenosom toplote.

### 3.2.2.3. Pojednostavljenja modela

Da bi se izbegli glomazni i komplikovani matematički numerički proračuni, sistemi parcijalnih diferencijalnih jednačina koji proizilaze iz jednačina diferencijalnog masenog bilansa za čvrstu fazu i fazu fluida, uprošćavaju se u cilju dobijanja analitičkog rešenja. To se postiže uvođenjem određenih pojednostavljenja i pretpostavki. Na taj način se olakšava procena vrednosti parametara modela na osnovu eksperimentalnih rezultata i omogućava analiza osetljivosti proračuna. Naravno, ovi pojednostavljeni modeli mogu da važe samo u strogo ograničenim uslovima.

#### *Modeli koji isključuju disperziju rastvorka*

Kada se difuzija usled koncentracionog gradijenta rastvorka duž sloja može zanemariti (klipni režim strujanja), doprinos aksijalne difuzije se izostavlja:

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} + u \frac{\partial c_f}{\partial z} = \frac{3}{R} \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} J \quad (71)\text{-a}$$

Granični uslovi dati jednačinama (73) i (74) se sada zamenjuju sledećim uslovom:

$$c_f = 0 \quad (\text{za } z=0 \text{ i za svako } t) \quad (73)\text{-a}$$

Pri modelovanju ekstrakcije masnih ulja, u većini radova, sa izuzetkom dva rada [95, 74], zanemaren je fenomen aksijalne disperzije [7].

#### *Modeli sa diferencijalnim slojem*

U slučaju nasutog sloja ograničene debljine (tako da je  $L$  istog reda veličine kao i  $2R$ ), moguće je pretpostaviti da se koncentracija rastvorka linearno menja duž aksijalne ose. U tom slučaju, drugi član na levoj strani znaka jednakosti u diferencijalnom bilansu mase za rastvorak u fazi natkritičnog fluida (jednačina (71), Tabela 1) može da se modifikuje. Nova jednačina glasi:

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} + \frac{c_f}{t_r} - D_L \frac{\partial^2 c_f}{\partial z^2} = \frac{3}{R} \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} J \quad (71)\text{-b}$$

gde je  $t_r (=L/u)$  vreme boravka rastvarača u ekstraktoru.

U nekoliko radova [50, 96, 98, 99, 101, 102] primenjeno je ovo pojednostavljenje [7].

### ***Modeli u kojima spoljašnji prenos mase kontroliše proces (SPMK)***

U slučajevima kada spoljašnji prenos mase kontroliše brzinu procesa (*engl. External Mass Transfer Control - EMTC*), moguće je zanemariti uticaj otpora prenosu mase u čvrstoj fazi na brzinu prenosa mase. Unutar čvrste faze ne postoji koncentracioni gradijent, tako da koncentracija rastvorka u čvrstoj fazi zavisi samo od  $z$  i  $t$ . Ovo je moguće u slučajevima kada je ili veći deo ulja lako dostupan na površini čestica (na primer kada je početni sadržaj rastvorka u veoma sitnim česticama visok) ili kada debeo stacionaran film fluida u natkritičnom stanju okružuje svaku česticu (na primer kada je brzina fluida kroz sloj mala). Materijalni bilans, početni uslov i granični uslovi za fazu natkritičnog fluida (jednačine (71)-(74), Tabela 1) ostaju, a jednačina (75)-b se zamenjuje sledećom jednačinom:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = -\frac{3}{R} J \quad (75)\text{-c}$$

Uz to, početni uslov jed. (77)-a i definicija (81)-a važe i dalje, granični uslov jed. (79) i jed. (80)-a se eliminišu i definicija (82)-b se mora se promeniti u:

$$c_f^* = f^{-1}(c_s) \quad (82)\text{-c}$$

gde  $c_s$  predstavlja koncentraciju rastvorka u bilo kojoj poziciji unutar čestice.

Ovakvi modeli su primenjeni za opisivanje kako početnog stadijuma [51], tako i celog procesa natkritične ekstrakcije ulja iz semena uljarica [71, 89-92].

### ***Modeli u kojima je pogonska sila linearna (LPS)***

Kada se može usvojiti pretpostavka da je pogonska sila unutrašnje difuzije linearna, mogu se kombinovati procesi prenosa mase u čvrstoj fazi i u okolnom fluidu. Peker i sar. [103] su pokazali da je linearnu pogonsku silu moguće primeniti u slučaju kada je koncentracioni profil rastvorka u čvrstoj fazi paraboličan, što je dobra aproksimacija u krajnjem stadijumu ekstrakcije kada proces kontroliše difuzija. Linearna pogonska sila se definiše kao funkcija srednje koncentracije rastvorka unutar čestica čvrste faze ( $\bar{c}_s$ ). Slučajevi koji se opisuju modelima sa linearnom pogonskom silom (*engl. Linear Driving Force - LDF*), mogu se opisati i modelima u kojima spoljašnji prenos mase kontroliše brzinu procesa [7], ali se maseni fluks,  $J$ , i ravnotežna zavisnost,  $c_f^*$ , moraju definisati sledećim izrazima:

$$J = \frac{5k_f D_e}{k_f R + 5D_e} (c_f^* - c_f) = k_p (c_f^* - c_f) \quad (81)\text{-b}$$

$$c_f^* = f^{-1}(\bar{c}_s) \quad (82)\text{-d}$$

Iako je model sa linearnom pogonskom silom matematički identičan sa modelom u kome spoljašnji prenos mase kontroliše proces kada se zameni  $k_f$  sa  $k_p$  i  $c_s$  sa  $\bar{c}_s$ , razlike u fizičkom značenju su očigledne. Linearna pogonska sila kao aproksimacija primenjena je u literaturi u nekoliko slučajeva [50, 78, 98, 101].

### ***Modeli u kojima unutrašnji prenos mase kontroliše proces (UPMK)***

U uslovima kada brzinu ekstrakcije natkritičnim fluidom kontroliše unutrašnji prenos mase, može se zanemariti otpor prenosu mase koji pruža stacionarni film koji okružuje svaku česticu. Ovo stanje se može postići povećanjem brzine fluida kroz sloj, pošto se debljina filma smanjuje. Tada će koncentracija rastvorka na površini čestice biti u ravnoteži sa koncentracijom rastvorka u masi fluida. Materijalni bilans, početni uslov i granični uslovi za fazu natkritičnog fluida opisuju jednačine (71)-(74) (Tabela 1), odgovarajuće jednačine za čvrstu fazu su (75)-b, (77)-a i (79), a relacija kojom se opisuje fluks je jed. (80) (zamenjuje jednačinu (81)-a), pri čemu je potrebno dati novu definiciju ravnotežne vrednosti na površini čestice, koja će biti granični uslov [76]:

$$c_s|_R = f(c_f)$$

(82)-e

### ***Model jedne sfere (MJS)***

Teorijski, najmanja vrednost koncentracije rastvorka u natkritičnom fluidu je nula, tako da se u tom slučaju diferencijalni maseni bilans za rastvorak u fazi fluida može zanemariti ( $c_f=0$  za svako  $t$  i  $z$ ), pa je moguće dobiti analitičko rešenje jednačina diferencijalnog masenog bilansa rastvorka u čvrstoj fazi (jednačine (75)-b, (77)-a, (79) i granični uslov  $c_s|_R = f(0)=0$ ).

Prenos mase sa sferne čestice na fluid u kome nema rastvorka, pri čemu je prenos mase u čestici definisan Fikovim zakonom, može se uporedi sa hlađenjem (prenosom toplote) vrele kugle uronjene u hladan fluid. Postoji analogija prenosa mase i prenosa toplote u ova dva slučaja. Analitičko rešenje problema hlađenja vrele kugle u hladnom fluidu dali su Carslaw i Jaeger [104], a kasnije ih je Crank [105] prilagodio prenosu mase. Model ovoga tipa zove se Model pojedinačne (jedne) sfere (*engl. Single Sphere Model – SSM*)

U modelima *MJS* [62, 64] usvajaju se pretpostavke da se rastvorak ekstrahuje iz sloja koji se sastoji od poroznih inertnih sfera, koje su sve jednake veličine i sve u istom stepenu ekstrahovane, odnosno srednja koncentracija rastvorka u svakoj od sfera ista je u svakom trenutku procesa. Koncentracija rastvorka u čestici je uniformna na početku procesa, a koncentracioni profil ostaje sferno simetričan tokom procesa. Takođe, usvaja se i pretpostavka da je vrednost koncentracije rastvorka u masi fluida, veličine koja figuriše u graničnom uslovu, zanemarljiva, što je posledica dovoljno velike brzine strujanja rastvarača oko čestica. Kada se primenjuju modeli jedne sfere, najčešće se smatra da se ekstrakt sastoji od jedne pseudokomponente, iako to u većini praktičnih slučajeva nije tako. Rastvorak se kroz čestice kreće mehanizmom „sličnim difuziji“.

Mehanizam „sličan difuziji“ po kome rastvorak napušta čestice nije diskutovan u originalnim radovima, iako se mogu razlikovati slučajevi potpune rastvorljivosti rastvorka u rastvaraču na uslovima procesa, kada rastvorak difunduje u porama, i slabe rastvorljivosti rastvorka u rastvaraču, kada su u prenos mase unutar čestica uključeni i fenomeni vezani za interakcije rastvarača u porama i nerastvorenog rastvorka.

U modelima jedne sfere mogu se, pored otpora unutrašnjem prenosu mase, uzimati u obzir ili zanemariti otpori prenosu mase u filmu rastvarača (fluida) koji okružuje česticu, odnosno postoje složeniji i jednostavniji modeli jedne sfere.

Iz analitičkog rešenja jednačina diferencijalnog masenog bilansa rastvorka u čvrstoj fazi, odnosno jednačina (75)-b, (77)-a, (79), uz granični uslov  $c_s|_R = f(0) = 0$ , dobijenog primenom Furijeovih transformacija i analogije prenosa toplote i mase, izvodi se zavisnost ukupnog prinosa od vremena ekstrakcije [1, 100]:

$$w(t) = 12 \left[ \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(\sin \beta_k - \beta_k \cos \beta_k)^2}{\beta_k^3 (2\beta_k - \sin 2\beta_k)} \left( 1 - e^{-D_e t \left( \frac{\beta_k}{R} \right)^2} \right) \right] \quad (88)$$

gde je  $\beta_k$  karakteristično rešenje za svaki član u Furijeovom redu za sledeći periodik:

$$\beta_k \cot \beta_k = 1 - \frac{k_f R}{D_e} \quad (89)$$

Jednačine (88) i (89) predstavljaju rešenje složenijeg oblika modela jedne sfere (*MJS-1*).

Ukoliko se otpor prenosu mase rastvorka u fazi fluida zanemari ( $k_f = \infty$ ), tada se jednačina (89) može pojednostaviti, i dobija se sledeći model (*MJS-2*):

$$w(t) = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} e^{-\frac{D_e n^2 \pi^2 t}{R^2}} \quad (90)$$

Prvi put ovaj model su primenili u svom radu Bartle i sar. [61], a posle ga primenjuju i Reverchon i sar. [62]. Gaspar i sar. [67] prilagodili su rešenje modela za drugu geometriju čestica materijala. Ovim modelom oni su bili u mogućnosti da opišu ekstrakciju etarskih ulja natkritičnim ugljendioksidom, iz materijala koji ima čestice oblika diska (pločice) [67]. Esquivel i sar. [100] su ga primenili na modelovanje ekstrakcije maslinovog ulja iz koštica masline natkritičnim ugljendioksidom.

Treba napomenuti da modeli jedne sfere ne prave razliku unutar čestice između faze fluida i čvrste faze. Koncentracija rastvorka u čestici može da se smatra i koncentracijom u čvrstoj fazi i/ili srednjom koncentracijom u čestici. Zbog toga je moguće koristiti jednačine (88) i/ili (90) u slučajevima kada je koncentracija rastvorka veća od ravnotežne [1]. Međutim, u komercijalnim ekstraktorima uobičajene veličine, sa velikim odnosom dužine i prečnika ekstraktora, primena modela koji pretpostavlja da je brzina kojom se uklanja ulje ista za sve čestice, kao što se to usvaja u modelima pojedinačne sfere, može biti problematična [100]. Fizički fenomeni koji dovode do zanemarivanja aksijalnih koncentracionih gradijenata duž sloja i u filmu fluida izvan čestice su različiti, pošto je dužina slojeva na kojima se oni formiraju različitog reda veličine, odnosno veličina uporedivih sa visinom sloja ( $L$ ) i poluprečnika čestica ( $R$ ), tako da su modeli jedne sfere neprimenljivi u nekim slučajevima procesa kontrolisanog brzinom unutrašnjeg prenosa mase [76, 106].

#### *Model karakterističnog vremena (MKV)*

U slučajevima kada unutrašnji prenos mase kontroliše proces, pojednostavljenje problema se, takođe, može postići uvođenjem aproksimacije modela linearne pogonske sile (*LPS*). Uvođenje ove aproksimacije je moguće kada nije potrebno definisati raspodelu koncentracije rastvorka unutar čestice, nego samo znati srednju koncentraciju rastvorka u



čestici [106]. S obzirom na matematički identičan opis modela linearne pogonske sile i modela u kome spoljašnji prenos mase kontroliše proces (*SPMK*), ove slučajeve moguće je rešiti i primenom *SPMK* modela uz alternativno definisan maseni fluks,  $J$ , i ravnotežu, kako prikazuju sledeće jednačine:

$$J = \frac{5D_e}{R} (\bar{c}_s - c_s^*) = k_s (\bar{c}_s - c_s^*) \quad (81)\text{-c}$$

$$c_s^* = f(c_f) \quad (82)\text{-f}$$

Upravo su ovako Reverchon i Sesti Osséo [107] modelovali ekstrakciju bosiljka natkritičnim ugljendioksidom. Naime, autori su iz opšteg modela isključili disperziju rastvorka u fluidnoj fazi i opisali problem modelom u kome unutrašnji prenos mase kontroliše proces i onda ga zamenili sa matematički ekvivalentnim *SPMK* modelom. Njihov model obuhvata diferencijalne jednačine (71)-a (sa početnim uslovom jed. (72) i graničnim uslovom jed. (73)-a) i (75)-c (sa početnim uslovom jed. (77)-a), uz definiciju fluksa jed. (81)-c i linearnu ravnotežnu zavisnost u (82)-f.

$$c_s^* = K'c_f \quad (82)\text{-g}$$

Koeficijent proporcionalnosti u jednačini (82)-g je zapreminski koeficijent raspodele ulja između fluidne i čvrste faze ( $K'$ ).

Ovakav model ima analitičko rešenje sledećeg oblika:

$$w(t) = 1 - \exp\left(-\frac{K' t}{\frac{(1-\varepsilon)L}{U} + K' t_{ud}}\right) \quad (91)$$

gde je  $t_{ud}$ , karakteristično vreme unutrašnje difuzije.

Kada i difuzija i fazna ravnoteža imaju uticaj na brzinu ekstrakcije, ukoliko rastvorljivost nije mala, a unutrašnja difuzija nije ograničavajući faktor prenosu mase, oba fenomena moraju se razmatrati u jednačini. Ukoliko je unutrašnja difuzija jedini ograničavajući faktor prenosu mase, član  $K' t_{ud}$  je nekoliko redova veličina veći od drugog člana u imeniocu razlomka  $[(1-\varepsilon)L/U \ll K' t_{ud}]$ , pa se jednačina (91) može dalje pojednostaviti:

$$w(t) = 1 - \exp\left(-\frac{t}{t_{ud}}\right) \quad (92)$$

Postoji sledeća veza između difuzionog vremena i efektivnog koeficijenta difuzije u čvrstoj fazi [108]:

$$t_{ud} = \frac{\chi}{D_e} \left(\frac{V_p}{A_p}\right)^2 \quad (93)$$

gde su:  $V_p$  – zapremina čestice ( $m^3$ ),  $A_p$  – površina čestice ( $m^2$ ) i  $\chi$  – korekcionni parametar.

U slučaju da se čestice materijala mogu smatrati sferama, važi:

$$t_{ud} = \frac{3}{5D_e} \left( \frac{R}{3} \right)^2$$

(94)

### ***Dvostepeni modeli***

Mikrostrukturno, deo biljnih ćelija iz kojih se ekstrahuje ulje biva razoren mlevenjem u procesu usitnjavanja semena. Na površini i u blizini površine čestice usitnjenog materijala, većina ćelija je razorena, dok unutrašnjost čestice sačinjavaju nerazorene ćelije. Zapreminski udeo razorenih ćelija u česticama usitnjenog materijala naziva se *efikasnost mlevenja* ( $e_m$ ) [79]. Stoga se može smatrati da je rastvorak (ulje) u čvrstom materijalu prisutan u dve različite faze, kao slobodan i vezani rastvorak. Rastvorak iz razorenih ćelija je lako dostupan ili slobodan rastvorak, koji se nalazi na površini čestica i direktno se prenosi u fluidnu fazu (rastvarač). Rastvorak zatvoren u unutrašnjoj strukturi nerazorenih ili delimično razorenih čestica predstavlja fazu vezanog rastvorka – (*engl. tied solute*). Vezani rastvorak iz nerazorenih ćelija prvo difunduje ka razorenim ćelijama, a zatim se prenosi u fluidnu fazu. Ekstrahovana količina lako dostupnog ulja je ograničena njegovom rastvorljivošću u rastvaraču na uslovima procesa, a brzina njegove ekstrakcije je ograničena brzinom spoljašnjeg prenosa mase. Prenos mase iz razorenih ćelija ka rastvaraču opisuje se *koeficijentom prenosa mase u fluidnoj fazi* ili *koeficijenta spoljašnjeg prenosa mase* ( $k_f$ ) i on prevashodno zavisi od hidrodinamičkih uslova. Ovaj koeficijent je nekoliko redova veličine veći od *koeficijenta prenosa mase u čvrstoj fazi* ili *koeficijenta unutrašnjeg prenosa mase* ( $k_s$ ), kojim se opisuje prelaz rastvorka iz nerazorenih ka razorenim ćelijama. Brzinu ekstrakcije vezanog rastvorka kontroliše mehanizam unutrašnjeg prenosa mase.

Iz biljnog materijala prvo se uklanja lako dostupan rastvorak, a zatim se ekstrahuje rastvorak iz nerazorenih ćelija, pri čemu je taj proces spor, jer je rastvorak zaštićen ćelijskim zidom.

U prvoj fazi ekstrakcionog procesa, u slučaju kada su brzine rastvarača kroz sloj male, i dok je koncentracija rastvorka zaostalog u materijalu još uvek velika, ulje se ekstrahuje sa površine materijala konstantnom brzinom [2]. U krajnjem stadijumu, u drugoj fazi procesa, brzina ekstrakcije se smanjuje kao rezultat uklanjanja slobodnog rastvorka sa površine čestica. Brzina druge faze ekstrakcije ograničena je brzinom unutrašnje difuzije i ova faza procesa značajno produžava trajanje čitave ekstrakcije.

Čestice duž sloja biće ekstrahovane u različitom stepenu, odnosno, slobodni rastvorak će prvo biti ekstrahovan sa čestica smeštenih u delu ekstraktora u koji ulazi čist fluid u natkritičnom stanju. Upravo će ove čestice, u odnosu na sve ostale čestice u sloju, prve ući u drugu fazu (fazu smanjene brzine) ekstrakcionog procesa. Ova neravnomernost stepena ekstrakcije će biti izraženiji u sistemima u kojima natkritični fluid ima mogućnost da se zasiti uljem, tj. kada je vrednosti  $c_{sat}$  niska, a visina sloja ( $L$ ) velika, kao i u sistemima sa širokom raspodelom veličina čestica i/ili velikom varijacijom u njihovoj mikrostrukturnoj građi (male čestice, čija je mikrostruktura značajno razorena usitnjavanjem, imaće veći sadržaj slobodnog rastvorka) [76].

Kako bi matematički opisali navedene pojave, neki autori uvode aproksimaciju linearne pogonske sile, sa promenljivom vrednošću globalnog koeficijenta prenosa mase. Koeficijent prenosa mase se smanjuje sa smanjenjem koncentracije rastvorka u čvrstoj fazi u toku natkritične ekstrakcije. Reverchon i sar. [84] su modelovali ekstrakciju mlevenog semena

ružinog šipka natkritičnim ugljendioksidom primenjujući sledeći izraz za globalni koeficijent prenosa,  $k_p$ :

$$k_p = k_{po} \left( 1 - \frac{e}{e_\infty} \right) \quad (95)$$

gde su:  $k_{po}$  – početna vrednost globalnog koeficijenta prenosa mase ( $m s^{-1}$ ),  $e$  – prinos ulja ( $g$  ulja  $g^{-1}$  nerastvornog dela materijala) i  $e_\infty$  - početni sadržaj ulja u materijalu (iste jedinice). Ova vrsta modela opisuje proces natkritične ekstrakcije slično kao što se opisuje proces sušenja. Ograničenja ovih modela potiču od toga što se u njima jednim parametrom obuhvata nekoliko mehanizama prenosa mase, što unosi značajan stepen empirije u model.

### Prošireni Lack-ov model klipnog toka

#### Model koji je razvila Sovová

Sovová [79] je razvila dvostepeni model koji je proširenje modela klipnog toka čiji je autor Lack. Prošireni Lack-ov model (*engl. Extended Lack's Model*) sadrži oba koeficijenta prenosa mase. U ukupni otpor prenosu mase uključeni su otpori prenosu mase u filmu rastvarača koji okružuje česticu (određuje brzinu ekstrakcije lako dostupnog rastvorka) i u unutrašnjosti čestice (određuje brzinu prenosa mase vezanog rastvorka). Brzina ekstrakcije slobodnog rastvorka ( $c_o > \bar{c}_s > c_k$ ) je definisana isto kao kod SPMK modela. S druge strane, brzina ekstrakcija vezanog rastvorka ( $\bar{c}_s < c_k$ ) proporcionalna je koeficijentu prenosa mase u čvrstoj fazi  $k_s$  i srednjoj rezidualnoj koncentraciji rastvorka u materijalu  $\bar{c}_s$ . Nadalje, otpor prenosu mase u filmu natkritičnog fluida Sovová [79] je uključila uvođenjem faktora  $(1 - c_f/c_{sat})$  u izraz (81)-c za fluks prenosa mase:

$$\begin{aligned} J &= k_f (c_{sat} - c_f) && (\text{za } c_o > \bar{c}_s > c_k) \\ J &= k_s \left( 1 - \frac{c_f}{c_{sat}} \right) \bar{c}_s && (\text{za } \bar{c}_s < c_k) \end{aligned} \quad (81)-d$$

Ovaj model definiše tri ekstrakciona perioda. U početnom periodu ( $\Delta t_1$ ), ekstrakcija se odvija konstantnom brzinom koja je određena otporom filma natkritičnog fluida. Na kraju ovog perioda čestice na mestu ulaza fluida u ekstraktor (položaj najbrže ekstrakcije pri klipnom toku) ostaće bez slobodnog rastvorka. Međutim, rastvorak koji je smešten dublje u unutrašnjosti čestica još uvek će ostati prisutan u ovim česticama i u sledećem, prelaznom periodu, počće njegova ekstrakcija. U toku prelaznog perioda ( $\Delta t_2$ ), slobodni rastvorak se uklanja sa površine svih ostalih čestica, odnosno i ostale čestice postaju delimično iscrpljene. Zona u kojoj su čestice oslobođene rastvorka pomera se u pravcu toka fluida i napreduje kao front iscrpljivanja, ispred koga se nalaze čestice sa slobodnim rastvorkom. Na početku trećeg ekstrakcionog perioda, u svim česticama je prisutan samo „vezan“ rastvorak, odnosno rastvorak koji je smešten dublje u unutrašnjosti čestice. Količine ekstrakta  $e$  koje se uklone u toku prvog, drugog i trećeg perioda ekstrakcije, prikazane su u funkciji specifične potrošnje rastvarača  $q$  kao:

$$e = \begin{cases} q y_r [1 - \exp(-Z)] & \text{za } q < q_m \\ y_r [q - q_m \exp[z_w - Z]] & \text{za } q_m \leq q < q_n \\ x_0 - \frac{y_r}{W} \ln \{1 + [\exp(W x_0 / y_r) - 1] \exp[W \cdot (q_m - q)] x_k / x_0\} & \text{za } q \geq q_n \end{cases} \quad (96)$$

Polazna koncentracija lako dostupnog ulja u razorenim ćelijama materijala je  $(x_0 - x_k)$ , a početna koncentracija ulja unutar nerazorenih čestica materijala je  $x_k$ .

Količine rastvarača  $q_m$  i  $q_n$ , koje definišu prelazni režim između perioda brze i spore ekstrakcije, izračunavaju se iz jednačina (97) i (98). Bezdimenziona aksijalna koordinata  $z_w$ , koja predstavlja presek sloja u kome je koncentracija ulja jednaka  $x_k$ , izračunava se iz izraza (99):

$$q_m = (x_0 - x_k) / (y_r Z) \quad (97)$$

$$q_n = q_m + \frac{1}{W} \ln \left[ \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp(W x_0 / y_r)}{x_0} \right] \quad (98)$$

$$\frac{z_w}{Z} = \frac{y_r}{W x_0} \ln \left\{ \frac{x_0 \exp[W (q - q_m)] - x_k}{x_0 - x_k} \right\} \quad (99)$$

Parametar  $Z$  je direktno proporcionalan koeficijentu prenosa mase u fazi rastvarača, a obrnuto proporcionalan specifičnom srednjem protoku rastvarača,  $\dot{q}$ :

$$Z = k_f a_0 \rho / [\dot{q} (1 - \varepsilon) \rho_s] = F / \dot{q} \quad (100)$$

Slično, parametar  $W$  je direktno proporcionalan koeficijentu prenosa mase u čvrstoj fazi, a obrnuto proporcionalan specifičnom protoku rastvarača:

$$W = k_s a_0 / [\dot{q} (1 - \varepsilon)] = S / \dot{q} \quad (101)$$

Vrednost specifičnog protoka rastvarača  $\dot{q}$  je poznata, kao i polazna koncentracija ulja u materijalu  $x_0$  i rastvorljivost ulja  $y_r$ . Parametri  $x_k$ ,  $F$  i  $S$  se optimizuju prema sledećem kriterijumu:

$$SSE = (1/m) \cdot \sum_{j=1}^m [e_{\text{exp},j} - e(q_j)]^2 \quad (102)$$

Ovaj model je primenjen na ekstrakciju masnih ulja iz semena paradajza [102], semenki grožđa [80], vučjeg trna (*engl. sea buckthorn*) (*Hippophae rhamnoides*) [82], koštica masline [100] i semena ružinog šipka [109].

#### *Model koji je adaptirao Reverchon*

Reverchon je sa svojom grupom saradnika u osnovi adaptirao prošireni Lack-ov model klipnog toka [79], pri čemu je dobijen novi model [83, 74]. Tokom ekstrakcije, obe faze u kojima se nalazi rastvorak, i slobodna i vezana, kreću se iz čestice semena ka rastvaraču. Stoga, autori predlažu da se brzina ekstrakcije ulja dobije kao suma brzine ekstrakcije slobodnog i brzine ekstrakcije vezanog ulja. Pretpostavljeno je da je brzina ekstrakcije slobodnog ulja (koncentracije  $c_{su}$ ) proporcionalna koeficijentu spoljašnjeg prenosa mase, a pogonska sila jednaka razlici između gustine ulja,  $\rho_u$ , i koncentracije ulja u zasićenom natkritičnom fluidu. Brzina ekstrakcije vezanog ulja (koncentracije  $c_{vu}$ ) proporcionalna je koeficijentu unutrašnjeg prenosa mase, a pogonska sila je jednaka razlici između stvarne koncentracije vezanog ulja u čvrstoj fazi i ravnotežne koncentracije rastvorka u kontaktu sa fluidom u ekstraktoru. Dve pomenute ravnotežne koncentracije su definisane sa dva različita koeficijenta raspodele. Pod uslovom da je vreme koje ugljendioksid provede u ekstraktoru dovoljno dugo da se ugljendioksid zasiti slobodnim uljem, a sa druge strane i dovoljno kratko da ne dođe do razmene između frakcija slobodnog i vezanog ulja u čvrstoj fazi, koeficijent raspodele između slobodnog ulja u čvrstoj fazi i rastvorenog ulja je  $K_{su} = c_{sat}/\rho_u$ , a koeficijent raspodele između vezanog ulja u čvrstoj fazi i rastvorenog ulja u fluidu je  $K_{vu} = c_{sat}/c_{vuo}$ . Koncentracija ulja u zasićenom fluidu ( $c_{sat}$ ) određuje se iz početnog nagiba ekstrakcione krive: prinos ( $e$ , kg ulja  $kg^{-1}$  mase nerastvornog dela materijala) u funkciji od specifične potrošnje rastvarača ( $q$ , kg  $CO_2$   $kg^{-1}$  mase nerastvornog dela materijala). Početna koncentracija vezanog ulja ( $c_{vuo}$ ) određuje se iz masenog bilansa za ulje u čvrstoj fazi (104). Maseni fluks, odnosno brzina ekstrakcije je [74, 83]:

$$J = k_f \left( \rho_u - \frac{c_f}{K_{su}} \right) + k_s \left( c_{vu} - \frac{c_f}{K_{vu}} \right) \quad (103)$$

Nadalje, autori su pretpostavili da se zapreminski udeo razorenih ćelija u materijalu u kojima se nalazi slobodno ulje,  $\epsilon_{su}$ , može odrediti mikroskopskim proučavanjem materijala ( $\epsilon_{su}=1,5 d_c/R$ , gde je  $d_c$  prečnik ćelije). Zapreminski udeo ulja u ovim razorenim ćelijama ( $\Psi$ ) je promenljiva veličina koja se smanjuje u toku procesa. Početna koncentracija vezanog ulja ( $c_{vuo}$ ) izračunava se iz sledećeg izraza:

$$c_{vuo} = \frac{c_o - \rho_u \epsilon_{su}}{\rho_s - c_o} \quad (104)$$

Autori su rešili sistem diferencijalnih masenih bilansa za  $c_{su}$ ,  $\Psi$  i  $c_{vu}$ . Početna vrednost veličine  $\Psi$ ,  $\Psi_0$ , dobija se iz masenog bilansa za ukupni sadržaj ulja sadržanog u materijalu u ekstraktoru:

$$\Psi_0 = 1 - \frac{\epsilon c_{sat}}{1 - \epsilon \rho_u} \quad (105)$$

Reverchon i Marrone [74] su ovaj model primenili za modelovanje ekstrakcije semena suncokreta, korijandera, semena grožđa, paradajza, kikirikija, badema i semena mirođije.

## ***Modeli sa pretpostavkama stacionarnosti***

### *Stacionarni model za proces koji kontroliše spoljašnji prenos mase*

Pretpostavka koja se koristi u ovom modelu jeste da je koncentracija ulja (rastvorka) u stacionarnom natkritičnom fluidu koji je u neposrednoj blizini čestice materijala konstantna,  $c_{\text{sat}}$ , usled prisustva slobodnog ulja na površini čestice. Takođe, duž sloja koncentracija ulja u fazi natkritičnog fluida raste zbog njegovog rastvaranja, brzinom definisanom jednačinom (81)-a, sa koeficijentom prenosa  $k_f$ . Nakon integracije diferencijalne jednačine:

$$\frac{\partial c_f}{\partial t} = \frac{3}{R} \cdot \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot J = \frac{3}{R} \cdot \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot k_f (c_{\text{sat}} - c_f) \quad (106)$$

od ulaza u ekstraktor [ $c_f=0$  za  $t=0$ ] do izlaza iz ekstraktora [ $c_f=c_f(L)$  za  $t=t_r$ ] dobija se sledeće analitičko rešenje [110]:

$$c_f = c_{\text{sat}} \left[ 1 - \exp\left(-\frac{3}{R} \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} k_f t_r\right) \right] \quad (107)$$

Ovaj model je primenjen za modelovanje početnog stadijuma ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom presovanog semena uljane repice [2], uljane repice sa niskim sadržajem eruka kiseline [110], semena soje [39] i semena noćurka [40]. King i sar. [110] su izmerili izlaznu koncentraciju ulja u natkritičnom ugljendioksidu u zavisnosti od srednjeg vremena zadržavanja i pokazali da je jednačina (107) primenljiva. Brunner [2] je usvojio da je  $c_f=0,9 c_{\text{sat}}$ , dok su Hong i sar. [39] i King i sar. [40] pretpostavili da je  $c_f=0,95 c_{\text{sat}}$ .

### *Stacionarni model za proces koji kontroliše unutrašnji prenos mase*

U cilju pojednostavljenja problema, u ovom modelu zanemarene su promene koncentracije ulja unutar čestice, kao i u natkritičnom fluidu duž sloja materijala u ekstraktoru, odnosno u pitanju je model sa koncentrisanim parametrima. Nakon integracije diferencijalne jednačine – bilansa elementa fluida koji se kreće konstantnom brzinom od ulaza u ekstraktor do izlaza iz ekstraktora:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = \frac{3}{R} J = \frac{3}{R} k_s (c_s - c_s^*) \quad (108)$$

tj. od početka ekstrakcije [ $c_s=c_0$  za  $t=0$ ] do kraja ekstrakcije [ $c_s=c_s(t)$  za  $t=t$ ] dobija se sledeće analitičko rešenje [2, 85]:

$$\frac{c_s - c_s^*}{c_0 - c_s^*} = \exp\left(-\frac{3}{R} k_s t\right) \quad (109)$$

gde je  $c_s^*$  definisano jednačinom (82)-f.

Ovaj model je predložio Brunner [2] za opisivanje procesa izolovanja kofeina iz sirove kafe natrijum oksidom. Model su primenjivali i Hong i sar. [39] da bi matematički opisali krajnji stadijum natkritične ekstrakcije ulja iz semena soje ugljendioksidom, kao i King i sar. [40] za seme noćurka.

### ***Kombinovani model Hong i sar.***

Da bi se matematički opisao stacionaran i nestacionaran deo procesa ekstrakcije Hong i sar. [39] su predložili model u kome brzinu stacionarnog dela procesa kontroliše prenos mase kroz film natkritičnog fluida oko čestice, koji je definisan koeficijentom prelaza mase u filmu,  $k_f$  (m/s). Period u kome brzina ekstrakcije opada sa vremenom kontrolisan je difuzijom ulja unutar čvrste faze semena lana. Prema autorima ovog modela [39] ova dva tipa proračuna prenosa mase se izvode nezavisno jedan od drugoga, a njihovi rezultati se kombinuju na osnovu uočenih eksperimentalnih podataka. Vremenski trenutak prelaza iz jednog u drugi period,  $t_p$ , i masa dobijenog ekstrakta u tom trenutku prelaza,  $m_p$ , definišu se na osnovu eksperimentalnih podataka. Period konstantnog prenosa mase može se opisati jednačinama (6)-(10). Nakon vremenskog trenutka prelaza procesa iz stacionarnog u nestacionarni period,  $t_p$ , nestacionarni prenos mase opisuje se Fikovim zakonom difuzije ulja iz sfere, tj. čestice prečnika  $2R$ , jednačinom (75-b).

Početni uslov odgovara onom koji opisuje jednačina (77)-a:

$$c_s = c_0 \quad \text{za} \quad -R \leq r \leq R \quad \text{i} \quad t = 0 \quad (77)\text{-a}$$

$$\frac{\partial c_s}{\partial r} = 0 \quad \text{za} \quad r = 0 \quad \text{i} \quad t > 0 \quad (79)$$

$$c_s = 0 \quad \text{za} \quad r = \pm R \quad \text{i} \quad t > 0 \quad (80)\text{-b}$$

Analitičko rešenje ove jednačine je [105]:

$$\frac{c_s(r,t) - c_0}{c_s(R,t) - c_0} = 1 + \frac{2R}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \exp\left(\frac{-D_e n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \sin\left(\frac{\pi n r}{R}\right) \quad (110)$$

Ako se jednačina (110) prevede u oblik da prikazuje zavisnost mase ulja koja zaostaje u česticama čvrste faze u trenutku  $t$ ,  $m_r(t)$ , u odnosu na polaznu masu ulja u semenu  $m_{r,o}$ , u ovom slučaju onu koja se dobije nakon beskonačnog vremena trajanja ekstrakcije, zavisnost ima oblik:

$$\frac{m_r(t)}{m_{r,o}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-D_e n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad (111)$$

Ako se zanemare svi ostali članovi opšteg reda, čija vrednost postaje zanemarljivo mala u dužem vremenskom periodu i zadrži samo prvi član, dobija se jednostavan eksponencijalni model:

$$w(t) = 1 - \frac{6}{\pi^2} \exp(-A_H t) \quad (112)$$

Izraz sa leve strane znaka jednakosti predstavlja odnos mase ulja koja je ekstrahovana iz materijala u nekom trenutku  $t$ , u odnosu na masu ulja koja se može ekstrahovati iz materijala u beskonačnom vremenu trajanja ekstrakcije, odnosno početni sadržaj ulja u materijalu,  $M_0$ . Parametar ovog pojednostavljenog modela  $A_H$  ( $s^{-1}$ ) je:

$$A_H = \pi^2 \frac{F_0}{t}, \quad \text{gde je:} \quad F_0 = \frac{D_e t}{R^2} \quad (113)$$

pri čemu su:  $F_0$  - Furijeov broj,  $D_e$  - efektivni koeficijent difuzije ulja u čvrstoj fazi ( $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ) i  $R$  – poluprečnik čvrste sfere (m). Parametar  $A_H$  se dobija iz nagiba krive koja daje zavisnost  $\ln [(1-w(t))]$  od vremena  $t$ .

U Tabeli 2 dat je pregled fenomenoloških modela baziranih na jednačinama diferencijalnog masenog bilansa, korišćenih za opisivanje natkritične ekstrakcije prirodnih proizvoda, koji je preuzet iz literature [75], uz dodatak novijih modela. Modeli u Tabeli 2 se razlikuju po načinu opisivanja fazne ravnoteže, tipu proticanja natkritičnog fluida kroz ekstraktor, tipu čestica i različitim otporima difuziji rastvorka kroz čvrstu fazu.

**Tabela 2.** Modeli bazirani na jednačinama diferencijalnog masenog bilansa koji su primenjeni za ekstrakciju prirodnih proizvoda natkritičnim  $\text{CO}_2$ .

| Referenca                | Rastvorak <sup>a</sup> | Ravnotežna zavisnost | Čestice <sup>b</sup>   | Proticanje rastvarača <sup>c</sup> |
|--------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------------|
| Lee i sar. [89]          | MU                     | Konstanta            | Bez unutr. otpora      | KT                                 |
| Goto i sar. [98]         | EU                     | Linearna             | Porozne ploče          | M                                  |
| Bartle i sar. [61]       | EU (1,8-cineol)        | Konstanta (0)        | Sfera                  | -                                  |
| Catchpole i sar [78]     | OR,MU                  | Linearna             | Sfera, cilindar, ploča | KT                                 |
| Reverchon [47]           | EU                     | Linearna             | Sfera, cilindar, ploča | KT                                 |
| Roy i sar. [96]          | EU                     | Konstanta            | Neporeag. jezgro       | AD                                 |
| Akgün i sar. [69]        | EU                     | Konstanta            | Neporeag. jezgro       | KT                                 |
| Goodarznia i Eikani [65] | EU                     | Linearna             | Sfera                  | AD                                 |
| del Valle i sar. [76]    | EU, MU                 | Linearna             | Sfera                  | KT                                 |
| Reverchon i Marrone [92] | EU                     | Linearna             | Bez unutr. otpora      | AD                                 |
| Cocero i Garcia [70]     | MU                     | Linearna             | Bez unutr. otpora      | KT                                 |
| Goto i sar. [50]         | EU,V                   | BET                  | Porozna                | M                                  |
| Perrut i sar. [51]       | MU                     | Kombinovana          | Porozna                | KT                                 |
| Sovová [79]              | MU                     | Konstanta            | R+NR                   | KT                                 |
| Sovová i sar. [82]       | MU                     | Konstanta            | R+NR                   | KT                                 |
| Sovová i sar. [81]       | EU                     | Približ. linearna    | R+NR                   | KT                                 |
| Marrone i sar. [83]      | MU                     | Kombinovana          | R+NR                   | KT                                 |
| Reverchon i sar. [77]    | EU, MU                 | Kombinovana          | R+NR                   | KT                                 |
| Reverchon i sar. [84]    | MU                     | Kombinovana          | R+NR                   | KT                                 |
| Reis-Vasco i sar. [66]   | EU                     | Linearna             | R+NR                   | AD                                 |
| Reverchon i Marrone [74] | MU                     | Kombinovana          | R+NR                   | KT                                 |
| Žižović i sar. [59, 68]  | EU                     | Konstanta            | (R+NR)SS <sup>d</sup>  | AD                                 |
| Stamenić i sar. [111]    | EU                     | Konstanta            | (R+NR)SS <sup>d</sup>  | AD                                 |
| Fiori i sar. [112]       | MU                     | Konstanta            | Sfera i R+NR           | AD                                 |

a EU: etarska ulja; MU: Masna ulja; OR: oleorezin; V: voskovi

b R+N: razorene i nerazorene ćelije

c KT: klipni tok; M: mikser; AD: tok sa aksijalnom disperzijom

d SS: sekretorna struktura



Provera primenljivosti odabranih modela i njihovo međusobno upoređivanje izvedeno je u ovom radu na osnovu srednje vrednosti relativnog odstupanja izračunatih pomoću modela ( $Y_{izr}$ ) od izmerenih ( $Y_{eksp}$ ) vrednosti ( $AARD$ ) i standardnog odstupanja ( $SD$ ):

$$AARD = \frac{1}{N - NP} \sum_j \left| \frac{Y_{eksp,j} - Y_{izr,j}}{Y_{eksp,j}} \right| \cdot 100 \text{ (\%)} \quad (114)$$

gde je  $N$  broj eksperimentalnih merenja, a  $NP$  broj parametara u modelu.

i standardnog odstupanja ( $SD$ ):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_j (Y_{eksp,j} - Y_{izr,j})^2}{N - 1 - NP}} \text{ (\%)} \quad (115)$$

### 3.3. KLEKA

Kleka (*Juniperus communis* L., familija *Cupressaceae*) je zimzeleni žbun/drvo koje raste u predelima severne hemisfere (centralna i južna Evropa, jugozapadna i severna Azija, severna Afrika) [113]. Zbog svojih lekovitih svojstava i blagotvornih fizioloških dejstava, pre svega baktericidnog, fungicidnog i insekticidnog delovanja, u isto vreme neškodljivog za razliku od sintetičkih proizvoda iste namene, kao i zbog specifičnog, prijatnog mirisa i arome, bioaktivna isparljiva jedinjenja kleke i proizvodi koji ih sadrže našli su primenu u medicini, farmaciji, veterini, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji, industriji alkoholnih i bezalkoholnih napitaka.

Svi organi ove biljke sadrže etarsko ulje, ali se ono uglavnom dobija iz zrelih plodova ove biljke – bobica kleke (*Juniperi Fructus*), iglica i grančica (*Juniper foliage*). U zavisnosti od geografskog položaja, nadmorske visine, stepena zrelosti i drugih faktora, bobice sadrže 0,2-3,42% etarskog ulja [113]. S obzirom na izuzetan kvalitet plodova sakupljenih u našem regionu [114], moguće je ostvariti značajne ekonomske efekte od prodaje ploda kleke, zbog visoke izvozne cene ploda, ili etarskog ulja dobijenog hidrodestilacijom [115]. Kleka se zato može smatrati važnom industrijskom sirovinom i značajnim ekonomskim faktorom u razvoju nerazvijenih, planinskih i brdovitih krajeva, gde se, po pravilu, nalaze njena bogata staništa. Značajno je i to što kleka uspeva i na neplodnom i zapuštenom zemljištu i ne zahteva posebne agrotehničke mere [115].

Za izdvajanje vrednih komponenata iz kleke u obliku etarskog ulja (*Aetheroleum juniperi*, *Oleum juniperi*) koriste se klasični postupci, kao što su hidrodestilacija (destilacija vodenom parom, vodom i vodenom parom, i destilacija vodom) zgnječenih, osušenih ili delimično osušenih fermentisanih plodova, a poslednjih godina i ekstrakcija usitnjenih plodova tečnim ugljendioksidom u subkritičnim uslovima. Sastav komercijalno dostupnog etarskog ulja dobijenog iz bobica kleke značajno varira, a sastoji se uglavnom od monoterpena (58-85%) [113], od kojih najviše ima  $\alpha$ -pinena (10 do 76%) i velikog broja drugih monoterpena, najviše sabinena (1 do 28%),  $\beta$ -pinena,  $\beta$ -mircena, limonena i terpinen -4 -ola, kao i male količine seskviterpena (2-10,2%) i seskviterpenoidnih derivata sa funkcionalnom kiseonik grupom (aldehida, alkohola, ketona, kiselina). Analiza etarskog ulja dobijenog iz plodova biljke *Juniperus communis* L. bila je predmet mnogih istraživanja [116-129].

Pored etarskog ulja, plod kleke se upotrebljava za dobijanje specijalnih alkoholnih pića (džin, klekovača, brinjevac, i dr.), alkoholnih i ukuvanih vodenih ekstrakata, mikstura, tinktura, čajeva, aromatizovane vode.

U narodnoj i oficijelnoj medicini upotrebljavaju se čajevi i preparati na bazi ekstrakata (tečni, koncentrovani ili suvi) i etarskog ulja ploda kleke. Čajne mešavine plodova kleke sa delovima drugih biljaka, kao i plodovi i etarsko ulje upotrebljavaju se u narodnoj medicini za lečenje tumora, počevši od oteklina usled udarca, preko polipa, bradavica, čak i kancera, za lečenje disajnih puteva, od dispneje preko rinitisa, bronhitisa i uopšte bolesti pluća, za lečenje digestivnog trakta, dispepsije, kolika, gastroenteritisa, dezinterije, holecistitisa (upale žučne kese), kod upale urogenitalnog trakta, nefroze i pijelitisa (upale bubrežne časice), blenoreje, leukoreje, za izbacivanje peska i kamena iz bubrega i za izbacivanje glista, protiv reumatičnih oboljenja, išijasa, kostobolje, artritisa, lumbaga, takođe, za lečenje arteroskleroze i vodene bolesti. Koristi se čak i za lečenje hysterije. U oficijelnoj medicini je poznata primena preparata na bazi etarskog ulja i ekstrakta ploda kleke kao diuretika (delovanje potiče od terpinen-4-ola), urodezinficijensa (pijelitis i cistitis), stomahika (podstiče funkcije želuca), karminativa (olakšava odstranjivanje gasova iz creva), abortiva, za izbacivanje kamena, za lečenje vodene bolesti, disajnih organa i kože, protiv ektoparazita [130-135]. Odnos sadržaja terpinen-4-ola i sume  $\alpha$  - i  $\beta$  -pinena u etarskom ulju kleke može da varira od 1:4 do 1:55. Prvenstveno zbog ove ugljovodonične monoterpenske frakcije, ulje ima iritantna svojstva i antispazmolitički efekat na glatke mišiće [130]. Bobice kleke, etarsko ulje bobica kleke, kao i infuzi, dekoti, tinkture, alkoholni ekstrakti i drugi galenski preparati koji se dobijaju ekstrakcijom bobica kleke na spisku su oficijelnih preparata zvaničnih farmakopeja mnogih zemalja [136-138]. U Britanskoj farmakopeji (*British Herbal Pharmacopoeia*), na primer, poznati su preparati: *Baccae Juniperi tostae*, *Species diureticae*, *Species hydragoge*, *Species Juniperi*, *Species Amare*, *Infusum baccari Juniperi*, *Spiritus Juniperi*, *Spiritus Juniperi compositus*, *Mixtura hydragoga*, *Tinctura Juniperi*, *Elixir potasii Acetatis et Juniperi*, *Extractum Juniperi fluidum* i *Succus Juniperi inspissatus*. Uz to, postoji izvestan broj istraživanja različitih fizioloških efekata koje pokazuju plodovi i etarsko ulje, koja su još na nivou ispitivanja na životinjama, kao što je hipoglikemijski efekat [139], abortivni efekat (zbog izokupresinske kiseline) [140], antiinflamatorno i antikoagulantno svojstvo [141]. Objavljeni su rezultati ispitivanja antimikrobnog (baktericidnog i fungicidnog) delovanja etarskog ulja bobica kleke [127, 132, 133, 135, 142-144]. Antimikrobna aktivnost je potvrđena za pojedine tipove etarskog ulja kleke i pretpostavlja se da je ona posledica ili specifičnog sastava ili aktivnosti nekog još neidentifikovanog jedinjenja [143]. Nikolovski i sar. su prečišćavanjem etarskog ulja ploda kleke dobijenog hidrodestilacijom, natkritičnim ugljendioksidom na određenim uslovima, dobili frakciju ulja izraženijeg antimikrobnog dejstva u odnosu na polazno etarsko ulje [145].

Ipak, najveće količine etarskog ulja bobica kleke (ulja iz koga su uklonjeni seskviterpeni) koriste se u prehrambenoj industriji, kao aromatična komponenta i/ili začim u većini od najznačajnijih kategorija proizvoda ove industrije [113]. Takođe, ovo ulje se koristi i kao mirisna komponenta u kozmetičkoj industriji i industriji parfema [114].

Sa aspekta značaja za industriju aroma i mirisa, jedinjenja koja u sebi imaju kiseonik (kiseonikovi derivati ili oksigenovana jedinjenja) imaju prednost nad ugljovodoničnim terpenskim frakcijama, monoterpenima ( $C_{10}H_{16}$ ) i seskviterpenima ( $C_{15}H_{24}$ ) i smatraju se glavnim nosiocima aromatskih i mirisnih svojstava. Uz to, seskviterpeni dodatno umanjuju miris i aromatske osobine etarskih ulja zbog sklonosti ka vezivanju i usporavanju isparavanja lakšeisparljivih komponenti u ulju (engl. fixative effect). Naravno, treba naglasiti da monoterpeni imaju nezaobilazni značaj u prepoznatljivoj mirisnoj kompoziciji nekog etarskog ulja. Osim toga, monoterpeni imaju dva organoleptička nedostatka: iritiraju kožu, oči i

mukozne membrane i postaju nestabilni pod uticajem svetlosti, toplote i u prisustvu kiseonika, što dovodi do neželjenih promena mirisa i ukusa proizvoda tokom procesa proizvodnje i skladištenja. Na kraju, ugljovodonična terpenska frakcija je nešto slabije rastvorna u vodi, razblaženom alkoholu i rastvaračima koji se koriste u prehrambenoj industriji od oksid-, oksid- ili karboksidi derivata terpena. Iz svega navedenog proizilazi potreba za smanjenjem sadržaja ugljovodoničnih terpena u etarskim uljima, kako bi se dobila bezterpenska ili bezseskviterpenska ulja, ili kako se još nazivaju „ogoljena” ulja (*engl. Folded oils*), koja će u odnosu na polazno etarsko ulje imati veću koncentraciju mirisnih i aromatičnih, oksigenovanih supstanci [114].

Subkritičnom ekstrakcijom [146, 147] i natkritičnom ekstrakcijom [128, 129, 148] može se dobiti etarsko ulje kleke sa znatno nižim sadržajem monoterpena, i stoga sa većim sadržajem komponenata koja imaju aktivna mirisna i aromatska svojstva, u odnosu na tradicionalno dobijena ulja.

Poznato je da za proces ekstrakcije fluidima u stanju bliskom kritičnoj tački i u natkritičnom stanju važi da se na kvalitet sastava ekstrakta može uticati promenom gustine fluida, što se na konstantnoj temperaturi procesa lako postiže promenom pritiska. Na nižim pritiscima u blizini kritične tačke, samo će isparljive komponente, kao što su etarska ulja, da se ekstrahuju. Ukupni ekstrakt će uključivati i voskove, oleorezine, pigmente, masti i neke druge teže isparljive komponente tek na višim pritiscima, kada je gustina fluida približna gustini klasičnih organskih rastvarača. Uticaj pritiska, temperature, veličine čestica i protoka fluida bili su već predmet mnogih istraživanja procesa ekstrakcije bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom. U radovima je uglavnom prikazan sastav ekstrakata bobica kleke dobijenih natkritičnim ugljendioksidom nakon definisanog vremena ekstrakcije: nakon jednog sata ekstrakcije na temperaturi od 40°C i na pritiscima 90 i 125 bar [148] i nakon 2,5 h ekstrakcije na istoj temperaturi i pritisku od 250 bar [128]. U nešto kasnije objavljenim istraživanjima, Damjanović i sar. [129] su ispitivali sastav ekstrakata ploda kleke dobijenih postupkom ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom temperature 40°C i pritiska 90, 120 i 200 bar, pri trajanju procesa 2 h. Uticaj vremena ekstrakcije na kvalitet ekstrakta, koji bi dao odgovor na kinetiku ekstrakcije različitih terpenoidnih frakcija ekstrakta bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom, prvi put su ispitivali Barjaktarović i sar. [149-151], a rezultati tih istraživanja biće prikazani u ovom radu.

### 3.4. SEME TIKVE

Ulje semena tikve spada u grupu nutricionistički najvažnijih jestivih biljnih ulja, zbog izuzetno visokog sadržaja esencijalnih masnih kiselina i značajano visokog sadržaja različitih biološki aktivnih mikronutritienata (tokoferola, sterola, skvalena). Veliki broj istraživanja posvećen je ispitivanju sastava ulja semena obične tikve (*Cucurbita pepo* L.), kao i različitim biološkim i fiziološkim dejstvima ovog ulja, iz čega proizilazi njegova farmakološka primena, odnosno postizanje efekata u lečenju određenih bolesti.

Poslednjih godina sve se više širi gajenje posebne forme obične tikve (*C. pepo* L.), koja se naziva uljana tikva i gaji se zbog semena bogatog uljem. Poznate su dve forme uljane tikve: uljana tikva sa ljuskom i uljana tikva-golica, čije seme nije obloženo čvrstom ljuskom. Među domaćim sortama poznate su uljana tikva-golica „Olinka” i uljana tikva sa ljuskom „Olivija“, koje su selektovane u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu [152, 153]. U poređenju sa tikvinim uljem, veću cenu postižu samo ulja masline ekstra kvaliteta i ponekad ulje od pšeničnih klica [16]. U maloprodaji ulje se može naći ili kao čisto hladno ceđeno ulje iz semena tikve ili u smeši sa drugim jestivim uljima. Hladno presovano ulje iz

semena tikve ima višu cenu u poređenju sa drugim jestivim uljima zbog postupka dobijanja, koji uključuje dosta manuelnog rada.

Ulje dobijeno iz semena uljane tikve (*C. pepo* L.) ima izvrsne organoleptičke osobine, karakteristični ukus, miris i boju. Boja ulja dobijenog presovanjem semena uljane tikve je tamnosmeđe-zelena, sa nijansama crvene koje mogu da se kreću od crvenkasto-oker do tamnocrvene, i ima jaku crvenu fluorescenciju [154]. U prolaznom svetlu boja je smeđe-zelena, a u upadnom tamnocrvena [16]. Ulje se iz semena uljane tikve dobija tako što se nakon drobljenja, seme prži na temperaturi od oko 110°C, 30 min, posle čega se presuje na povišenim temperaturama. Zbog boje i jake sklonosti ka formiranju pene smatra se da se ne može koristiti za kuvanje [154], iako se u zemljama zapadne Afrike i Srednjeg istoka koristi i u te svrhe [155]. Ulje ima aromu prženih koštunjavih plodova zbog pirazina koji nastaju tokom prženja semena pre njegovog presovanja [154]. Široko se koristi kao ulje za salatu u nekim državama Evrope, Nemačkoj, Austriji (posebno u njenim južnim delovima), Sloveniji, Mađarskoj, Hrvatskoj, a sve je veća potrošnja i u Srbiji, kao i u Kanadi i SAD-u. Poznata je medicinska primena ovog ulja, pa čak i samog semena uljane tikve, za lečenje bolesti prostate i bešike, odnosno ublažavanje subjektivnih smetnji pri mokrenju usled povećanja prostate [156]. Takođe, prema nutricionističkim preporukama, ulje iz semena tikve može se koristiti i za olakšavanje tegoba u slučaju hroničnog reumatoznog artritisa (zbog specifičnog odnosa sadržaja masnih kiselina, visokog sadržaja antioksidanata i sinergističkog efekta ostalih komponenata prisutnih u malim količinama), kao i u kombinaciji sa lekovima za snižavanje holesterola u krvi, jer ublažava moguće negativne efekte tih lekova i uz to pospešuje snižavanje sadržaja masti u krvi i pomaže smanjenju krvnog pritiska u kombinaciji sa odgovarajućim lekovima za hipertenziju. Potvrdu navedenih pozitivnih efekata ulja semena tikve daju i farmakološka ispitivanja [157, 158, 159]. Uz to, seme tikve, koje se osim u nekim evropskim zemljama i u Severnoj Americi, konzumira i u Kini, Indiji, Argentini, Meksiku i Brazilu, ima i antiparazitno delovanje, zbog aminokiseline kukurbitina, a prema nekim navodima uzimanje semena tikve pomaže u sprečavanju nastanka najčešće vrste kamena u bubregu na Tajlandu [160]. U literaturi postoji pregledni rad o farmakološkim dejstvima tikve i tehnološkim postupcima kojima se tretira ova sirovina [161].

Sadržaj ulja, odnosno maseni udeo ulja u semenu uljane tikve varira od 42 do 54 %. Kao i svako drugo biljno ulje, ulje semena tikve je kompleksna smeša masnih kiselina, estara masnih kiselina, monoglicerida (1,44%), diglicerida (0,39%) i triglicerida (94,5%), i drugih jedinjenja prisutnih u malim količinama (minornih komponenti), kao što su vitamini (tokoferoli i tokotrienoli 0,03-0,09%), steroli (0,2-0,4%), ugljovodonici (0,62%), fosfolipidi (1%) i pigmenti, koje su neosapunjive materije i koje je moguće ekstrahovati iz smeše produkata reakcije saponifikacije ulja, na čemu se bazira i princip određivanja njihovog sadržaja u ulju.

U ulju obično dominiraju linolna i oleinska kiselina, dok su zasićene masne kiseline, palmitinska i steatinska prisutne u manjim udelima. Tipičan sadržaj masnih kiselina u ulju je sledeći: palmitinska, C16, (9,5-14,5%), stearinska, C18, (3,1-7,4%), oleinska, C18:1, (21,0-46,9 %) i linolna, C18:2, (35,6-60,8%). Ove kiseline čine 98% od ukupnog sadržaja masnih kiselina ulja semena tikve [154, 162, 163]. Sadržaj masnih kiselina u ulju varira u zavisnosti od više faktora (varijeteta tikve, kvaliteta zemljišta na kome je uzgajana biljka, klimatskih faktora i stepena zrelosti biljke) [164-166]. Postoji sve veći broj evidentiranih slučajeva koji pokazuju da nezasićene masne kiseline imaju širok spektar bioaktivnosti, uključujući snižavanje lipoproteina niske gustine, holesterola, kao i da preventivno deluju protiv niza kardiovaskularnih bolesti, protiv benigne hipertrofije prostate i povezanih kliničkih simptoma.

Ulje semena tikve ima veliki sadržaj slobodnih masnih kiselina. Slobodne masne kiseline povećavaju kiselost ulja. Kiselost ulja može se izraziti kao: kiselinski broj, sadržaj

slobodnih masnih kiselina ili kiselinski stepen. Kiselinski broj hladno ceđenog ulje semena tikve golice iznosi 0,72 mg KOH/g ulja [16]. Drugi od dva najvažnija pokazatelja hemijskog kvaliteta, pored kiselosti, je oksidativno stanje ulja.

Uvid u stepen oksidacije ulja, odnosno sadržaj primarnih proizvoda oksidacije (hidroperoksida i peroksida) dobija se određivanjem peroksidnog broja. Podatak o vrednosti peroksidnog broja hladno ceđenog ulja iz semena tikve golice, koji se može naći u literaturi [16] je 1,16 mmol/kg, ali je u istoj literaturi naveden i podatak o kvalitetu nerafinisanog jestivog ulja semena tikve iz drugih država, sa vrednošću peroksidnog broja od 5,3 mmol/kg. Pored peroksidnog broja, za određivanje produkata oksidacije ulja koriste se: anisidinski broj, specifične apsorpcije (R-vrednost) i senzorska ispitivanja. Anisidinski broj omogućuje direktno određivanje sadržaja sekundarnih proizvoda oksidacije, odnosno neisparljivih karbonilnih jedinjenja. U literaturi [16] su date vrednosti anisidinskog broja za dva jestiva nerafinisana hladno ceđena ulja semena tikve od 2,32 i 2,94 ( $100 A_{350nm}^{1\%}$ ), ali i vrednost za ulje na inostranom tržištu od 8,9 ( $100 A_{350nm}^{1\%}$ ). Oksidativna vrednost ulja se dobija računskim putem na bazi peroksidnog i anisidinskog broja i ova veličina daje veoma dobar uvid u stepen nastalih oksidativnih promena, jer obuhvata sadržaj i primarnih i sekundarnih produkata oksidacije. Primeri iz literature za oksidativnu vrednosti nerafinisanog ulja semena tikve su u opsegu 7-24 [16].

Održivost ulja je veoma bitna karakteristika, pošto je na osnovu ove veličine moguće definisati rok upotrebe ulja. Održivost jestivih ulja se najčešće sagledava preko oksidativne stabilnosti ulja [16]. Metode koje se primenjuju za određivanje održivosti zasnivaju se na ubrzanoj oksidaciji ulja, koja se postiže najčešće prodivavanjem vazduha kroz reakcionu posudu u kojoj se nalazi uzorak ulja na povišenoj temperaturi. Nakon određenog indukcionog perioda, kao produkti reakcije autooksidacije izdvajaju se znatne količine isparljivih kiselina, prvenstveno mravlje kiseline, ali i manje količine sirćetne, propionske, buterne i kapronske kiseline, kao i neka druga jedinjenja manje molekulske mase. Ovi isparljivi produkti reakcije autooksidacije ulja uvode se u destilovanu vodu i menjaju provodljivost vodenog rastvora. Aparatom koji automatski beleži električna provodljivost vodenog rastvora u vremenu može se pratiti proces autooksidacije ulja, odnosno može se utvrditi koja je vremenska dužina indukcionog perioda reakcije autooksidacije ulja. Što je indukcioni period duži, ulje ima veću otpornost prema oksidaciji, ima bolju oksidativnu stabilnost, odnosno održivost [16]. Za navedeni princip merenja održivosti ulja koriste Rancimat aparat i/ili OSI instrument. Održivost ulja semena tikve je izuzetno dobra, i na našem tržištu ovo je jedno od najstabilnijih ulja [16]. Rancimat testom, na temperaturi od 100°C, pri protoku vazduha od 18 do 20 dm<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>, za hladno ceđeno ulje tikve golice utvrđeno je da je indukcioni period od 20 do 30,5 h [16]. U literaturi se može naći i podatak o vrednosti Rancimat testa za ulje semena tikve golice, na temperaturi od 120°C, koji iznosi 6,83 h. Za devičansko maslinovo ulje je utvrđena veza između indukcioni perioda na različitim temperaturama, koja važi unutar opsega vrednosti indukcioni perioda od 20,2 do 310,1 h, na temperaturi od 98°C [167]. Za ulje semena tikve slična istraživanja ne postoje, ali ako se primene rezultati navedenog istraživanja za maslinovo ulje, indukcioni period ulja semena tikve, koji je na 120°C imao vrednost 6,83 h, na 98°C bi iznosio oko 36,7 h. Istraživanja stabilnosti ulja semena tikve, koja su obuhvatala ispitivanje uticaja sadržaja oleinske i linolne kiseline, kao i sadržaja vitamina E u ulju, pokazala su da je stabilnost ovog ulja veća ukoliko je sadržaj linolne kiseline manji, a sadržaj oleinske kiseline veći, što je posledica različite brzine oksidacije ove dve kiseline, kao i da vitamin E, u koncentracijama u kojima se prirodno nalazi u ulju semena tikve, nema značaja na stabilnost ulja [154]. Nasuprot očekivanjima, dodavanjem  $\alpha$ -tokoferola u ulje semena tikve, tako da koncentracije  $\alpha$ -tokoferola budu veće od 1 mg g<sup>-1</sup> ulja, smanjivala se

stabilnost ulja, odnosno skraćivao se indukcioni period. Još uvek nije razjašnjeno oksidativno ponašanje ulja semena tikve, pošto u njemu postoji veliki broj supstanci koje imaju antioksidativne osobine (polifenoli), pro-oksidativne osobine (npr. protohlorofil i protofeoptin) i/ili supstanci koje u različitim koncentracijama mogu da deluju i antioksidativno i pro-oksidativno ( $\alpha$ -tokoferol) [154].

Vitamin E je jedan od osnovnih nutrijenata rastvornih u mastima i sastoji se od osam različitih izomera, koji uključuju  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol i njima odgovarajuće tokotrienole, razlikujući se po broju i poziciji metil grupa na hromatskom prstenu i po zasićenom (tokoferoli) i nezasićenom (tokotrienoli) bočnom lancu. Sadržaj vitamina E, posebno  $\gamma$ -tokoferola, u ulju semena tikve je visok [166]. Prema Murkovic i sar. [166], sadržaj  $\gamma$ -tokoferola u semenu tikve (*Cucurbita pepo*) je u opsegu od 41 do 620 mg kg<sup>-1</sup>. Ukupni tokoferoli u ulju semena tikve sorte Olinka nađeni su u količini od 650 mg kg<sup>-1</sup>, a  $\gamma$ -tokoferol iznosi 90% od te količine [16]. Prema drugim autorima, takođe, sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u ulju semena tikve je od 5 do 10 puta niži u odnosu na sadržaj  $\gamma$ -tokoferola [166]. Sadržaj tokoferola u ulju zavisi, pored sorte semena, klime i metode određivanja i od uslova procesa kojim se dobija ulje [168, 169]. Vitamin E je izuzetno značajan prirodni antioksidant, koji usporava i zaustavlja širenje reakcije peroksidacije lipida, vezujući se za reaktivne kiseonične vrste, i time štiti ćelijske membrane i lipoproteine od oksidativnog oštećenja. Pored antioksidativne aktivnosti, vitamin E usporava i sprečava nastanak arteroskleroze, ima antiinflamatorno dejstvo i ima ulogu u sprečavanju nastanka neplodnosti kod životinja [170]. U literaturi [168] se može pronaći podatak da  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol pokazuju mnogo veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na  $\alpha$ - i  $\beta$ -tokoferol. Međutim, smatra se da  $\alpha$ -tokoferol u odnosu na sve ostale tokoferole ima najveći vitaminski potencijal [168]. U inertnoj sredini (bez kiseonika) tokoferoli su stabilni na povišenoj temperaturi, u prisustvu kiselina ili baza, dok se u prisustvu atmosferskog kiseonika sporo oksiduju [55]. Rastvorljivost tokoferola u natkritičnom ugljendioksidu na pritiscima 200-300 bar i temperaturama 40-60°C iznosi 10-40 g kg<sup>-1</sup> ugljendioksida, i približno je ista za različite vrste tokoferola [171]. Stoga bi ekstrakcija natkritičnim ugljendioksidom mogla da omogući ekstrakciju / koncentrisanje tokoferola u ekstraktima iz prirodnih (biljnih) izvora, pri čemu bi bile zadovoljene potrebe potrošača za prirodnim i zdravim proizvodom, strogi propisi o potrebnom kvalitetu jestivih proizvoda i regulativa iz oblasti zaštite životne sredine.

Pored tokoferola, ulje semena tikve je perspektivan prirodni izvor i drugih mikronutritienata, među kojima je najveći sadržaj fitosterola [154, 172]. Steroli ulja semena tikve su specifični za familiju biljaka *Cucurbitaceae* i pretežno su  $\Delta^7$ -tipa, tako da se autentičnost tikvinog ulja upravo može dokazati na osnovu analize ove grupe jedinjenja [163, 173, 174]. Fitosteroli spadaju u grupu biološki aktivnih supstanci i imaju značaj u ljudskoj ishrani. Ispitivani su hipoholesterički, antikancerogeni i drugi efekti koje pokazuju ova jedinjenja [175]. Tradicionalno se fitosteroli koriste u farmaceutskoj industriji i u proizvodnji kozmetičkih preparata, kao sirovina na početku ili u nekoj od faza proizvodnje lekova i hormona. U novije vreme, fitosteroli postaju nezaobilazna komponenta nekih vrsta funkcionalne hrane, pomoćnih lekovitih sredstava i nutricionističkih dodataka. Proizvodnja jestivih ulja bogatih fitosterolima je komercijalizovana [55]. Ekstrakcija fluidima u natkritičnom stanju se pokazala vrlo uspešnom u izolaciji i koncentrisanju sterola iz semena uljarica [176].

Skvalen (2,6,10,15,19,23-heksametil-tetrakosaheksen) je metabolit koji nastaje kao međuproizvod u sintezi holesterola. Kod čoveka, 60% skvalena unesenog hranom apsorbuje se i ravnomerno raspoređuje u tkivima. Skvalen je jedna od osnovnih komponenata lipida kože. Njegova funkcija u organizmu je da štiti površinu kože od peroksidacije lipida, delujući

kao hvatač kiseoničnih radikala. Pored toga, ishrana kojom se obezbeđuje unos dovoljne količine skvalena u organizam životinja može dovesti do snižavanja nivoa holesterola i triglicerida [177]. Kod čoveka, moguće je da će prisustvo skvalena u ishrani pojačati dejstvo lekova koji snižavaju nivo holesterola u krvi. Uz to, osnovna terapijska primena skvalena je kao dodatni lek u terapiji različitih tipova kancera [178]. Skvalen se u početku prvenstveno dobijao iz ulja jetre ajkule. Značaj skvalena za kozmetičku i farmaceutsku industriju i potreba za novim izvorom skvalena („biljnim“ skvalenom) doveo je do razvoja metoda za njegovo izolovanje i prečišćavanje iz različitih sirovina. Pored preparativnih metoda, kao što su molekulska destilacija i ubrzana protivstrujna hromatografija, za izolovanje i prečišćavanje skvalena koristi se i natkrična ekstrakcija [179].

U ulju semena tikve postoji veći broj pigmenata u značajnoj količini. Otkriven je veliki broj karotenoida, pri čemu je najveći sadržaj  $\beta$ -karotena i luteina, dok su od ostalih prisutni: violaksantin, luteoksantin, auroksantin, flavoksantin, hrizantemaksantin,  $\alpha$ -kriptoksantin i  $\alpha$ -karoten. Karotenoidi se koriste u prehrambenoj industriji za poboljšanje boje i sadržaja vitamina u mnogim različitim namirnicama. Unos hrane bogate karotenoidima može smanjiti rizik nastanka raka, usporiti degeneraciju makule (žute mrlje u oku) do čega dolazi starenjem, kataraktu, oštećenja kože usled opekotina od sunca i kardiovaskularne bolesti [170]. Karotenoidi se često dodaju hrani ne samo zbog toga što su antioksidanti, već i zbog toga što kao prirodni pigmenti, obezbeđuju boje proizvoda od žute i narandžaste do crvene. Zajedno sa tokoferolima, karotenoidi se dodaju kao aditivi u kozmetičkim kremama i sličnim proizvodima. Treba napomenuti da su tokoferoli i karotenoidi nestabilni kada su izloženi ekstremnim vrednostima pH, lako se oksidišu, smeta im svetlost i toplota [180]. Izdvajanje karotena iz biljnog materijala fluidima u natkričnom stanju nije značajno na pritiscima od oko 100 bar, ali se sa povećanjem pritiska drastično povećava mogućnost njihovog dobijanja ovim postupkom ekstrakcije. Razlika u rasvorljivosti  $\beta$ -karotena i luteina ukazuje da se razdvajanje ova dva proizvoda može postići na pritisku od 300 bar, pri kome je rastvorljivost karotena približno četiri puta veća od rastvorljivosti luteina. Najbolji ekstrakcioni uslovi za izdvajanje  $\beta$ -karotena su temperatura  $70^{\circ}\text{C}$  i pritisci preko 400 bar [14].

Pored navedenih nutrijenata prisutnih u ulju, treba napomenuti da u semenu tikve ima dosta lignana, od kojih je najznačajniji sekoizolaricirezinol, supstanca sa estrogenom aktivnošću [181].

Od fizičko-hemijskih karakteristika hladno ceđenog ulja iz semena tikve, na temperaturi  $20^{\circ}\text{C}$ , treba izdvojiti da je gustina u opsegu od 917 do  $924\text{ kg m}^{-3}$ , indeks refrakcije je oko 1,472, a vrednosti koeficijenta dinamičke viskoznosti, na osnovu iste literature [16], ali na temperaturi od  $37,5^{\circ}\text{C}$  je  $0,0311\text{ Pa s}$ .

Ekstrakcija fluidima u natkričnom stanju koristi se za dobijanje ukupnih lipidnih ekstrakata iz semena mnogih uljarica, a pokazala se takođe vrlo uspešnom u izolaciji i koncentrisanju sterola iz semena uljarica, za dobijanje skvalena iz biljnih sirovina i koncentrisanje tokoferola. Zbog osetljivosti vitamina rastvornih u mastima (tokoferoli i karotenoidi) na toplotu i prisustvo kiseonika, njihova ekstrakcija natkričnim ugljendioksidom je izuzetna alternativa klasičnim ekstrakcionim tehnikama. Takođe, proteini iz semena i nutrijenti zaostali u semenu nakon natkrične ekstrakcije, koji u procesu nisu bili izloženi visokoj temperaturi, mogli bi se koristiti bez dodatnog prečišćavanja od ostataka organskog rastvarača, što bi bio slučaj u klasičnoj ekstrakciji.

Biljna ulja dobijena ekstrakcijom natkričnim fluidima spadaju u grupu najinteresantnijih proizvoda koji se mogu dobiti ovom savremenom tehnikom ekstrakcije. U literaturi se može naći veliki broj biljnih sirovina iz kojih je dobijeno ulje natkričnom

ekstrakcijom, kao što su: seme suncokreta [17, 51], soja [17, 39, 182-185], seme uljane repice [2, 17, 73], Canola sorta uljane repice [89, 90], seme lana [186-188], pamukovo seme [183, 189], kukuruzne klice [87, 190], pšenične klice [191, 192], ovas [193], ljuske pirinča [194], noćurak (*Oenothera biennis*) [40, 195], jajoba [196], badem [83], kikiriki [197], kopar/mirođija [77], semnje grožđa [80, 198], semenke paradajza [102], seme šipka [84, 109], seme žalfije, celera i koriandera [78], seme boražine [199], koštice masline [100], palmine koštice [200], seme šafranike (*Carthamus tinctorius*), crna ribizla (*Ribes nigrum*), vučji trn (vukodržica) (*engl. sea buckthorn*) (*Hippophae rhamnoides*) [82] i neke druge sirovine iz kojih se dobijaju specijalna/posebna biljna ulja.

Pre 2003. godine, kada su Barjaktarović i sar. [201] započeli sa ispitivanjima ekstrakcije semena tikve golice (*C. pepo* convar. *citrullina*) natkritičnim ugljendioksidom, prema saznanjima autora, u literaturi nije bilo istraživanja natkritične ekstrakcije semena tikve. Nakon toga, objavljeni su rezultati istraživanja ekstrakcije ulja iz crnog (*Cucurbita moschata*) [202] i belog (*Cucurbita ficifolia*) [202, 203] semena tikve natkritičnim ugljendioksidom. Bernardo-Gil i Cardoso Lopez [203] su optimizovali osnovne parametare procesa: pritisak, temperaturu i brzinu fluida u opsegu vrednosti, redom, 180-200 bar, 308-318 K i 0,050-0,082 cm s<sup>-1</sup> (protok u opsegu 2,32-4,10 kg h<sup>-1</sup>) i dobili optimalne vrednosti ovih veličina (190 bar, 308 K i 0,060 cm s<sup>-1</sup>). U ovom istraživanju ekstrahovano je 20 g semena, srednje veličine prečnika čestica 0,36 mm, u trajanju od 120 min. Slično tome, Wenly i sar. [202] su odredili optimalne vrednosti pritiska, temperature i protoka ugljendioksida u procesu natkritične ekstrakcije ulja iz crnog i belog semena tikve u opsegu vrednosti parametara: 150-300 bar, 303-323 K i 10-40 kg h<sup>-1</sup>. Prema autorima, optimalna vrednost pritiska trebala bi biti od 250 do 300 bar, temperatura 318 K i maseni protok ugljendioksida od 30 do 40 kg h<sup>-1</sup>. Na žalost, u radu nema podataka o masi semena iz koga je ekstrahovano ulje (materijal je punjen u nosače (čaure) zapremine 1 dm<sup>3</sup>), a čestice su bile prečnika u opsegu 60-80 mesh. Jedno novije istraživanje dostupno u literaturi [204] obuhvatilo je ekstrakciju 12 varijeteta semena tikve natkritičnim ugljendioksidom i ovi su rezultati upoređeni sa rezultatima ubrzane ekstrakcije klasičnim rastvaračem. U ovom radu je takođe ekstrahovana i pogača koja zaostaje nakon presovanja. S obzirom da podaci istraživanja drugih autora, dostupni u literaturi, ne pružaju nikakve informacije o kinetici natkritične ekstrakcije ulja iz semena tikve golice, između ostalog, i to će biti jedan od ciljeva ovoga istraživanja.



## 4 EKSPERIMENTALNI DEO

### 4.1. MATERIJAL

#### 4.1.1. KLEKA

Bobice kleke nabavljene su iz Fabrike eteričnih ulja, Etol (Celje, Slovenia). Sadržaj vlage u sirovom materijalu, određen titracijom (Mettler Toledo DL31 Karl-Fisher titrator) bio je 15,0% (0,1502 kg H<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup> vlažnog materijala). Nakon sušenja vazduhom temperature 30°C u konvektivnoj sušnici, pri čemu je maseni udeo vlage u materijalu smanjen na oko 8%, materijal je samleven u malim porcijama, kako bi se izbeglo pregrevanje. Samleveni materijal je zatim prosejan na sistemu sita prečnika otvora: 0,100, 0,150, 0,200, 0,250, 0,400, 0,630 0,800 i 1,000 mm na mehaničkoj tresilici (Laborette, Fritschs, Germany). S obzirom da je bilo potrebno ispitati i uticaj veličine čestica na kinetiku ekstrakcije, u eksperimentima su korišćene čestice tri različita stepena usitnjenosti, odnosno, frakcije čestica sakupljenih između sledećih sita: 0,100-0,250, 0,250-0,400 i 0,630-1,000 mm, srednjih prečnika: 0,20 mm, 0,325 mm i 0,75 mm. Sadržaj etarskog ulja u materijalu, utvrđen na način propisan Farmakopejom [137] bio je 0,70% (V/m) ili 0,60% (m/m). Gustina na ovaj način dobijenog ulja, izmerena digitalnim gustinomerom DMA46 (Anton Paar, Graz, Austrija) na temperaturi 20°C bila je 0,8612 g ml<sup>-1</sup>.

Hemijska analiza bobica kleke uređena je Laboratoriji za Tehnologiju proizvoda od voća i povrća, Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu. Sadržaj suve materije u materijalu bio je 84,67%, ukupna kiselost (vinska kiselina) 0,65%, pepeo 2,02%, ukupni šećeri 30,56 %, direktno redukujući šećeri 27,81% i saharoza 2,61%.

Gustina čvrstog materijala izmerena je pomoću piknometra sa helijumom (Multi volume pycnometer 1305, Micrometrics, USA) i iznosila je za tri frakcije čestica od najmanjeg do najvećeg prečnika: 1509,3 kg m<sup>-3</sup>, 1496,2 kg m<sup>-3</sup> i 1389,7 kg m<sup>-3</sup>. Prividna gustina materijala određena je piknometrijskom metodom sa živom i iznosila je za tri frakcije čestica od najmanjeg do najvećeg prečnika: 616 kg m<sup>-3</sup>, 645 kg m<sup>-3</sup> i 767 kg m<sup>-3</sup>. Nasipna gustina materijala za čestice istih prečnika iznosila je: 452, 399 i 371 kg m<sup>-3</sup>.

Sadržaj voskova u ekstraktima određen je zagrevanjem uzoraka na 165°C u sušnici, pri čemu je neisparljivi ostatak predstavljao voskove.

#### 4.1.2. SEME TIKVE

Seme tikve golice (*Cucurbita pepo* convar. *citrullina*) kupljeno je u prodavnici zdrave hrane (Maribor, Slovenia). Sadržaj vlage u sirovom materijalu, određen titracijom (Mettler Toledo DL31 Karl-Fisher titrator) bio je 0,0971±0,0015 kg H<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup> vlažnog materijala. Materijal je samleven neposredno pre ekstrakcije, u malim porcijama, da bi se izbegao uticaj velikog porasta temperatura u toku mlevenja. Samleveni materijal je zatim prosejan na sistemu sita prečnika otvora: 0,200, 0,250, 0,315, 0,400, 0,500, 0,630 0,800 i 1,000 mm na

mehaničkoj tresilici (Laborette, Fritschs, Germany). Merenjem masa na sitima utvrđen je srednji prečnik čestica od 0,60 mm.

Početni sadržaj ulja u materijalu može se proceniti ili ekstrakcijom materijala klasičnim rastvaračima (*n*-heksan ili petroletar) u dovoljno dugom vremenskom periodu, ili asimptotskom regresijom eksperimentalno dobijenih ekstrakcionih krivih za beskonačno vreme ekstrakcije.

Sadržaj ulja u usitnjenom semenu tikve, određen ekstrakcijom *n*-heksanom na sobnoj temperaturi uz intenzivno mešanje u toku 12 časova i uparavanjem dobijenog ekstrakta, iznosi  $42,9 \pm 1,7\%$  u odnosu na masu vlažnog materijala. U eksperimentima su korišćene čestice iz tri različite frakcije u opsegu prečnika: 0,315-0,500, 0,500-0,630 i 0,630-0,800 mm, srednjih prečnika redom: 0,40 mm, 0,56 mm i 0,72 mm. Frakcija najsitnijih čestica dobijena je kao smeša semena zadržanog na sitima otvora 0,400 mm i 0,315 mm. Za čestice stepena usitnjenosti od najkrupnijih do najsitnijih maksimalne količine ulja, u gramima, koje se mogu ekstrahovati iz 100 g vlažnog materijala *n*-heksanom u ekstraktoru tipa Sokslet iznose redom:  $40,5 \pm 1,2\%$ ,  $44,1 \pm 1,1\%$  i  $47,9 \pm 1,1\%$ . U literaturi je poznato da može doći do segregacije čestica materijala u toku mlevenja ili nekog drugog predtretmana u frakcije sa različitim sadržajem ulja, koje se mogu izdvojiti prosejavanjem, tako da rezultati različitog sadržaja ulja u frakcijama nisu neuobičajena pojava [90].

Gustina čvrstog materijala izmerena je pomoću piknometra sa helijumom (Multi volume pycnometer 1305, Micrometrics, USA) i iznosila je za tri frakcije čestica od najmanjeg do najvećeg prečnika:  $1151,8 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $1166,4 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $1249,8 \text{ kg m}^{-3}$ . Prividna gustina materijala određena je piknometrijskom metodom sa živom i iznosila je za tri frakcije čestica od najmanjeg do najvećeg prečnika:  $610 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $616 \text{ kg m}^{-3}$  i  $624 \text{ kg m}^{-3}$ . Nasipna gustina materijala za čestice istih prečnika iznosila je: 510, 467 i 408  $\text{kg m}^{-3}$ .

Uz to, kako bi se proverili rezultati ispitivanja kinetike ekstrakcije i na aparaturi većih dimenzija, urađena je još jedna serija eksperimenata sa semenkama tikve golice (*C. pepo* convar. *citrullina*), kupljenim u lokalnoj prodavnici zdrave hrane (Novi Sad, Srbija). Seme je usitnjeno mlevenjem na laboratorijskom mlinu (Młynek laboratoryjny WŻ-1, Bydgoszcz, Poland). Mlevene su male količine semena kako bi se izbeglo pregrevanje materijala u toku usitnjavanja. Sadržaj vlage u semenu ( $0,091 \text{ kg H}_2\text{O kg}^{-1}$  vlažnog materijala) određen je neposredno pre ekstrakcije gravimetrijskom metodom sušenjem vazduhom u laboratorijskoj sušnici na temperaturi  $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , do konstantne mase, odnosno dok promena mase nije postala manja od 0,5 mg, mereno na analitičkoj vagi (Ohaus, Adventurer SL, NY, USA). Da bi se izdvojile frakcije različitog srednjeg prečnika, samleveni materijal je prosejan na setu sita proizvođača ERWEKA GmbH (Heusenstamm, Germany) sa osam sita veličine otvora 0,1, 0,16, 0,315, 0,8, 2, 3,15, 4 i 10 mm. Za eksperimente su korišćene tri frakcije čestica. Najkrupnije čestice dimenzija u intervalu vrednosti 0,8-2,0 mm, čestice srednje veličine u intervalu vrednosti prečnika od 0,315-0,8 mm i najsitnije čestice dimenzija od 0,16-0,315 mm, odnosno čestice srednjih prečnika, redom: 1,4 mm, 0,56 mm i 0,24 mm. Samleveno seme je do ekstrakcije čuvano u staklenim teglama na temperaturi  $4^\circ\text{C}$ .

Seme tikve srednjeg prečnika čestica od 0,56 mm ekstrahovano je *n*-heksanom postupkom po Soksletu, u trajanju od 20 ciklusa. Iz tri ponovljena merenja utvrđen je sadržaj ulja od  $43,4 \pm 1,6\%$  u odnosu na masu vlažnog materijala. Prinos ekstrakcije petroletrom, na uslovima istim kao i za *n*-heksan, iznosio je  $44,6 \pm 2,0\%$ . Ekstrakcijom *n*-heksanom sitnije frakcije čestica, srednjeg prečnika 0,24 mm, dobijeno je  $47,6 \pm 1,9\%$  ulja, a petroletrom  $48,5 \pm 1,2\%$  ulja.

### 4.1.3. HEMIKALIJE

U eksperimentima su korišćeni sledeći klasični rastvarači: *n*-heksan (p.a. grade) (Merck, Darmstadt, Germany) i petroletar, temperature klučanja 40-65°C, (cat. nr. 30756) (Lach-Ner, Neratovice, Czech Republic).

Standardi terpena obezbeđeni preko Fabrike etaričnih ulja Etol (Celje, Slovenia) su:  $\alpha$ -pinen (>98%) (Crystal J.S.C., Bulgaria),  $\beta$ -pinen,  $\gamma$ -terpinen, *p*-cimen,  $\beta$ -mircen, terpinolen, terpineol (sadrži terpeneske alkohole >98 % uključujući  $\alpha$ + $\gamma$ -terpineol >70 %) (Crystal J.S.C., Bulgaria). (+)-Limonen (minimum 97%) je kupljen od dobavljača Sigma (Taufkirchen, Germany).

Smeša metilestara masnih kiselina FAME MIX 18910 1-AMP (Supelco, Bellefonte, USA), koja se sastoji od metilestara sledećih kiselina: kaprilne (C8:0), kaprinske (C10:0), laurinske (C12:0), tridekanske (C13:0), miristoleinske (C14:1), miristinske (C14:0), pentadekanske (C15:0), palmitoleinske (C16:1), palmitinske (C16:0), heptadekanske (C17:0), linolenske (C18:3), linolne (C18:2), elaidinske (C18:1 trans), oleinske (C18:1 cis), stearinske (C18:0), gondoinske (C20:1), arahinske (C20:0), behenske (C22:0) i eruka (C22:1) kiseline, korišćena je za pravljenje standardnih rastvora pri određivanju sadržaja masnih kiselina u ekstraktima semena tikve.

Tokoferoli ( $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol) (HPLC) su kupljeni od dobavljača Sigma (Vienna, Austria).

Holesterol (holest-5-en-3 $\beta$ -ol) standard je kupljen od ABCR GmbH&Co. KG, (Karlsruhe, Germany), stigmaterol (24 $\alpha$ -etilholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol) standard od MP Biomedicals (Eschwege, Germany),  $\beta$ -sitosterol (24 $\alpha$ -etilholest-5-en-3 $\beta$ -ol) standard od Calbiochem (Darmstadt, Germany) i betulin (lup-20[29]-en-3 $\beta$ ,28-diol) unutrašnji standard od Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Metanol, *terc*-butil-metiletar i dihlormetan, za analizu sterola, kupljeni su od JT Baker (Deventer, Holland), a etil acetat od proizvođača Carlo Erba (Rodano, Italy). Anhidrovani piridin i anhidrovani natrijumsulfat su kupljeni od proizvođača Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland), a derivatizacioni reagens *N*-metil-*N*-trimetilsililtrifluoroacetamid (MSTFA) od Macherey-Nagel (Düren, Germany). Silika gel, veličine čestica 0,075-0,150 mm, kupljen je od proizvođača Analtech (Newark, USA).

*n*-Heksan i 2-propanol (HPLC čistoće), koji su korišćeni kao mobilna faza u HPLC analizi ulja iz semena tilve, kupljeni su od dobavljača Merck (Darmstadt, Germany).

Aceton tehničke čistoće korišćen za čišćenje aparature za natkritičnu ekstrakciju.

Čistoća CO<sub>2</sub> je bila 99,97%, a kupljen je od Messer-Griesheim (Rushe, Slovenia).

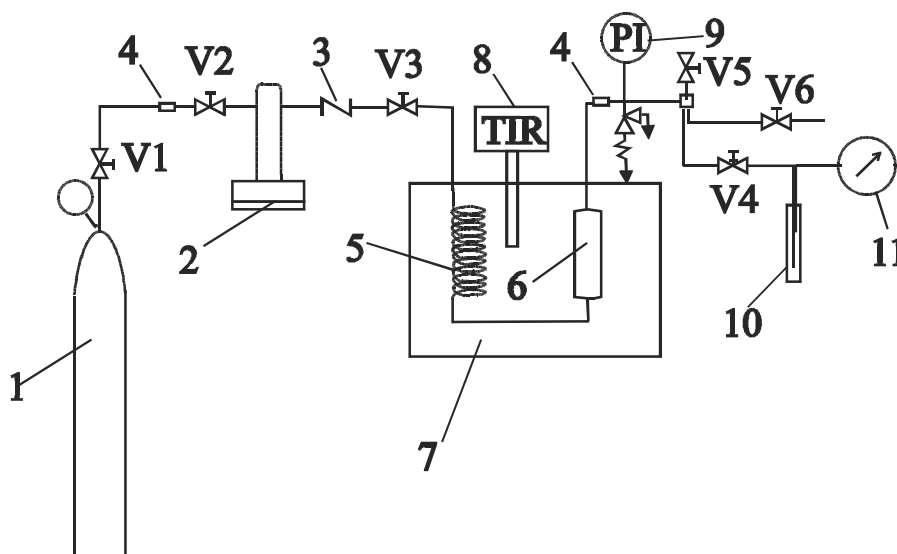
Za eksperimente sa natkritičnim ugljendioksidom izvedene na aparaturi u Novom Sadu, korišćen je ugljendioksid čistoće 99%, proizvođača Tehno-gas (Novi Sad, Srbija).

## 4.2. NATKRITIČNA EKSTRAKCIJA

### 4.2.1. LABORATORIJSKA APARATURA ZA NATKRITIČNU EKSTRAKCIJU

Natkritična ekstrakcija bobica kleke i semena tikve izvedena je na laboratorijskoj aparaturi Laboratorije za Separacione procese, Fakulteta za hemiju i hemijske tehnologije, Univerziteta u Mariboru (Slika 9).

Sistem se sastoji od: rezervoara za gas (boce sa komprimovanim ugljendioksidom) (1), pumpe za visoke pritiske kojom se CO<sub>2</sub> komprimuje do željenog pritiska i transportuje kroz sistem, sa mogućnošću digitalnog očitavanja protoka u sistemu (ISCO klipna pumpa, model 260D, maksimalnog pritiska 35 MPa, Lincoln, Nebraska, USA) (2), spiralnog namotaja u ulozu predgrejača (5), ekstraktora (autoklava) unutrašnje zapremine 60 ml i prečnika 19,5 mm (6), posude za sakupljanje ekstrakta (staklene kivete) (10) i gasnog sata (11), kojim se meri ukupna potrošnja ugljendioksida (gasni sat, Elster Handel GmbH, Mainz, Germany). Predgrejač i ekstraktor su uronjeni u vodeno kupatilo (7), termostatorano sa preciznošću  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (8) (termostat Lauda DR.R. Wobser GmbH&Co. KG, Lauda-Königshofen, Germany). Manometrom (9), opsega 0÷50 MPa (manometar, Digibar PE200 Hottinger Baldwin, Darmstadt, Germany) se prati pritisak u ekstraktoru sa preciznošću  $\pm 0,05$  MPa.



**Slika 9.** Aparatura za ekstrakciju pod visokim pritiscima: (1) rezervoar za gas, (2) ISCO klipna pumpa, (3) povratni ventil, (4) mikro-filter, (5) predgrejac, (6) ekstraktor, (7) vodeno kupatilo, (8) regulator temperature, (9) manometar, (10) kiveta za sakupljanje ekstrakta (separator), (11) gasni sat, (V1-V3), (V5), (V6) on-off ventili, (V4) igličasti ventil (mikrometerski)

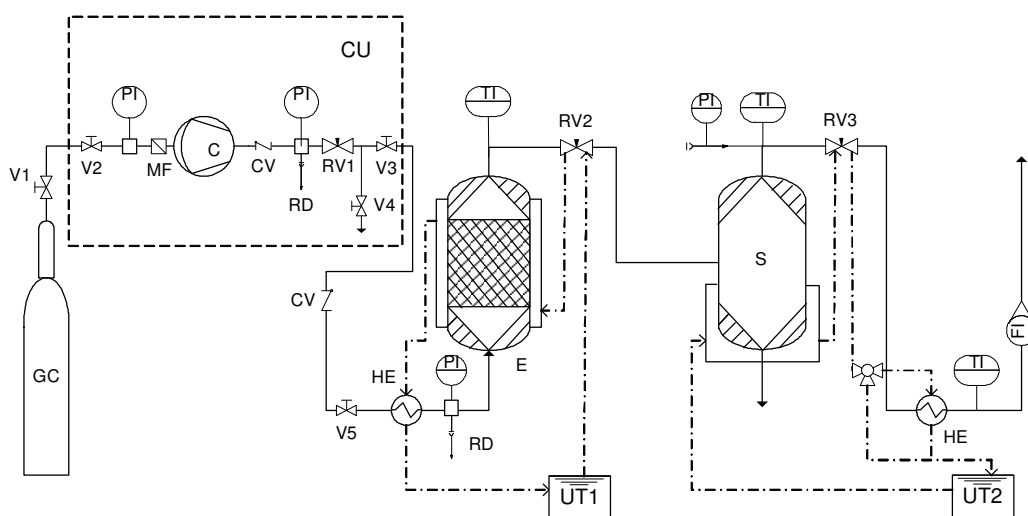
Svi delovi aparature povezani su vodovima prečnika 1/8" (Dockwieler, Germany). Vodovi su pričvršćeni za pumpu Valco spojnicama (Valco, Inc., Houston, TX). Svi ventili (V1, V2, V3, V5, V6), nepovratni ventil (3), igličasti regulacioni ventil (V4) i spojnice (Autoclave Engineers) u sistemu mogu da izdrže pritiske do 75,8 MPa. Između boce sa CO<sub>2</sub> i ulaza u pumpu, kao i na izlaznom vodu iz ekstraktora postavljena su dva mikro-filtera (10 μm) (4), koji sprečavaju prolaz eventualno prisutnih suspendovanih čvrstih čestica kroz sistem. Igličasti ekspanzioni ventil (V4), ventil (V5) i vod koji vodi do posude za sakupljanje ekstrakta su obmotani grejnim trakama da bi se sprečilo smrzavanje usled nagle ekspanzije gasa. Nakon prolaska fluida kroz igličasti ventil, njegov pritisak pada sa vrednosti pritiska u ekstraktoru na vrednost atmosferskog pritiska, ugljendioksid prelazi u gasno stanje i iz separatora preko gasnog sata izvodi se iz sistema, a ekstrakt oslobođen rastvarača taloži se u posudi za sakupljanje ekstrakta, koja služi kao separator. Separator na atmosferskom pritisku temperira se na  $(-13 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ .

Ekstrakcija se izvodi tako što se CO<sub>2</sub> provodi odozdo na gore kroz sloj nasutih čestica samlevenog biljnog materijala, nakon njegovog prvobitnog temperiranja. Na uslovima pritiska i temperature u ekstraktoru, ugljendioksid se nalazi u natkritičnom stanju, odnosno predstavlja

natkritični fluid. Sloj je u svim eksperimentima imao masu od oko 20 g ( $\pm 0,05$  g), a masa materijala u sloju je izmerena analitičkom vagom (sa preciznošću 0,1 mg). Svaki pojedinačni eksperiment sastoji se od niza ciklusa tokom kojih CO<sub>2</sub> kontinualno protiče kroz sloj, isprekidanih periodima u toku kojih se puni cilindar pumpe visokog pritiska (oko 120 s), a kroz materijal pod pritiskom u ekstraktoru ne protiče CO<sub>2</sub>. Dobijeni ekstrakt sakuplja se u staklene kivete, a prinos se meri analitičkom vagom. Do analize, ekstrakt se čuva na hladnom.

#### 4.2.2. PILOT POSTROJENJE ZA NATKRITIČNU EKSTRAKCIJU (NOVA-SWISS, HIGH PRESSURE EXTRACTION PLANT)

Kako bi se proverili rezultati ispitivanja kinetike ekstrakcije ulja iz semena tikve dobijeni natkritičnom ekstrakcijom na laboratorijskoj aparaturi, ali i u cilju dobijanja veće količine proizvoda za potrebe detaljnijih analiza i eventualne naknadne upotrebe ekstrakta, urađena je još jedna serija eksperimenata ekstrakcije ulja iz semena tikve natkritičnim ugljendioksidom na aparaturi većih dimenzija. Naime, usitnjeno seme tikve je ekstrahovano ugljendioksidom u natkritičnom stanju u uređaju za ekstrakciju pod visokim pritiskom NOVA-SWISS, High Pressure Extraction Plant 565.0156 (Nova Werke LTD, Effretikon, Switzerland), koja se nalazi u Laboratoriji za Farmaceutsko inženjerstvo, na Tehnološkom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu (Slika 10). Detaljan princip rada uređaja, kao i njegove fotografije mogu se naći u literaturi [205].



**Slika 10.** Šema uređaja za ekstrakciju pod visokim pritiskom (High pressure Extraction plant, NOVA-Swiss). GC- gasni cilindar, CU- kompresorska jedinica, C- kompresor sa dijafragmom, E- ekstraktor, S- separator, HE- razmenjivač toplote, UT- ultratermostat, RV – regulacioni ventil, V-ventil, MF- mikrofilter, CV- nepovratni ventil, RD- rupturni disk, PI – merač pritiska, TI- merač temperature, FI-merač protoka.

Za kompresiju ugljendioksida iz boce (GC) koristi se kompresorska jedinica (CU) čiji je glavni deo kompresor sa dijafragmom (C). Konstantan pritisak ekstrakcije obezbeđuje regulator pritiska koji radi na principu sistema sa povratnom spregom. U okviru kompresorske jedinice nalaze se i regulacioni vrentil RV1, kojim se podešava željeni radni pritisak, kao i kontaktni manometar na kome se postavljaju najniža i najviša vrednost pritiska u zavisnosti od željenog radnog pritiska. Nakon izlaska iz kompresorske jedinice, ugljendioksid se zagreva

u razmenjivaču toplote (HE), a zatim se uvodi u ekstraktor (E) na njegovom dnu. Na ulazu u ekstraktor postavljen je indikator pritiska ( $\pm 0,1$  MPa) (PI). Ekstraktor je kapaciteta oko  $200 \text{ cm}^3$ , unutrašnjeg prečnika 40 mm i visine 160 mm, projektovan za maksimalnih  $70 \text{ MPa}/100^\circ\text{C}$ . Oko ekstraktora postoji grejna obloga kroz koju struji termostatirana voda. Indikator temperature (TI), na vrhu ekstraktora, omogućava digitalno praćenje temperature ekstrakcije ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). Nakon prolaska ugljendioksida kroz nasut sloj materijala, struja ugljendioksida u kojoj se nalazi ekstrakt izlazi na vrhu ekstraktora i zatim se propušta kroz zagrevani ekspanzioni regulacioni ventil (RV2). Ovim ventilom se, takođe, podešava željeni protok ugljendioksida. Pomenuti regulacioni ventil, ekstraktor i razmenjivač toplote zagrevaju se istim grejnim fluidom, vodom koja se greje i održava na željenoj vrednosti temperature ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) ultratermostatom (UT1). Ekstrakt koji je bio rastvoren u ugljendioksidu na pritisku ekstrakcije, nakon smanjenja pritiska izdvaja se iz rastvora i sakuplja u staklenoj kiveti smeštenoj na dnu separatora (S). Separator je autoklav projektovan za maksimalnih  $70 \text{ MPa}/100^\circ\text{C}$ , zapremine  $200 \text{ cm}^3$ , unutrašnjeg prečnika 40 mm, a radna temperatura u separatoru se održava prolaskom termostatiranog fluida kroz grejnu oblogu (ultratermostat UT2). Željeni pritisak u separatoru održava se pomoću regulacionog ventila RV3, postavljenog na vod kojim se ugljendioksid oslobođen ekstrakta izvodi iz separatora. Odgovarajućim indikatorima omogućeno je praćenje temperature i pritiska u separatoru. Pre izlaska iz uređaja, ugljendioksid prolazi kroz još jedan razmenjivač toplote, meri mu se temperatura, a zatim, na samom izlazu iz sistema, prolazi kroz merač protoka, mernog opsega od 0,059 do 4,950 kg/h.

Ekstrakciji prethodi termostatiranje materijala u atmosferi ugljendioksida na niskom pritisku (oko 2 MPa), nakon čega se uključuje kompresor koji pumpa ugljendioksid u ekstraktor sve do postizanja željenog pritiska. Kompresor se sam isključuje kada pritisak dostigne najvišu zadatu vrednost na kontaktnom manometru. Proces ekstrakcije počinje otvaranjem regulacionog ventila RV2 (ventil RV3 je otvoren). Nakon određenog vremena trajanja ekstrakcije, zatvara se regulacioni ventil RV2 na neko vreme, u toku koga se separator otvara, vadi staklena kiveta sa ekstraktom i stavlja nova. Masa ekstrahovanog ulja u staklenoj kiveti meri se na analitičkoj vagi. Nakon ovog prekida, nastavlja se ekstrakcija ponovnim otvaranjem ventila iza ekstraktora.

Sloj usitnjenog semena tikve, u svim eksperimentima na ovoj aparaturi, imao je masu oko  $66 \pm 0,05$  g, a masa materijala u sloju je izmerena analitičkom vagom (sa preciznošću 0,1 mg).

Mase materijala u ekstraktorima različitih zapremina (Slike 9 i 10) bile su u istom odnosu kao i zapremine tih ekstraktora (10:3).

## 4.3. USLOVI EKSTRAKCIJE I ANALIZIRANI UZORCI

### 4.3.1. BOBICE KLEKE

Usitnjene bobice kleke ekstrahovane su u laboratorijskoj aparaturi koju prikazuje **Slika 9**. Ekstrakcija bobica kleke je ispitivana u opsegu pritisaka 80-200 bar, na temperaturi  $40^\circ\text{C}$ , pri protoku ugljendioksida od oko  $0,2 \text{ kg h}^{-1}$ , na česticama usitnjenog materijala u opsegu veličina 0,250-0,400 mm, a uticaj veličine čestica i protoka rastvarača ispitan je na 80 bar i  $40^\circ\text{C}$ . Materijal je ekstrahovan ugljendioksidom pri konstantnom pritisku do konstantne mase dobijenog ekstrakta, odnosno dok promena mase ekstrakta u dva uzastopna ciklusa nije izgubila statistički značaj. Eksperimenti na 150 i 200 bar, izvedeni su samo

jednom, eksperimenti na 90 i 100 bar dva puta, dok su eksperimenti na 80 bar ponovljeni po tri puta. Na pritiscima 80, 90 i 100 bar, praćena je promena sastava ekstrakata u toku trajanja ekstrakcije, tako što su sakupljane frakcije ekstrakta u određenim vremenskim intervalima, odnosno nakon utrošene određene zapremine rastvarača za ekstrakciju i analiziran njihov sastav metodom gasne hromatografije. Naime, prvobitno je planirano da se sve frakcije ekstrakata sakupljaju na svakih utrošenih oko 50 dm<sup>3</sup> ugljendioksida (mereno gasnim satom na ambijentalnim uslovima), sve dok se ukupno ne utroši oko 300 dm<sup>3</sup> ugljendioksida. Na pritiscima 80 i 90 bar frakcije su i sakupljane na ovaj način, što je odgovaralo vremenskim intervalima koji su trajali u proseku oko 0,6 h. Na 100 bar, zbog relativno brze promene sastava ekstrakta na samom početku procesa, a u cilju praćenja kinetike ekstrakcije pojedinih terpenskih grupa, bilo je potrebno prilagoditi dužinu vremenskih intervala, koji su u ovom slučaju bili kraći.

#### 4.3.2. SEME TIKVE

Natkritična ekstrakcija ulja iz semena tikve na aparaturi koju prikazuje **Slika 9**, praćena je na temperaturi 40°C i pritiscima 150, 225 i 300 bar, kao i na pritisku 300 bar i temperaturama 40, 50 i 60°C, pri protoku ugljendioksida od 0,2 kg h<sup>-1</sup>, na česticama usitnjenog materijala u opsegu veličina od 0,500-0,630 mm, dok je provera uticaja veličine čestica i protoka rastvarača izvršena na 300 bar i 40°C. Sastav masnih kiselina ulja semena tikve, kao i sadržaj  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferola u ulju određen je u frakcijama ekstrakata sakupljenim u sledećim intervalima vremena ekstrakcije: (0-2), (2-4) i (4-7) h, na uslovima 300 bar i 40, 50 i 60°C, za čestice srednjeg prečnika 0,565 mm, kao i na 300 bar i 40°C, za čestice većih dimenzija, srednjeg prečnika 0,72 mm i manjih dimenzija, srednjeg prečnika 0,35 mm. Ekstrakcije na 300 bar i 40°C, ponovljene su po 3 puta. Takođe, isti materijal je ekstrahovan *n*-heksanom na temperaturama 40, 50 i 60°C, pri čemu je odnos mase upotrebljenog rastvarača i ekstrahovanog materijala održavan konstantnim 5:1 (m/m).

Ekstrakcija ulja iz semena tikve u uređaju koji prikazuje Slika 10, praćena je na temperaturi 40°C, pritiscima 225, 300 i 400 bar, za čestice veličina prečnika u opsegu vrednosti 0,315-0,8 mm. Ekstrakcije na 400 bar i 40°C iz čestica srednjeg prečnika 0,56 mm, ponovljene su četiri puta.

Sadržaj masnih kiselina u ulju, sadržaj tokoferola, sterola i skvalena određen je u frakcijama ekstrakata sakupljenim u sledećim intervalima ekstrakcije: 0-2, 2-4 i 4-6 h. Za ulje semena tikve dobijeno na 400 bar i 40°C, iz čestica srednjeg prečnika 0,56 mm, u toku 6 h ekstrakcije (0-6 h), urađene su komercijalno neke od neophodnih analiza propisanih Pravilnikom [206], da bi se utvrdilo da li ekstrakt zadovoljava osnovne norme koje važe za jestivo biljno ulje, i to: sadržaj vode i drugih isparljivih materija [207], kiselinski broj [208], peroksidni broj [209] i anisidinski broj [210]. Takođe, izmerena je i oksidativna stabilnost ulja, metodom ubrzane oksidacije pri temperaturi 100°C i protoku vazduha 18-20 dm<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>, odnosno urađen je Rancimat test [211]. Da bi se utvrdilo da li postoji razlika u oksidativnoj stabilnosti ulja koje se ekstrahuje u toku različitih vremenskih intervala ekstrakcije, ispitana je i oksidativna stabilnost frakcija ekstrahovanih u trajanju 0-4 h i 4-8 h, na 400 bar i 40°C. Za ove frakcije je određen i sastav masnih kiselina, sadržaj tokoferola, sterola i skvalena.

## 4.4. ANALIZE EKSTRAKATA BOBICA KLEKE

### 4.4.1. GC-FID ANALIZA EKSTRAKATA BOBICA KLEKE

Uzorci zapremine 2  $\mu\text{l}$ , koji sadrže ekstrakte bobica kleke dobijene ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom, rastvorene u *n*-heksanu, koncentracije 2,5% (m/m), analizirani su gasnom hromatografijom (GC) na gasnom hromatografu Hewlett Packard 5890 sa vodonikovim plameno-jonizacionim detektorom (FID), uz upotrebu kapilarne kolone od stopljene silike sa nepolarnom stacionarnom tečnom fazom (100 % dimetilpolisiloksan), CP-Sil 5CB/MS, 25 m $\times$ 0,25 mm unutrašnjeg prečnika i 0,25  $\mu\text{m}$  debljine filma. Uzorak se ubacuje u kolonu „purged splitless“ metodom injektovanja. Temperatura kolone se održava na 50°C u trajanju od 1 min, nakon čega se koristi sledeći temperaturni gradijent program: porast temperature 4°C/min do 280°C, održavanje na 280°C 15 min, porast od 15°C/min do 295°C, i na kraju 5 min na 295°C. Protok mobilne faze/gasa-nosača ( $\text{N}_2$ ) kroz kolonu je 1 ml min<sup>-1</sup>, dok je ulazni pritisak 10 psig. Temperatura injektora je 250°C, a detektora 330°C. Relativni sadržaj prisutnih komponenata u etarskom ulju određen je metodom normalizacije površina pikova, bez primene faktora odziva detektora radi korekcije površina pikova. Svaki uzorak je injektovan tri puta.

### 4.4.2. GC-MS ANALIZA EKSTRAKATA BOBICA KLEKE

Uzorci koji su pripremljeni na isti način kao i za GC-FID analizu, analizirani su gasnom hromatografijom sa maseno-spektrometrijskim detektorom (GC-MS) na hromatografu Hewlett Packard 5890 (serija A) sa detektorom Hewlett Packard 5871. Za razdvajanje je korišćena kapilarna kolona, sa nosačem od stopljene silike, Ultra 2, dužine 25 m, unutrašnjeg prečnika 0,20 mm i 0,33  $\mu\text{m}$  debljine filma. Uzorak (1  $\mu\text{l}$ ) se unosi u kolonu split metodom injektovanja 1:60. Temperatura kolone se održava na 50°C u trajanju od 1 min, nakon čega sledi porast temperature gradijentom 4°C/min do 280°C i održavanje na 280°C 20 min. Linearna brzina mobilne faze/gasa-nosača (He) kroz kolonu je 30 cm s<sup>-1</sup>. Temperatura injektora je 250°C, a detektora 280°C. Jonizacioni napon detektora je 70 eV. Identifikacija komponenata je bazirana na poređenju njihovih retencionih vremena i redosleda njihovog eluiranja sa kolone sa odgovarajućim podacima za raspoložive čiste supstance (standarde) ili sa literaturnim podacima za etarsko ulje bobica kleke [212, 213] i druga etarska ulja [214], odnosno pretragom masenih spektara svakog GC pika sa podacima iz baze podataka Wiley.

## 4.5. ANALIZE EKSTRAKATA SEMENA TIKVE

### 4.5.1. GC-MS ANALIZE ULJA SEMENA TIKVE

Uzorci ulja iz semena tikve su kvalitativno i kvantitativno analizirani na GC-MS sistemu proizvođača Thermo Finnigan, koji čine gasni hromatograf TRACE 2000 GC i maseni spektrometar TRACE MS. Uređaj je opremljen autosamplerom (AS 2000, Autosampler, Thermo Finnigan), a rezultati su obrađeni softverom *Trace MS 1.2 for Xcalibur 1.4, GC 2000 1.4 SRI and Autosampler 1.4 SRI*.



#### 4.5.1.1. Određivanje sadržaja masnih kiselina

Priprema uzoraka za analizu obuhvatala je saponifikaciju kalijumhidroksidom i esterifikaciju metanolom u prisustvu hlorovodonične kiseline [215] i naknadno prečišćavanje dobijenih estara.

##### *Postupak saponifikacije i esterifikacije*

U epruvetu sa brušenim čepom od 10 ml odmeri se oko 120 mg uzorka, doda se 24 ml petroletra i mućka najmanje 10 s. Zatim se doda 0,6 ml rastvora kalijumhidroksida u metanolu ( $2 \text{ mol l}^{-1}$ ) i mućka 20 s. Reakciona smeša se zagreva 1 min u vodenom kupatilu, na temperaturi  $60^\circ\text{C}$ , nakon čega se izvadi, mućka 20 s i zatim se u smešu doda 1,2 ml rastvora hlorovodonične kiseline u metanolu ( $1 \text{ mol l}^{-1}$ ). U epruvetu se doda 4 ml petroletra, i posle mućkanja se odvoji gornji sloj, koji se prenese u drugu epruvetu. Petroletar se uklanja uparavanjem u struji azota do zapremine 1 ml.

##### *Postupak prečišćavanja metilestara masnih kiselina iz uzorka*

Pripremljeni uzorci se pre unošenja u GC-MS sistem prečišćavaju u koloni napravljenoj u Pasterovoj pipeti, radi uklanjanja eventualno prisutnih nečistoća. Kolona za prečišćavanje se pravi tako što se na dno šireg dela pipete postavi komadić staklene vune, a zatim se unese sloj od 0,3 g aktivirane silike (zagrevane na  $120^\circ\text{C}$  u trajanju od oko 2 h) i na njega sloj od 0,3 g bezvodnog natrijumsulfata. Nakon kondicioniranja sa 5 ml cikloheksana, na kolonu se nanosi uzorak, koji se zatim eluira sa 5 ml smeše cikloheksan:etilacetat (2:1, v/v). Eluat se sakuplja u balon sa okuglim dnom od 25 ml, u njega se doda 1 ml toluena i zatim se smeša rastvarača uparava (na temperaturi  $50^\circ\text{C}$  i pririsku 150 mbar) do zapremine od 1 ml. Na kraju, uparavanjem u struji azota do suvog ostatka, koji se suši u sušnici na  $40^\circ\text{C}$  u toku 30 min, dobija se pripremljen uzorak za GC-MS analizu.

##### *GC-MS analiza*

Metilestari masnih kiselina su razdvojeni na GC kapilarnoj koloni Optima 240 (Macherey Nagel) (33% cijanopropil-67% dimetilpolisiloksan), dužine 60 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm i debljine filma stacionarne faze  $0,25 \mu\text{m}$ , sa pretkolonom dimenzija  $2 \text{ m} \times 0,53 \text{ mm}$ . Gas nosač (helijum 5.0) je proticao kroz sistem konstantnim protokom  $1,5 \text{ ml min}^{-1}$ . Za ubacivanje  $1 \mu\text{l}$  rastvora uzorka u toluenu, korišćen je PTV injekcioni ulaz, koji je radio u split režimu rada, gde je split odnos iznosio 10:1, sa temperaturnim zagrevanjem od  $60$  do  $260^\circ\text{C}$ , brzinom od  $14,5^\circ\text{C/min}$ . Temperatura kolone je menjana u toku razdvajanja na sledeći način: temperatura od  $80^\circ\text{C}$  je održavana 1 min, a zatim je povećana na  $120^\circ\text{C}$  brzinom od  $20^\circ\text{C/min}$ , nakon čega je brzinom od  $3^\circ\text{C/min}$  zagrevana do  $240^\circ\text{C}$  i ta krajnja temperatura je održavana još 10 min. Temperatura jonskog izvora održavana je na  $220^\circ\text{C}$ , temperatura dela koji povezuje GC i MS (interfejs) bila je  $250^\circ\text{C}$ , a komponente razdvojene na koloni su jonizovane u detektoru sudarima sa elektronima energije 70 eV (Elektron impact mode). Analiziran je kompletni jonski spektar (Full scan mode), a snimane mase praćene su u opsegu od 50 do 500 a.m.u. (*engl. atomic mass unit* – jedinica atomske mase). Za kvantitativnu analizu primenjena je metoda spoljašnjeg standarda, pri čemu su na hromatogramima praćene koncentracije pojedinačnih jona (SIM tehnika). Praćeni su joni sledećih masa: 158, 186, 214, 228, 240, 242, 256, 270, 284, 292, 294, 296, 296, 298, 324, 326 i 352, radi kvantitativnog određivanja metilestrara sledećih kiselina: kaprilne (C8:0), kaprinske (C10:0), laurinske

(C12:0), tridekanske (C13:0), miristoleinske (C14:1), miristinske (C14:0), pentadekanske (C15:0), palmitoleinske (C16:1), palmitinske (C16:0), heptadekanske (C17:0), linolenske (C18:3), linolne (C18:2), elaidinske (C18:1 trans), oleinske (C18:1 cis), stearinske (C18:0), gondoinske (C20:1), arahinske (C20:0), behenske (C22:0) i eruka (C22:1) kiseline.

Identifikacija pojedinačnih metilestara masnih kiselina je izvršena upoređivanjem retencionih vremena metilestara masnih kiselina na hromatogramima uzorka i standardnog rastvora, kao i poređenjem dobijenih masenih spektara sa bibliotekom masenih spektara Nacionalnog Instituta za Standarde i Tehnologiju (NIST). Standardni rastvori metilestara masnih kiselina dobijeni su rastvaranjem komercijalno dostupne smeše metilestara masnih kiselina, FAME MIX C8-C22 18910 1-AMP, od proizvođača Supelco (Bellefonte, USA) u heksanu. Prvo je pripremljen osnovni standardni rastvor koncentracije 10 mg ml<sup>-1</sup> heksana, od koga je razblaživanjem dobijeno pet rastvora koncentracije 0,005, 0,05, 0,25, 0,5 i 1 mg ml<sup>-1</sup> heksana. Slepa proba i uzorci analizirani su pod identičnim uslovima kao i standardni rastvori metilestara masnih kiselina. Metodom spoljašnjeg standarda kvantitativno su određeni sadržaji masnih kiselina u saponifikovanom uzorku. Analiza svakog uzorka ponovljena je 3 puta.

#### 4.5.1.2. Određivanje sadržaja sterola i skvalena u ulju semena tikve

Uzorak za GC-MS analizu sterola i skvalena pripremljen je u najvećem delu prema proceduri koju su preporučili Mandl i sar. [163].

##### *Saponifikacija ulja i postupak prečišćavanja*

Na analitičkoj vagi izmereno je oko 0,5 g ekstrahovanog ulja tikve golice, uzorku je dodato 25 ml internog standarda u kome su se nalazili betulini i hloroform u koncentracijama 5,08 i 5,11 mg ml<sup>-1</sup>, a zatim 1 ml metanoloznog rastvora KOH (20 g KOH u 88 ml metanola i 12 ml dejonizovane vode). Reakcija saponifikacije se izvodi u staklenom vialu zapremine 10 ml sa teflonskim zatvaračem sa navojem, na 70°C, u trajanju od 45 min. Kraj reakcije saponifikacije se prepoznaje kada se izbistri dvofazni sistem ulje-metanol/voda.

Na dno staklene kolone (unutrašnjeg prečnika 1 cm), na kome se postavi sloj od staklene vune, unese se sloj od 1 g anhidrovanog natrijumsulfata, a zatim sloj od 1 g aktivirane silike (silikagel 60, veličina čestica 0,063-0,200 mm) i na to se doda 3 g silike na koju je prethodno adsorbovan saponifikovani uzorak. Neosaponifikovana jedinjenja se eluiraju sa kolone sa 20 ml smeše *tert*-butil-metiletra i etilacetata (1:1, v/v), dok kalijumove soli masnih kiselina ostaju adsorbovane na koloni. Od dobijenog eluata (oko 15 ml) uzima se alikvot zapremine 1,5 ml.

##### *Derivatizacija u trimetilsilil etre*

Alikvot se prebacuje u vialu zapremine 2 ml i upari do suva strujom azota. Suvom ostatku se doda 50 µl smeše *N*-metil-*N*-trimetilsililfluoroacetamida (MSTFA) i anhidrovanog piridina (2:1, v/v) i 400 µl *tert*-butil-metiletra. Derivatizacija u zatvorenom vialu izvodi se 2 h, na 70°C. 1 µl smeše se injektuje u GC-MS sistem.

## ***GC-MS analiza***

Derivatizovani steroli su razdvojeni na GC kapilarnoj koloni TR-50MS (Thermo Fisher Scientific) (50% fenil polisilfenilen-siloksan), dužine 30 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm i debljine filma stacionarne faze 0,25  $\mu\text{m}$ . Gas nosač (helijum 5.0) je proticao kroz sistem konstantnim protokom 1,5 ml min<sup>-1</sup>. Za ubacivanje 1  $\mu\text{l}$  rastvora uzorka u toluenu, korišćen je PTV injektor (*engl. Programmable Temperature Vaporizing Injector*), koji je radio u nepodeljenom režimu rada (*engl. splitless mode*), sa temperaturnim zagrevanjem od 55 do 250°C, brzinom od 14,5°C/min. Temperatura kolone je menjana u toku razdvajanja na sledeći način: temperatura od 70°C je održavana 1,5 min, a zatim je povećana na 245°C brzinom od 40°C/min, na 245°C temperatura je održavana 1,5 min, nakon čega je brzinom od 2°C/min zagrevana do 280°C i ta krajnja temperatura je održavana još 10 min. Temperatura jonskog izvora održavana je na 220°C, temperatura dela koji povezuje GC i MS (interfejs) bila je 290°C, a komponente razdvojene na koloni su jonizovane u detektoru sudarima sa elektronima energije 70 eV (Elektron impact mode). Analiziran je kompletni jonski spektar (Full scan mode), a snimane vrednosti (*m/e*) praćene su u opsegu od 50 do 600 a.m.u. Kvantitativna analiza je urađena na osnovu praćenja signala pojedinačnih jona (SIM *engl. Single Ion Monitoring* tehnika).

### *Kvalitativna i kvantitativna analiza sterola*

Identifikacija pojedinih sterola, odnosno njihovih trimetilsililetara, izvršena je na osnovu analize masenih spektara i njihovim poređenjem sa bibliotekom masenih spektara NIST za sterole koji su u bazi, dok su za identifikaciju sterola čijih spektara nema u bazi, upoređeni MS podaci sa proračunatim *m/z* vrednostima koje proizilaze iz karakterističnog načina fragmentacije molekulskih jona trimetilsililetara ovih sterola. Osnov za ove proračune i način fragmentacije  $\Delta^7$ -sterola, specifičnih za tikvu, može se naći u literaturi [216].

Za kvantitativnu analizu primenjena je metoda spoljašnjeg standarda. Za GC-MS kalibraciju, pripremljeni su osnovni standardni rastvori stigmasterola,  $\beta$ -sitosterola, betulina i holesterola u piridinu. Prebacivanjem odgovarajućih zapremina osnovnih polaznih rastvora stigmasterola,  $\beta$ -sitosterola i holesterola u vial zapremine 2 ml, uz dodatak uvek iste zapremine osnovnog standardnog rastvora betulina, pripremljeno je pet standardnih rastvora korišćenih za kalibraciju. Nakon dodatka derivatizacionog reagensa (MSTFA) i *terc*-butilmetiletra u vial, rastvor je zagrevan na 70°C, 2 h. Uzorci i standardni rastvori analizirani su pod identičnim uslovima. Određeni su relativni odzivi za stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol i holesterol u odnosu na betulin kao unutrašnji standard. Zbog nedostatka standarda desmosterola i  $\Delta^7$ -sterola, za faktore odziva ovih sterola uzete su vrednosti jednog od tri sterola za koje su određeni relativni odzivi u odnosu za betulin, i to za onaj čiji je pik na hromatogramu uzorka najbliži piku sterola za koji nije postojao standard. Na osnovu odnosa površine pika sterola prisutnog u uzorku i površine pika betulina, poznate količine betulina u uzorku i faktora odziva, određene su koncentracije sterola u uzorcima. Analiza svakog uzorka ponovljena je najmanje 2 puta. Kalibracione krive su obuhvatale opseg koncentracija u standardima od 0,008 mg ml<sup>-1</sup> do 0,26 mg ml<sup>-1</sup>.

### *Kvalitativna i kvantitativna analiza skvalena*

Skvalen je identifikovan na osnovu analize masenog spektara, poređenjem sa bibliotekom masenih spektara NIST i poređenjem masenog spektra standarda skvalena.

Skvalen je u uzorcima koji su pripremljeni za analizu sterola kvantifikovan metodom spoljašnjeg standarda. Uzorci i standardni rastvori analizirani su pod identičnim uslovima. Analiza svakog standardnog rastvora i uzorka ponovljena je najmanje 2 puta. Standardni rastvori skvalena za kalibraciju pripremljeni su u koncentracijama od 0,010 mg ml<sup>-1</sup> do 1,50 mg ml<sup>-1</sup>.

#### 4.5.2. HPLC ANALIZA TOKOFEROLA U ULJU SEMENA TIKVE

Sadržaj  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferola u ekstraktima semena tikve dobijenim u ekstrakciji natkritičnim ugljendioksidom određen je HPLC (*engl. High Performance Liquid Chromatography*) metodom sa DAD detektorom (*engl. Diode-Array Detector*). Uzorak ekstrakta (oko 150 mg) rastvori se u 1 ml *n*-heksana i 10  $\mu$ l tog rastvora se razdvaja hromatografijom na normalnoj fazi, na HPLC instrumentu HP1090 Hewlett Packard, sa LiChrospher Si60 (5  $\mu$ m) kolonom. Kolona se eluira smešom *n*-heksan:2-propanol (99:1, v/v). Protok mobilne faze je 1,0 ml min<sup>-1</sup>, a efluent se prati na talasnoj dužini 294/4 nm.

Tokoferoli su kvalitativno određeni poređenjem njihovih retencionih vremena sa retencionim vremenima standarda. Za kvantitativnu analizu je primenjen metod spoljašnjeg standarda. Analize svakog uzorka su ponovljene tri puta.

## 4.6. MATEMATIČKE METODE

Za statističku obradu rezultata korišćen je softverski paket *Microsoft Excel* sa odgovarajućim dodacima za analizu podataka koji uključuje i ANOVA analizu. Parametri matematičkih modela određeni su primenom metode najmanjih kvadrata pomoću softverskog paketa *Mathcad*, kao i pomoću standardnog *Excel* dodatka *Solver*, pri čemu su odgovarajući programi za ispitivane modele napisani pomoću *Visual Basic* editora u *Excel*-u.

Provera primenljivosti modela i njihovo međusobno upoređivanje izvedeno je na osnovu srednje vrednosti relativnog odstupanja izračunatih od izmerenih rezultata (*AARD*) i standardne devijacije (*SD*), primenom jednačina (114) i (115).

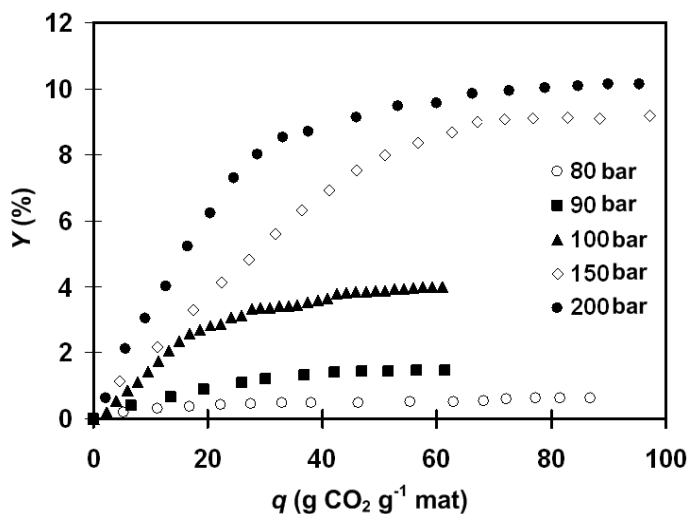
## 5 REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. BOBICE KLEKE

#### 5.1.1. PRINOS I KVALITET EKSTRAKATA

##### 5.1.1.1. Uticaj pritiska i vremena ekstrakcije na prinos i kvalitet ekstrakata

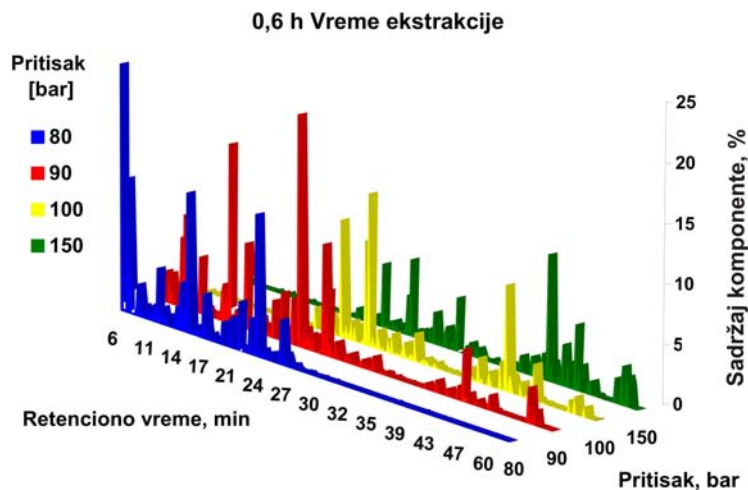
Slika 11 prikazuje rezultate ispitivanja kinetike ekstrakcije ploda kleke ugljendioksidom u natkritičnom stanju, na pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar i temperaturi 40°C, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup> u smeru na gore kroz sloj formiran od 20 g bobica kleke, usitnjenih na srednju veličinu čestica od 0,325 mm. Prinos (*Y*), izražen kao masa ekstrakta (u gramima) koja se dobija iz 100 g materijala, dat je u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida (*q*), koja se izračunava kao masa utrošenog ugljendioksida po jedinici mase materijala u ekstraktoru (g g<sup>-1</sup>). Ukupni prinosi ekstrakcija natkritičnim ugljendioksidom na 80, 90, 100, 150 i 200 bar (Slika 11) iznose, redom: 0,65±0,03%, 1,48±0,04%, 4,00±0,10%, 9,18 %, 10,48 %.



**Slika 11.** Kumulativni prinos ekstrakcije kleke ugljendioksidom u natkritičnom stanju u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida i pritiska. Temperatura ekstrakcije 40°C, protok CO<sub>2</sub> 0,2 kg h<sup>-1</sup> u smeru na gore kroz sloj formiran od 20 g bobica kleke, usitnjenih na srednju veličinu čestica od 0,325 mm, na pritiscima ekstrakcije: 80 bar (○), 90 bar (■), 100 bar (▲), 150 bar (◇) i 200 bar (●).

Ekstrakti dobijeni na različitim pritiscima vizuelno su se značajno razlikovali. Samo ekstrakt dobijen na 80 bar bio je svetla, bleđa žućkasta, uljasta tečnost, koja je imala izgled sličan etarskom ulju kleke dobijenom hidrodestilacijom. Ekstrakti dobijeni na 90 bar i 100 bar bili su svetlije i tamnije žute, viskozne tečnosti na sobnoj temperaturi. Ekstrakti dobijeni na 150 i 200 bar bili su tamno žuti, delimično čvrsti i čvrsti na sobnoj temperaturi, pre svega zbog prisutnih pigmenta i kutikularnih voskova, ali i drugih komponenata visoke tačke ključanja i velike molekulske mase [150].

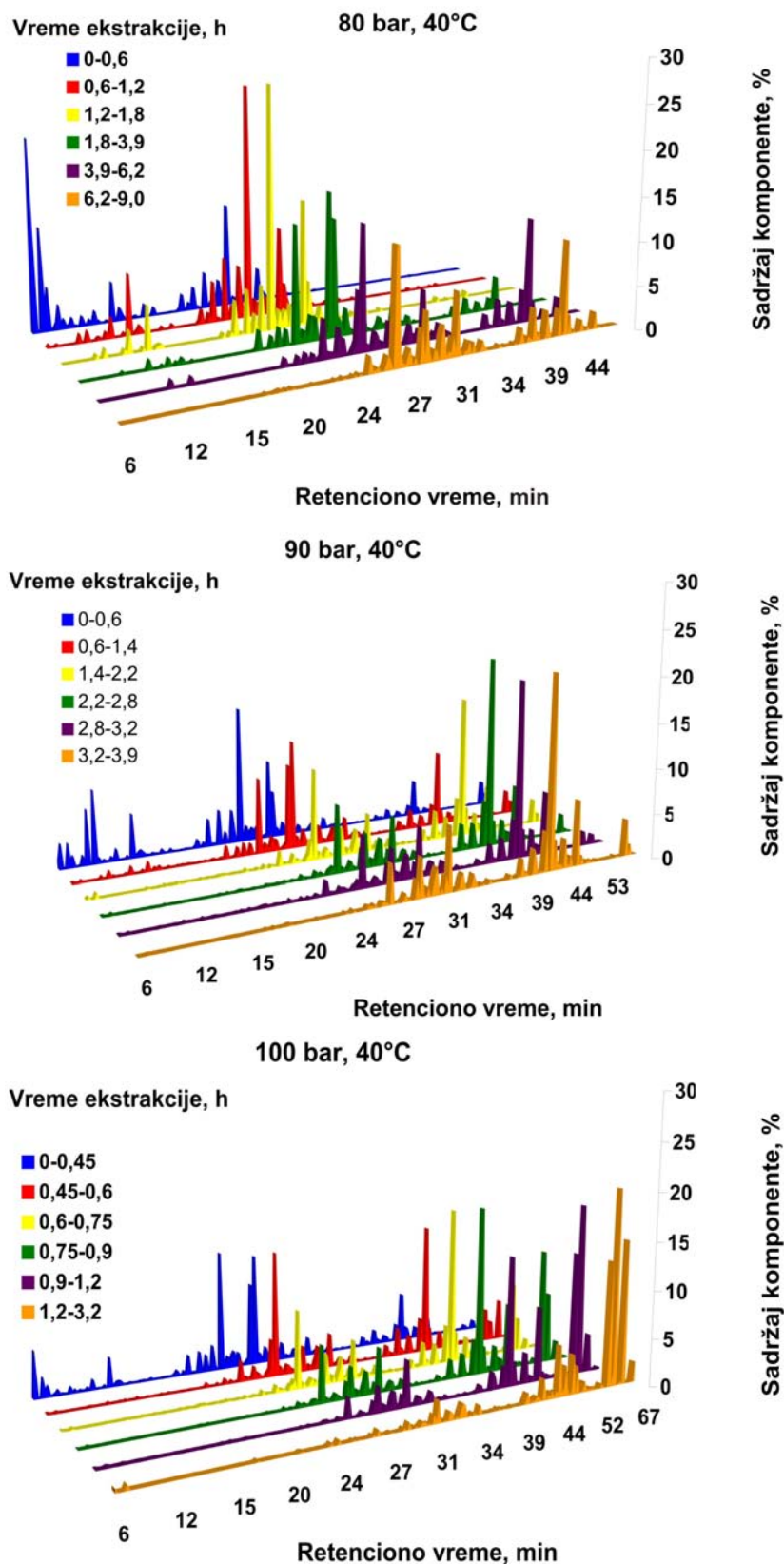
Na konstantnoj temperaturi od 40°C, sa porastom ispitivanih pritiska rastu i gustine ugljendioksida (280, 490, 630, 780 i 840 kg m<sup>-3</sup>), kao i rastvorna moć ugljendioksida, ali se povećava i rastvorljivost etarskog ulja u njemu. Zbog toga ukupni prinosi ekstrakata rastu sa porastom pritiska. Međutim, u ekstraktima dobijenim ugljendioksidom veće gustine, pored etarskog ulja kleke nalaze se i manje isparljive i neisparljive komponente visokih tačaka klučanja, kao što su viši terpeni, estri, slobodne masne kiseline, masna ulja, voskovi i smole. Ove komponente se prilikom hromatografske analize ekstrakata eluiraju kasnije, odnosno, imaju veća retaciona vremena (Slika 12).



**Slika 12.** Poređenje hromatograma na kojima je prikazan relativni procentni sadržaj komponenata prisutnih u ekstraktima kleke sakupljenim u prvih 0,6 h ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90, 100 i 150 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 11.

Slika 12. prikazuje promenu procentnog sadržaja komponenata prisutnih u ekstraktima u zavisnosti od pritiska ekstrakcije, dajući uporedni prikaz hromatograma ekstrakata dobijenih na pritiscima 80, 90, 100 i 150°C. Prikazani hromatogrami nisu u pravom smislu oni koji se dobijaju GC-FID analizom, pošto je na njima prikazan procentni sadržaj jedinjenja u zavisnosti od njegovog retacionog vremena, a ne pik koji predstavlja signal detektora.

S obzirom na veliki broj različitih jedinjenja prisutnih u ekstraktima, kao i njihov različit početni sadržaj, za očekivati je bilo da se kvalitet ekstrakata menja u toku ekstrakcije. U literaturi nema podataka o promeni sastava natkritičnih ekstrakata bobica kleke sa vremenom ekstrakcije tako da su ova ispitivanja usmerena ka tom cilju. Na pritiscima 80, 90 i 100 bar, praćena je promena sastava ekstrakata u toku trajanja ekstrakcije, tako što su sakupljane frakcije ekstrakta u određenim vremenskim intervalima, odnosno nakon utrošene određene zapremine rastvarača za ekstrakciju i analiziran njihov hemijski sastav metodom gasne hromatografije. Hromatogrami, istog tipa kao i oni prikazani na prethodnoj slici, frakcija ekstrakata sakupljenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar, prikazani su na Slici 13 [151]. Sa Slike 13. se jasno uočava da se pojedina jedinjenja, koja na hromatogramima imaju niža retaciona vremena, intenzivnije ekstrahuju već na samom početku procesa, tako da ih u frakcijama koje se kasnije sakupljaju više nema, dok se jedinjenja koja se kasnije eluiraju i imaju veća retaciona vremena na hromatogramima, u toku ekstrakcije kasnije počinju ekstrahovati i njihov je sadržaj u navedenim frakcijama sve veći.



**Slika 13.** Promena sastava ekstrakata kleke u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 11. Na hromatogramima frakcija ekstrakata sakupljenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije, prikazan je procentni sadržaj jedinjenja u frakciji u zavisnosti od njegovog retencionog vremena.

Više od 200 konstituenata je detektovano u različitim ekstraktima bobica kleke dobijenim natkritičnim ugljendioksidom. Komponente prisutne u ekstraktima grupisane su u pet osnovnih grupa: monoterpeni (M), oksidovane monoterpeni (OM), seskviterpeni (S), oksidovane seskviterpeni (OS) i ostale komponente (O). U grupu O svrstane su komponente velikih molekularnih masa (kao što su masna ulja, voskovi i/ili smole i neki drugi neidentifikovani pikovi). Sadržaj 50 identifikovanih komponentata, među kojima je 13 monoterpena, 18 seskviterpena, 10 oksidovanih monoterpena i 9 oksidovanih seskviterpena prikazan je u tabelama 3, 4 i 5 [149]. U ovim tabelama prikazani su sastavi frakcija ekstrakata, redom, na pritiscima 80, 90 i 100 bar, dok je za iste pritiske, na Slikama 14, 15 i 16 prikazana zavisnost procentnog sadržaja ispitivanih osnovnih grupa jedinjena od vremena ekstrakcije. Uz to, sa Slika 17, 18, 19, 20 i 21 moguće je pratiti kinetiku ekstrakcije ispitivanih terpeničkih grupa, odnosno grupa M, OM, S, OS i O na ispitivanim pritiscima.

Ekstrakt dobijen nakon prvih 0,6 h ekstrakcije (Tabela 3) sadržao je najviše monoterpena (M) (47,45%), od kojih je najviše bilo  $\alpha$ -pinena (21,45% od ukupnog prinosa), sabinena (11,75%),  $\beta$ -mircena (4,97%), limonena (2,82%),  $\beta$ -pinena (1,96%), terpinolena (1,14%) i  $\gamma$ -terpinena (1,12%).

**Tabela 3.** Relativni sadržaj ( $\bar{X} \pm SD$  %) najvažnijih komponentata ekstrakata bobica kleke (*Juniperus communis* L.) dobijenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na 40°C i 80 bar.

| Komponenta         | Vreme ekstrakcije (h) |           |           |           |
|--------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|
|                    | 0-0,6                 | 0,6-1,2   | 1,2-1,8   | 1,8-3,9   |
| $\alpha$ -Tujen    | 0,69±0,03             | -         | -         | -         |
| $\alpha$ -Pinen    | 21,45±1,02            | 0,39±0,07 | -         | -         |
| $\alpha$ -Fenhen   | 0,24±0,02             | -         | -         | -         |
| Kamfen             | 0,09±0,01             | -         | -         | -         |
| Sabinen            | 11,75±0,52            | 0,23±0,04 | -         | -         |
| $\beta$ -Pinen     | 1,96±0,09             | -         | -         | -         |
| $\beta$ -Mircen    | 4,97±0,24             | -         | -         | -         |
| $\delta$ -3-Karen  | 0,15±0,01             | -         | -         | -         |
| $\alpha$ -Terpinen | 0,09±0,01             | -         | -         | -         |
| p-Cimen            | 0,70±0,03             | -         | -         | -         |
| Limonen            | 2,82±0,13             | -         | -         | -         |
| $\gamma$ -Terpinen | 1,12±0,05             | 1,03±0,18 | 0,48±0,08 | -         |
| Terpinolen         | 1,14±0,05             | 1,23±0,21 | 0,99±0,17 | 0,26±0,10 |
| MONOTERPENI        | 47,45±2,25            | 2,87±0,50 | 1,47±0,25 | 0,26±0,10 |



**Tabela 3. Nastavak.**

| Komponenta                     | Vreme ekstrakcije (h) |            |             |            |
|--------------------------------|-----------------------|------------|-------------|------------|
|                                | 0-0,6                 | 0,6-1,2    | 1,2-1,8     | 1,8-3,9    |
| $\alpha$ -Kubeben              | 1,98±0,08             | 1,72±0,08  | 0,55±0,02   | -          |
| $\alpha$ -Kopaen               | 0,87±0,04             | 1,13±0,05  | 0,54±0,02   | -          |
| $\beta$ -Elemen                | 2,64±0,11             | 4,66±0,21  | 3,98±0,17   | 2,20±0,11  |
| $\beta$ -Kariofilen            | 4,22±0,17             | 7,19±0,33  | 5,02±0,21   | 1,34±0,07  |
| $\gamma$ -Elemen               | 0,64±0,03             | 1,59±0,07  | 2,14±0,09   | 2,16±0,10  |
| $\alpha$ -Humulen              | 3,09±0,13             | 6,09±0,28  | 5,20±0,22   | 1,80±0,09  |
| <i>cis</i> - $\beta$ -Farnezen | 1,14±0,05             | 2,17±0,10  | 0,65±0,03   | -          |
| $\gamma$ -Kadinen              | 12,12±0,49            | 26,62±1,22 | 27,17± 1,13 | 12,96±0,63 |
| $\beta$ -Selinen               | 0,72±0,03             | 1,55±0,07  | 1,81±0,08   | 1,00±0,05  |
| $\alpha$ -Farnezen             | -                     | 0,16±0,01  | 0,21±0,01   | 0,39±0,02  |
| Valencen                       | 0,81±0,03             | 1,90±0,09  | 2,21±0,09   | 1,39±0,07  |
| 3,7- guaidien                  | 0,25±0,01             | 0,63±0,03  | 0,78±0,03   | 0,64±0,03  |
| Viridifloren                   | 0,56±0,02             | 1,33±0,06  | 1,70±0,07   | 1,12±0,05  |
| $\alpha$ -Murolen              | 0,61±0,02             | 1,59±0,07  | 2,06±0,09   | 2,90±0,14  |
| $\delta$ -Kadinen              | 0,76±0,03             | 1,97±0,09  | 2,57±0,11   | 2,61±0,13  |
| $\alpha$ -Kalakoren            | -                     | 0,17±0,01  | 0,23±0,01   | 0,47±0,02  |
| Germakren D                    | 3,85±0,16             | 9,35±0,46  | 14,22±0,59  | 16,07±0,78 |
| Germakren B                    | 1,08±0,04             | 3,31±0,15  | 4,89±0,20   | 13,11±0,64 |
| SESKVITERPENI                  | 35,82±1,46            | 74,42±3,41 | 75,92±3,16  | 60,87±2,95 |

**Tabela 3.** Nastavak.

| Komponenta                             | Vreme ekstrakcije (h) |                   |                   |                   |
|--|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|  | 0-0,6                 | 0,6-1,2           | 1,2-1,8           | 1,8-3,9           |
| Terpinen-1-ol                          | 1,13±0,07             | 0,30±0,02         | -                 | -                 |
| $\beta$ -Terpineol                     | 0,89±0,06             | 1,06±0,06         | 0,59±0,03         | -                 |
| ( <i>cis</i> , <i>trans</i> ) Verbenol | 0,92±0,07             | 1,18±0,09         | 0,91±0,06         | -                 |
| Pinokarveol                            | 1,52±0,09             | 2,38±0,13         | 2,54±0,11         | 1,11±0,04         |
| Borneol                                | 0,20±0,01             | 0,38±0,02         | 0,45±0,02         | 0,26±0,01         |
| Terpinen-4-ol                          | 4,60±0,28             | 6,90±0,37         | 4,85±0,21         | 0,90±0,03         |
| $\alpha$ -Terpineol                    | 1,50±0,05             | 0,37±0,02         | 0,32±0,01         | 0,34±0,01         |
| $\gamma$ -Terpineol                    | 0,76±0,01             | 0,94±0,02         | 0,46±0,02         | 0,15±0,02         |
| Bornilacetat                           | 0,92±0,06             | 0,47±0,03         | -                 | -                 |
| Geranilacetat                          | 0,12±0,01             | 0,25±0,01         | 0,25±0,01         | 0,16±0,01         |
| <b>OKSIG. MONOTERPENI</b>              | <b>14,03±0,86</b>     | <b>14,93±0,79</b> | <b>10,60±0,46</b> | <b>3,77±0,13</b>  |
| Kariofilenol-11                        | 0,07±0,01             | 0,23±0,02         | 0,34±0,02         | 0,96±0,05         |
| Nerolidol                              | 0,65±0,03             | 1,58±0,14         | 2,24±0,14         | 2,45±0,14         |
| Kariofilen oksid                       | -                     | 0,59±0,05         | 0,68±0,04         | 1,98±0,11         |
| Špatulenol                             | 0,43±0,02             | 1,20±0,10         | 1,79±0,11         | 3,01±0,17         |
| Humulen oksid (I)                      | 0,11±0,01             | 0,36±0,03         | 0,55±0,03         | 1,16±0,07         |
| T-Kadinol                              | -                     | -                 | 0,21±0,01         | 0,50±0,03         |
| $\delta$ -Kadinol                      | 0,12±0,01             | 0,35±0,03         | 0,62±0,04         | 1,70±0,10         |
| $\beta$ -Eudesmol                      | -                     | -                 | -                 | 0,15±0,01         |
| $\alpha$ -Kadinol                      | 0,16±0,01             | 0,45±0,04         | 0,74±0,05         | 2,11±0,12         |
| <b>OKSIG. SESKVITERPENI</b>            | <b>1,93±0,09</b>      | <b>5,81±0,50</b>  | <b>8,99±0,54</b>  | <b>17,51±0,99</b> |
| <b>OSTALE KOMPONENTE</b>               | <b>0,26±0,04</b>      | <b>1,97±0,08</b>  | <b>3,01±0,15</b>  | <b>17,60±1,01</b> |

Sadržaj seskviterpena (S) bio je na nivou od 35,82% i među seskviterpenima bilo je najviše  $\gamma$ -kadinena (12,12%),  $\beta$ -kariofilena (4,22%), germakrena D (3,85%) i  $\alpha$ -humulena (3,09%). Oksidovanih monoterpena (OM) u ekstraktu dobijenom nakon prvih 0,6 h ekstrakcije na pritisku 80 bar bilo je ukupno 14,03%, među kojima je najviše bilo terpinen-4-ola (4,60%), pinokarveola (1,52%) i  $\alpha$ -terpineola (1,50%). U ovom ekstraktu, količine oksidovanih seskviterpena (OS) su bile veoma male, a njihov ukupni udeo bio je 1,93%. Ostale komponente, kao što su masti, voskovi i druge komponente čiji pikovi nisu bili identifikovani su prisutni na nivou od 0,26%.

Nakon 0,6 h ekstrakcije na pritisku od 80 bar, koncentracija M u ekstraktu se značajno smanjila, dok su se koncentracije ostalih grupa jedinjenja povećale (Tabela 3 i Slika 14). Moguće je izračunati da se pre isteka prvih 0,6 h ekstrakcije, 99% monoterpena prisutnih u bobicama kleke izekstrahuje na svim ispitivanim pritiscima (Slika 17).

OM se mogu skoro u potpunosti ukloniti iz materijala ekstrakcijom na pritisku od 100 bar u toku prvih 0,5 h, odnosno na pritisku od 90 bar u toku 1,2 h. Međutim, na pritisku od 80 bar, tokom 4 h ekstrakcije, moguće je izekstrahovati samo 75 % od maksimalnog prinosa OM koji se može dobiti na 100 bar (Slika 18). Sadržaj OM u frakcijama sakupljenim nakon prvih 0,6 h ekstrakcije na 90 i 100 bar bio je  $12,17 \pm 0,49\%$  (Slika 15) i  $5,54 \pm 0,38\%$  (Slika 16).

Intenzivna ekstrakcija S se ne može izbeći ni na jednom ispitivanom pritisku, ali se na početku procesa ekstrakcije (u prvih 0,6 h) na 80 bar, seskviterpeni ekstrahuju 8, odnosno 3 puta sporije u odnosu na njihovu ekstrakciju na pritiscima 100 i 90 bar, redom (Slika 19).

OS se ekstrahuju konstantnom velikom brzinom na 100 i 90 bar u toku 1,2 odnosno 3 h. Ovaj početni period brze ekstrakcije, posle se nastavlja mnogo sporijom brzinom ekstrakcije OS (Slika 20).

**Tabela 4.** Relativni sadržaj ( $\bar{X} \pm SD \%$ ) najvažnijih komponenata ekstrakata bobica kleke (*Juniperus communis* L.) dobijenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na 40°C i 90 bar.

| Komponenta         | Vreme ekstrakcije (h) |                 |                 |                 |                 |                 |
|--------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                    | 0-0,60                | 0,60-1,4        | 1,4-2,2         | 2,2-2,8         | 2,8-3,2         | 3,2-3,9         |
| $\alpha$ -Tujen    | 0,87 $\pm$ 0,03       | 0,10 $\pm$ 0,01 | -               | -               | -               | -               |
| $\alpha$ -Pinen    | 2,76 $\pm$ 0,09       | 0,12 $\pm$ 0,01 | 0,31 $\pm$ 0,02 | 0,10 $\pm$ 0,01 | 0,08 $\pm$ 0,01 | -               |
| $\alpha$ -Fenhen   | Tr                    | -               | -               | -               | -               | -               |
| Kamfen             | Tr                    | -               | -               | -               | -               | -               |
| Sabinen            | 2,71 $\pm$ 0,09       | 0,19 $\pm$ 0,01 | 0,60 $\pm$ 0,03 | 0,18 $\pm$ 0,01 | 0,11 $\pm$ 0,01 | 0,07 $\pm$ 0,01 |
| $\beta$ -Pinen     | 0,53 $\pm$ 0,02       | -               | -               | -               | -               | -               |
| $\beta$ -Mircen    | 1,25 $\pm$ 0,04       | -               | -               | -               | -               | -               |
| $\delta$ -3-Karen  | Tr                    | -               | -               | -               | -               | -               |
| $\alpha$ -Terpinen | Tr                    | -               | -               | -               | -               | -               |
| p-Cimen            | 0,05 $\pm$ 0,01       | -               | -               | -               | -               | -               |
| Limonen            | 1,12 $\pm$ 0,04       | -               | -               | -               | -               | -               |
| $\gamma$ -Terpinen | 6,16 $\pm$ 0,21       | 0,31 $\pm$ 0,02 | -               | -               | -               | -               |
| Terpinolen         | 8,20 $\pm$ 0,28       | 0,74 $\pm$ 0,03 | tr              | tr              | tr              | -               |
| MONOTERPENI        | 23,60 $\pm$ 0,81      | 1,45 $\pm$ 0,08 | 0,74 $\pm$ 0,04 | 0,28 $\pm$ 0,03 | 0,23 $\pm$ 0,03 | 0,07 $\pm$ 0,01 |

**Tabela 4.** Nastavak.

| Komponenta                     | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |            |            |           |
|--------------------------------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
|                                | 0-0,60                | 0,60-1,4   | 1,4-2,2    | 2,2-2,8    | 2,8-3,2    | 3,2-3,9   |
| $\alpha$ -Kubeben              | 0,77±0,03             | 0,14±0,02  | 0,08±0,01  | 0,08±0,01  | 0,07±0,01  | -         |
| $\alpha$ -Kopaen               | 0,43±0,02             | 0,12±0,02  | 0,08±0,01  | 0,08±0,01  | 0,08±0,01  | -         |
| $\beta$ -Elemen                | 2,56±0,11             | 1,40±0,05  | 0,30±0,01  | 0,10±0,01  | 0,29±0,02  | -         |
| $\beta$ -Kariofilen            | 3,29±0,15             | 1,06±0,04  | 0,18±0,01  | 0,23±0,01  | 0,23±0,02  | -         |
| $\gamma$ -Elemen               | 1,08±0,05             | 1,39±0,05  | 0,37±0,01  | 0,14±0,00  | 0,16±0,01  | -         |
| $\alpha$ -Humulen              | 3,10±0,14             | 1,24±0,04  | 0,23±0,01  | 0,07±0,00  | 0,28±0,02  | 0,14±0,01 |
| <i>cis</i> - $\beta$ -Farnezen | 1,31±0,06             | 0,28±0,01  | 0,09±0,01  | 0,06±0,01  | 0,19±0,02  | -         |
| $\gamma$ -Kadinen              | 15,53±0,68            | 8,45±0,28  | 1,60±0,06  | 0,48±0,02  | 1,46±0,06  | 0,27±0,02 |
| $\beta$ -Selinen               | 0,85±0,04             | 0,63±0,02  | 0,14±0,01  | 0,13±0,01  | 0,13±0,01  | -         |
| $\alpha$ -Farnezen             | 0,21±0,01             | 0,32±0,01  | 0,17±0,02  | 0,09±0,00  | 0,11±0,01  | -         |
| Valencen                       | 1,40±0,06             | 1,01±0,03  | 0,21±0,02  | 0,06±0,00  | 0,14±0,01  | -         |
| 3,7- Guaidien                  | 0,41±0,02             | 0,38±0,01  | 0,09±0,01  | 0,08±0,01  | 0,08±0,01  | -         |
| Viridifloren                   | 0,84±0,04             | 0,61±0,02  | 0,14±0,01  | 0,10±0,01  | 0,09±0,01  | -         |
| $\alpha$ -Murolen              | 1,11±0,05             | 1,69±0,06  | 1,06±0,04  | 0,66±0,02  | 0,61±0,02  | 0,36±0,02 |
| $\delta$ -Kadinen              | 1,11±0,05             | 1,28±0,04  | 0,38±0,01  | 0,20±0,01  | 0,32±0,01  | 0,18±0,01 |
| $\alpha$ -Kalakoren            | 0,16±0,01             | 0,34±0,01  | 0,41±0,01  | 0,45±0,02  | 0,39±0,01  | 0,44±0,02 |
| Germakren D                    | 7,41±0,33             | 9,59±0,32  | 2,39±0,09  | 0,79±0,03  | 0,89±0,03  | 0,30±0,02 |
| Germakren B                    | 4,40±0,19             | 12,20±0,41 | 10,04±0,36 | 7,40±0,25  | 5,47±0,21  | 4,06±0,10 |
| SESKVITERPENI                  | 47,20±2,08            | 42,84±1,43 | 18,54±0,67 | 11,25±0,38 | 11,62±0,44 | 6,31±0,27 |

**Tabela 4.** Nastavak.

| Komponenta                             | Vreme ekstrakcije (h) |                   |                   |                   |                   |                   |
|--|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|  | 0-0,60                | 0,60-1,4          | 1,4-2,2           | 2,2-2,8           | 2,8-3,2           | 3,2-3,9           |
| Terpinen-1-ol                          | 0,27±0,02             | 0,16±0,01         | -                 | -                 | -                 | -                 |
| $\beta$ -Terpineol                     | 0,63±0,05             | 0,15±0,01         | 0,16±0,02         | 0,08±0,01         | 0,06±0,01         | -                 |
| ( <i>cis</i> , <i>trans</i> ) Verbenol | 0,68±0,05             | 0,21±0,02         | 0,12±0,02         | 0,09±0,01         | 0,10±0,01         | -                 |
| Pinokarveol                            | 1,27±0,05             | 0,82±0,03         | 0,15±0,02         | 0,07±0,01         | 0,14±0,02         | -                 |
| Borneol                                | 0,30±0,01             | 0,22±0,01         | 0,05±0,01         | -                 | -                 | -                 |
| Terpinen-4-ol                          | 4,97±0,19             | 1,03±0,04         | 0,11±0,02         | 0,12±0,02         | 0,15±0,02         | -                 |
| $\alpha$ -Terpineol                    | 0,45±0,02             | 0,15±0,01         | 0,06±0,01         | 0,05±0,01         | -                 | -                 |
| $\gamma$ -Terpineol                    | 0,42±0,02             | 0,35±0,02         | 0,11±0,01         | 0,09±0,01         | 0,05±0,01         | -                 |
| Bornilacetat                           | 0,35±0,01             | 0,06±0,00         | -                 | -                 | -                 | -                 |
| Geranilacetat                          | 0,17±0,01             | 0,10±0,00         | -                 | -                 | -                 | -                 |
| <b>OKSIG. MONOTERPENI</b>              | <b>12,17±0,46</b>     | <b>3,97±0,14</b>  | <b>1,02±0,04</b>  | <b>0,56±0,02</b>  | <b>1,12±0,04</b>  | <b>0,52±0,02</b>  |
| Kariofilenol-11                        | 0,30±0,01             | 0,67±0,03         | 0,76±0,02         | 0,60±0,02         | 0,41±0,01         | 0,35±0,02         |
| Nerolidol                              | 1,08±0,05             | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| Kariofilen oksid                       | 1,00±0,05             | 1,27±0,05         | 0,86±0,03         | 0,64±0,03         | 0,57±0,02         | 0,20±0,01         |
| Špatulenol                             | 1,45±0,07             | 1,86±0,07         | 0,84±0,03         | 0,46±0,02         | 0,56±0,02         | 0,27±0,01         |
| Humulen oksid (I)                      | 0,44±0,02             | 0,89±0,03         | 1,06±0,03         | 1,07±0,04         | 0,88±0,03         | 0,85±0,04         |
| T-Kadinol                              | 0,19±0,01             | 0,39±0,01         | 0,45±0,01         | 0,39±0,02         | 0,37±0,01         | 0,25±0,01         |
| $\delta$ -Kadinol                      | 0,68±0,03             | 1,44±0,05         | 1,97±0,06         | 2,18±0,09         | 2,02±0,07         | 1,98±0,09         |
| $\beta$ -Eudesmol                      | 0,08±0,00             | 0,20±0,01         | 0,33±0,01         | 0,39±0,02         | 0,41±0,01         | 0,41±0,02         |
| $\alpha$ -Kadinol                      | 0,87±0,04             | 2,02±0,08         | 3,15±0,10         | 3,88±0,16         | 3,56±0,13         | 4,17±0,19         |
| <b>OKSIG. SESKVITERPENI</b>            | <b>8,07±0,39</b>      | <b>12,55±0,47</b> | <b>14,04±0,43</b> | <b>13,85±0,57</b> | <b>11,92±0,43</b> | <b>11,24±0,52</b> |
| <b>OSTALE KOMPONENTE</b>               | <b>8,96±0,34</b>      | <b>39,18±1,62</b> | <b>65,65±2,03</b> | <b>74,05±3,26</b> | <b>75,12±3,12</b> | <b>81,86±4,05</b> |

Frakcije obogaćene komponentama visoke tačke ključanja dobijene su kada je gustina CO<sub>2</sub> bila veća. Ukoliko se ekstrakcija bobica kleke odvija na pritisku od 80 bar kutikularni voskovi, masti, smole i druge komponente visoke tačke ključanja, neće u značajnoj meri biti prisutne u ekstraktu, čak i ako ekstrakcija traje 3 h (Slika 21). S druge strane, komponente svrstane u grupu O, u ekstraktima dobijenim na 90 i 100 bar, već posle 0,6 h ekstrakcije prisutne su, redom, u količinama 9,96±0,69% (Slika 15) i 30,49±1,55 % (Slika 16).

**Tabela 5.** Relativni sadržaj ( $\bar{X} \pm SD$  %) najvažnijih komponenata ekstrakata bobica kleke (*Juniperus communis* L.) dobijenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na 40°C i 100 bar.

| Komponenta         | Vreme ekstrakcije (h) |           |           |           |           |           |
|--------------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                    | 0-0,30                | 0,30-0,45 | 0,45-0,60 | 0,60-0,75 | 0,75-0,90 | 0,90-1,20 |
| $\alpha$ -Tujen    | 0,12±0,02             | 0,07±0,01 | -         | -         | -         | -         |
| $\alpha$ -Pinen    | 7,17±0,26             | 0,13±0,01 | 0,10±0,01 | 0,11±0,01 | 0,08±0,00 | 0,07±0,00 |
| $\alpha$ -Fenhen   | 0,10±0,02             | -         | -         | -         | -         | -         |
| Kamfen             | Tr                    | -         | -         | -         | -         | -         |
| Sabinen            | 3,33±0,11             | 0,08±0,01 | 0,13±0,01 | 0,14±0,01 | 0,10±0,01 | 0,13±0,01 |
| $\beta$ -Pinen     | 0,67±0,03             | tr        | tr        | tr        | tr        | 0,07±0,00 |
| $\beta$ -Mircen    | 1,90±0,06             | -         | -         | -         | -         | -         |
| $\delta$ -3-Karen  | Tr                    | -         | -         | -         | -         | -         |
| $\alpha$ -Terpinen | Tr                    | -         | -         | -         | -         | -         |
| p-Cimen            | 0,23±0,03             | -         | -         | -         | -         | -         |
| Limonen            | 0,69±0,06             | tr        | tr        | tr        | tr        | 0,06±0,00 |
| $\gamma$ -Terpinen | 0,78±0,06             | 0,07±0,01 | -         | -         | -         | -         |
| Terpinolen         | 0,80±0,06             | 0,15±0,01 | -         | -         | -         | -         |
| MONOTERPENI        | 16,08±0,73            | 0,52±0,05 | 0,25±0,02 | 0,30±0,02 | 0,19±0,01 | 0,33±0,02 |

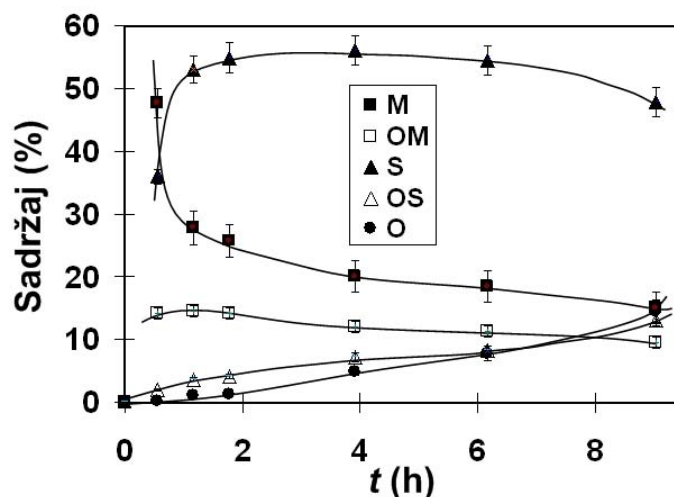
**Tabela 5.** Nastavak.

| Komponenta                     | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |            |           |           |
|--------------------------------|-----------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
|                                | 0-0,30                | 0,30-0,45  | 0,45-0,60  | 0,60-0,75  | 0,75-0,90 | 0,90-1,20 |
| $\alpha$ -Kubeben              | 0,81±0,04             | 0,13±0,00  | tr         | 0,06±0,00  | -         | -         |
| $\alpha$ -Kopaen               | 0,54±0,03             | 0,14±0,00  | tr         | 0,05±0,00  | -         | -         |
| $\beta$ -Elemen                | 2,93±0,11             | 1,86±0,06  | 0,42±0,02  | 0,12±0,01  | 0,05±0,00 | -         |
| $\beta$ -Kariofilen            | 2,68±0,15             | 1,17±0,04  | 0,20±0,01  | 0,05±0,00  | -         | -         |
| $\gamma$ -Elemen               | 2,64±0,09             | 1,70±0,05  | 0,54±0,02  | 0,19±0,01  | 0,06±0,00 | -         |
| $\alpha$ -Humulen              | 3,22±0,17             | 1,43±0,04  | 0,28±0,01  | 0,06±0,00  | -         | -         |
| <i>cis</i> - $\beta$ -Farnezen | 0,62±0,03             | 0,34±0,01  | tr         | 0,09±0,00  | tr        | 0,08±0,00 |
| $\gamma$ -Kadinen              | 12,43±0,72            | 10,08±0,31 | 2,20±0,08  | 0,47±0,02  | 0,23±0,01 | 0,09±0,00 |
| $\beta$ -Selinen               | 1,04±0,04             | 0,70±0,02  | 0,22±0,01  | 0,05±0,00  | -         | -         |
| $\alpha$ -Farnezen             | 0,48±0,03             | 0,30±0,01  | 0,21±0,01  | 0,11±0,00  | -         | -         |
| Valencen                       | 2,17±0,07             | 1,25±0,04  | 0,34±0,01  | 0,07±0,00  | 0,06±0,00 | -         |
| 3,7-Guaidien                   | 0,61±0,03             | 0,41±0,01  | 0,14±0,01  | 0,04±0,00  | -         | -         |
| Viridifloren                   | 0,73±0,04             | 0,63±0,02  | 0,22±0,01  | 0,05±0,00  | -         | -         |
| $\alpha$ -Murolen              | 2,82±0,09             | 1,73±0,05  | 1,36±0,05  | 0,76±0,04  | 0,48±0,02 | 0,14±0,01 |
| $\delta$ -Kadinen              | 2,35±0,08             | 1,44±0,04  | 0,61±0,02  | 0,24±0,01  | 0,13±0,01 | 0,15±0,01 |
| $\alpha$ -Kalakoren            | 0,26±0,01             | 0,34±0,01  | 0,43±0,02  | 0,54±0,03  | 0,38±0,01 | 0,29±0,01 |
| Germakren D                    | 8,85±0,45             | 8,97±0,28  | 3,94±0,15  | 1,05±0,05  | 0,40±0,02 | 0,09±0,00 |
| Germakren B                    | 10,60±0,57            | 13,07±0,40 | 13,16±0,50 | 8,10±0,38  | 5,80±0,23 | 2,13±0,08 |
| SESKVITERPENI                  | 56,80±2,77            | 46,37±1,43 | 24,96±0,95 | 12,75±0,60 | 8,06±0,32 | 3,13±0,11 |

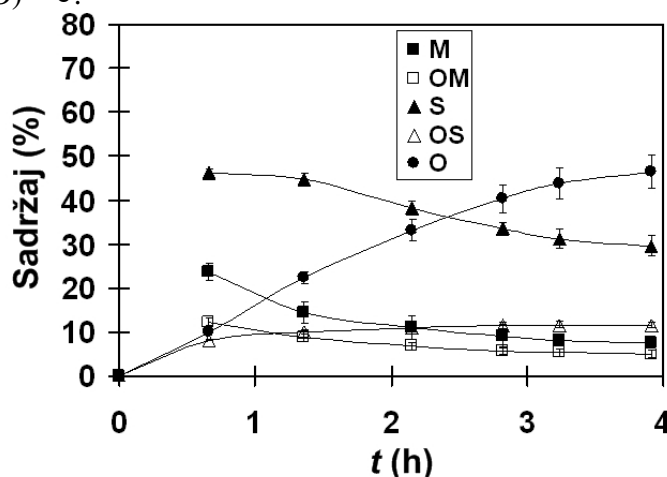
**Tabela 5.** Nastavak.

| Komponenta                     | Vreme ekstrakcije (h) |                   |                   |                   |                   |                   |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                                | 0-0,30                | 0,30-0,45         | 0,45-0,60         | 0,60-0,75         | 0,75-0,90         | 0,90-1,20         |
| Terpinen-1-ol                  | 0,19±0,03             | 0,16±0,02         | -                 | -                 | -                 | -                 |
| $\beta$ -Terpineol             | 0,46±0,04             | 0,11±0,01         | 0,15±0,02         | 0,06±0,01         | -                 | -                 |
| ( <i>cis, trans</i> ) Verbenol | 0,53±0,05             | 0,11±0,01         | 0,05±0,01         | -                 | -                 | -                 |
| Pinokarveol                    | 1,47±0,07             | 0,42±0,02         | 0,15±0,02         | 0,06±0,01         | -                 | -                 |
| Borneol                        | 0,27±0,01             | 0,13±0,01         | 0,05±0,01         | -                 | -                 | -                 |
| Terpinen-4-ol                  | 4,63±0,22             | 0,87±0,04         | 0,10±0,02         | 0,05±0,01         | -                 | -                 |
| $\alpha$ -Terpineol            | 0,47±0,02             | 0,15±0,02         | 0,11±0,01         | -                 | -                 | -                 |
| $\gamma$ -Terpineol            | 0,44±0,02             | 0,21±0,01         | 0,18±0,02         | 0,05±0,01         | -                 | -                 |
| Bornilacetat                   | 0,25±0,01             | 0,05±0,00         | 0,05±0,01         | 0,05±0,01         | -                 | -                 |
| Geranilacetat                  | 0,16±0,01             | 0,13±0,01         | -                 | -                 | -                 | -                 |
| <b>OKSIG. MONOTERPENI</b>      | <b>9,97±0,48</b>      | <b>2,96±0,14</b>  | <b>0,76±0,03</b>  | <b>0,80±0,06</b>  | <b>0,14±0,04</b>  | <b>0,21±0,03</b>  |
| Kariofilenol-11                | 0,53±0,03             | 0,51±0,02         | 0,75±0,03         | 0,62±0,02         | 0,43±0,02         | 0,15±0,01         |
| Nerolidol                      | 0,92±0,03             | -                 | -                 | -                 | -                 | -                 |
| Kariofilen oksid               | 1,36±0,05             | 1,04±0,04         | 0,94±0,03         | 0,64±0,02         | 0,50±0,02         | 0,12±0,01         |
| Špatulenol                     | 1,37±0,07             | 1,68±0,07         | 0,95±0,03         | 0,52±0,02         | 0,25±0,01         | 0,13±0,01         |
| Humulen oksid (I)              | 0,72±0,03             | 0,74±0,03         | 0,92±0,03         | 0,90±0,03         | 0,72±0,03         | 0,46±0,02         |
| T-Kadinol                      | 0,41±0,02             | 0,41±0,02         | 0,44±0,02         | 0,62±0,02         | 0,36±0,01         | 0,16±0,01         |
| $\delta$ -Kadinol              | 1,16±0,05             | 1,27±0,05         | 1,68±0,06         | 1,91±0,06         | 1,70±0,06         | 1,25±0,05         |
| $\beta$ -Eudesmol              | 0,23±0,02             | 0,17±0,01         | 0,23±0,01         | 0,20±0,01         | 0,22±0,01         | 0,25±0,01         |
| $\alpha$ -Kadinol              | 1,54±0,08             | 1,75±0,07         | 2,65±0,09         | 3,15±0,11         | 3,16±0,12         | 2,65±0,11         |
| <b>OKSIG. SESKVITERPENI</b>    | <b>8,94±0,39</b>      | <b>11,00±0,45</b> | <b>12,72±0,44</b> | <b>12,08±0,41</b> | <b>9,82±0,36</b>  | <b>6,48±0,27</b>  |
| <b>OSTALE KOMPONENTE</b>       | <b>8,21±0,26</b>      | <b>39,24±1,43</b> | <b>61,32±2,30</b> | <b>74,06±3,38</b> | <b>81,80±2,72</b> | <b>89,85±4,15</b> |

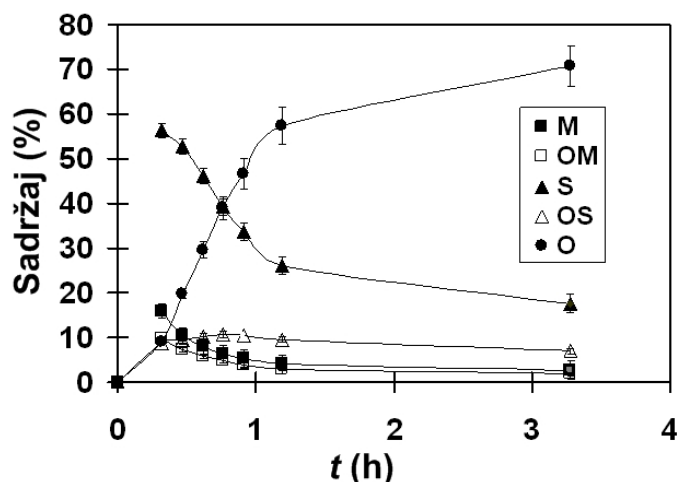




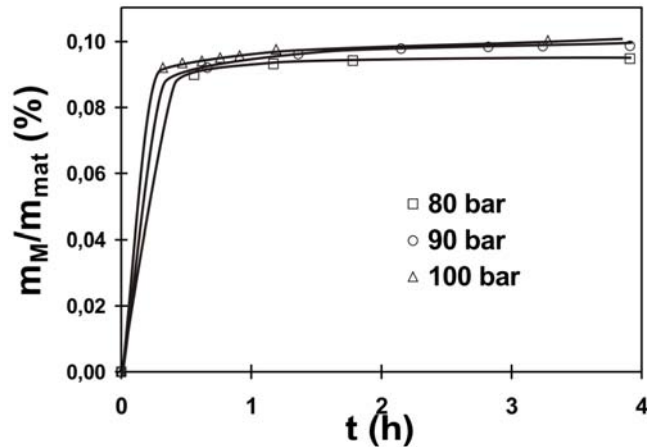
**Slika 14.** Promena procentnog sadržaja pojedinih grupa jedinjenja u ekstraktima bobica kafe sa vremenom ekstrakcije, na 80 bar i 40°C. Grupe komponentata: monoterpeni (M) – ■, oksidovani monoterpeni (OM) – □, seskviterpeni (S) – ▲, oksidovani seskviterpeni (OS) – △ i druge (O) – ●.



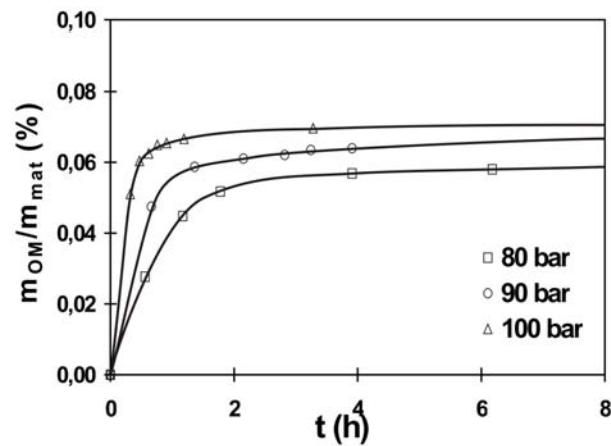
**Slika 15.** Promena procentnog sadržaja pojedinih grupa jedinjenja u ekstraktima bobica kafe sa vremenom ekstrakcije, na 90 bar i 40°C. Objašnjenje skraćenica i simbola isto kao na Slici 14.



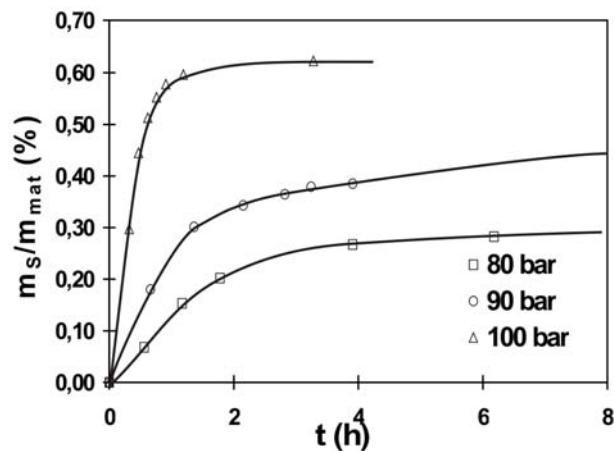
**Slika 16.** Promena procentnog sadržaja pojedinih grupa jedinjenja u ekstraktima bobica kafe sa vremenom ekstrakcije, na 100 bar i 40°C. Objašnjenje skraćenica i simbola isto kao na Slici 14.



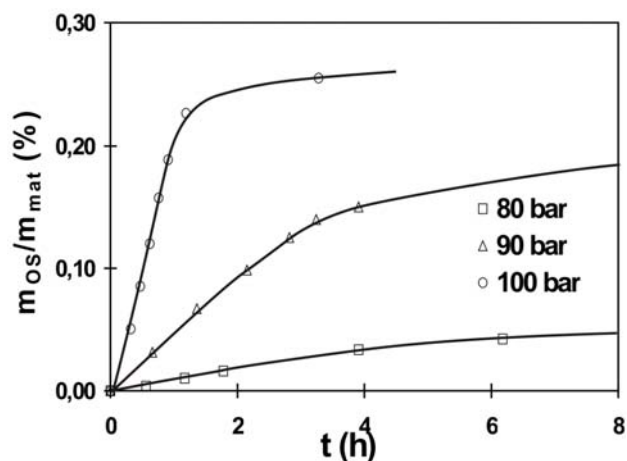
**Slika 17.** Kinetika ekstrakcije monoterpena (M) iz bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11. Prinosi su izraženi u procentima, odnosno, kao gram ekstrahovanih M u 100 grama sirovog materijala.



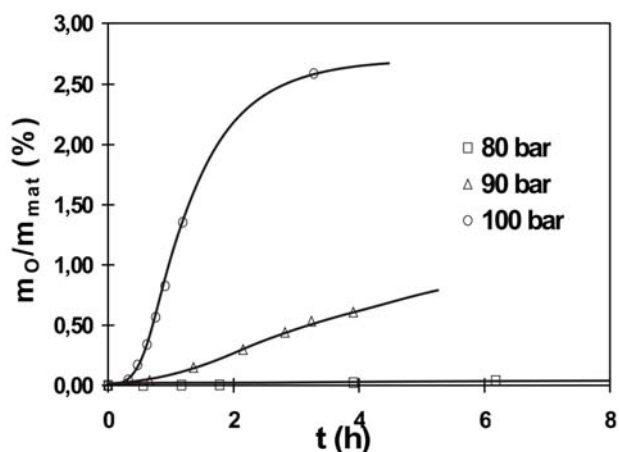
**Slika 18.** Kinetika ekstrakcije oksidovanih monoterpena (OM) iz bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11. Prinosi su izraženi u %, odnosno, kao gram OM u 100 grama sirovog materijala.



**Slika 19.** Kinetika ekstrakcije seskviterpena (S) iz bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11. Prinosi su izraženi u %, odnosno, kao gram S u 100 grama sirovog materijala.



**Slika 20.** Kinetika ekstrakcije oksidovanih seskviterpena (OS) iz bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11. Prinosi su izraženi u %, odnosno, kao gram OS u 100 grama sirovog materijala.

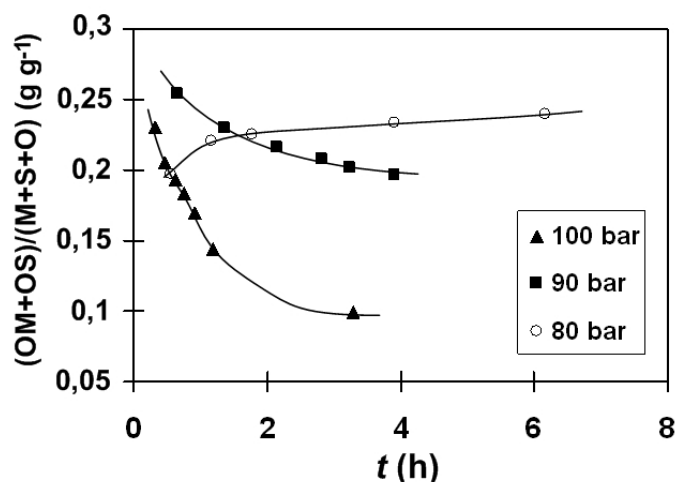


**Slika 21.** Kinetika ekstrakcije komponenata velikih molekulskih masa (kao što su masna ulja, voskovi i/ili smole i neki drugi neidentifikovani pikovi na hromatogramima) iz bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritiscima 80, 90 i 100 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11. Prinosi su izraženi u %, odnosno, kao gram ekstrahovane terpenске grupe u 100 grama sirovog materijala.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da ekstrakcija bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na višim pritiscima od 80 bar treba da se izvodi u uređaju sa dva separatora. Uz to, može se primetiti i da bi se deterpenizacijom etarskog ulja na 80 bar i 40°C veoma lako i za kratko vreme mogli ukloniti monoterpeni. Dobijena monoterpenска frakcija bi se mogla koristiti u različite svrhe, između ostalog, i kao ekološki prihvatljiva alternativa preparatima za suzbijanje štetočina. S druge strane, deterpenizovana frakcija ima jače izraženo antibakterijsko dejstvo od polaznog ulja [145].

Tokom prvih 0,6 h ekstrakcije na 90 i 100 bar, dobijene frakcije su sadržavale: 47,20±1,74%, odnosno 45,45±2,36% S; i 8,07±0,35%, odnosno 10,65±0,52% OS. Za industriju mirisa, koja obuhvata proizvodnju prirodnih i sintetskih mirisnih komponenata, mirisnih kompozicija i aroma namenjenih aromatizovanju hrane i prehrambenih proizvoda, veći značaj imaju oksidovani terpeni, pošto daju značajniji doprinos mirisu u odnosu na neoksidovane terpene, pa se udeo oksidovanih terpena u ekstraktima može koristiti kao

indikator kvaliteta ulja. Maseni odnos oksidovanih terpena i sume monoterpena, seskviterpena i ostalih komponenata u ekstraktima dobijenim na 40°C i pritiscima 80, 90 i 100 bar prikazan je na Slici 22. Zbog ekstrakcije značajnih količina komponenata velike molekulske mase (O) u toku ekstrakcije, odnos (OM+OS) i (M+S+O) se smanjuje sa vremenom ekstrakcije i na 90 i na 100 bar. Rezultati pokazuju da bi se ekstrakcijom na pritisku od 90 bar i temperaturi od 40°C, u trajanju do 2 h (~ 40 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> mat) dobili ekstrakti sa najvećom vredno[ću masenog odnosa oksidovanih i neoksidovanih komponenata. Zbog smanjenih brzina ekstrakcije seskviterpena posle 2 h ekstrakcije i još uvek velike brzine ekstrakcije OS nakon tog perioda, proces koji bi trajao do 3 h (~ 60 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup>) povećao bi maseni odnos OS/S.



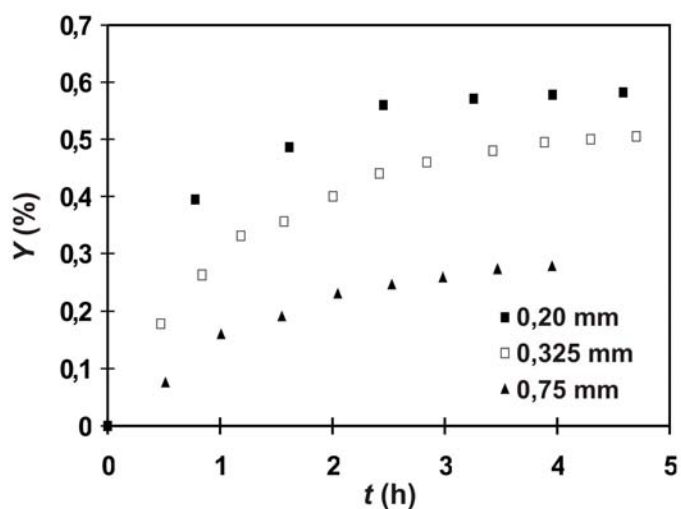
**Slika 22.** Maseni odnos oksidovanih terpena i ostalih prisutnih grupa jedinjena u ekstraktima kleke dobijenim na 40°C i pritiscima 80 bar (○), 90 bar (■) i 100 bar (▲). Ostali uslovi kao na Slici 11.

Variranjem pritiska ekstrakcije i vremena trajanja procesa mogu se pomoću natkritičnog ugljendioksida dobiti ekstrakti bobica kleke (*J. communis* L.) sa različitim odnosima najznačajnijih terpenskih grupa. Pošto bi se određene grupe terpenskih komponenata, koje se ekstrahuju istom brzinom i po pravilu pokazuju sinergijski efekat i imaju slične aktivnosti na ovaj način mogle koncentrisati u ekstraktima, postoji mogućnost kreiranja novih prirodnih proizvoda prema željenoj nameni.

### 5.1.1.2. Uticaj veličine čestica na prinos

Provera uticaja veličine čestica na ekstrakciju bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom, prikazana je na Slici 23. Eksperimentalni podaci su dobijeni na pritisku 80 bar, na temperaturi 40°C, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup>, u smeru na gore, kroz sloj formiran od 20 g bobica kleke, usitnjenih na tri različite veličine čestica srednjih prečnika 0,20, 0,325 i 0,75 mm.

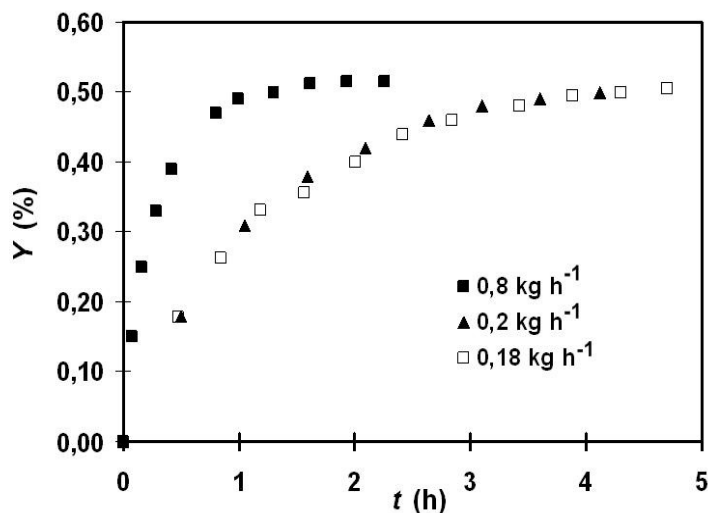
Sa Slike 23 se vidi da veličina čestica ima veliki uticaj na prinos i brzinu ekstrakovanja etarskog ulja kleke natkritičnim ugljendioksidom. Prinos ekstrakcije (Y) je veći za sitnije čestice, što je u skladu sa očekivanjima, jer se sa povećavanjem stepena usitnjenosti povećava brzina difuzije, skraćuje difuzioni put, povećava specifična međufazna površina i dolazi do promena u filmu natkritičnog fluida koji okružuje čestice.



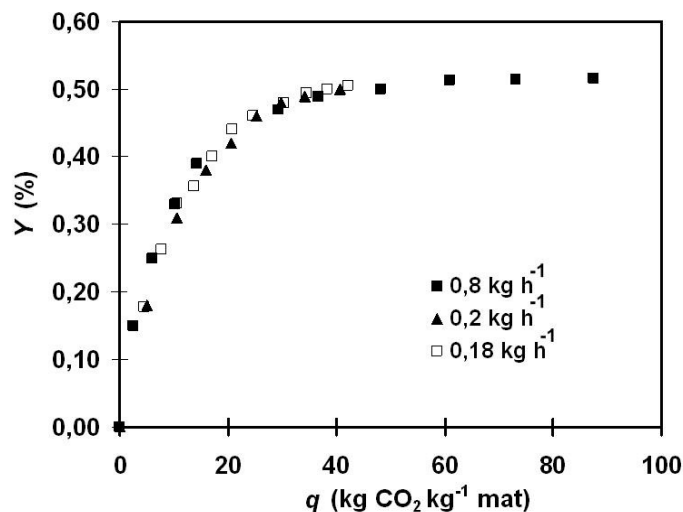
**Slika 23.** Kinetika ekstrakcije bobica kleke ugljendioksidom na pritisku 80 bar i temperaturi 40°C, za srednje prečnike čestica: 0,2 mm (■), 0,325 mm (□) i 0,75 mm (▲).

### 5.1.1.3. Uticaj protoka CO<sub>2</sub> na prinos

Proveru uticaja protoka natkritičnog ugljendioksida na ekstrakciju bobica kleke, prikazuje Slika 24. Eksperimentalni podaci su dobijeni na pritisku 80 bar i temperaturi 40°C, za tri različita protoka CO<sub>2</sub> i to: 0,18, 0,2 i 0,8 kg h<sup>-1</sup>. Na osnovu prikazanih ekstrakcionih krivih jasno je da nema razlike između ekstrakcionih krivih dobijenih za protoke 0,18 i 0,2 kg h<sup>-1</sup>, što daje mogućnost da zanemari uticaj manjih varijacija protoka na proces.



**Slika 24.** Kinetika natkritične ekstrakcije bobica kleke, srednjeg prečnika čestica 0,35 mm, na pritisku 80 bar i temperaturi 40°C, za protoke ugljendioksida: 0,8 kg h<sup>-1</sup> (■); 0,2 kg h<sup>-1</sup> (▲) i 0,18 kg h<sup>-1</sup> (□).



**Slika 25.** Zavisnost prinosa ekstrakta od specifične potrošnje natkritičnog ugljenidoksida u toku ekstrakcije kleke, srednjeg prečnika čestica 0,35 mm, na pritisku 80 bar i temperaturi 40°C, za protoke ugljenidoksida: 0,18 kg h<sup>-1</sup> (□), 0,20 kg h<sup>-1</sup> (▲) i 0,80 kg h<sup>-1</sup> (■).

Pri većem protoku, brzina ekstrakcije je veća u prvom delu procesa, u kojem prenos mase kontroliše brzina prenosa mase u filmu fluida, odnosno spoljašnji koeficijent prenosa mase. Međutim, ako se prinos prikaže u zavisnosti od specifične potrošnje ugljenidoksida,  $q$ , (Slika 25), vidi se da razlike između prinosa ekstrakta za protoke 0,2 i 0,8 kg h<sup>-1</sup> za istu potrošnju rastvarača gotovo da i ne postoje, odnosno, na početku procesa brzina ekstrakcije pri većem protoku nije statistički značajno veća, a svaka razlika između prinosa pri kraju procesa nestaje.

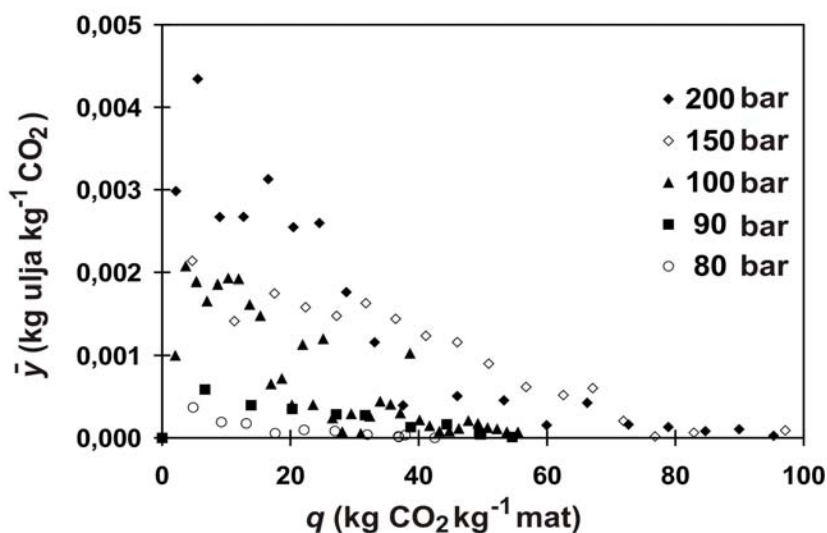
### 5.1.2. MATEMATIČKO MODELOVANJE EKSTRAKCIJE PLODA KLEKE NATKRITIČNIM CO<sub>2</sub>

Ekstrakcija bobica kleke natkritičnim ugljenidoksidom je od samog starta nestacionaran proces, a izlazna koncentracija etarskog ulja u natkritičnom fluidu opada progresivno u toku procesa, što se može videti na Slici 26 [217, 218].

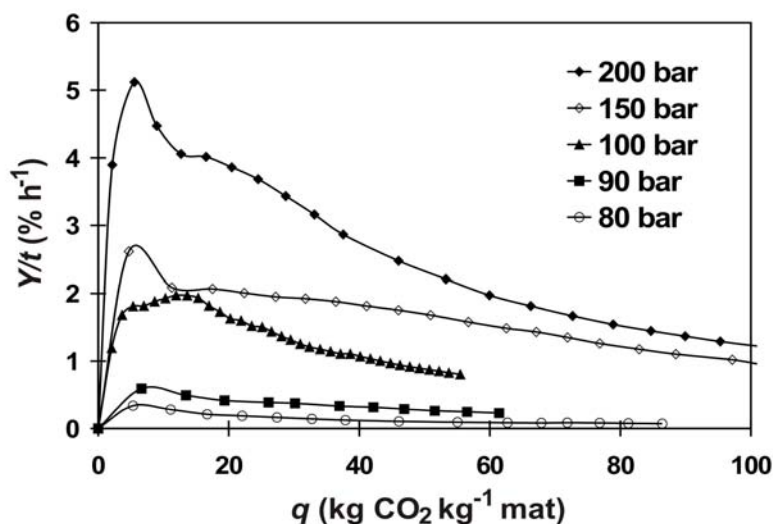
Etarsko ulje u bobicama kleke prisutno je u maloj količini, tako da je njegova koncentracija u fluidu uvek zanemarljiva i daleko manja od ravnotežne. Na slici 27 je prikazana promena odnosa prinosa ekstrakta sa vremenom ekstrakcije,  $Y/t$  (% h<sup>-1</sup>) u zavisnosti od specifične potrošnje CO<sub>2</sub> u procesu,  $q$ . Na ovaj način se može utvrditi u kom trenutku brzina ekstrakcije u procesu dostiže svoju maksimalnu vrednost i koliko ona iznosi. Sa porastom pritiska ekstrakcije rastu vrednosti maksimalne brzine ekstrakcije.

Zbog jednakosti čestica u homogenom sloju mogu se koristiti modeli koji opisuju varijaciju koncentracije unutar jedne sfere [105]. Dva modela ovoga tipa proverena su na izloženim eksperimentalnim rezultatima, složeniji oblik modela jedne sfere, MJS-1, dat jednačinama (88) i (89), koji uključuje otpor prenosu mase u fazi fluida, kao i prostiji oblik modela, koji izuzima ovaj fenomen, MJS-2 dat jednačinom (90). S obzirom da MJS-1 može da se primeni i na način da se koeficijent prenosa mase u filmu fluida,  $k_f$ , odredi kao nepoznati parametar na osnovu eksperimentalnih rezultata, proverena je i efikasnost matematičkog modelovanja modelom jedne sfere sa dva prilagodljiva parametra, MJS-1 (2 par). Takođe, proveren je i model karakterističnog vremena, MKV, na koga se odnosi set jednačina (91)-

(94), koji može da se primeni na procese kod kojih brzina unutrašnje difuzije kontroliše proces. Prošireni Lack-ov model klipnog toka koji je predložila Sovová [79] (jednačine (96)-(101)), iako je originalno korišćen za opisivanje ekstrakcije uljarica, koristi se i za opisivanje ekstrakcije etarskih ulja, tako da je proveren i u ovom radu za opisivanje natkritične ekstrakcije usitnjenih bobica kleke. Prošireni Lack-ov model klipnog toka sadrži oba koeficijenta prenosa mase. U ukupni otpor prenosu mase uključeni su otpori prenosu mase u filmu rastvarača koji okružuje česticu (određuje brzinu ekstrakcije lako dostupnog rastvorka) i u unutrašnjosti čestice (određuje brzinu prenosa mase vezanog rastvorka). Ovaj model definiše tri ekstrakciona perioda. Model ima tri parametra koji se optimizuju  $x_k$ ,  $F$  i  $S$ , i kao rezultat modelovanja dobijaju su koeficijenti prenosa mase u čvrstoj i fluidnoj fazi.



**Slika 26.** Izlazne koncentracije etarskog ulja kleke u natkritičnom ugljendioksidu u zavisnosti od specifične potrošnje CO<sub>2</sub> na pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11.



**Slika 27.** Promena odnosa  $Y/t$  u zavisnosti od specifične potrošnje CO<sub>2</sub> na pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar. Ostali uslovi kao na Slici 11.

### 5.1.2.1. Određivanje $k_f$ (uticaj pritiska)

Za potrebe modelovanja ekstrakcije etarskog ulja bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na pritisku 80 bar i temperaturi 40° u trajanju ekstrakcije do 6 h, za vrednosti početnog sadržaja etarskog ulja kleke u materijalu,  $x_0$ , uzeta je vrednost prinosa dobijenog hidrodestilacijom (0,603%, m/m). Međutim, s obzirom da je u ekstraktima dobijenim na višim pritiscima pored etarskog ulja prisutan i veliki broj komponenata kojih nema u etarskom ulju koje se dobija hidrodestilacijom, za polaznu koncentraciju rastvorka koji se može ekstrahovati iz materijala,  $x_0$ , na pritiscima 90, 100 i 150 bar, uzete su maksimalne vrednosti ukupnih prinosa ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na tim pritiscima uvećane za 10%, odnosno redom vrednosti: 1,63%, 4,40% i 10,10%. Druga varijanta proračuna izvedena je tako da je za ekstrakcije na svim ispitivanim pritiscima (90, 100, 150 i 200 bar) uzeta vrednost 10,48% početnog sadržaja materija koje se mogu ekstrahovati iz materijala, što odgovara maksimalnoj vrednosti ukupnog prinosa ostvarenog na 200 bar.

Za vrednosti gustine i koeficijenta dinamičke viskoznosti natkritične faze, uzete su odgovarajuće vrednosti za CO<sub>2</sub>. Gustina je procenjena na osnovu Dohrn-Prausnic jednačine stanja, softverskim paketom PE2000 [223], a koeficijent dinamičke viskoznosti na osnovu Jossi, Stiel i Thodos metoda, jednačine (23),(24),(28) i (29) [25].

Tabela 7 daje vrednosti koeficijenta prenosa mase etarskog ulja kleke kroz film natkritičnog CO<sub>2</sub> oko usitnjene čestice ploda,  $k_f$ , za ekstrakcije ugljendioksidom na temperaturi 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Rezultate za  $k_f$ , za 6 eksperimenata na 80 bar, prikazuje Tabela 16. Vrednosti  $k_f$  su izračunate iz Šervudovog broja, procenjene kao prilagodljiv parametar u modelu MJS-1 (2 par) i procenjene preko modela koji je predložila Sovová [79].

**Tabela 6.** Vrednosti koeficijenta difuzije  $D_{12}$  za neke karakteristične komponente u ugljendioksidu na temperaturi 40°C i pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar.

| Komponenta       | $D_{12} \times 10^8 \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$ |      |      |      |      |
|------------------|--|------|------|------|------|
|                  | p (bar)  |      |      |      |      |
|                  | 80   | 90   | 100  | 150  | 200  |
| $\alpha$ -pinen  | 5,76   | 3,15 | 2,23 | 1,57 | 1,36 |
| 4-Terpineol      | 5,93   | 3,24 | 2,29 | 1,61 | 1,40 |
| Kadinen          | 5,59   | 3,05 | 2,16 | 1,52 | 1,32 |
| Kariofilen oksid | 5,59   | 3,06 | 2,16 | 1,52 | 1,32 |
| Triakontan       | 5,21   | 2,85 | 2,01 | 1,42 | 1,23 |

Vrednosti koeficijenta prelaza mase  $k_f$  izračunate su iz jednačine (46), a vrednosti Šervudovog broja su procenjene iz korelacija (48)-(52), koje su predložili Wakao i Kaguei [43], Tan i sar. [44], King i Catchpole [45], Puiggené i sar. [46] i Hong i sar. [39]. Karakteristična dimenzija u izrazu (46) je prečnik čestice, a za vrednost difuzivnosti etarskog ulja u natkritičnom ugljendioksidu,  $D$ , uzeta je vrednost za  $\alpha$ -pinen, monoterpen koji je prisutan u ulju kleke, dok je za proračun korišćen metod koju su predložili Catchpole i King [32], jednačine (30)-(32). Koeficijent samodifuzije ugljendioksida je računat prema jednačini (34), a kritična molarna zapremina rastvorka metodom koju je predložio Joback [25], prema jednačini (36). Iako je vrednost difuzivnosti etarskog ulja niža od vrednosti za  $\alpha$ -pinen, da bi



što realnije bio uzet u obzir uticaj pritiska na proračun vrednosti  $k_f$ , vrednost  $D$  nije uzeta kao konstanta, kao što su to uradili Reverchon i sar. [62], koji pri modelovanju natkritične ekstrakcije etarskih ulja i voskova koriste eksperimentalno izmerenu vrednost koeficijenta difuzije za sistem  $\beta$ -naftol/ $\text{CO}_2$  [44] od  $1 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Silva i sar. [38] su izmerili binarni koeficijent difuzije  $\alpha$ -pinena u natkritičnom ugljendioksidu pri beskonačnom razblaženju rastvora, na pritiscima od 12 do 20 MPa i temperaturama 40, 50 i  $60^\circ\text{C}$ , i dobili vrednosti u opsegu od 0,89 do  $2,37 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Za nekoliko karakterističnih jedinjenja proračunate su vrednosti binarnog koeficijenta difuzije u ugljendioksidu, na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar (Tabela 6).

Tabela 7 prikazuje vrednosti koeficijenta  $k_f$ , vrednosti svih parametara procesa na osnovu kojih su izračunati Re, Sc i Sh broj, kao i izračunate vrednosti ovih bezdimenzionih kriterijuma u eksperimentima u kojima je proveravan uticaj pritiska na natkritičnu ekstrakciju ploda kleke. Vrednosti Re broja kreću se oko 1, dok je vrednost Sc broja između 2 i 7. Vrednost Sc broja zavisi od dobro pretpostavljene vrednosti za  $D$ . Vrednosti koeficijenta prelaza mase izračunate primenom kriterijalnih jednačina (48)-(52) značajno se razlikuju i kreću se u opsegu od  $1,5 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , za vrednosti Sh procenjene iz jednačine (52), do  $376 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , za vrednosti Sh procenjene iz jednačine (48). Vrednosti Re i Sc broja u prikazanim eksperimentima zadovoljavaju samo uslove potrebne za primenu kriterijalnih jednačina (50) i (52).

Optimizovane vrednosti  $k_f$ , dobijene minimizacijom sume kvadrata razlike izmerenih prinosa ekstrakta i vrednosti izračunatih preko modela MJS-1 (2 par), za tri reda veličine su manje od vrednosti procenjenih iz jednačine (52) koja od svih ispitivanih korelacija daje najniže vrednosti  $k_f$  (Tabela 7). Takođe, ove vrednosti pokazuju suprotan trend u odnosu na očekivani, odnosno sa porastom pritiska rastu i vrednosti  $k_f$ . Esquivel i sar. [100] objasnili su niže uočene vrednosti koeficijenta  $k_f$ , koje se dobijaju modelom MJS-1 (2 par), kao posledicu postojanja fenomena adsorpcije rastvorka na porama čestica. Što je veći odnos koncentracije adsorbovanog rastvorka na površini pora i koncentracije rastvorka u porama, manji je koeficijent prenosa mase u natkritičnom fluidu. Pošto vrednost odnosa koncentracije adsorbovanog rastvorka na površini pora i koncentracije rastvorka u porama opada sa porastom pritiska, koeficijent  $k_f$  pri tome raste [100]. Izbor početne vrednosti rastvorka u materijalu nije imao veliki uticaj na vrednosti  $k_f$  izračunate primenom modela MJS-1 (2 par).

Prilikom modelovanja rezultata ekstrakcije modelom koji je predložila Sovová [79], pored procene polaznog sadržaja ulja u materijalu,  $x_0$ , potrebno je znati i ravnotežne rastvorljivosti ulja u  $\text{CO}_2$ ,  $y_f$ . Kod ekstrakcije uljarica, odnosno masnih ulja natkritičnim  $\text{CO}_2$ , ravnotežna rastvorljivost se procenjuje iz nagiba početnog, linearnog dela ekstrakcione krive  $Y=f(q)$ . Kod etarskih ulja, vrednost nagiba početnog linearnog dela ekstrakcione krive je manja od rastvorljivosti ulja, odnosno koncentracije ulja u natkritičnom fluidu daleko su manje od ravnotežnih vrednosti. Sastav ekstrakta ploda kleke zavisi od pritiska i od vremena ekstrakcije, tako da rastvorljivost ulja nije jednostavno proračunati. U Tabeli 8 prikazane su vrednosti rastvorljivosti nekih monoterpena:  $\alpha$ -pinena, *cis*-verbenola i limonena u natkritičnom  $\text{CO}_2$ , koje su procenjene na osnovu predloženih korelacija iz literature, baziranih na izmerenim vrednostima ravnotežne rastvorljivosti.

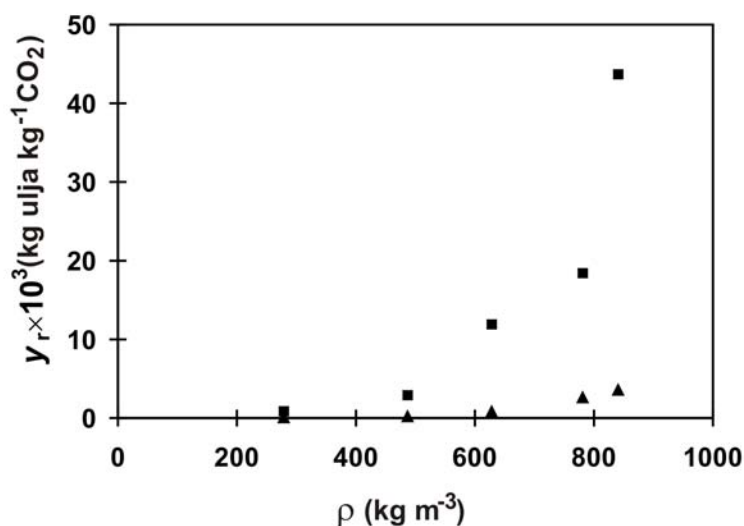
**Tabela 7.** Rezultati modelovanja ekstrakcije kleke na temperaturi 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Vrednosti koeficijenta prenosa mase etarskog ulja kleke kroz film natkritičnog CO<sub>2</sub>,  $k_f$ , oko usitnjenih plodova kleke, procenjene preko modela MJS-1 (2 par) i modela koji predlaže Sovová [79], uz vrednosti odgovarajućih veličina potrebnih za proračun  $k_f$ , i vrednosti bezdimenzionih brojeva. Sh broj procenjen na osnovu korelacija (48-52) preuzetih iz literature.  $A_E=2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E=6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L_E=0,195 \text{ m}$ .

|  |        |        |        |        |
|--|--------|--------|--------|--------|
| $p$ (bar)  | 90     | 100    | 150    | 200    |
| $T$ (K)  | 313    | 313    | 313    | 313    |
| $\rho$ (kg m <sup>-3</sup> )                       | 490    | 630    | 780    | 840    |
| $\mu \times 10^5$ (Pa s)                           | 3,493  | 4,821  | 6,879  | 7,957  |
| $\dot{V}$ (dm <sup>3</sup> h <sup>-1</sup> )       | 0,39   | 0,38   | 0,27   | 0,27   |
| $\dot{m}$ (kg h <sup>-1</sup> )                    | 0,19   | 0,24   | 0,21   | 0,23   |
| $U \times 10^4$ (m s <sup>-1</sup> )               | 3,6    | 3,5    | 2,5    | 2,5    |
| $m_{\text{mat}}$ (kg)                              | 0,020  | 0,020  | 0,020  | 0,020  |
| $d_p \times 10^3$ (m)                              | 0,325  | 0,325  | 0,325  | 0,325  |
| $\rho_{\text{ef}}$ (kg m <sup>-3</sup> )           | 1496,2 | 1496,2 | 1496,2 | 1496,2 |
| $\rho_{\text{priv}}$ (kg m <sup>-3</sup> )         | 645,0  | 645,0  | 645,0  | 645,0  |
| $\rho_{\text{sloja}}$ (kg m <sup>-3</sup> )        | 333    | 333    | 333    | 333    |
| $\varepsilon$                                      | 0,48   | 0,48   | 0,48   | 0,48   |
| $\varepsilon_p$                                    | 0,57   | 0,57   | 0,57   | 0,57   |
| $D \times 10^8$ (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )  | 3,1    | 2,2    | 1,5    | 1,4    |
| Re   | 1,6    | 1,5    | 0,9    | 0,9    |
| Sc   | 2,3    | 3,5    | 5,7    | 7,0    |
| <b>Sh</b>  |        |        |        |        |
| jed. (48)  | 4,0    | 4,1    | 3,9    | 3,9    |
| jed. (49)  | 0,8    | 0,8    | 0,6    | 0,6    |
| jed. (50)  | 1,5    | 1,6    | 1,4    | 1,4    |
| jed. (51)  | 0,4    | 0,4    | 0,3    | 0,4    |
| jed. (52)  | 0,03   | 0,04   | 0,03   | 0,04   |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )             |        |        |        |        |
| jed. (48)  | 376    | 278    | 183    | 165    |
| jed. (49)  | 72,1   | 54,4   | 30,1   | 27,2   |
| jed. (50)  | 144    | 110    | 65,8   | 60,0   |
| jed. (51)  | 38,5   | 29,2   | 16,4   | 14,8   |
| jed. (52)  | 3,2    | 2,5    | 1,6    | 1,5    |
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat)                            | 0,0163 | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| MJS-1 2 parametra                                  | 0,006  | 0,008  | 0,004  | 0,009  |
| $Y_r^*$ (kg ulja/ kg CO <sub>2</sub> )             | 6      | 19     | 26,3   | 52     |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> ) Sovová [79] | 7,81   | 5,61   | 3,51   | 3,39   |
| $Y_r$ (kg ulja/ kg CO <sub>2</sub> )               | 0,5    | 1,9    | 2,4    | 4,3    |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> ) Sovová [79] | 442    | 115    | 68,6   | 86,1   |
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat)                            | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| MJS-1 2 parametra                                  | 0,002  | 0,004  | 0,004  | 0,009  |
| $Y_r^*$ (kg ulja/ kg CO <sub>2</sub> )             | 6      | 19     | 26,3   | 52     |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> ) Sovová [79] | 7,28   | 5,52   | 3,44   | 3,39   |
| $Y_r$ (kg ulja/ kg CO <sub>2</sub> )               | 0,5    | 1,9    | 2,4    | 4,3    |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> ) Sovová [79] | 256    | 109    | 68,4   | 86,1   |

**Tabela 8.** Ravnotežne rastvorljivosti nekih monoterpena.

| $p$ (bar) | $y_r \times 10^3$ (kg kg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> ) |                |                     |                |                |                 |                   |
|-----------|--|----------------|---------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|
|           | $\alpha$ -pinen  |                | <i>cis</i> verbenol |                | limonen        |                 | Izmerena vrednost |
|           | Chrastil [56]  | Adachi-Lu [56] | Chrastil [56]       | Adachi-Lu [56] | Chrastil [224] | Adachi-Lu [225] |                   |
| 80        | 12,9   | 17,4           | 3,5                 | 3,1            | 21,1           | 9,6             | 7,6 [226]         |
| 90        |  |                | 22,1                | 27,1           | 94,9           |                 | 97,7 [227]        |
| 100       |  |                | 50,8                | 119            |                |                 |                   |

Iako u ekstraktu kleke nema samo monoterpena, bilo bi očekivano da se na početku procesa ekstrakcije upravo monoterpeni najbrže ekstrahuju, pa bi trebalo znati da je njihova rastvorljivost mnogo veća od uočene vrednosti koncentracije ulja u izlaznoj struji CO<sub>2</sub> na početku procesa. Eksperimentalno su vrednosti  $y_r$  određene na osnovu maksimalne vrednosti izlazne koncentracije ulja u natkritičnom fluidu za svaki pritisak, koje se mogu očitati sa Slike 26. Slika 28 prikazuje promenu  $y_r$  procenjenih kao maksimalne vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub> u zavisnosti od gustine CO<sub>2</sub>.



**Slika 28.** Zavisnost ravnotežne rastvorljivosti ulja kleke od gustine CO<sub>2</sub>. Uslovi isti kao na Slici 11.

- ▲ –  $y_r$  kao maksimalna vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub>;
- –  $y_r^*$ , optimizovano tako da parametar  $F$  u modelu Sovová [79] ima vrednost  $6 U^{0,54}$ .

Takođe, pokazalo se da je moguće optimizovati  $y_r$ , kao prilagodljiv parametar modela Sovová [79], tako da parametar  $F$  u modelu ima vrednosti  $6 U^{0,54}$ , koje sugeriše sam autor [80]. Na Slici 28 prikazane su i ovako procenjene ravnotežne rastvorljivosti ulja kleke,  $y_r^*$ . Vrednosti  $y_r^*$  značajno su veće od odgovarajućih vrednosti procenjenih na osnovu maksimalne izlazne koncentracije ulja u natkritičnom fluidu za svaki pritisak.

Četiri kombinacije vrednosti  $x_0$  i  $y_r$ , za po četiri različita pritiska dale su 16 različitih vrednosti za  $k_f$  koje se dobijaju kao rezultat primene modela koji je predložila Sovová [79] (Tabela 7). Generalno, za niže vrednosti rastvorljivosti ulja u CO<sub>2</sub>, optimizovane vrednosti parametra  $k_f$  su veće i kreću se u opsegu od 68 do  $442 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . Sa druge strane, za više vrednosti rastvorljivosti ulja u CO<sub>2</sub>, optimizovane vrednosti parametra  $k_f$  su manje i kreću se u

opsegu od 3 do  $8 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , pri čemu se sa porastom pritiska može uočiti opadanje vrednosti  $k_f$ . Neke od procenjenih vrednosti  $k_f$ , kada se u modelu koriste niže vrednosti rastvorljivosti, izlaze iz opsega od 1,5 do  $144 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , za vrednosti Sh procenjene iz jednačina (52) i (50) i odgovaraju vrednostima koeficijenta prelaza mase koje se postižu pri većim vrednostima Re broja. Kada se koriste veće vrednosti rastvorljivosti ulja u  $\text{CO}_2$  u modelu koji je predložila Sovová [79], vrednosti  $k_f$  izračunate na osnovu optimizovanih parametara modela nalaze se unutar ovog opsega i 2,3 puta su veće od vrednosti koje predviđa korelacija (52) i 43 puta manje od onih predviđenih korelacijom (50). U ovom slučaju nema značajnije razlike između vrednosti  $k_f$  dobijenih modelovanjem eksperimentalnih prinosa pod pretpostavkom konstantne vrednosti polaznog sadržaja ulja u plodu kleke za sve pritiske na kojima je izvođena ekstrakcija i rezultata modelovanja uz pretpostavku promenljive vrednosti mogućeg maksimalnog prinosa pri beskonačnom vremenu ekstrakcije na različitim pritiscima ekstrakcije. Na pritisku 90 bar, vrednosti koeficijenta  $k_f$  niže su za oko 7% ukoliko se umesto vrednosti maksimalnog prinosa ulja od 1,63% smatra da je moguće dobiti krajnji prinos 10,48%, koliko se dobija na 200 bar.

### 5.1.2.2. Određivanje $D_e$ (uticaj pritiska)

Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije proračunate iz modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2 i MKV za ekstrakcije na  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar, date su u Tabeli 9.

**Tabela 9.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije,  $D_e$ , etarskog ulja kroz česticu.

| p (bar)                 | 90   | 100    | 150    | 200    |
|-------------------------|--|--------|--------|--------|
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat) | 0,0163   | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| <b>MODEL</b>            | <b><math>D_e \times 10^{13} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}</math></b> |        |        |        |
| <b>MJS-1</b>            | 2,31   | 2,54   | 1,36   | 2,45   |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>    | 88,5   | 75,2   | 24,6   | 98,5   |
| <b>MJS-2</b>            | 1,93   | 2,51   | 1,30   | 2,41   |
| <b>MKV</b>              | 2,05   | 2,80   | 1,44   | 2,51   |
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat) | 0,1048   | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| <b>MODEL</b>            | <b><math>D_e \times 10^{13} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}</math></b> |        |        |        |
| <b>MJS-1</b>            | 0,03   | 0,29   | 1,18   | 2,45   |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>    | 0,04   | 0,66   | 24,6   | 98,5   |
| <b>MJS-2</b>            | 0,02   | 0,28   | 1,16   | 2,41   |
| <b>MKV</b>              | 0,14   | 0,63   | 1,32   | 2,51   |

Ako se izuzmu rezultati modelovanja modelom MJS-1 sa 2 parametra, procenjene vrednosti koeficijenta efektivne difuzije pomoću MJS-1, MJS-2 i MKV mnogo su niže (od tri do šest redova veličina) od vrednosti difuzivnosti monoterpena u  $\text{CO}_2$  i izrazito rastu (dva reda veličina) sa porastom pritiska od 90 do 200 bar, ukoliko se uzme konstantna vrednost maksimalno mogućeg prinosa od 10,48%. U ovom slučaju, optimizovane vrednosti  $D_e$ , redom za pritiske od 90 do 200 bar su 0,03, 0,3, 1,2 i  $2,4 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , za MJS-1 i MJS-2. Esquivel i sar. [100] ove činjenice objašnjavaju adsorpcijom rastvorka na površini pora čestica. Za iste uslove ekstrakcije, između vrednosti  $D_e$  procenjenih pomoću modela MJS-1 i MJS-2 nema velike razlike, dok su vrednosti dobijene za MKV nešto veće.

Kada su pri modelovanju usvojene različite vrednosti za početni sadržaj ulja u materijalu, dobile su se približno konstantne vrednosti  $D_e$ , odnosno nije uočena njihova

zavisnost od pritiska, i sa verovatnoćom od 95% se može reći da se srednja vrednost procenjenog koeficijenta efektivne difuzije etarskog ulja kleke, uzevši u obzir sva tri modela, nalazi u intervalu od 1,82 do  $2,45 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Model jedne sfere u kome je istovremeno optimizovana i vrednost koeficijenta  $k_f$ , MJS-1 (2 par), dao je 40 puta veće vrednosti koeficijenta efektivne difuzije u odnosu na vrednosti procenjene istim modelom, ali sa vrednostima  $k_f$  određenim iz kriterijalne jednačine (52). Izbor bilo koje od vrednosti  $k_f$  iz opsega pokrivenog kriterijalnim jednačinama (50) i (52) nije imao značaja za dobijenu optimizovanu vrednost koeficijenta efektivne difuzije pomoću modela MJS-1. Uopšte, pokazalo se da za vrednosti  $k_f$  veće od  $5 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , optimizovane vrednosti koeficijenta efektivne difuzije u MJS-1 ne zavise od izabrane vrednosti koeficijenta prelaza mase u natkritičnom ugljendioksidu.

### 5.1.2.3. Rezultati primene modela koji je predložila Sovová [79] (uticaj pritiska)

Rezultati modelovanja natkritične ekstrakcije bobica kleke na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar modelom koji je predložila Sovová [79], prikazani su u Tabelama 10, 11, 12 i 13. U Tabelama 10 i 12, početne koncentracije ulja u materijalu procenjene su kao maksimalno ostvareni prinose u svakom eksperimentu, dok je u Tabelama 11 i 13 početna koncentracija jednaka u svim eksperimentima i procenjena je u odnosu na maksimalno ostvareni prinos na najvišem pritisku. U Tabelama 10 i 11 prikazani su rezultati proračuna modela Sovová [79] sa vrednostima  $y_r$  određenim na osnovu maksimalne vrednosti izlazne koncentracije za svaki pritisak (Slika 26). U Tabelama 12 i 13 proračuni su izvedeni sa vrednostima  $y_r^*$ , optimizovanim tako da parametar  $F$  u modelu ima vrednost  $6 U^{0,54}$ .

**Tabela 10.** Rezultati modelovanja ekstrakcije kleke na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Model Sovová [79]. Jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvarene prinose u svakom eksperimentu  $Y_\infty$ .  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalne izlazne koncentracije ulja u  $\text{CO}_2$ .

| $p$ (bar)  | 90     | 100    | 150    | 200    |
|--|--------|--------|--------|--------|
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat)                              | 0,0163 | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| $x_k \cdot 10^3$ (-)                                 | 8,23   | 17,8   | 18,5   | 34,2   |
| $F$ ( $\text{s}^{-1}$ )                              | 5,10   | 1,73   | 1,35   | 1,73   |
| $S \cdot 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )                   | 46,8   | 36,5   | 10,9   | 32,8   |
| $Z$ (-)  | 1895   | 487    | 413    | 491    |
| $W$ (-)  | 17,4   | 10,3   | 3,34   | 9,30   |
| $q_m$  | 3,27   | 8,57   | 29,0   | 11,1   |
| $q_n$  | 25,8   | 25,7   | 69,6   | 32,6   |
| $r$  | 0,497  | 0,387  | 0,164  | 0,292  |
| $x_u \cdot 10^3$                                     | 16,6   | 46,0   | 112    | 117    |
| $y_r \cdot 10^3$ (-)                                 | 0,5    | 1,9    | 2,4    | 4,3    |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )         | 24,3   | 18,9   | 5,33   | 16,9   |
| ** $k_s \times 10^7$ ( $\text{m s}^{-1}$ )           | 13,2   | 10,2   | 2,89   | 9,17   |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ ( $\text{s}^{-1}$ ) | 48,3   | 30,7   | 6,38   | 23,9   |
| $k_f a_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )                        | 8,15   | 2,13   | 1,27   | 1,59   |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )              | 442    | 115    | 68,6   | 86,1   |
| AARD (%)   | 4,12   | 4,56   | 3,56   | 2,37   |
| SD (%)   | 0,036  | 0,063  | 0,151  | 0,121  |

**Tabela 11.** Rezultati modelovanja ekstrakcije kleke na temperaturi 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Model Sovová [79]. Jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvaren prinos u eksperimentu na najvišem pritisku.  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalne izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub>.

| $p$ (bar)   | 90     | 100    | 150    | 200    |
|---|--------|--------|--------|--------|
| $X_0$ (kg ulja/kg mat)                              | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| $x_k \times 10^3$ (-)                               | 103,7  | 83,1   | 22,1   | 34,2   |
| $F$ (s <sup>-1</sup> )                              | 2,96   | 1,64   | 1,34   | 1,73   |
| $S \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )                  | 0,8    | 3,5    | 7,6    | 32,8   |
| $Z$ (-)   | 999    | 430    | 410    | 491    |
| $W$ (-)   | 0,3    | 0,9    | 2,3    | 9,3    |
| $q_m$   | 9,0    | 10,9   | 29,4   | 11,1   |
| $q_n$   | 38,1   | 30,2   | 70,3   | 32,6   |
| $r$   | 0,886  | 0,71   | 0,189  | 0,292  |
| $x_u \times 10^3$                                   | 117,1  | 117,1  | 117,1  | 117,1  |
| $y_r \times 10^3$ (-)                               | 0,5    | 1,9    | 2,4    | 4,3    |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )         | 0,4    | 1,8    | 3,7    | 16,9   |
| ** $k_s \times 10^7$ (m s <sup>-1</sup> )           | 0,227  | 0,973  | 2,02   | 9,16   |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ (s <sup>-1</sup> ) | 3,7    | 6,2    | 4,6    | 23,9   |
| $k_f a_0$ (s <sup>-1</sup> )                        | 4,73   | 2,01   | 1,26   | 1,59   |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )              | 256    | 109    | 68,4   | 86,1   |
| AARD (%)  | 5,16   | 4,53   | 3,61   | 2,37   |
| SD (%)  | 0,044  | 0,074  | 0,153  | 0,121  |

**Tabela 12.** Rezultati modelovanja ekstrakcije kleke na temperaturi 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Model Sovová [79]. Jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvarene prinose u svakom eksperimentu  $Y_\infty$ .  $y_r^*$  optimizovano tako da parametar  $F$  ima vrednost  $6U^{0,54}$ .

| $p$ (bar)   | 90     | 100    | 150    | 200    |
|---|--------|--------|--------|--------|
| $X_0$ (kg ulja/kg mat)                              | 0,0163 | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| $x_k \times 10^3$ (-)                               | 9,1    | 18,3   | 26,5   | 35,1   |
| $F$ (s <sup>-1</sup> )                              | 0,09   | 0,084  | 0,069  | 0,068  |
| $S \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )                  | 44,1   | 36,1   | 19,6   | 33,8   |
| $Z$ (-)   | 34     | 24     | 21     | 19     |
| $W$ (-)   | 16,4   | 10,1   | 6,0    | 9,6    |
| $q_m$   | 13,8   | 17,3   | 47,3   | 23,1   |
| $q_n$   | 15,1   | 18,8   | 50,6   | 24,7   |
| $r$   | 0,55   | 0,398  | 0,236  | 0,3    |
| $x_u \times 10^3$                                   | 16,6   | 46,0   | 112,3  | 117,1  |
| $y_r \times 10^3$ (-)                               | 6      | 19     | 26,3   | 52     |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )         | 22,9   | 18,7   | 9,6    | 17,4   |
| ** $k_s \times 10^7$ (m s <sup>-1</sup> )           | 12,4   | 10,1   | 5,2    | 9,4    |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ (s <sup>-1</sup> ) | 50,9   | 31,0   | 12,6   | 24,9   |
| $k_f a_0$ (s <sup>-1</sup> )                        | 0,144  | 0,104  | 0,065  | 0,063  |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )              | 7,81   | 5,61   | 3,51   | 3,39   |
| AARD (%)  | 3,58   | 4,08   | 4,77   | 2,91   |
| SD (%)  | 0,033  | 0,055  | 0,233  | 0,168  |

Ukoliko se za vrednost polaznog sadržaja rastvornih materija u bobicama kleke,  $x_o$ , uzme vrednost 10,48%, vrednosti koeficijenta prenosa mase u čvrstoj fazi,  $k_s$ , procenjenih modelom koji predlaže Sovová [79], rastu sa porastom pritiska u ispitivanom opsegu od 0,2 do  $9 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$  (Tabele 11 i 13). Kada se vrednosti polaznog sadržaja ulja u materijalu procene na osnovu maksimalne količine ekstrakta koji se može dobiti na svakom ispitivanom pritisku, vrednosti  $k_s$  ne pokazuju nikakvu pravilnost. Ovaj koeficijent prenosa mase trebalo bi da zavisi uglavnom od svojstava biljnog materijala. Srednja vrednost  $k_s$  sa verovatnoćom od 95% se nalazi u širokom intervalu od 4,5 do  $14,1 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ , ukoliko je  $y_r$  procenjeno tako da parametar  $F$  u modelu ima vrednost  $6 U^{0,54}$  (Tabela 12). Ukoliko je  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalnih izlaznih koncentracija ulja u natkritičnom  $\text{CO}_2$ , srednja vrednost  $k_s$  sa verovatnoćom od 95% se nalazi u širokom intervalu od 2,0 do  $15,7 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$  (Tabela 10). Vrednosti koeficijenta u obliku proizvoda  $S = k_s a_{sp} / (1 - \epsilon)$  za različite začine ekstrahovane tečnim  $\text{CO}_2$  mogu se naći u literaturi, i iznose  $1,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  za crni biber i  $2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  za muškati oraščić [79]. Vrednosti parametra  $S$  date u Tabelama 11 i 13 nalaze se u opsegu pomenutih literaturnih vrednosti. Vrednosti  $q_m$  i  $q_n$  su za eksperimente na svim pritiscima bliske, dok je parametar koji govori o efikasnosti mlevenja  $r$ , relativno nizak. Pošto se u toku ekstrakcije ploda kleke na pritiscima većim od 90 bar intenzivno ekstrahuju pored etarskog ulja i voskovi i ostale komponente velikih molekulskih masa prisutne u plodu, rezultati modelovanja se ne mogu tumačiti nezavisno od te činjenice, jer su ekstrakti dobijeni na različitom pritisku veoma različiti po svom sastavu.

**Tabela 13.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar. Model Sovová [79]. Jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvaren prinose u eksperimentu na najvišem pritisku.  $y_r^*$  optimizovano tako da parametar  $F$  u modelu Sovová [79] ima vrednost  $6 U^{0,54}$ .

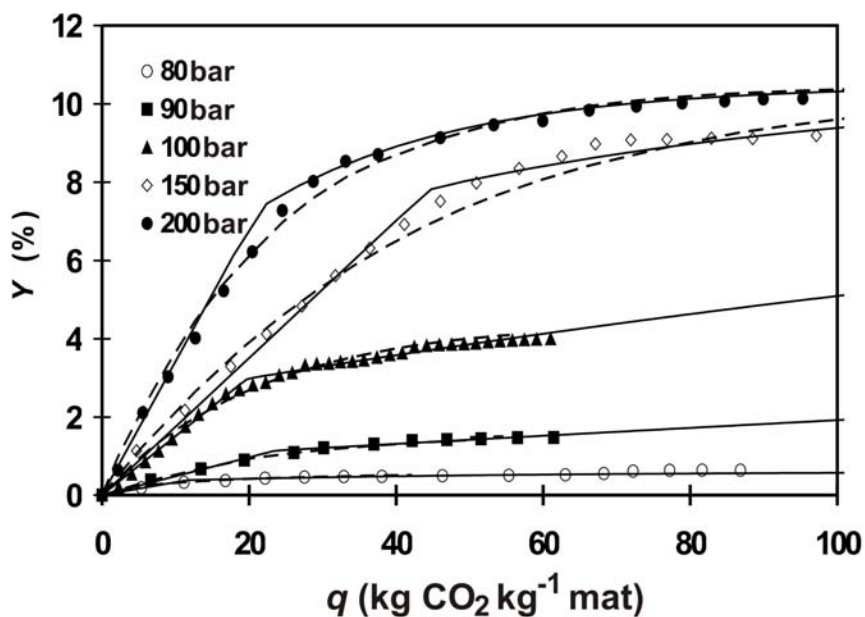
| $p$ (bar)  | 90     | 100    | 150    | 200    |
|--|--------|--------|--------|--------|
| $X_0$ (kg ulja/ kg mat)                              | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| $x_k \times 10^3$ (-)                                | 104,4  | 83,8   | 25,3   | 35,1   |
| $F$ ( $\text{s}^{-1}$ )                              | 0,084  | 0,083  | 0,068  | 0,068  |
| $S \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )                  | 1,0    | 3,7    | 11,3   | 33,8   |
| $Z$ (-)  | 28     | 22     | 21     | 19     |
| $W$ (-)  | 0,3    | 1,0    | 3,4    | 9,6    |
| $q_m$  | 25,2   | 21,1   | 51,5   | 23,1   |
| $q_n$  | 27,3   | 22,9   | 55,0   | 24,7   |
| $r$  | 0,9    | 0,7    | 0,2    | 0,3    |
| $x_u \times 10^3$                                    | 117,1  | 117,1  | 117,1  | 117,1  |
| $y_r \times 10^3$ (-)                                | 6      | 19     | 26,3   | 52     |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )         | 0,5    | 1,9    | 5,5    | 17,4   |
| ** $k_s \times 10^7$ ( $\text{m s}^{-1}$ )           | 0,3    | 1,0    | 3,0    | 9,4    |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ ( $\text{s}^{-1}$ ) | 4,9    | 6,8    | 7,0    | 24,9   |
| $k_f a_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )                        | 0,134  | 0,102  | 0,064  | 0,063  |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )              | 7,28   | 5,52   | 3,44   | 3,39   |
| AARD (%)   | 5,95   | 4,78   | 5,27   | 2,91   |
| SD (%)   | 0,056  | 0,09   | 0,245  | 0,168  |

U Tabelama 10-13 su date i vrednosti uspešnosti fitovanja eksperimentalnih podataka modelom čiji je autor Sovová [79], na osnovu pokazatelja srednjeg relativnog odstupanja izračunatih od izmerenih vrednosti  $AARD$  (%), jednačina (114), i standardne devijacije  $SD$  (%), jednačina (115). Parametri koji su dati u Tabeli 11 obezbeđuju najmanje odstupanje predviđanja koje daje model od eksperimentalnih vrednosti. Ovo je logična posledica činjenice da su i vrednost  $x_0$  i vrednost  $y_r$  u ovom slučaju procenjeni iz konkretnog eksperimenta.

#### 5.1.2.4. Poređenje modela po uspešnosti (uticaj pritiska)

Za sve ispitivane modele vrednosti srednjeg relativnog odstupanja izračunatih od izmerenih vrednosti prinosa  $AARD$  (%), jednačina (114), i standardnog odstupanja  $SD$  (%), jednačina (115), za ekstrakcije usitnjenih bobica kleke srednjeg prečnika 0,325 mm, na pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar, na temperaturi 40°C, pri protoku rastvarača od 0,2 kg h<sup>-1</sup>, prikazani u Tabelama 14 i 15. Iz tabela 14 i 15 se vidi da najbolje predviđanje vrednosti prinosa daje prošireni Lacko-ov model klipnog toka koji je predložila Sovová [79].

Ekstrakcione krive koje prikazuju zavisnost prinosa ekstrakcije,  $Y$ , od specifične mase utrošenog solventa,  $q$ , za ispitivane pritiske su prikazane na Slici 29, pri čemu su simbolima prikazani eksperimentalni rezultati, dok su vrednosti izračunate iz modela Sovove prikazane punom linijom, a vrednosti izračunate iz modela MJS-1 sa 2 optimizovana parametra isprekidanom linijom. Odabranim matematičkim modelima dobro se može simulirati natkritična ekstrakcija na svakom od ispitivanih pritiska.



**Slika 29.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa etarskog ulja kleke u toku natkritične ekstrakcije usitnjenih plodova kleke na različitim pritiscima. Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama model Sovová [79]; isprekidanim linijama MJS-1 sa 2 parametra. Ostali uslovi kao na Slici 11.



**Tabela 14.** Poređenje uspešnosti primene modela MSJ-1, MJS-1 (2 par), MKV i modela Sovová [79] pri modelovanju ekstrakcije kleke na 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar, na osnovu vrednosti *AARD* (%).

| MODEL                                  | <i>AARD</i> (%) |        |        |        |
|--|-----------------|--------|--------|--------|
|  | 90              | 100    | 150    | 200    |
| <b>p (bar)</b>                         |                 |        |        |        |
| <b>X<sub>0</sub> (kg ulja/ kg mat)</b> | 0,0163          | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| <b>MJS-1</b>                           | 13,62           | 26,56  | 21,37  | 21,41  |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>                   | 2,45            | 7,97   | 6,05   | 4,97   |
| <b>MJS-2</b>                           | 14,15           | 27,47  | 22,41  | 22,35  |
| <b>MKV</b>                             | 2,21            | 8,09   | 5,81   | 3,90   |
| <b>Sovová [79]</b>                     | 3,58            | 4,08   | 4,77   | 2,91   |
| <b>X<sub>0</sub> (kg ulja/ kg mat)</b> | 0,1048          | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| <b>MJS-1</b>                           | 6,84            | 20,96  | 20,44  | 21,42  |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>                   | 6,01            | 13,35  | 5,34   | 4,07   |
| <b>MJS-2</b>                           | 7,98            | 22,03  | 21,61  | 22,35  |
| <b>MKV</b>                             | 20,66           | 18,03  | 4,98   | 9,33   |
| <b>Sovová [79]</b>                     | 5,95            | 4,78   | 5,27   | 2,91   |

**Tabela 15.** Poređenje uspešnosti primene modela MJS-1, MJS-1 (2 par) i MKV i modela Sovová [79] na modelovanje ekstrakcije kleke na 40°C i pritiscima 90, 100, 150 i 200 bar, na osnovu vrednosti *SD* (%).

| MODEL                                  | <i>SD</i> (%) |        |        |        |
|--|---------------|--------|--------|--------|
|  | 90            | 100    | 150    | 200    |
| <b>p (bar)</b>                         |               |        |        |        |
| <b>X<sub>0</sub> (kg ulja/ kg mat)</b> | 0,0163        | 0,0440 | 0,1010 | 0,1048 |
| <b>MJS-1</b>                           | 0,14          | 0,34   | 0,94   | 0,76   |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>                   | 0,03          | 0,15   | 0,38   | 0,23   |
| <b>MJS-2</b>                           | 0,13          | 0,35   | 0,96   | 0,78   |
| <b>MKV</b>                             | 0,03          | 0,13   | 0,35   | 0,28   |
| <b>Sovová [79]</b>                     | 0,03          | 0,06   | 0,23   | 0,17   |
| <b>X<sub>0</sub> (kg ulja/ kg mat)</b> | 0,1048        | 0,1048 | 0,1048 | 0,1048 |
| <b>MJS-1</b>                           | 0,07          | 0,28   | 0,90   | 0,76   |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>                   | 0,10          | 0,37   | 0,37   | 0,29   |
| <b>MJS-2</b>                           | 0,08          | 0,28   | 0,93   | 0,78   |
| <b>MKV</b>                             | 0,23          | 0,58   | 0,35   | 0,29   |
| <b>Sovová [79]</b>                     | 0,06          | 0,09   | 0,24   | 0,17   |

#### 5.1.2.5. Određivanje $k_f$ (uticaj veličine čestica materijala i protoka rastvarača)

Tabela 16 daje vrednosti koeficijenta prenosa mase etarskog ulja kleke kroz film natkritičnog CO<sub>2</sub> oko usitnjene čestice ploda,  $k_f$ , za 6 eksperimenata ekstrakcije ugljendiosidom na 80 bar i 40°C. Prva tri eksperimenata prikazana u tabeli 16 izvedeni su pri približno konstantnom protoku CO<sub>2</sub>, 0,2 kg h<sup>-1</sup>, sa česticama srednjih prečnika 0,325 mm, 0,20 mm i 0,75 mm. Četvrti, peti i i šesti eksperiment prikazan u tabeli, izvedeni su sa česticama istog stepena usitnjenosti, ali pri različitim protocima CO<sub>2</sub>.

Eksperimenti su izvedeni u opsegu Re vrednosti od 1,5 do 10,5 i Sc vrednosti oko 1,4. Vrednosti koeficijenta  $k_f$  su veće prilikom ekstrakcije manjih čestica i pri većem protoku CO<sub>2</sub>. Vrednosti  $k_f$  koje se dobijaju iz modela MJS-1, izuzev u slučaju najvećeg protoka, tri reda veličine su manje u odnosu na one koje se dobijaju iz modela koji predlaže Sovová [79] i

kreću se oko  $3,5 \times 10^{-8} \text{ m s}^{-1}$  za ekstrakciju čestica srednjeg prečnika 0,325 mm, pri protoku  $\text{CO}_2$   $0,2 \text{ kg h}^{-1}$ . Prema proširenom modelu klipnog toka [79], za ove uslove ekstrakcije srednja vrednost  $k_f$  sa verovarnošću od 95% se nalazi u intervalu od 13,9 do  $18,5 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . Vrednosti  $k_f$  koje se dobijaju optimizovanjem ovog parametra u modelu MJS-1 sa 2 parametra, manje su od vrednosti koje se mogu proceniti iz korelacija za Sh broj, najverovatnije zato što u sistemu postoji adsorpcija ulja na površini pora [100]. U slučajevima manjeg protoka i malih prividnih brzina  $\text{CO}_2$ , ovaj efekat je uočljiviji, zbog velike vrednosti otpora prenosu mase kroz film  $\text{CO}_2$  formiran oko čestice materijala. Zbog toga je najbolje slaganje vrednosti  $k_f$  procenjenih pomoću dva modela za najveći ispitivani protok  $\text{CO}_2$  od 0,8 kg/h. Model MJS-1 daje dobra predviđanja za velike brzine fluida [100].

**Tabela 16.** Rezultati modelovanja ekstrakcije usitnjenih bobica kleke na  $40^\circ\text{C}$  i 80 bar. Vrednosti koeficijenta prenosa mase etarskog ulja kleke kroz film natkritičnog  $\text{CO}_2$  formiran oko čestica,  $k_f$ , procenjene preko modela MJS-1 (2 par) i modela koji predlaže Sovová [79], uz vrednosti odgovarajućih veličina potrebnih za proračun  $k_f$  i vrednosti bezdimenzionih brojeva, pri čemu je Sh broj procenjen na osnovu korelacija (48)-(52) preuzetih iz literature.  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ ,  $Y_\infty = 0,0063$ ,  $\rho = 280 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $\mu = 2,269 \times 10^{-5} \text{ Pa s}$ ,  $D = 5,8 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

| <i>Eksperiment</i>                          | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $\dot{V}$ ( $\text{dm}^3 \text{ h}^{-1}$ )  | 0,71     | 0,64     | 0,64     | 2,79     | 0,64     | 0,64     |
| $\dot{m}$ ( $\text{kg h}^{-1}$ )            | 0,2      | 0,18     | 0,17     | 0,78     | 0,18     | 0,19     |
| $U \times 10^4$ ( $\text{m s}^{-1}$ )       | 6,6      | 6,0      | 5,5      | 26,0     | 6,0      | 6,4      |
| $m_{\text{mat}}$ (kg)                       | 0,02     | 0,02     | 0,020    | 0,020    | 0,020    | 0,021    |
| $d_p \times 10^3$ (m)                       | 0,325    | 0,2      | 0,75     | 0,325    | 0,325    | 0,325    |
| $\rho_s$ ( $\text{kg m}^{-3}$ )             | 1496,2   | 1509,3   | 1389,7   | 1496,2   | 1496,2   | 1496,2   |
| $\rho_{\text{priv}}$ ( $\text{kg m}^{-3}$ ) | 645,0    | 616,0    | 767,0    | 645,0    | 645,0    | 645,0    |
| $\rho_{\text{sloja}}$                       | 333      | 333      | 333,3    | 333      | 347      | 333      |
| $\varepsilon$                               | 0,48     | 0,46     | 0,48     | 0,51     | 0,49     | 0,51     |
| $\varepsilon_p$                             | 0,57     | 0,59     | 0,6      | 0,54     | 0,54     | 0,54     |
| Re  | 2,7      | 1,5      | 5,5      | 10,4     | 2,6      | 2,4      |
| Sc  | 1,4      | 1,4      | 1,4      | 1,4      | 1,4      | 1,4      |
| <b>Sh</b>                                   |          |          |          |          |          |          |
| Jed. (48)                                   | 4,22     | 3,56     | 4,9      | 7,02     | 4,17     | 4,08     |
| Jed. (49)                                   | 0,96     | 0,59     | 1,1      | 2,97     | 0,93     | 0,88     |
| Jed. (50)                                   | 1,77     | 1,19     | 2,2      | 4,38     | 1,72     | 1,65     |
| Jed. (51)                                   | 0,51     | 0,32     | 0,6      | 1,50     | 0,49     | 0,46     |
| Jed. (52)                                   | 0,04     | 0,03     | 0,0      | 0,07     | 0,04     | 0,04     |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )     |          |          |          |          |          |          |
| Jed. (48)                                   | 748      | 1366     | 350      | 1245     | 738      | 724      |
| Jed. (49)                                   | 170      | 226      | 80       | 527      | 165      | 156      |
| Jed. (50)                                   | 313      | 457      | 158      | 776      | 305      | 292      |
| Jed. (51)                                   | 90       | 121      | 43       | 266      | 87       | 82       |
| Jed. (52)                                   | 6        | 10       | 4        | 13       | 6        | 6        |
| MJS-1 (2 par)                               | 0,0323   | 0,039    | 0,0182   | 6,40     | 0,0385   | 0,0320   |
| Sovová [79]                                 | 14,98    | 18,51    | 11,50    | 20,82    | 16,82    | 16,84    |

### 5.1.2.6. Određivanje $D_e$ (uticaj veličine čestica materijala i protoka rastvarača)

Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije proračunate iz modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2 i MKV za ekstrakcije na pritisku 80 bar i temperaturi 40°C, pri različitim protocima rastvarača i veličinama čestica materijala, kojima se postiže najbolje slaganje izračunatih prinosa sa izmerenim vrednostima, prikazane su u Tabeli 17.

**Tabela 17.** Rezultati modelovanja ekstrakcije kleke na 40°C i 80 bar. Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije etarskog ulja kleke kroz usitnjenu česticu ploda kleke, procenjene preko modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2 i MKV.  $Y_\infty=0,0063$

| MODEL             | $D_e \cdot 10^{13} \text{ (m}^2\text{s}^{-1}\text{)}$ |      |      |      |      |      |
|-------------------|---|------|------|------|------|------|
| Eksperiment       | 1   | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
| MJS-1             | 2,43  | 1,05 | 2,41 | 8,22 | 2,29 | 2,28 |
| MJS-1 2 parametra | 3,39  | 2,18 | 4,30 | 9,56 | 2,85 | 3,10 |
| MJS-2             | 2,51  | 2,12 | 2,38 | 8,11 | 2,23 | 2,25 |
| MKV               | 2,78  | 2,18 | 4,65 | 11,2 | 2,56 | 2,64 |

Za ekstrakciju čestica srednjeg prečnika 0,325 mm na 40°C i 80 bar, protoku  $\text{CO}_2$  0,2  $\text{kg h}^{-1}$  dobijene su pomoću svih modela približno iste vrednosti  $D_e$ , a procenjena srednja vrednost, sa verovarnošćom od 95%, nalazi se u intervalu od 2,39 do  $2,84 \times 10^{-13} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ . Za veće čestice i za veće protoke dobijaju se veće vrednosti koeficijenta efektivne difuzije.

### 5.1.2.7. Rezultati primene modela koji je predložila Sovová [79] (uticaj veličine čestica i protoka)

Rezultati modelovanja natkritične ekstrakcije bobica kleke na temperaturi 40°C i pritisku 80 bar, pri različitim protocima rastvarača i veličinama čestica materijala, modelom koji je predložila Sovová [79], prikazani su u Tabelama 18 i 19. U Tabeli 18, vrednost za polazni sadržaj ulja u materijalu,  $x_0$ , je 0,63%, a  $y_r$  je procenjeno na osnovu maksimalnih vrednosti izlaznih koncentracija ulja u  $\text{CO}_2$ . U Tabeli 19, vrednost za polazni sadržaj ulja u materijalu,  $x_0$ , je 0,63%, a  $y_r^*$  je optimizovano tako da parametar  $F$  u modelu ima vrednost  $6U^{0,54}$ .

Koeficijent prenosa mase u čvrstoj fazi,  $k_s$ , veći je za sitnije čestice i ne zavisi značajnije od protoka. Na osnovu rezultata datih u Tabeli 19, za čestice od najsitnijih do najkrupnijih vrednosti za  $k_s$  su: 14,0, 10,0, i  $7,1 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ . Slične vrednosti dobijene su za koeficijent  $k_s$  u Tabeli 18. Vrednosti  $x_k$  su manje što je prečnik čestica kleke manji. Kada se vrednost  $y_r$  optimizuje, odnosno odredi  $y_r^*$  tako da parametar  $F$  u modelu Sovová [79] ima vrednost  $6U^{0,54}$  (Tabela 19), vrednost  $k_f$  raste sa povećanjem protoka  $\text{CO}_2$  sa 0,2 na 0,8  $\text{kg/h}$ , sa 16 na  $21 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , ali raste i sa smanjenjem prečnika čestica. Za najkrupnije i najsitnije čestice vrednosti su redom: 11,5 i  $18,5 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ .

Kada je  $y_r$  procenjeno iz maksimalne izlazne koncentracije ulja za svaki eksperiment (Tabela 18) uticaj veličine prečnika čestice na vrednost  $k_f$  postaje izraženiji, a vrednosti  $k_f$  veće za jedan rad veličine (za čestice srednjeg prečnika 0,35 i 0,75 mm) i dva reda veličine (za čestice srednjeg prečnika 0,2 mm) od odgovarajućih rezultata iz Tabele 19. Na osnovu rezultata datih u Tabeli 18, sa povećanjem protoka smanjuje se vrednost  $k_f$ , što nije u saglasnosti sa očekivanjima, a posledica je velike uočene vrednosti sadržaja ulja u natkritičnom ugljendioksidu na izlazu iz ekstraktora.

**Tabela 18.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na 40°C i 80 bar modelom koji predlaže Sovová [79].  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ ,  $Y_\infty = 0,0063$ ,  $y_r$  procenjeno iz maksimalne izlazne koncentracije ulja za svaki eksperiment.

| <i>Eksperiment</i>                                   | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $x_k \times 10^3$ (-)                                | 2,88     | 2,053    | 3,896    | 2,83     | 3,213    | 2,94     |
| $F$ ( $\text{s}^{-1}$ )                              | 1,87     | 49,5     | 0,382    | 0,163    | 2,40     | 2,60     |
| $S \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )                  | 40,18    | 80,50    | 11,32    | 31,10    | 39,63    | 39,43    |
| $Z$ (-)  | 678      | 19321    | 164      | 15       | 899      | 1040     |
| $W$ (-)  | 14,58    | 31,43    | 4,87     | 2,87     | 14,8     | 15,7     |
| $q_m$  | 4,26     | 0,20     | 14,20    | 6,83     | 2,97     | 3,00     |
| $q_n$  | 13,35    | 11,98    | 19,92    | 7,96     | 11,24    | 11,92    |
| $r$  | 0,475    | 0,338    | 0,642    | 0,467    | 0,53     | 0,49     |
| $x_u \times 10^3$                                    | 6,065    | 6,065    | 6,065    | 6,065    | 6,067    | 6,07     |
| $y_r \times 10^3$ (-)                                | 0,4      | 0,4      | 0,4      | 2,9      | 0,4      | 0,4      |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )         | 20,8     | 43,6     | 4,92     | 15,2     | 19,5     | 19,3     |
| ** $k_s \times 10^7$ ( $\text{m s}^{-1}$ )           | 11,2     | 14,5     | 6,15     | 8,25     | 10,6     | 10,4     |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ ( $\text{s}^{-1}$ ) | 39,5     | 65,9     | 13,8     | 28,6     | 41,4     | 37,5     |
| $k_f a_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )                        | 5,16     | 144,5    | 0,825    | 0,428    | 6,31     | 6,80     |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )              | 279      | 4816,0   | 103      | 23,2     | 342      | 368      |
| <i>AARD</i> (%)                                      | 3,87     | 7,63     | 3,53     | 6,54     | 5,88     | 3,66     |
| <i>SD</i> (%)  | 0,01     | 0,06     | 0,01     | 0,02     | 0,04     | 0,01     |

**Tabela 19.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na 40°C i 80 bar modelom koji predlaže Sovová [79].  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ ,  $Y_\infty = 0,0063$ .  $y_r^*$  optimizovano tako da parametar  $F$  u modelu Sovová [79] ima vrednost  $6 U^{0,54}$ .

| <i>Eksperiment</i>                                   | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| $x_k \times 10^3$ (-)                                | 2,54     | 1,972    | 4,133    | 2,83     | 3,093    | 2,833    |
| $F$ ( $\text{s}^{-1}$ )                              | 0,1      | 0,19     | 0,043    | 0,147    | 0,118    | 0,119    |
| $S \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )                  | 35,9     | 77,6     | 13,0     | 31,1     | 37,4     | 37,8     |
| $Z$ (-)  | 36       | 74       | 18       | 14       | 44       | 47       |
| $W$ (-)  | 13,01    | 30,30    | 5,61     | 2,87     | 13,98    | 15,08    |
| $q_m$  | 10,99    | 6,75     | 14,16    | 6,89     | 7,86     | 8,50     |
| $q_n$  | 12,10    | 8,03     | 14,77    | 7,91     | 8,81     | 9,52     |
| $r$  | 0,419    | 0,325    | 0,681    | 0,467    | 0,51     | 0,467    |
| $x_u \times 10^3$                                    | 6,065    | 6,065    | 6,065    | 6,065    | 6,065    | 6,065    |
| $y_r \times 10^3$ (-)                                | 2,84     | 5,26     | 1,25     | 2,05     | 3,33     | 3,48     |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )         | 18,5     | 42,0     | 5,67     | 15,2     | 18,4     | 18,5     |
| ** $k_s \times 10^7$ ( $\text{m s}^{-1}$ )           | 10,0     | 14,0     | 7,09     | 8,25     | 9,95     | 10,0     |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ ( $\text{s}^{-1}$ ) | 31,9     | 62,3     | 17,8     | 28,6     | 37,5     | 34,7     |
| $k_f a_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )                        | 0,277    | 0,555    | 0,092    | 0,384    | 0,31     | 0,311    |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )              | 15,0     | 18,5     | 11,5     | 20,8     | 16,8     | 16,8     |
| <i>AARD</i> (%)                                      | 5,71     | 2,11     | 4,58     | 6,54     | 5,95     | 4,14     |
| <i>SD</i> (%)  | 0,02     | 0,01     | 0,01     | 0,02     | 0,04     | 0,02     |

### 5.1.2.8. Poređenje modela po uspešnosti (uticaj veličine čestica i protoka)

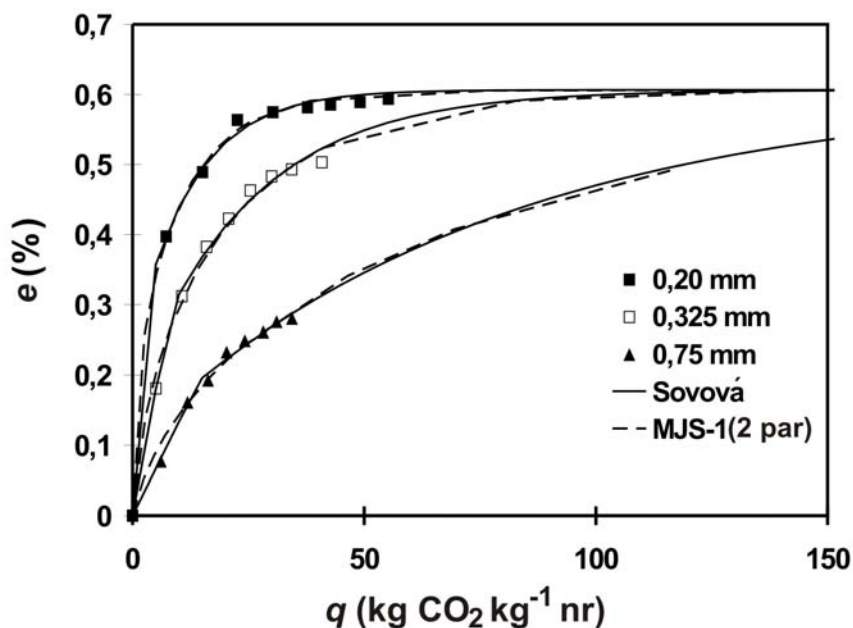
Ako se uporede vrednosti *AARD* (%), date u Tabeli 20 i *SD* (%), date u Tabeli 21, dolazi se do zaključka da model jedne sfere sa 2 prilagođena parametra ( $k_f$  i  $D_e$ ), MJS-1 (2 par), daje najbolje slaganje sa izmerenim vrednostima.

**Tabela 20.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na 40°C i 80 bar. AARD (%) za modele MJS, MJS-1 (2 par), MKV i model Sovová [79].  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ ,  $Y_\infty = 0,0063$ .

| MODEL         | AARD (%) |      |       |       |      |      |
|---------------|----------|------|-------|-------|------|------|
| Eksperiment   | 1        | 2    | 3     | 4     | 5    | 6    |
| MJS-1         | 6,08     | 4,55 | 4,23  | 7,44  | 6,27 | 4,73 |
| MJS-1 (2 par) | 4,67     | 1,72 | 3,90  | 5,98  | 5,81 | 3,21 |
| MJS-2         | 6,15     | 1,63 | 2,93  | 7,50  | 6,27 | 4,78 |
| MKV           | 8,26     | 4,29 | 17,19 | 18,08 | 9,53 | 9,19 |
| Sovová [79]   | 5,71     | 2,11 | 4,57  | 6,54  | 5,95 | 4,14 |

**Tabela 21.** Rezultati modelovanja ekstrakcije bobica kleke na 40°C i 80 bar. SD (%) za modele MJS, MJS-1 (2 par), MKV i Sovová [79].  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ ,  $Y_\infty = 0,0063$ .

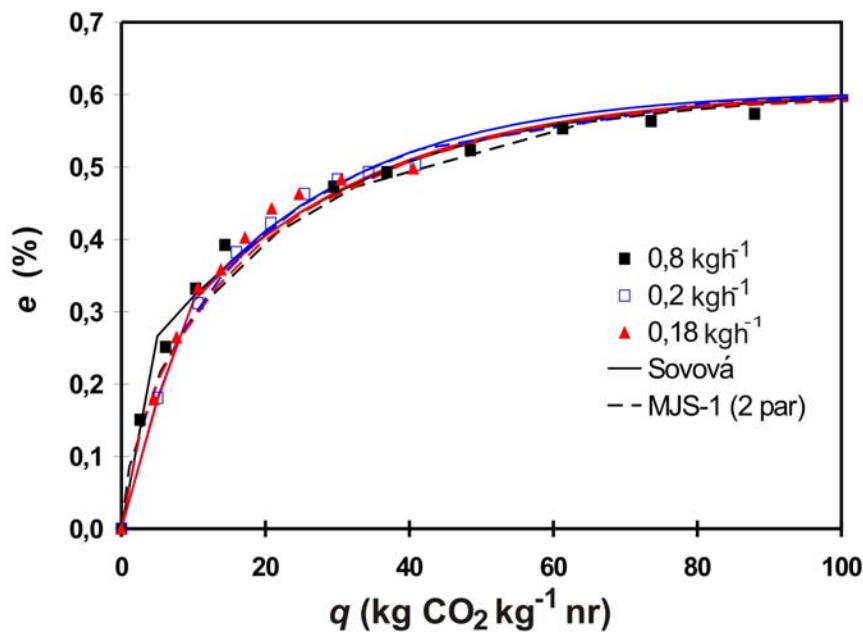
| MODEL         | SD (%) |      |      |      |      |      |
|---------------|--------|------|------|------|------|------|
| Eksperiment   | 1      | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
| MJS-1         | 0,02   | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| MJS-1 (2 par) | 0,02   | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,01 |
| MJS-2         | 0,02   | 0,01 | 0,01 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| MKV           | 0,03   | 0,02 | 0,04 | 0,07 | 0,04 | 0,04 |
| Sovová [79]   | 0,02   | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,04 | 0,02 |



**Slika 30.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa etarskog ulja kleke u toku natkritične ekstrakcije čestica različitog stepena usitnjenosti. Srednji prečnik čestica: 0,2 mm (■), 0,325 mm (□), 0,75 mm (▲). Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama model Sovová [79]; isprekidanim linijama MJS-1 sa 2 parametra. Uslovi su dati na Slici 23.

Na slikama 30 i 31 prikazane su zavisnosti prinosa ekstrakta, izraženih kao masa ekstrahovanog rastvorka u odnosu na masu nerastvornog dela materijala,  $e$  (%), jednačina (3),

od specifičnog protoka  $\text{CO}_2$ ,  $q$ , izračunatog takođe u odnosu na masu nerastvornog dela materijala. Simbolima na Slikama 30 i 31 prikazane su eksperimentalne vrednosti, punim linijama vrednosti modela proširenog klipnog toka koji je predložila Sovová [79] i isprekidanim linijama su prikazane izračunate vrednosti iz modela MJS-1 sa 2 parametra. Model Sovová [79] i MJS-1 sa 2 parametra dobro opisuju izmerene vrednosti prinosa i za slučaj ekstrakcije čestica različitog prečnika (Slika 30) i za slučaj različitog protoka (Slika 31). Model jedne sfere sa dva parametra ima manje parametara, ali izuzetno dobro opisuje ekstrakciju etarskog ulja kleke na 80 bar i  $40^\circ\text{C}$ .



**Slika 31.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa u toku ekstrakcije kleke, u zavisnosti od protoka ugljendioksida:  $0,18 \text{ kg h}^{-1}$  ( $\blacktriangle$ ),  $0,20 \text{ kg h}^{-1}$  ( $\square$ ) i  $0,80 \text{ kg h}^{-1}$  ( $\blacksquare$ ). Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama - model Sovová [79]; isprekidanim linijama - MJS-1 sa 2 parametra. Ostali uslovi kao na Slici 25.

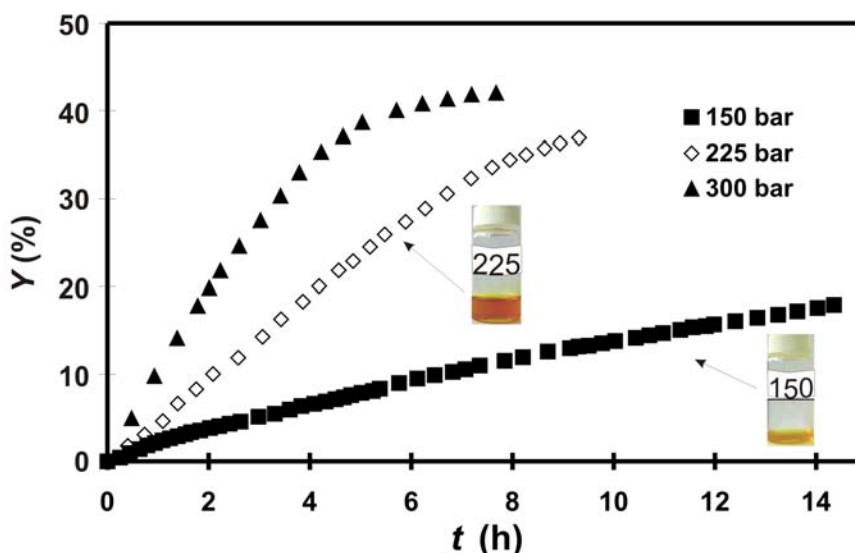
## 5.2. SEME TIKVE

### 5.2.1. PRINOS I KVALITET EKSTRAKATA

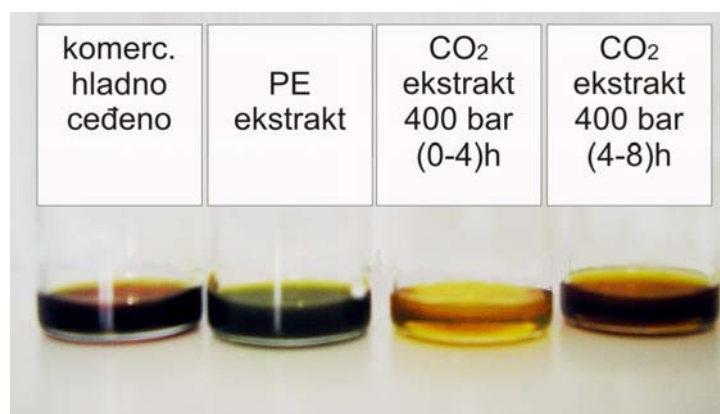
#### 5.2.1.1. Uticaj pritiska

Slika 32 prikazuje promenu ukupnog prinosa ekstrakta (Y) dobijenog iz usitnjenog semena tikve, čestica prečnika u opsegu od 0,50 do 0,63 mm, srednji prečnik čestica 0,56 mm, u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom, na različitim pritiscima. Prikazani eksperimenti su izvedeni na laboratorijskoj aparaturi, zapremine ekstraktora  $60 \text{ cm}^3$  (Slika 9). Korišćeni su pritisci od 150, 225 i 300 bar, dok je temperatura procesa bila konstantna i iznosila  $40^\circ\text{C}$ . Protok natkritičnog ugljendioksida bio je  $0,2 \text{ kg h}^{-1}$ . Za konstantno vreme trajanja ekstrakcije, prinos ekstrakta raste sa porastom pritiska, zbog veće efikasnosti rastvarača na višim pritiscima, što posledica povećanja gustine ugljendioksida sa 780, preko 860, do  $910 \text{ kg m}^{-3}$  od najmanjeg do najvišeg ispitivanog pritiska. Povećanjem gustine natkritičnog ugljendioksida raste njegova rastvorna moć. Prinos ekstrakata dobijen u procesu na pritisku 150 bar je bio relativno nizak, odnosno svega 18,14% za period ekstrakcije od 14 h

[219]. Tokom prvih 10 h ekstrakcije na 150 bar, iako je brzina ekstrakcije ulja bila veoma mala, njena vrednost bila je uglavnom konstantna u tom periodu (1,2 mg ekstrahovanog ulja po 1 g upotrebljenog rastvarača). Prinosi ulja na 225 bar su veći, tako da je za 6 h dobijeno 28,2% ulja u odnosu na masu polaznog semena, a za 9 h 36,3%. Na 300 bar, za 6 h dobijeno je oko 41% ulja [220], dok je za još jedan sat ekstrakcije (7 h), prinos ekstrakcije je povećan za još jedan procenat  $42,0 \pm 0,65\%$ . Radi poređenja, treba naglasiti da je ekstrakcijom semena tikve, istog stepena usitnjenosti, heksanom uz intenzivno mešanje u toku 7 h, na temperaturi  $40^\circ\text{C}$ , dobijen prinos ulja manji od 40% (Slika 35).



**Slika 32.** Kumulativni prinos ekstrakcije semena tikve ugljendioksidom u natkritičnom stanju u zavisnosti od vremena i pritiska. Temperatura ekstrakcije  $40^\circ\text{C}$ , protok  $\text{CO}_2$   $0,2 \text{ kg h}^{-1}$  kroz sloj formiran od 20 g semena tikve, usitnjenih na srednju veličinu čestica od 0,56 mm, na pritiscima ekstrakcije: 150 bar (■), 225 bar (◇) i 300 bar (▲).



**Slika 33.** Fotografija ulja semena tikve dobijenih različitim postupcima, (sleva na desno):  
 - komercijalno dostupno hladnoceđeno ulje;  
 - petroletarski ekstrakt semena;  
 - ekstrakt dobijen natkritičnim ugljendioksidom na pritisku 400 bar i temperaturi  $40^\circ\text{C}$ , u toku prva 4 časa ekstrakcije;  
 - na uslovima natkritične ekstrakcije kao u prethodnom slučaju, ali u produžetku procesa od 4. do 8. sata.

Generalno, pri svim ispitivanim uslovima, na početku ekstrakcije postoji linearna zavisnost količine ekstrahovanog ulja iz semena tikve od vremena ekstrakcije, odnosno od mase natkritičnog ugljendioksida utrošenog za ekstrakciju (Slika 32, Slika 35, Slika 36). Ovaj prvi deo procesa imao bi značaja za eventualnu industrijsku primenu i bilo bi poželjno da se u toku tog perioda iscrpi najveći deo ulja prisutan u materijalu, odnosno da se ekstrakcija završi za što kraće vreme. Nakon početnog perioda konstantne brzine prenosa mase ulja iz semena u natkritični ugljendioksid, dolazi do usporavanja brzine procesa ekstrakcije, tj. nagib ekstrakcionih krivih počinje da se smanjuje. Brzine ekstrakcije ulja na pritiscima 225 i 300 bar konstantne su u veoma dugom periodu (najmanje 4 h, odnosno do utrošenih 40 g CO<sub>2</sub> po gramu sirovog materijala).

Ulje semena tikve dobijeno na pritisku od 150 bar, bilo je svetlo žuto (Slika 32) i njegova boja se nije menjala u toku ekstrakcije. Ulje dobijeno na pritisku od 225 bar bilo je tamnije u odnosu na ulje dobijeno na pritisku od 150 bar (Slika 32), oranž žuto, i njegova boja se menjala u toku ekstrakcije, postajući crvenkastija u odnosu na svetlo žutu boju na početku procesa.

Na pritisku od 300 bar, boja dobijenog ekstrakta tokom vremena ekstrakcije se menja, od bledo žute (prva 2 h), preko oranž žute (od 2 do 4 h), do crvene, odnosno tamno crvene (od 4 do 8 h) (Tabela 22) [201]. Ulje dobijeno ekstrakcijom *n*-heksanom i petroletrom imalo je tamno zelenu boje, sa nijansama tamno crvene (Slika 33). Na uslovima bliskim kritičnoj tački, ugljendioksid je dobar rastvarač nepolarnih supstanci, dok su hlorofili, zbog svoje polarne prirode, slabo rastvorni u ugljendioksidu velike gustine, pa su zbog toga ekstrakti biljaka dobijeni čistim ugljendioksidom svetlije boje u odnosu na ekstrakte dobijene na konvencionalan način, i nemaju zelene nijanse (Slika 33).

**Tabela 22.** Fotografije ekstrakata semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) dobijenih u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom na 300 bar i temperaturama 40, 50 i 60°C.










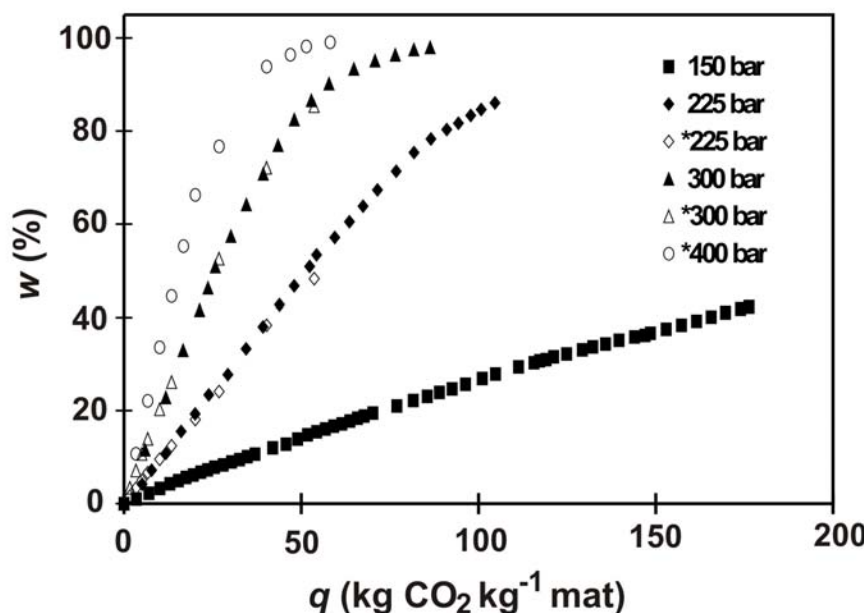
| $t$<br>(h)  | $T$<br>(°C)   |   |   |
|-------------|---|---|---|
| $T$<br>(°C) | 0-2   | 2-4   | 4-8   |
| 40          |  |  |  |
| 50          |  |  |  |
| 60          |  |  |  |

Tabela 22 daje slike natkritičnih ekstrakata semena tikve dobijene na pritisku 300 bar i tri različite temperature, u različitim periodima u toku ekstrakcije. Obojenost ekstrakata raste sa porastom vremenom ekstrakcije, a gustina ekstrakata opada, sa oko 921,3, preko 919,1 do 918,2 kg m<sup>-3</sup>. Istovremeno, dobijeni ekstrakti nemaju tipičan miris komercijalnog ulja dobijenog hladnim presovanjem semena tikve. Detaljna analiza kvalitativnog i kvantitativnog



sastava ulja može dati konačan odgovor o mogućnostima primene ulja semena tikve dobijenog pomoću natkritičnog CO<sub>2</sub>.

Pošto laboratorijska aparatura, zapremine ekstraktora 60 cm<sup>3</sup> (Slika 9), nije dozvoljavala ispitivanje ekstrakcije na pritiscima većim od 300 bar, a i u cilju ispitivanja mogućnosti povećanja kapaciteta proizvodnje i prenošenja dobijenih rezultata na ekstraktor veće zapremine, usitnjeno seme tikve je ekstrahovano u većem postrojenju za ekstrakciju, zapremine ekstraktora 200 cm<sup>3</sup> na pritiscima od 225, 300 i 400 bar. Ekstrahovano je oko 66 g usitjenih čestica semena tikve golicе, srednjeg prečnika 0,56 mm (u opsegu veličina čestica od 0,315 do 0,80 mm), natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup>. Iako nije reč o istom semenu koje je ekstrahovano primenom manje aparature, zbog približno istog polaznog sadržaja ulja u oba ekstrahovana materijala (42,9 % za srednji prečnik čestica 0,6 mm u opsegu prečnika 0,2-0,8 mm, i 44,6 % za frakciju srednjeg prečnika 0,56 mm u opsegu prečnika 0,315-0,8 mm) (poglavlje Materijal i metode) rezultati ovih eksperimenata se mogu uporediti. Slika 34 prikazuje promenu stepena ekstrakcije,  $w$ , ulja semena tikve sa specifičnom potrošnjom natkritičnog ugljendioksida,  $q$ , u zavisnosti od pritiska, u dva primenjena ekstraktora.

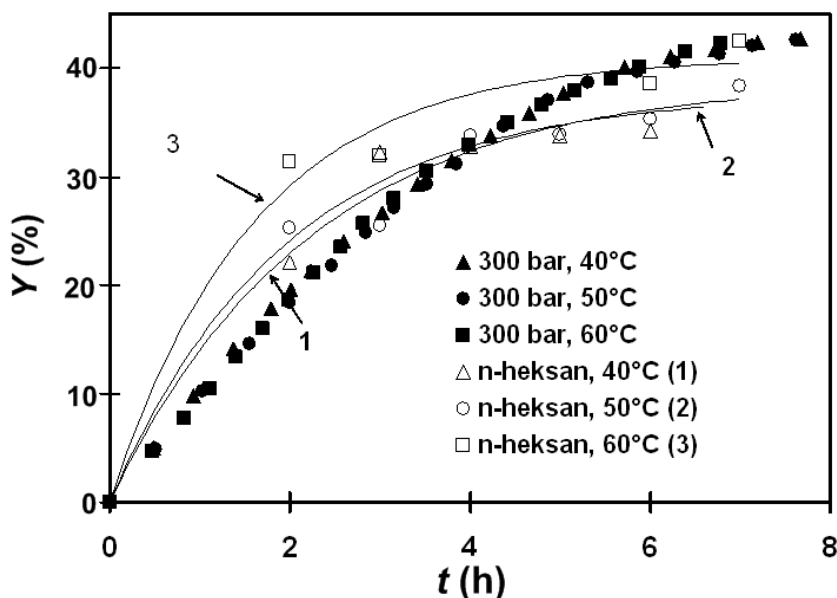


**Slika 34.** Stepen ekstrakcije ulja usitjenog semena tikve u zavisnosti od specifične potrošnje natkritičnog ugljendioksida i pritiska ekstrakcije u dva različita ekstraktora. Temperatura ekstrakcije 40°C, čestice usitnjene na srednju veličinu čestica od 0,56 mm. Pritisak ekstrakcije: 150 bar (■), 225 bar (◊), 300 bar (▲), \*225 bar (◆), \*300 bar (△), \*400 bar (○). \* - Eksperiment u većem ekstraktoru.

Izvanredno slaganje i poklapanje ekstrakcionih krivih dobijenih za pritiske 225 i 300 bar u ekstraktorima, nagoveštava da je moguće predvideti stepen ekstrakcije u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na tim pritiscima (Slika 34). Takođe, poklapanje prvog dela ovih ekstrakcionih krivih dokazuje da brzinu ekstrakcije na početku procesa diktira uspostavljena ravnoteža, tj. da su dobijene ekstrakcione krive ravnotežne. Svi drugi zaključci vezani za uticaj povećanja dimenzija uređaja, svakako bi trebali biti potkrepljeni neophodnim ispitivanjima. Na pritisku od 400 bar, procesom natkritične ekstrakcije moguće je dobiti kompletnu količinu ulja koja se nalazi u materijalu, odnosno količinu koja se dobija ekstrakcijom klasičnim rastvaračima.

### 5.2.1.2. Uticaj temperature

Uticaj temperature na prinos ulja iz semena tikve u toku ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom pritiska 300 bar, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup>, za čestice srednjeg prečnika 0,56 mm, prikazuje Slika 35. Ispitivane temperature su 40, 50 i 60°C.



**Slika 35.** Kumulativni prinosi ekstrakcije semena tikve ugljendioksidom u natkritičnom stanju (puni simboli) i *n*-heksanom (prazni simboli) u zavisnosti od vremena i temperature ekstrakcije. Pritisak CO<sub>2</sub> 300 bar. Ostali uslovi kao na Slici 32. Maseni odnos *n*-heksana i semena tikve, istog stepena usitnjenosti, je 5:1 (m/m). Ispitivane temperature su: 40°C – (trougao), 50°C – (krug) i 60°C – (kvadrat).

Na istoj slici, prikazani su i rezultati ekstrakcije semena istog stepena usitnjenosti *n*-heksanom, na istim temperaturama. Prinosi ekstrakcija natkritičnim ugljendioksidom nakon 7 h ekstrakcije na 40, 50 i 60°C iznosili su 42,0±0,5%, 42,1±0,7% i 42,2±0,6%. Prinosi ekstrakcije klasičnim rastvaračem (*n*-heksanom) uz intenzivno mešanje u toku 7 h ekstrakcije, na istim temperaturama iznosili su redom: 37,2±1,6%, 38,4±1,4% i 42,4±1,5% [201].

Linije numerisane brojevima (1), (2) i (3) na Slici 35 su procene vrednosti prinosa ekstrakcije semena tikve *n*-heksanom, izračunate iz jednostavnog modela, prema kome se promena koncentracije ulja u rastvaraču sa vremenom može predstaviti jednačinom zavisnosti prvog reda [222]. S obzirom da model ne opisuje najbolje ekstrakciju klasičnim rastvaračem, proizilazi da je ekstrakciona kinetika u ovom slučaju znatno kompleksnija.

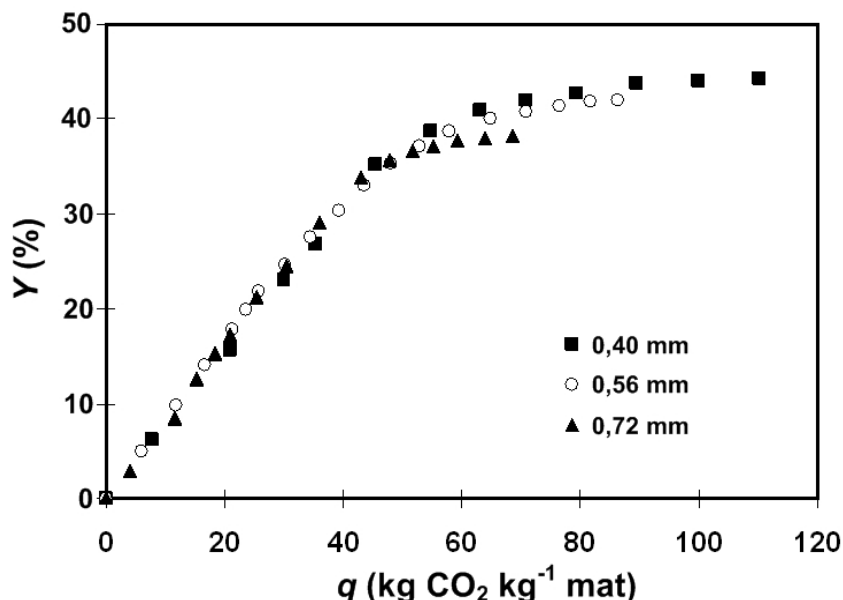
Temperatura ne utiče na prinos ekstrakta pri natkritičnoj ekstrakciji na pritisku 300 bar (Slika 35) [201]. Objašnjenje za ovaj rezultat može se naći u vrednosti „crossover“ pritiska/ prelaznog pritiska za sistem ulje iz semena tikve - natkritični CO<sub>2</sub>. Naime, na konstantnom pritisku natkritičnog fluida, uticaj porasta temperature zavisice od vrednosti pritiska. Na pritiscima ispod prelaznog pritiska, porastom temperature, usled smanjenja gustine natkritičnog fluida, smanjivaće se i njegova moć rastvaranja, odnosno, u ovom slučaju, rastvorljivost ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> će se smanjivati. Suprotno tome, na pritiscim većim od prelaznog pritiska porast temperature uticaće na porast rastvorljivosti ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub>, i intenziviraće ekstrakciju, iako se gustina natkritičnog fluida smanjuje, zbog većeg uticaja

temperature na porast napona pare ulja. S obzirom da podatak o prelaznom pritisku ne postoji u literaturi, na osnovu rezultata ovog eksperimenta, može se zaključiti da je prelazni pritisak za ulje iz semena tikve upravo 300 bar, ili se nalazi u nekom uskom opsegu koji obuhvata ovu vrednost.

### 5.2.1.3. Uticaj veličine čestica

Uticaj veličine čestica na prinos ekstrakcije semena tikve natkritičnim ugljendioksidom ispitan je na pritisku 300 bar i temperaturi 40°C, pri protoku ugljendioksida od 0,2 kg h<sup>-1</sup> (Slika 36). Promena kumulativnog prinosa,  $Y$ , sa specifičnom potrošnjom CO<sub>2</sub>,  $q$ , je praćena za tri različite frakcije čestica srednjeg prečnika 0,40 mm, 0,56 mm i 0,72 mm.

Na početku procesa, brzina ekstrakcije ulja iz semena tikve ne zavisi od veličine čestica (do utrošenih oko 50 g CO<sub>2</sub> po gramu materijala koji se ekstrahuje) što odgovara pretpostavkama da na brzinu procesa u prvom delu utiču fazna ravnoteža i rastvorljivost ulja u natkritičnom fluidu (Slika 36). Nakon utrošenih prvih oko 50 g CO<sub>2</sub> po gramu materijala, najveći prinos ekstrakta pri konstantnom vremenu ekstrakcije, dobija se korišćenjem najsitnijih čestica. Smanjenje prečnika čestice dovodi do povećanja brzine difuzije, odnosno do skraćenja difuzionog puta što ubrzava proces ekstrakcije.



**Slika 36.** Promena prinosa ekstrakta u toku ekstrakcije semena tikve ugljendioksidom, na pritisku 300 bar i temperaturi 40°C, u zavisnosti od srednjeg prečnika čestica: 0,40 mm (■), 0,56 mm (○) i 0,72 mm (▲).

Dodatni efekat na porast prinosa ekstrakcije pri smanjenju prečnika čestica ima i povećanje specifične međufazne površine usitnjenog materijala kada su čestice manjeg prečnika, što omogućava intenzivan kontakt ugljendioksida i materijala. Međutim, poznato je da jako sitne čestice izazivaju pojavu kanala u sloju, što se pokazalo tačnim i u jednom od eksperimenata izvedenom u okviru ove teze, sa usitnjenim česticama tikve goliće srednjeg prečnika 0,24 mm, ekstrahovanim u većem ekstraktoru, gde je deo materijala u sloju ostao neiz ekstrahovan, upravo zbog ove pojave (Slika 37).

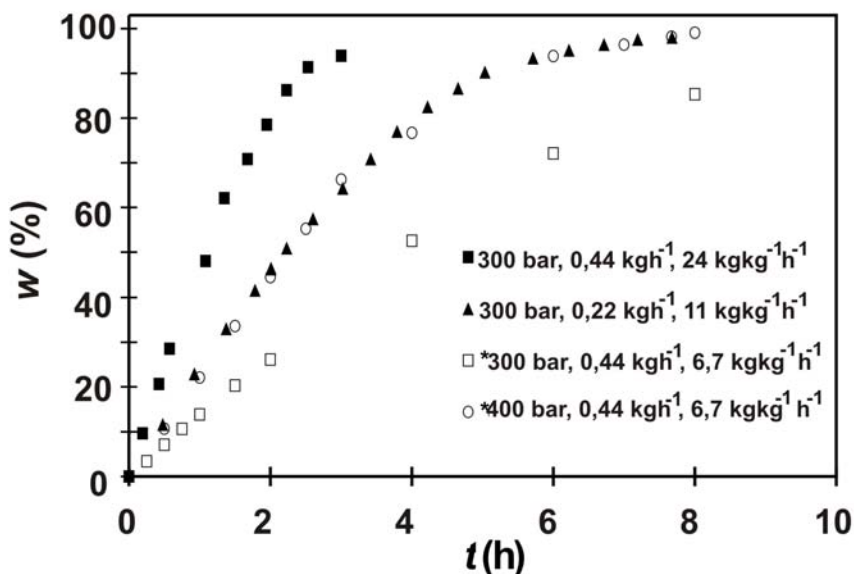


**Slika 37.** Fotografija usitnjenog semena tikve golice srednjeg prečnika 0,24 mm nakon 8 h ekstrakcije u većem ekstraktoru. Na fotografiji se vidi deo materijala u sloju koji je ostao neizekstrahovan zbog pojave kanala u sloju formiranih usled velikog stepena usitnjenosti čestica.

Porast prinosa sa smanjenjem veličine čestica može biti i posledica segregacije čestica semena tikve golice u toku mlevenja u frakcije sa različitim sadržajem ulja, koje su izdvojene prosejavanjem, slično kao što su to pokazali drugi autori [90].

#### 5.2.1.4. Uticaj protoka

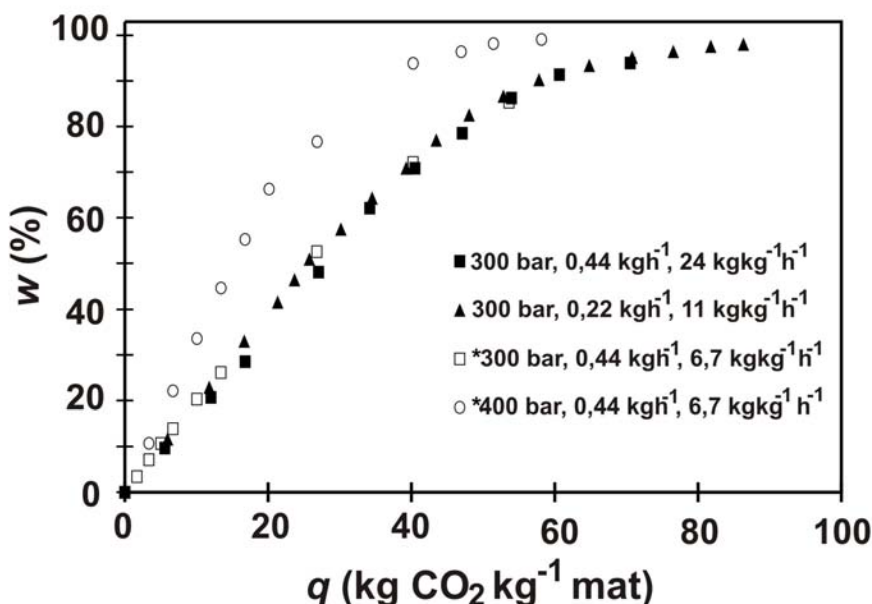
Ukoliko se stepen ekstrakcije ulja iz usitnjenog semena tikve,  $w$ , prikaže u zavisnosti od vremena ekstrakcije,  $t$ , za različite vrednosti protoka natkritičnog ugljendioksida (različita časovna potrošnja ugljendioksida po jedinici mase materijala), kao što to prikazuje Slika 38, može se uočiti da je za isto vreme stepen ekstrakcije veći pri većem protoku ugljendioksida („ispunjen kvadrat“ i „ispunjen trougao“).



**Slika 38.** Stepen ekstrakcije ulja iz semena tikve natkritičnim ugljendioksidom u zavisnosti od vremena ekstrakcije, na temperaturi 40°C, za različite uslove pritiska u procesu, protoka ugljendioksida i časovne potrošnje ugljendioksida po jedinici mase materijala u sloju: 300 bar, 0,44 kg h<sup>-1</sup>, 24 kg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (■); 300 bar, 0,22 kg h<sup>-1</sup>, 11 kg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (▲); \*300 bar, 0,44 kg h<sup>-1</sup>, 6,7 kg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (□); \*400 bar, 0,44 kg h<sup>-1</sup>, 6,7 kg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (○). \* - eksperiment u većem ekstraktoru. Veličina srednjeg prečnika čestica 0,56 mm.

Međutim, pri istoj vrednosti protoka ( $0,44 \text{ kg h}^{-1}$ ), ali pri različitoj časovnoj potrošnji ugljendioksida po jedinici mase materijala ( $24 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  i  $6,7 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), odnosno kada je ekstrahovana različita masa materijala u toku ekstrakcije (Slika 38) uočava se da je za isto vreme prinos ulja veći ukoliko je veća časovna potrošnja ugljendioksida po jedinici mase ekstrahovanog materijala. Radi poređenja, prikazana je i ekstrakciona kriva za pritisak 400 bar (Slika 38) i časovnu potrošnju ugljendioksida po jedinici mase materijala od  $6,7 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , na osnovu čega se vidi da je za isto vreme, stepen ekstrakcije na ovom višem pritisku niži nego na 300 bar pri časovnoj potrošnji ugljendioksida po jedinici mase materijala od  $24 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

Kada se iste ekstrakcione krive prikazane na prethodnoj slici daju u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida,  $q$ , a ne u zavisnosti od vremena, dobija se sasvim drugačija slika (Slika 39). Ekstrakcione krive na 300 bar se poklapaju, a uticaj protoka i časovna potrošnja ugljendioksida po jedinici mase ekstrahovanog materijala nestaje. Pri istoj specifičnoj potrošnji ugljendioksida, najveći  $w$  (ili  $Y$ ) dobija se na 400 bar.



**Slika 39.** Stepenski odnos između specifične potrošnje natkritičnog ugljendioksida, na temperaturi procesa od  $40^{\circ}\text{C}$ , za različite uslove pritiska u procesu, protoka ugljendioksida i časovne potrošnje ugljendioksida po jedinici mase materijala u sloju: 300 bar,  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$ ,  $24 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (■); 300 bar,  $0,22 \text{ kg h}^{-1}$ ,  $11 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (▲); \*300 bar,  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$ ,  $6,7 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (□); \*400 bar,  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$ ,  $6,7 \text{ kg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (○). \* - eksperiment u većem ekstraktoru.

### 5.2.1.5. Sastav ekstrakata

U ekstraktima semena uljane tikve goliće dobijenim natkritičnim ugljendioksidom ispitan je:

- sadržaj i sastav masnih kiselina,
- sadržaj  $\gamma$ - i  $\alpha$ -tokoferola,
- sadržaj skvalena i
- sadržaj i sastav sterola.

Takođe, za odabrani uzorak sa najvećim sadržajem ispitanih mikronutritijenata, ispitani su i neki od osnovnih pokazatelja kvaliteta jestivih ulja propisanih „Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode“ [206], i to: sadržaj vode i drugih isparljivih materija, kiselinski broj i peroksidni broj.

Uz to, utvrđeni su i anisidinski broj i oksidativna stabilnost (indukciono vreme određeno Rancimat testom)

### ***Masnokiselinski sastav***

S obzirom da je u eksperimentima korišćeno seme uljane tikve golice (*Cucurbita pepo* L. convar. *citrullina*) iz dva regiona, bilo je očekivano da se ekstrakti dobijeni u manjem ekstraktoru (Slika 9), iz semena poreklom iz Slovenije i ekstrakti dobijeni u većem ekstraktoru (Slika 10), poreklom iz Vojvodine, razlikuju po sadržaju masnih kiselina. Generalno, pokazalo se da je u ulju semena tikve golice iz Slovenije bilo nešto više oleinske nego linolne kiseline, dok je u ulju iz semena iz regiona Vojvodine, bilo više linolne nego oleinske kiseline. U ulju iz semena tikve poreklom iz Slovenije, dobijenom natkritičnom ekstrakcijom, najzastupljenija je oleinska kiselina sa masenim udelima 38,5-45,9%, a zatim linolna 36,7-41,6% i palmitinska 11,4-13,9% (Tabela 23 i u Prilogu date Tabela 8-39 i Tabela 8-40). U ulju iz semena tikve poreklom iz Vojvodine, dobijenom natkritičnim ugljendioksidom na temperaturi 40°C i pritiscima 300 i 400 bar, najzastupljenija je linolna kiselina 48,6-58,8%, a zatim oleinska 23,2-31,8% i palmitinska 10,4-12,8% (Tabela 24, Tabela 25 i Tabela 26).

Sadržaj masnih kiselina u ekstraktima semena tikve, poreklom iz Slovenije, dobijenim u manjem ekstraktoru, nakon 2 h ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom 20 g semena usitnjenog na veličinu srednjeg prečnika čestica od 0,56 mm, na pritisku 300 bar i temperaturama 40, 50 i 60°C daje Tabela 23.

U ulju iz semena tikve poreklom iz Slovenije, dobijenom natkritičnim ugljendioksidom na pritisku 300 bar, na svim ispitivanim temperaturama najzastupljenije su oleinska i linolna kiselina ( $\omega 6$  kiselina) (Tabela 23, Slika 8-76 u Prilogu). Sadržaj oleinske kiseline opada od 45,9 do 38,5% u ekstraktima sa povećanjem temperature od 40 do 60°C. S druge strane, sa verovatnoćom od 95%, može se reći da je sadržaj linolne kiseline u ekstraktu dobijenom na 40°C (36,7%) manji u odnosu na sadržaj u ekstraktu dobijenom na 60°C (41,6%) (ANOVA,  $p=0,0054$ ), dok između ekstrakata na 40 i 50°C nema statistički značajne razlike (ANOVA,  $p=0,115$ ). Palmitinska kiselina je treća po zastupljenosti u navedenim ekstraktima sa sadržajem od 11,4 do 13,9% pri porastu temperature od 40 do 60°C. Generalno, sadržaj zasićenih masnih kiselina (ZMK) i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) se nešto povećava kada se ekstrakcije izvode na većoj temperaturi, dok sadržaj mononezasićenih masnih kiselina (MNMK) opada.

Ukupni sadržaj masnih kiselina po miligramu pripremljenog uzorka za GC-MS analizu se smanjuje pri povećanju temperature od 40 do 60°C, što može da ukazuje da je sadržaj neosapunjivih materija veći u ekstraktima dobijenim na višoj temperaturi.

**Tabela 23.** Sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*C. pepo* L.) poreklom iz Slovenije dobijenim u toku 2 h ekstrakcije 20 g usitnjenog semena, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,2 kg h<sup>-1</sup>, na 300 bar i temperaturama 40, 50 i 60°C. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Temperatura ekstrakcije (°C) |            |            |
|--|------------------------------|------------|------------|
|  | 40                           | 50         | 60         |
| C14:0  | 0,09±0,01                    | 0,16±0,00  | 0,06±0,01  |
| C16:0  | 11,39±0,63                   | 12,57±0,09 | 13,90±0,33 |
| C17:0  | 0,17±0,01                    | 0,25±0,02  | 0,22±0,01  |
| C18:0  | 4,69±0,33                    | 4,28±0,16  | 4,05±0,23  |
| C18:1cis   | 45,86±3,10                   | 42,09±0,43 | 38,51±0,88 |
| C18:2cis   | 36,70±3,64                   | 38,63±0,08 | 41,59±1,64 |
| C18:3  | 0,32±0,03                    | 0,78±0,02  | 0,64±0,09  |
| C20:0  | 0,76±0,02                    | 1,20±0,01  | 0,99±0,06  |
| C22:0  | 0,02±0,01                    | 0,05±0,00  | 0,05±0,01  |
| ZMK  | 17,12±1,08                   | 18,51±0,29 | 19,27±0,64 |
| MNMK   | 45,86±3,10                   | 42,09±0,43 | 38,51±0,88 |
| PNMK   | 37,02±3,67                   | 39,41±0,10 | 42,22±1,73 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za GC-MS analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 550±40                       | 450±25     | 420±20     |

Uticaj stepena usitnjenosti čestica proveren je za seme iz oba regiona. U Prilogu (Tabela 8-39) su dati sadržaji masnih kiselina u ekstraktima dobijenim u manjem ekstraktoru, nakon 2 h ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom pritiska 300 bar i temperature 40°C, iz 20 g semena tikve golice različitog stepena usitnjenosti. Uticaj stepena usitnjenosti na sadržaja masnih kiselina u ekstraktima, proveren na tri frakcije čestica ne može se uočiti. Ovaj tip ispitivanja ponovljen je na semenu iz Vojvodine i takođe se pokazalo da stepen usitnjenosti nije imao uticaja na promenu masnokiselinskog sastava ekstrakata dobijenih nakon 2 h ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom pritiska 400 bar i temperature 40°C, iz 66 g semena tikve golice (Tabela 25 i Tabela 8-42 u Prilogu). Međutim, kada je vreme ekstrakcije produženo na 6 h, ekstrakti koji su dobijeni iz semena tikve golice različitog stepena usitnjenosti razlikovali su se po sadržaju linolne i oleinske kiseline (Tabela 24).

Naime, sadržaj linolne kiseline u ekstraktu dobijenom natkritičnom ekstrakcijom sitnijih čestica srednjeg prečnika 0,24 mm bio je manji 48,17±1,42% u odnosu na vrednost od 52,77±0,35% u ekstraktu čestica srednjeg prečnika 0,56 mm (Tabela 24). S druge strane, sa povećanjem prečnika čestica sadržaj oleinske kiseline je opao sa 29,29±0,96%, koliko je iznosio za sitnije čestice, na vrednost od 25,30±0,62% za krupnije čestice (Tabela 24). U

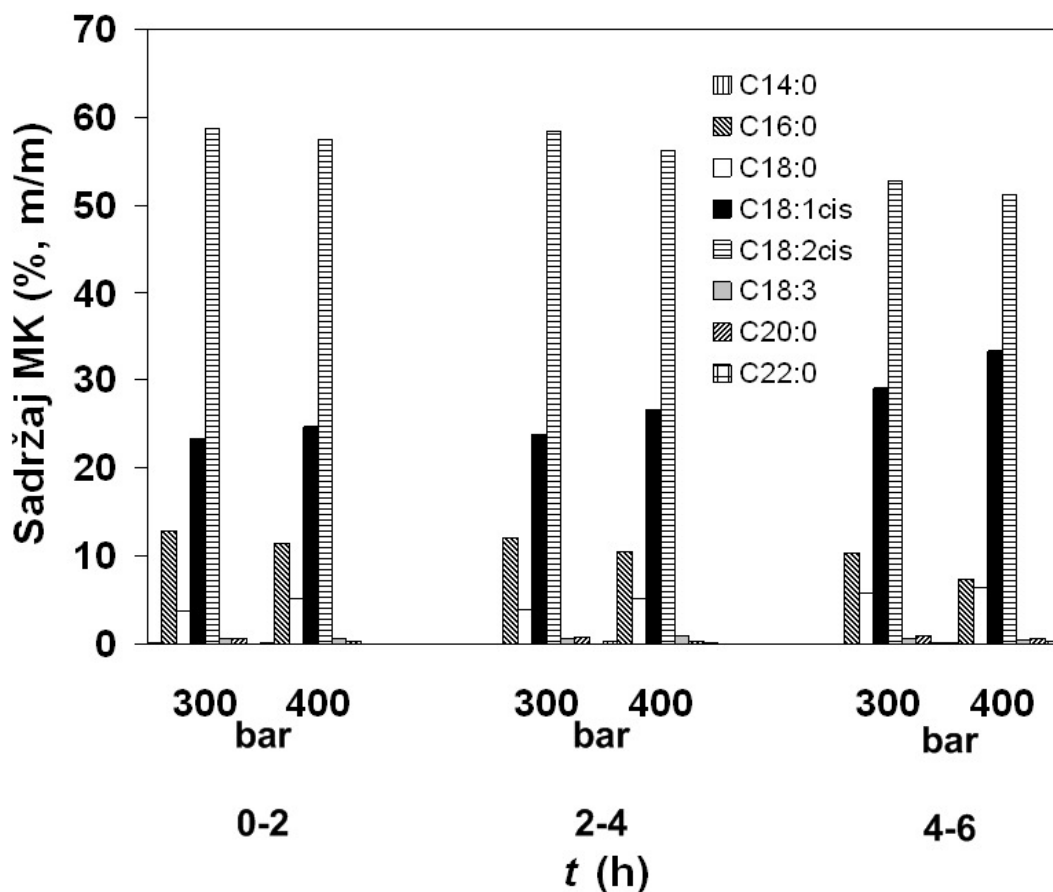
ovom slučaju dužina trajanja procesa ekstrakcije ima presudnu ulogu na ispoljavanje razlika u masnokiselinskom sastavu.

**Tabela 24.** Uticaj stepena usitnjenosti čestica na sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*C. pepo* L.) poreklom iz Vojvodine dobijenim u toku 6 h ekstrakcije 66 g usitnjenog semena natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup>, na 400 bar i temperature 40°C; srednji prečnik čestica 0,24 mm i 0,56 mm. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Srednji prečnik čestica (mm) |            |
|--|------------------------------|------------|
|  | 0,24                         | 0,56       |
| C14:0  | 0,06±0,01                    | 0,11±0,01  |
| C16:0  | 13,24±0,36                   | 13,32±0,69 |
| C17:0  | 0,21±0,04                    | 0,46±0,08  |
| C18:0  | 4,17±0,09                    | 4,34±0,46  |
| C18:1cis   | 29,29±0,96                   | 25,30±0,62 |
| C18:2cis   | 48,17±1,42                   | 52,77±0,35 |
| C18:3  | 3,65±0,47                    | 2,45±0,23  |
| C20:0  | 1,19±0,06                    | 1,05±0,23  |
| C22:0  | 0,02±0,04                    | 0,20±0,28  |
| ZMK  | 18,89±0,60                   | 20,49±1,75 |
| MNMK   | 29,29±0,96                   | 25,30±0,62 |
| PNMK   | 51,83±1,89                   | 54,21±0,58 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za GC-MS analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 430±10                       | 225±10     |

Uticaj pritiska na masnokiselinski sastav ekstrakata sakupljenih za isto vreme ekstrakcije proveren je za uzorke semena tikve golice iz oba regiona. Upoređivanjem sadržaja masnih kiselina u ekstraktima ulja dobijenim nakon 2 h ekstrakcije 20 g semena tikve golice iz Slovenije, na 40°C i pritiscima 225 bar i 300 bar (Prilog Tabela 8-40), jednofaktorska ANOVA analiza je pokazala da nema statistički značajne razlike u sadržaju ZMK (p=0,83), MNMK (p=0,83) i PNMK (p=0,83) i da se vrednosti za ove grupe jedinjenja kreću, redom, oko 16,5, 46,8 i 36,6%.





**Slika 40.** Uticaj pritiska na masnokiselinski sastav frakcija ekstrakata sakupljenih u sukcesivnim vremenskim intervalima 0-2, 2-4 i 4-6 h ekstrakcije. Protok CO<sub>2</sub> je 0,44 kg h<sup>-1</sup> kroz sloj formiran od 66 g semena tikve, usitnjenog na srednju veličinu čestica od 0,56 mm. Temperatura 40°C. Pritisaci 300 i 400 bar. MK-masna kiselina.

Takođe, upoređivanjem sadržaja masnih kiselina u frakcijama ulja sakupljenim u sukcesivnim vremenskim intervalima 0-2, 2-4 i 4-6 h u toku ekstrakcije 66 g semena tikve golice iz Vojvodine, usitnjenog na srednji prečnik čestica 0,56 mm, pri protoku ugljendioksida 0,44 kg h<sup>-1</sup>, na temperaturi 40°C i pritiscima 300 bar i 400 bar (Slika 40), dvofaktorska ANOVA analiza je pokazala da pritisak nema značajan uticaj na sadržaj MNMK ( $p=0,051$ ) i PNMK ( $p=0,154$ ), odnosno na sadržaj oleinske i linolne kiseline ( $p=0,109$ ). Vreme trajanja ekstrakcije, kako je pokazala dvofaktorska ANOVA analiza podataka (Tabela 25 i Tabela 8-41 u Prilogu), sa verovatnoćom od 95%, imalo je značajan uticaj na promenu sadržaja MNZK ( $p=0,0015$ ) i PNMK (0,0011).

Vreme trajanja procesa natkritične ekstrakcije pokazalo se kao presudan faktor za masnokiselinski sastav ekstrakata u slučaju ekstrakcija i na 300 bar (Tabela 25) i na 400 bar kako za krupniju frakciju čestica (Tabela 8-41 u Prilogu), tako i za sitniju frakciju čestica (Tabela 8-42). Upoređivanjem sadržaja masnih kiselina u ekstraktima semena tikve (*C. pepo* L.) dobijenim u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije na pritisku 300 bar (Tabela 25), može se uočiti da u prva četiri sata nema značajnije razlike u sastavu masnih kiselina u frakcijama, dok se od četvrtog do šestog sata trajanja procesa u ekstraktu nešto smanjio sadržaj linolne, a povećao sadržaj oleinske kiseline. Isti zaključak važi i za proces na 400 bar, za koji su podaci dati u Prilogu (Tabela 8-41).

**Tabela 25.** Sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena uljane tikve golicice (*C. pepo* L.) poreklom iz Vojvodine dobijenim u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije natkritičnim CO<sub>2</sub> na pritisku 300 bar i temperaturi 40°C. Srednji prečnik čestica usitnjenog materijala 0,56 mm,. Masa usitnjenog semena, protok CO<sub>2</sub> i oznake su kao u Tabeli 24.

| Masna kiselina   | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |
|--|-----------------------|------------|------------|
|  | 0-2                   | 2-4        | 4-6        |
| C14:0  | 0,10±0,01             | 0,08±0,00  | 0,04±0,01  |
| C16:0  | 12,79±0,35            | 12,05±0,68 | 10,42±0,34 |
| C17:0  | 0,13±0,01             | 0,17±0,04  | 0,18±0,02  |
| C18:0  | 3,73±0,27             | 3,88±0,36  | 5,20±0,63  |
| C18:1cis   | 23,22±1,98            | 24,02±2,24 | 29,48±3,51 |
| C18:2cis   | 58,79±1,42            | 58,34±2,26 | 52,99±2,52 |
| C18:3  | 0,59±0,38             | 0,55±0,31  | 0,58±0,26  |
| C20:0  | 0,62±0,07             | 0,84±0,08  | 0,95±0,14  |
| C22:0  | 0,03±0,01             | 0,07±0,07  | 0,15±0,01  |
| ZMK  | 17,41±0,72            | 17,10±1,22 | 16,94±1,14 |
| MNMK   | 23,22±1,98            | 24,02±2,24 | 29,48±3,51 |
| PNMK   | 59,37±1,80            | 58,89±2,56 | 53,58±2,78 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za GC-MS analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 720±60                | 530±60     | 540±70     |

Objavljena istraživanja stabilnosti ulja semena tikve, koja su obuhvatala ispitivanje uticaja sadržaja oleinske i linolne kiseline, kao i sadržaja vitamina E u ulju, pokazala su da je stabilnost ovog ulja veća ukoliko je sadržaj linolne kiseline manji, a sadržaj oleinske kiseline veći, što je posledica različite brzine oksidacije ove dve kiseline [154]. U cilju provere uticaja povećanja sadržaja oleinske kiseline u ulju sa vremenom ekstrakcije na oksidativnu stabilnost ulja, na tri uzorka je izveden Rancimat test [videti poglavlje Materijal i metode]. Sadržaj masnih kiselina u uzorcima, kao i izmerene dužine indukcionih perioda dati su u Tabeli 26. Rezultati dati u ovoj tabeli su u skladu sa već objavljenim istraživanjima [154] i pokazuju da se izvođenjem procesa u trajanju od 6 h ne bi značajnije promenio masnokiselinski sastav ekstrakata u odnosu na trajanje procesa od 4 h, a da bi se oksidativna stabilnost ulja neznatno povećala.

**Tabela 26.** Sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) dobijenim u toku ekstrakcije 66 g usitnjenog semena, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup>, na pritisku 400 bar i temperaturi 40°C, za različito vreme ekstrakcije. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |
|--|-----------------------|------------|------------|
|  | 0-4                   | 0-6        | 4-8        |
| C14:0  | 0,06±0,01             | 0,11±0,01  | 0,03±0,00  |
| C16:0  | 12,17±0,36            | 12,32±0,69 | 10,53±1,38 |
| C17:0  | 0,16±0,04             | 0,46±0,08  | 0,20±0,04  |
| C18:0  | 4,03±0,09             | 4,34±0,46  | 5,60±1,05  |
| C18:1cis   | 27,68±0,96            | 27,30±0,62 | 31,75±0,35 |
| C18:2cis   | 53,98±1,42            | 53,77±0,35 | 48,57±0,15 |
| C18:3  | 1,15±0,47             | 0,45±0,23  | 2,31±0,41  |
| C20:0  | 0,66±0,06             | 1,05±0,23  | 0,92±0,09  |
| C22:0  | 0,12±0,04             | 0,20±0,28  | 0,09±0,03  |
| ZMK  | 17,19±0,60            | 18,49±1,75 | 17,37±2,60 |
| MNMK   | 27,68±0,96            | 27,30±0,62 | 31,75±0,35 |
| PNMK   | 55,13±1,89            | 54,21±0,58 | 50,88±0,56 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za GC-MS analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 725±50                | 625±60     | 510±60     |
| Rancimat test (pri 100°C, protok vazduha 18-20 l/h)<br>Indukcioni period (h)             | 13,35                 | 13,75      | 15,25      |

Za ulje koje se dobija u toku 6 h ekstrakcije usitnjenog semena tikve goliće, srednjeg prečnika 0,56 mm, natkritičnim ugljendioksidom temperature 40°C, pritiska 400 bar pri protoku rastvarača 0,44 kg h<sup>-1</sup> urađene su neke od neophodnih, zakonom propisanih [206] analiza, da bi se utvrdilo da li ekstrakt zadovoljava osnovne norme koje važe za jestivo biljno ulje, i to: sadržaj vode i drugih isparljivih materija [207], kiselinski broj [208], peroksidni broj [209] i anisidinski broj [210]. Tabela 27 daje pregled rezultata komercijalno urađenih analiza u akreditovanoj Laboratoriji na Tehnološkom fakultetu. Gustina i indeks refrakcije na 20°C za ovo ulje su 918,5 kg m<sup>-3</sup> i 1,4729.

Na osnovu ovih pokazatelja, može se zaključiti da su sve vrednosti, osim sadržaja vode i isparljivih materija (kojih može biti najviše 0,20 (% m/m)), na zadovoljavajućem nivou. Vrednost od 0,31 % koja je izmerena za ispitivani uzorak veća je od maksimalno dozvoljene, ali je najverovatnije posledica zaostalog ugljendioksida u uzorku. Naime, uzorci su pre analize čuvani tako da je u njima namerno zadržana određena količina ugljendioksida, kako bi se uzorci zaštitili od oksidacije. S obzirom da se peroksidnim brojem opisuje sadržaj primarnih, a anisidinskim brojem sekundarnih produkata oksidacije, i da se oksidativna vrednost dobija kao linearna kombinacija ove dve vrednosti, a da je, prema literaturi [16],

kvalitet jestivog nerafinisanog tikvinog ulja na inostranom tržištu takav da je anisidinski broj 8,9, a oksidativna vrednost 19,5, dok su na domaćem tržištu ove vrednosti u intervalu 2,3-2,9 za anisidinski i 7,3-23,9 za oksidativnu vrednost, tikvino ulje dobijeno natkritičnim ugljendioksidom ima izuzetno nizak stepen nastalih oksidativnih promena ulja.

**Tabela 27.** Osnovni hemijski kvalitet ulja semena tikve golice dobijenog natkritičnom ekstrakcijom u toku 6 h ekstrakcije usitnjenog semena, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, natkritičnim ugljendioksidom temperature 40°C, pritiska 400 bar pri protoku rastvarača 0,44 kg h<sup>-1</sup>.

| Pokazatelj   | Izmerena vrednost | Maksimalno dozvoljene vrednosti za jestiva nerafinisana ulja |
|--|-------------------|--|
| Sadržaj vode i drugih isparljivih materija [207] (% , m/m) | 0,31              | 0,2  |
| Kiselinski broj [208] (mg KOH/ g)                          | 1,66              | 4,0  |
| Peroksidni broj [209] (mmol/ kg)                           | 0,72              | 5  |
| Anisidinski broj [210]<br>( $100 A_{350nm}^{1\%}$ )        | 1,69              |  |
| Oksidativna vrednost                                       | 3,13              |  |

### *Sadržaj tokoferola*

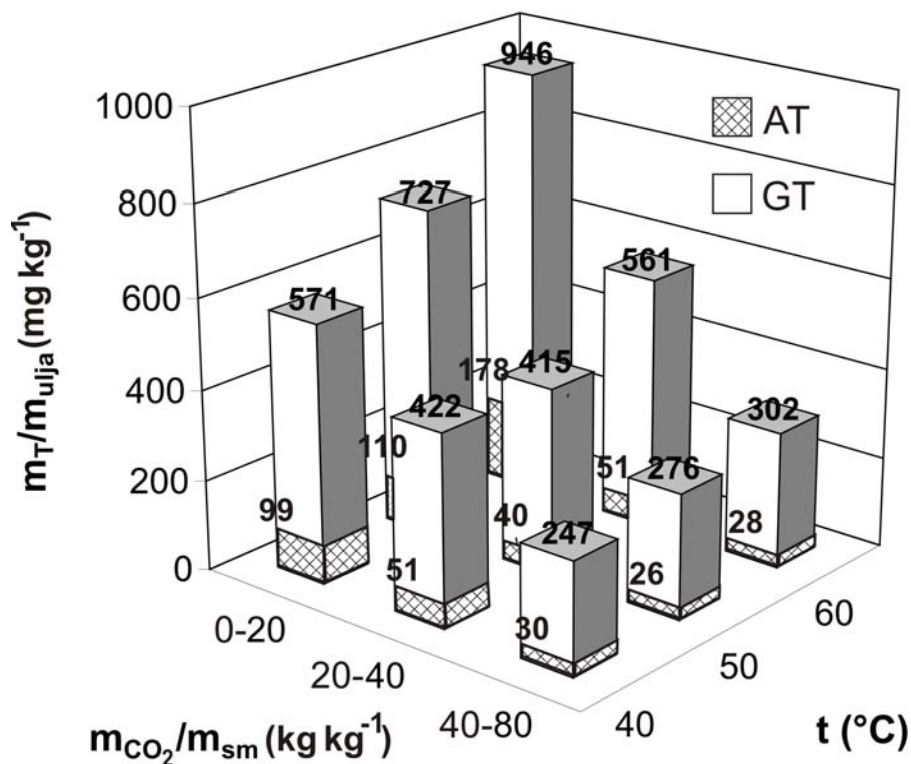
Uticao temperature i specifične potrošnje ugljendioksida, izračunate u odnosu na masu suvog materijala u ekstraktoru, na sadržaj  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferola, odnosno ukupnih tokoferola (suma ova dva tokoferola) u frakcijama ekstrakata sakupljenim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice prikazuje Slika 41.

Frakcije ulja su sakupljene u intervalima vrednosti specifične potrošnje CO<sub>2</sub> od oko 0 - 20, 20 - 40 i 40 - 80 kg utrošenog CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru, na temperaturama 40, 50 i 60°C. Pritisak ekstrakcije bio je 300 bar, protok CO<sub>2</sub> kroz ekstraktor 0,2 kg·h<sup>-1</sup>, a srednji prečnik čestica materijala 0,56 mm. Ukupni sadržaj tokoferola u frakcijama ekstrakata je različit i kreće se u intervalu od 246,7 do 946,2 mg kg<sup>-1</sup>. U svim dobijenim ekstraktima sadržaj  $\gamma$ -tokoferola (GT) je značajno veći od sadržaja  $\alpha$ -tokoferola (AT), a sa porastom vremena ekstrakcije, odnosno specifične potrošnje ugljendioksida, odnos sadržaja GT i AT raste od oko 4, za prvih 20 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala, do oko 10 za utrošenih poslednjih 40 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala u procesu.

Uticao temperature na sadržaj AT i GT u ekstraktima najizraženiji je na početku procesa ekstrakcije, odnosno pri utrošenih prvih oko 20 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala u ekstraktoru. Naime, na početku procesa sa porastom temperature raste i rastvorljivost tokoferola u natkritičnom ugljendioksidu, tako da se to odražava i na porast sadržaja

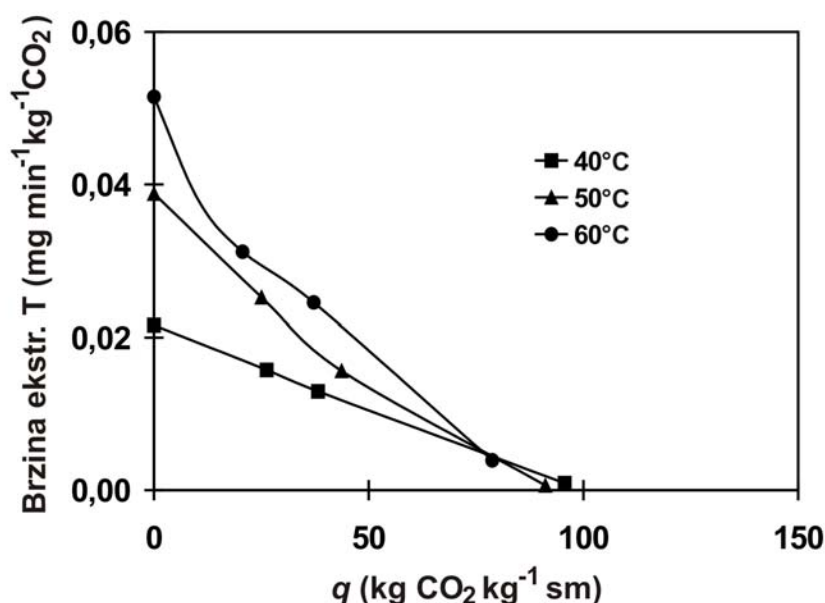
tokoferola u ekstrahovanom ulju od 571, preko 727 do 946 mg kg<sup>-1</sup> ekstrahovanog ulja za temperature 40, 50 i 60°C, dok je sadržaj α-tokoferola u istim uzorcima 99, 110 i 178 mg kg<sup>-1</sup> ekstrahovanog ulja (Slika 41).

Inače, u literaturi se mogu naći podaci na osnovu kojih je moguće izračunati rastvorljivost α-tokoferola u ugljendioksidu, a odgovarajuće vrednosti za temperature 40, 50 i 60°C su 19, 22 i 25 g kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>, dok za γ-tokoferol ovi podaci ne postoje.

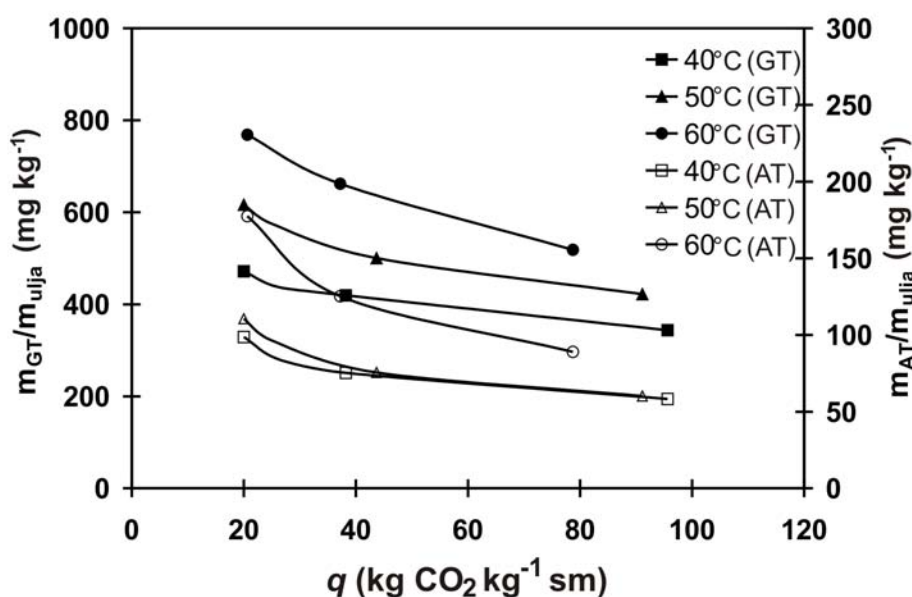


**Slika 41.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Pritisak ekstrakcije 300 bar, protok CO<sub>2</sub> 0,2 kg h<sup>-1</sup>, srednji prečnik čestica 0,56 mm. T- ukupni tokoferoli, AT – α-tokoferol, GT- γ-tokoferol. Prikazane brojne vrednosti odnose se na sadržaj ukupnih tokoferola i α-tokoferola.

U kasnijim fazama procesa, kada fazna ravnoteža ima manji uticaj u odnosu na brzinu difuzionog prenosa mase, uticaj temperature postaje zanemarljiv i na različitim temperaturama ekstrahuje se gotovo ista količina tokoferola. Da je to zaista tako, pokazuju i krive brzine ekstrakcije tokoferola u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim temperaturama ekstrakcije (Slika 42). Dobijeni rezultati za brzinu ekstrakcije tokoferola za utrošenih prvih 20 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala kreću se u opsegu od 0,02, preko 0,03 do 0,035 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>, za ispitivane temperature, redom, 40, 50 i 60°C

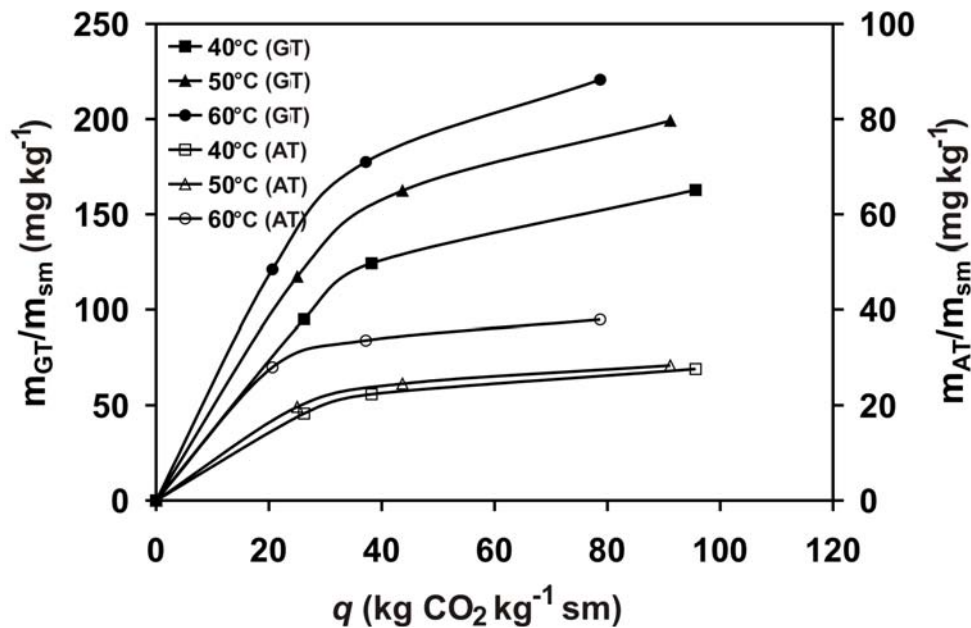


**Slika 42.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu ekstrakcije tokoferola iz usitnjenog semena tikve golice. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi kao na Slici 41. T-ukupni tokoferoli (GT+AT).



**Slika 43.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve golice. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi kao na Slici 41. GT  $\gamma$ -tokoferol, AT  $\alpha$ -tokoferol.

Slika 43 prikazuje promenu sadržaja GT i AT u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve golice u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C i pritisku ekstrakcije 300 bar, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup>. Za iste uslove, Slika 44 pokazuje promenu ukupnog prinosa GT i AT po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida.

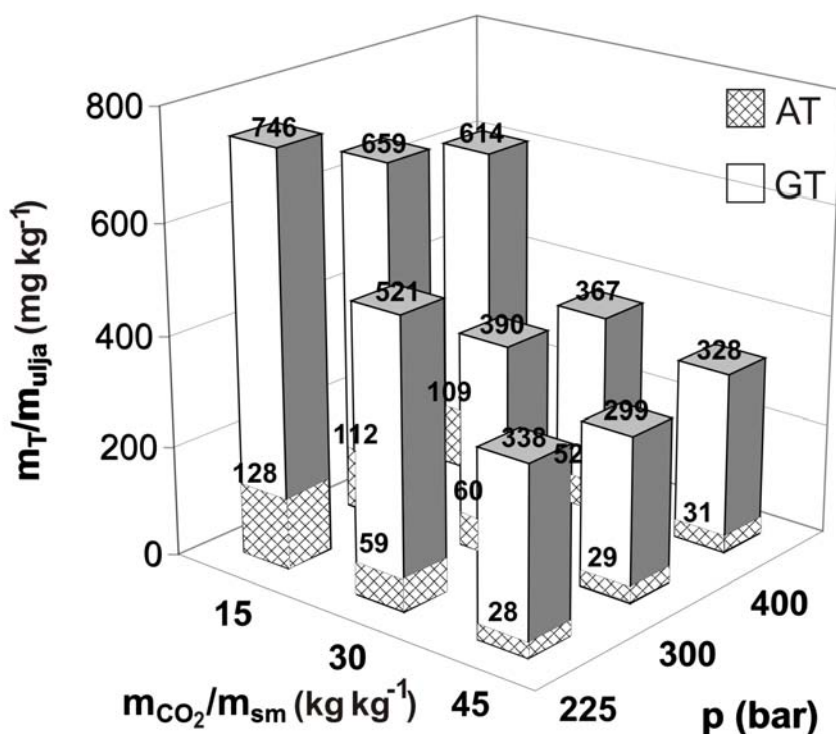


**Slika 44.** Ukupni prinos  $\gamma$ - i  $\alpha$ -tokoferola po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C, u toku natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve goliće. Ostali uslovi dati na Slici 41. GT -  $\gamma$ -tokoferol, AT -  $\alpha$ -tokoferol.

Rezultati prikazani na slikama 41, 42, 43 i 44 ukazuju da se nakon utrošenih oko 30 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala smanjuje brzina ekstrakcije oba ispitivana tokoferola i da to dovodi do smanjenje sadržaja tokoferola u ukupnom ekstraktu. Količina AT koja se može ekstrahovati nakon tog vremena je mala, dok se ekstrahovana količina GT po jedinici mase suvog materijala još uvek može nešto povećati i nakon tog perioda, iako je proces ekstrakcije sporiji.

Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida, izračunate u odnosu na masu suvog materijala u ekstraktoru, na sadržaj AT i GT, odnosno ukupnih tokoferola (suma ova dva ispitana tokoferola) u frakcijama ekstrakata sakupljenim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve goliće prikazuje Slika 45.

Frakcije ulja su sakupljene u intervalima vrednosti specifične potrošnje CO<sub>2</sub> od oko 0 - 15, 15 - 30 i 30 - 45 kg utrošenog CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru, na pritiscima 225, 300 i 400 bar. Temperatura ekstrakcije bila je 40°C, protok CO<sub>2</sub> kroz ekstraktor 0,44 kg h<sup>-1</sup>, a srednji prečnik čestica materijala 0,56 mm.

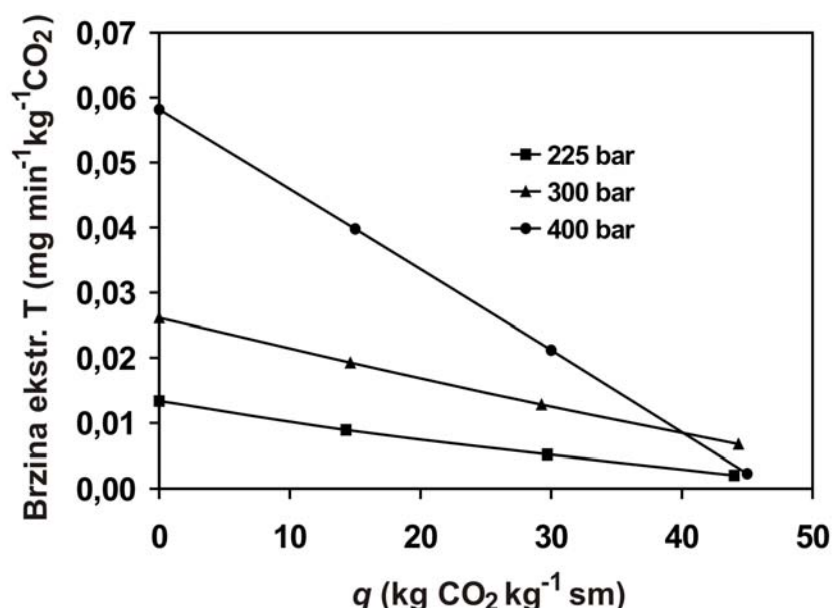


**Slika 45.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Temperatura ekstrakcije 40 °C, protok CO<sub>2</sub> 0,44 kg h<sup>-1</sup>, srednji prečnik čestica 0,56 mm. T - ukupni tokoferoli, AT – α-tokoferol, GT - γ-tokoferol. Prikazane brojne vrednosti odnose se na sadržaj ukupnih tokoferola i α-tokoferola.

U svim dobijenim ekstraktima sadržaj γ-tokoferola je značajno veći od sadržaja α-tokoferola [228], a sa porastom vremena ekstrakcije, odnosno specifične potrošnje ugljendioksida, odnos sadržaja GT i AT raste. Uticaj pritiska na sadržaj AT i GT u ekstraktima najizraženiji je na početku procesa ekstrakcije, odnosno pri utrošenih prvih oko 30 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru. Na početku procesa, na nižim pritiscima veći je sadržaj tokoferola u jedinici mase ekstrahovanog ulja, što je posledica različitog uticaja povećanja pritiska na brzinu ekstrakcije ulja i brzinu ekstrakcije tokoferola. Smanjenje sadržaja tokoferola u ulju na višim pritiscima nije posledica manje rastvorljivosti tokoferola na višim pritiscima, nego velikog porasta ukupnog prinosa ekstrahovanog ulja sa porastom pritiska (Slika 34), odnosno povećanja rastvorljivosti ostalih komponenti ulja. Ovaj efekat nije imao značaja kod ispitivanja uticaja temperature, pošto temperatura nije imala značajan uticaj na ukupni prinos (Slika 35).

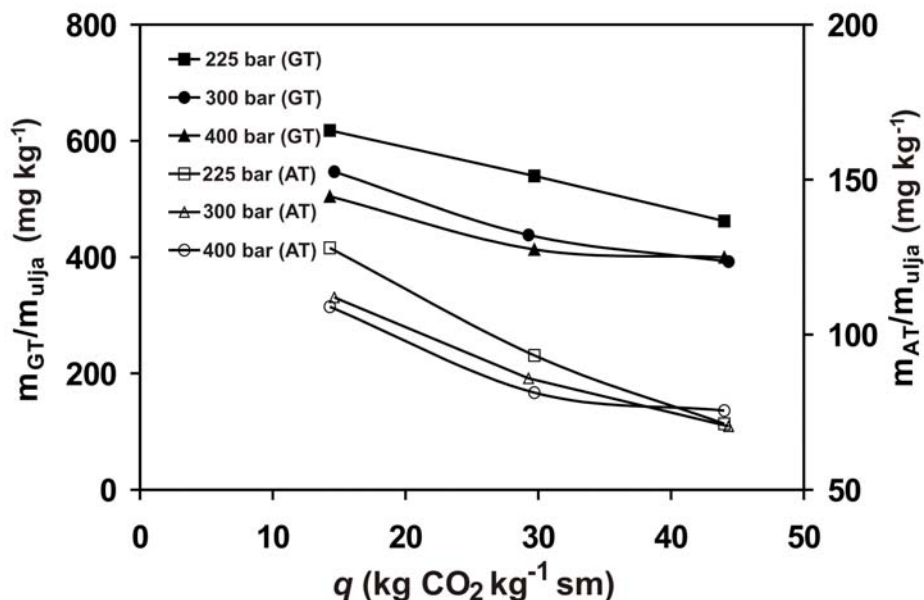
Krive brzine ekstrakcije tokoferola u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim pritiscima ekstrakcije prikazuje Slika 46. Iako je najveći sadržaj tokoferola 746 mg·kg<sup>-1</sup> ekstrahovanog ulja, za vrednost specifične potrošnje ugljendioksida oko 15 kg kg<sup>-1</sup> suvog materijala, dobijen na pritisku 225 bar (Slika 45), za istu specifičnu potrošnju CO<sub>2</sub>, brzina ekstrakcije tokoferola je najmanja na tom pritisku (0,01 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>, Slika 46). Brzina ekstrakcije tokoferola je najveća na 400 bar i iznosi oko 0,04 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> (Slika 46) u trenutku kada je potrošeno 15 kg CO<sub>2</sub>·kg<sup>-1</sup> suvog materijala, ali je sadržaj tokoferola u ulju najmanji i iznosi 614 mg·kg<sup>-1</sup> ulja (Slika 45). U kasnijim fazama procesa, uticaj pritiska postaje manje značajan, i na različitim pritiscima ekstrahuje se gotovo ista količina tokoferola.



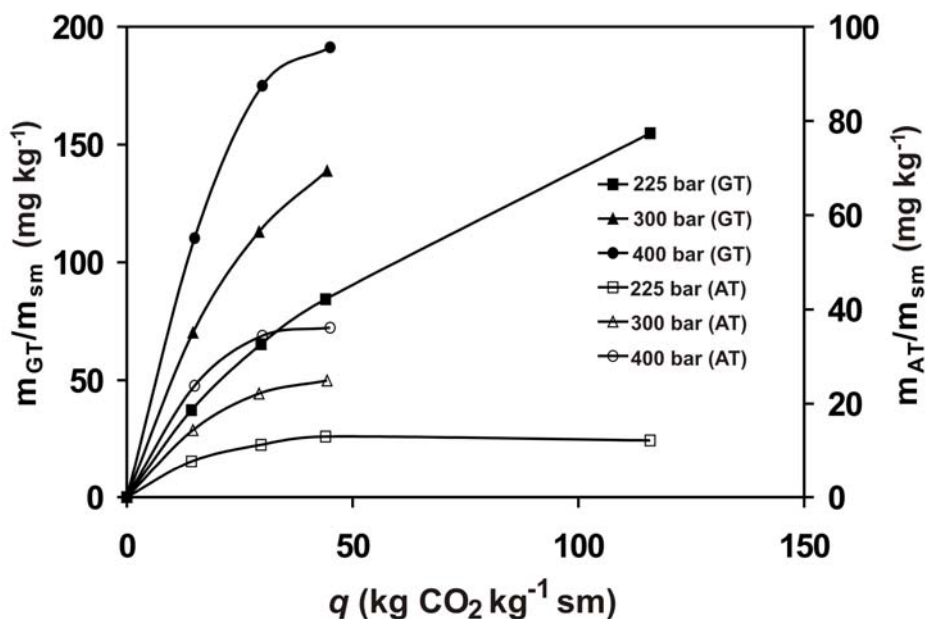


**Slika 46.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu ekstrakcije tokoferola iz usitnjenog semena tikve golice. Ispitivani pritisci su: 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi i oznake dati su na Slici 45.

Slika 47 prikazuje promenu sadržaja GT i AT u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve golice, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na pritiscima 225, 300 i 400 bar. Temperatura ekstrakcije bila je 40°C, protok CO<sub>2</sub> kroz ekstraktor oko 0,4 kg h<sup>-1</sup>. Za iste uslove, Slika 48 pokazuje promenu ukupnog prinosa GT i AT po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida.



**Slika 47.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve golice. Ispitivani pritisci 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi i oznake dati su na Slici 45.



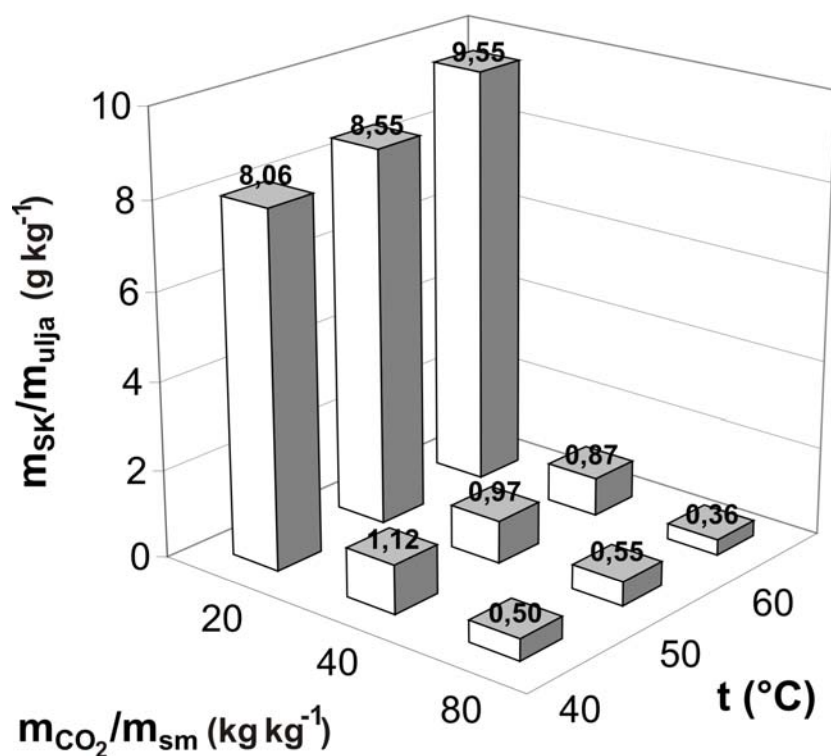
**Slika 48.** Ukupni prinos  $\gamma$ - i  $\alpha$ -tokoferola po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, pritiscima 225, 300 i 400 bar, u toku natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice. Ostali uslovi i oznake dati su na Slici 45.

Rezultati prikazani na slikama 47 i 48, ukazuju da iako sadržaj tokoferola u ulju opada sa porastom pritiska, ukupna masa ekstrahovanih tokoferola po gramu ekstrahovanog suvog materijala raste sa povećanjem pritiska ekstrakcije. Nakon utrošenih oko 30 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala smanjuje se brzina ekstrakcije oba ispitivana tokoferola, što dovodi do smanjenja sadržaja tokoferola u ukupnom ekstraktu. Količina  $\alpha$ -tokoferola koja se može ekstrahovati nakon tog vremena je mala, dok se ekstrahovana količina  $\gamma$ -tokoferola po jedinici mase suvog materijala još uvek može nešto povećati i nakon tog perioda, iako je proces ekstrakcije sporiji.

### *Sadržaj skvalena*

Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida, izračunate u odnosu na masu suvog materijala u ekstraktoru, na sadržaj skvalena u frakcijama ekstrakata sakupljanim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice prikazuje Slika 49. Uslovi ekstrakcije, kao i način na koji su sakupljane frakcije dati su u delu teksta u kome su izloženi rezultati ispitivanja uticaja temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju.

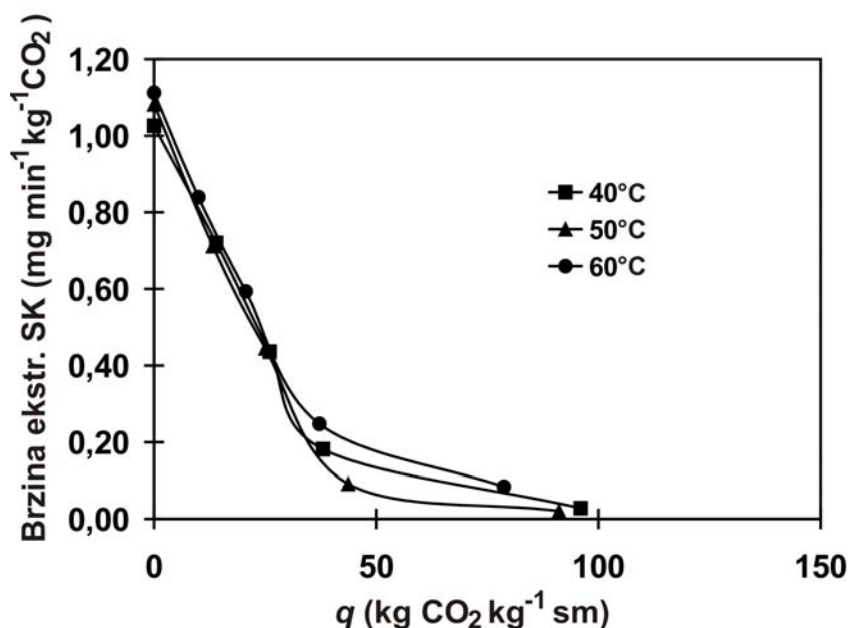
Sadržaj skvalena u frakcijama ekstrakata je različit i kreće se u intervalu od 0,05 do 9,55 g kg<sup>-1</sup>. Frakcije koje su ekstrahovane na početku procesa, odnosno pri utrošenih prvih oko 20 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru, imaju izrazito visok sadržaj skvalena, do vrednosti od 9,55 g kg<sup>-1</sup> ulja, dok se u kasnijim fazama procesa ekstrahuje mnogo manja količina skvalena u odnosu na onu na početku.



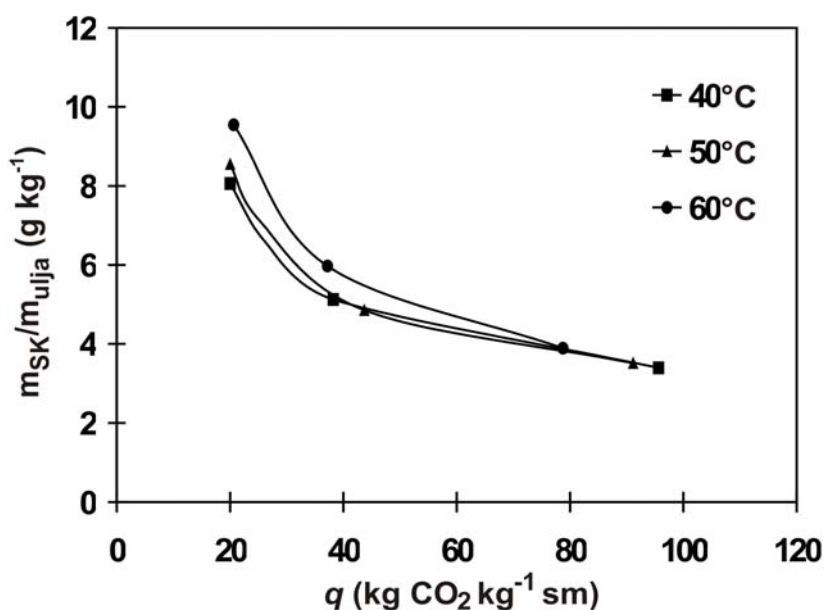
**Slika 49.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj skvalena u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Uslovi ekstrakcije dati su na Slici 41. SK - skvalen.

Generalno, uticaj temperature na rastvorljivost skvalena pri konstantnom pritisku može biti različit, što zavisi od dva mehanizma: porasta napona pare skvalena sa temperaturom, što dovodi do porasta rastvorljivosti, i smanjenja gustine ugljendioksida, što dovodi do smanjenja rastvorljivosti skvalena. Ova dva suprotna efekta za posledicu imaju pojavu presecanja izoterme rastvorljivosti, odnosno pojavu koja se naziva *temperaturna inverzija*. Dominantni mehanizam zavisi od pritiska. Prema literaturnim podacima, skvalen u opsegu vrednosti pritisaka od 100 do 250 bar pokazuje retrogradnu rastvorljivost, odnosno sa porastom temperature od 40, preko 50 do 60°C rastvorljivost skvalena opada [55]. Inače, skvalen zbog svoje nepolarne, ugljovodonične prirode spada u grupu izuzetno dobro rastvornih komponenti ulja u ugljendioksidu. U literaturi se mogu naći podaci na osnovu kojih je moguće izračunati rastvorljivost skvalena u ugljendioksidu pritiska u intervalu od 100 do 250 bar, za temperature 50 i 60°C [55]. Ukoliko se isti parametri primene i za ugljendioksid pritiska 300 bar, vrednosti koje se mogu izračunati za ove dve temperature su 43 i 47 g kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>. Prema rezultatima ovog rada, na pritisku 300 bar, na početku procesa, raste sadržaj skvalena u ekstrahovanom ulju pri porastu temperature od 40, preko 50 do 60°C, što je najverovatnije posledica činjenice da se sa porastom temperature neznatno povećava i rastvorljivost skvalena u natkritičnom ugljendioksidu, tako da je vrednost pritiska pri kome dolazi do temperaturne inverzije, odnosno prelaznog pritiska (*engl. crossover pressure*) između 250 i 300 bar.

Slika 50 prikazuje krive brzine ekstrakcije skvalena u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim temperaturama ekstrakcije. Dobijeni rezultati za brzinu ekstrakcije skvalena u trenutku kada se utroši prvih 20 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala kreću se oko 0,6 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>, za sve ispitivane temperature. Na osnovu krivih brzine ekstrakcije skvalena na pritisku 300 bar i temperaturama 40, 50 i 60°C, prikazanim na Slici 50, nema značajne razlike u brzini ekstrakcije skvalena sa porastom temperature na početku procesa.

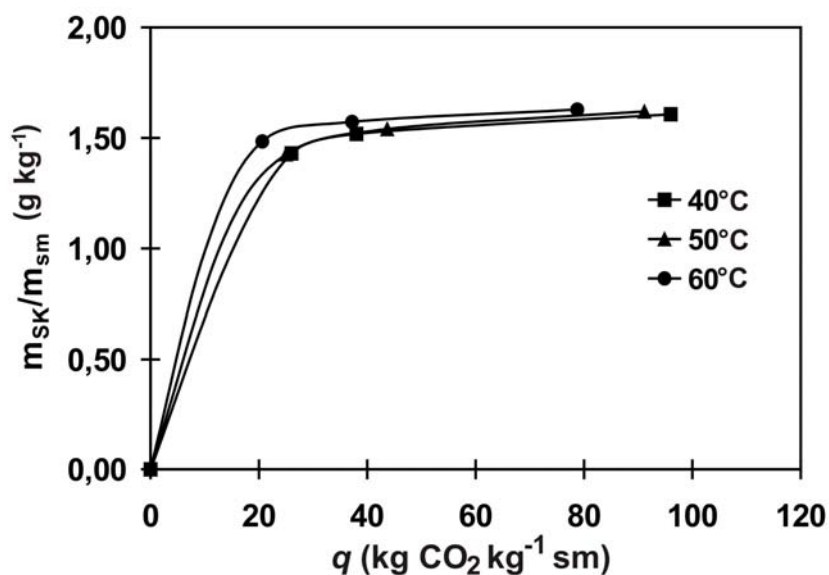


**Slika 50.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu natkritične ekstrakcije skvalena iz usitnjenog semena tikve golice. Ispitivane temperature su: 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi dati su na Slici 41. SK - skvalen.



**Slika 51.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj skvalena u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve golice. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi dati su na Slici 41. SK - skvalen.

Slika 51 pokazuje promenu sadržaja skvalena (SK) u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve golice, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C i pritisku ekstrakcije 300 bar, pri protoku CO<sub>2</sub> od oko 0,2 kg h<sup>-1</sup>. Za iste uslove, Slika 52 pokazuje promenu ukupnog prinosa skvalena po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida.

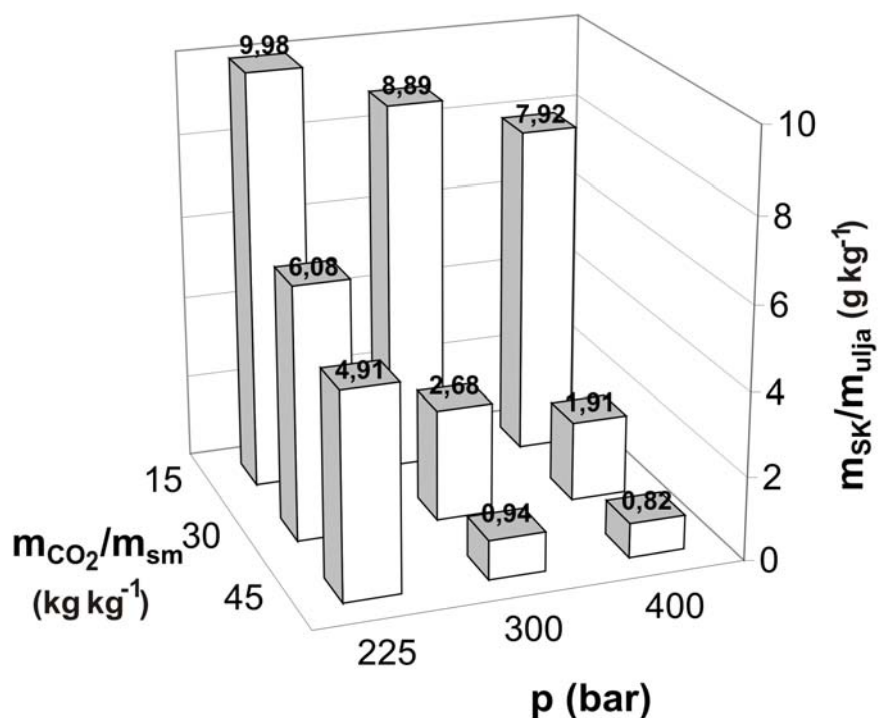


**Slika 52.** Ukupni prinos skvalena po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C, u toku natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice. Ostali uslovi dati su na Slici 41. SK - skvalen.

Nakon utrošenih oko 20 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru smanjuje se brzina ekstrakcije skvalena i to dovodi do smanjenje sadržaja skvalena u ukupnom ekstraktu pri dužem izvođenju procesa. Količina skvalena koja se može ekstrahovati nakon tog vremena je mala, a proces ekstrakcije je sporiji.

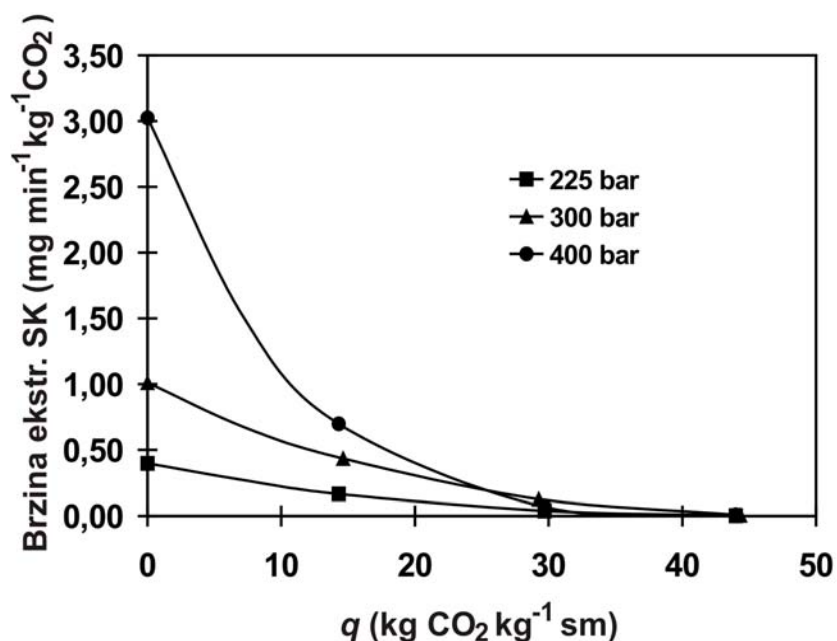
Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj skvalena u frakcijama ekstrakata sakupljenim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice prikazuje Slika 53. Uslovi ekstrakcije, kao i način na koji su sakupljane frakcije dati su u delu teksta u kome su izloženi rezultati ispitivanja uticaja pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju.

U svim dobijenim ekstraktima sadržaj skvalena sa porastom vremena ekstrakcije se smanjuje. Na nižim pritiscima je veći sadržaj skvalena u jedinici mase ekstrahovanog ulja u toku čitavog procesa, što je posledica različitog uticaja povećanja pritiska na brzinu ekstrakcije ulja i brzinu ekstrakcije skvalena. Smanjenje sadržaja skvalena u ulju na višim pritiscima nije posledica manje rastvorljivosti skvalena, nego velikog porasta ukupnog prinosa ekstrahovanog ulja sa porastom pritiska (Slika 34), odnosno povećanja rastvorljivosti ostalih komponenti ulja. Ovaj efekat nije imao značaja kod ispitivanja uticaja temperature, pošto temperatura nije imala značajan uticaj na ukupni prinos (Slika 35). Separaciju skvalena od trigliceridnih komponenata ulja, odnosno dobijanje frakcija obogaćenih skvalenom, moguće je izvesti ekstrakcijom semena tikve na pritisku od 225 bar.



**Slika 53.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj skvalena u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Uslovi ekstrakcije dati su na Slici 45. SK - skvalen.

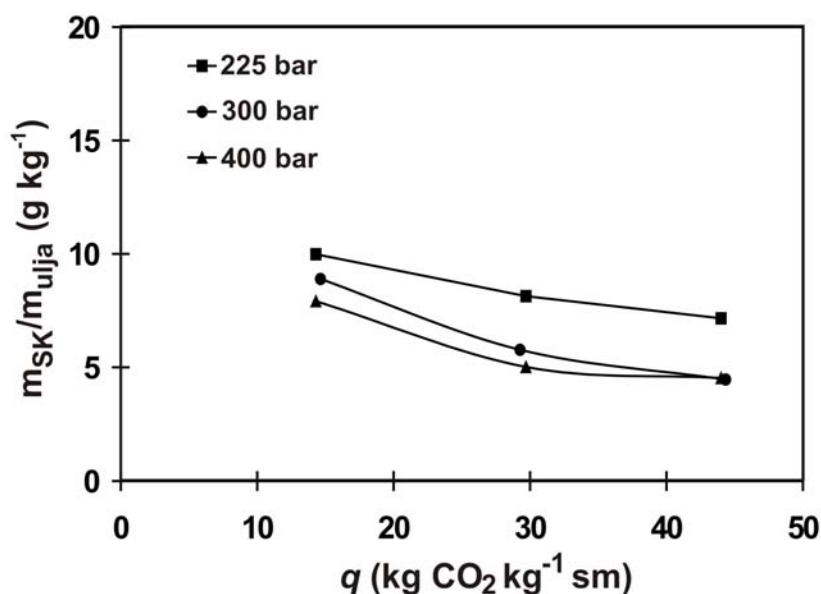
Krive brzine ekstrakcije skvalena u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim pritiscima ekstrakcije prikazuje Slika 54.



**Slika 54.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu natkritične ekstrakcije skvalena iz usitnjenog semena tikve goliće. Uslovi ekstrakcije dati su na Slici 45. Ispitivani pritisci su: 225, 300 i 400 bar. SK-skvalen.

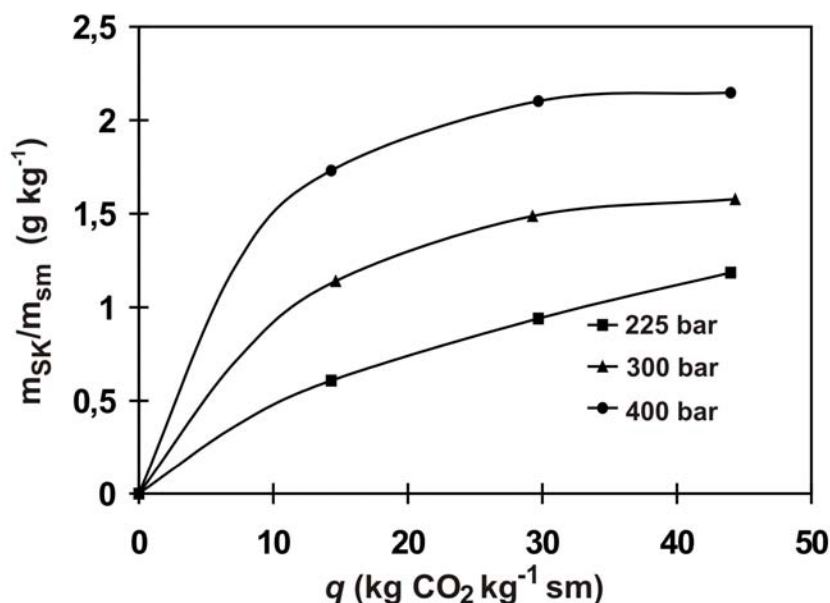
Iako je najveći sadržaj skvalena, oko  $10 \text{ g kg}^{-1}$  ekstrahovanog ulja, za vrednost specifične potrošnje ugljendioksida oko  $15 \text{ kg kg}^{-1}$  suvog materijala, dobijen na pritisku 225 bar (Slika 53), za istu specifičnu potrošnju  $\text{CO}_2$ , brzina ekstrakcije skvalena je najmanja na tom pritisku ( $0,2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ CO}_2 \text{ min}^{-1}$ , Slika 54). Brzina ekstrakcije skvalena je najveća na 400 bar i iznosi oko  $0,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ CO}_2 \text{ min}^{-1}$  (Slika 54) u trenutku kada je potrošeno  $15 \text{ kg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  suvog materijala, ali je sadržaj skvalena najmanji i iznosi oko  $8 \text{ g kg}^{-1}$  ulja (Slika 53). U kasnijim fazama procesa, sadržaj skvalena u ulju ostaje značajno veći na pritisku 225 bar u odnosu na sadržaj u frakcijama dobijenim na višim pritiscima, dok se razlika u sadržajima skvalena u frakcijama ekstrakata dobijenim na pritiscima 300 i 400 bar smanjuje.

Slika 55 pokazuje promenu sadržaja skvalena u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve goliće, srednjeg prečnika čestica  $0,56 \text{ mm}$ , u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima ekstrakcije 225, 300 i 400 bar, pri protoku  $\text{CO}_2$  od oko  $0,2 \text{ kg h}^{-1}$ . Za iste uslove, Slika 56 pokazuje promenu ukupnog prinosa skvalena po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida.



**Slika 55.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj skvalena u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve goliće. Uslovi ekstrakcije dati su na Slici 45. Ispitivani pritisci 225, 300 i 400 bar. SK - skvalen.

Rezultati prikazani na slikama 55 i 56 ukazuju da iako sadržaj skvalena u ulju opada sa porastom pritiska, ukupna masa ekstrahovanog skvalena po gramu ekstrahovanog suvog materijala raste sa povećanjem pritiska ekstrakcije. Nakon utrošenih oko  $15 \text{ kg CO}_2$  po  $\text{kg}$  suvog materijala smanjuje se brzina ekstrakcije skvalena i to dovodi do smanjenje sadržaja skvalena u ukupnom ekstraktu. Na pritiscima 300 i 400 bar, količina skvalena koja se može ekstrahovati nakon tog vremena je mala, dok je na pritisku 225 bar još uvek moguće ekstrahovati značajne količine skvalena.



**Slika 56.** Ukupni prinos skvalena po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, pritiscima 225, 300 i 400 bar, u toku natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice. Uslovi ekstrakcije dati su na Slici 45. SK - skvalen.

### *Sadržaj sterola*

Sadržaj sterola u uzorcima je određen gasnom hromatografijom sa maseno-spekrometrijskim detektorom (GC-MS). Kao što se i očekivalo, utvrđeno je da su najzastupljeniji steroli u uzorcima  $\Delta 7$  tipa, i to stigmasta-7,25-dienol,  $\Delta 7$ -stigmastenol, stigmasta-7,22,25-trienol,  $\Delta 7$ -avenasterol i spinasterol [229, 230]. Jedan hromatogram ulja dobijenog natkritičnom ekstrakcijom dat je u Prilogu (Slika 8-77). Pošto dva sterola,  $\Delta 7$ -stigmastenol i stigmasta-7,25-dienol, koji su identifikovani na osnovu svojih masenih spektara, nisu razdvojena u toku hromatografske analize, nego se pojavljuju kao jedan pik na hromatogramu, njihov sadržaj je određivan zbirno. Maseni spektri ova dva uočena jedinjenja, takođe su prikazani na Slici 8-77 (u Prilogu). Tabela sa molekulskim jonima sterola čije je prisustvo detektovano i kvantifikovano u ulju i lista njihovom fragmentacijom nastalih karakterističnih jona, prikazana je u Prilogu (Tabela 8-43).

U proseku, sadržaj  $\Delta 7$ -sterola je oko 16,5 puta veći od sadržaja  $\Delta 5$ -sterola. Ovaj odnos se kreće od najmanje dobijene vrednosti 12,4 do najveće od 22,0.

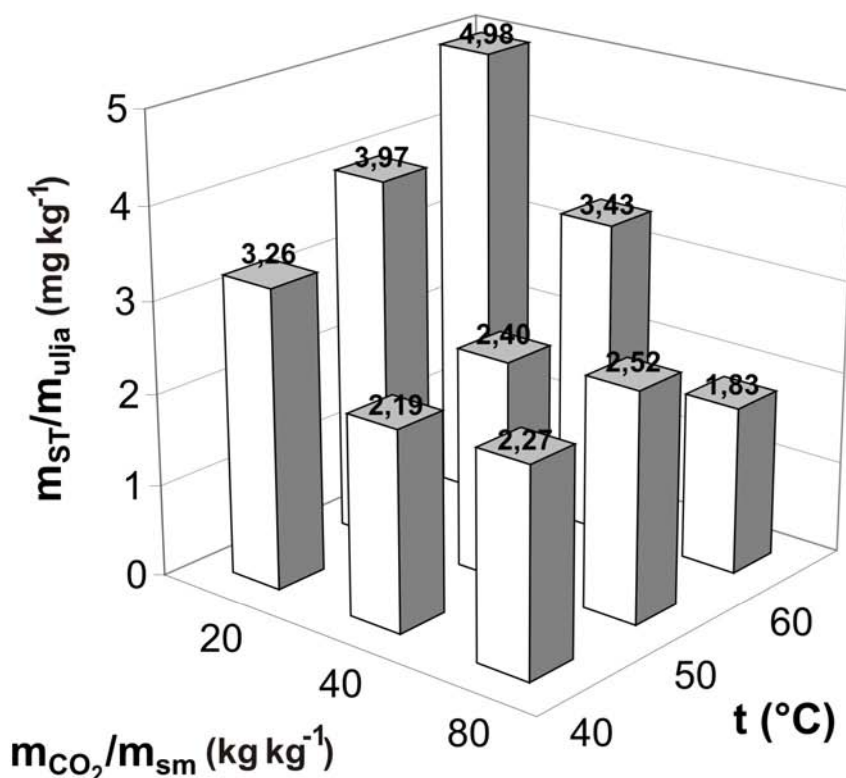
Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida, izračunate u odnosu na masu suvog materijala u ekstraktoru, na sadržaj ukupnih sterola u frakcijama ekstrakata sakupljenim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice prikazuje Slika 57. Uslovi ekstrakcije, kao i način na koji su sakupljane frakcije dati su u delu teksta u kome su izloženi rezultati ispitivanja uticaja temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju.

Sadržaj sterola u frakcijama ekstrakata je različit i kreće se u intervalu od 1,8 do 4,98 g kg<sup>-1</sup>. Frakcije koje su ekstrahovane na početku procesa, odnosno nakon utrošenih prvih oko 20 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktoru, imaju oko 1,5 puta veći sadržaj sterola



nego frakcije sakupljene u narednom intervalu vrednosti specifične potrošnje CO<sub>2</sub> (20 - 40 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> sm). U frakciji sakupljenoj u intervalu vrednosti specifične potrošnje CO<sub>2</sub> 40 - 80 kg po kg suvog materijala u ekstraktoru, na 40 i 50°C dolazi čak i do blagog porasta sadržaja sterola u odnosu na prethodno sakupljenu frakciju, što je verovatno posledica promene brzine ekstrakcije triglicerida i sterola.

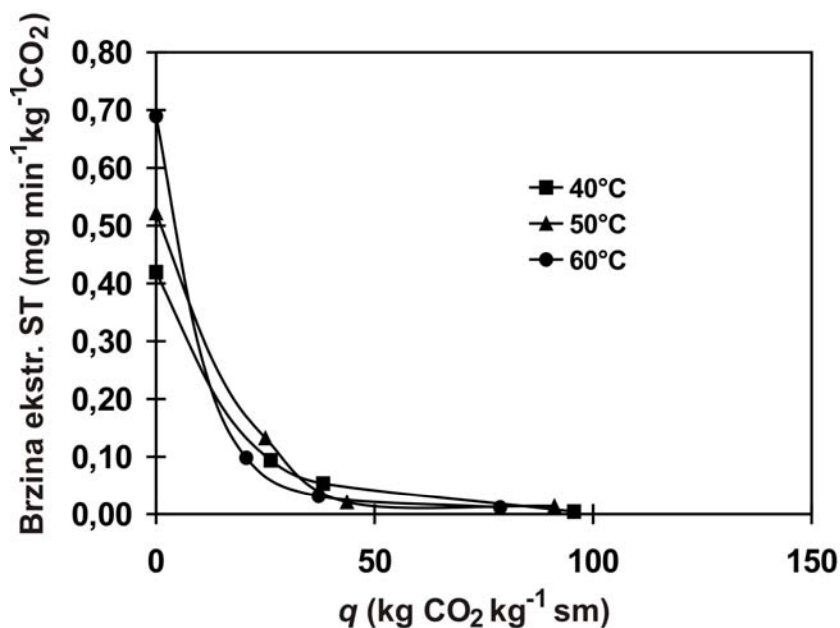
Prema literaturnim podacima, za neke sterole (npr. ergosterol vitamin – D<sub>2</sub>) uočen je prelazni pritisak između 210 i 220 bar [171], tako da bi na 300 bar, porastom temperature od 40, preko 50 do 60°C, rastvorljivost ovih sterola rasla od 3,4 do 6,3 g kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>. U literaturi se mogu naći podaci na osnovu kojih je moguće izračunati rastvorljivost stigmasterola (Δ<sup>5</sup>-sterola) u ugljendioksidu pritiska u intervalu od 91 do 304 bar, za temperature od 25-60°C [55]. Na pritisku 300 bar, u opsegu vrednosti temperatura od 40 do 60°C, ove vrednosti se kreću od 0,16 do 0,22 g kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>.



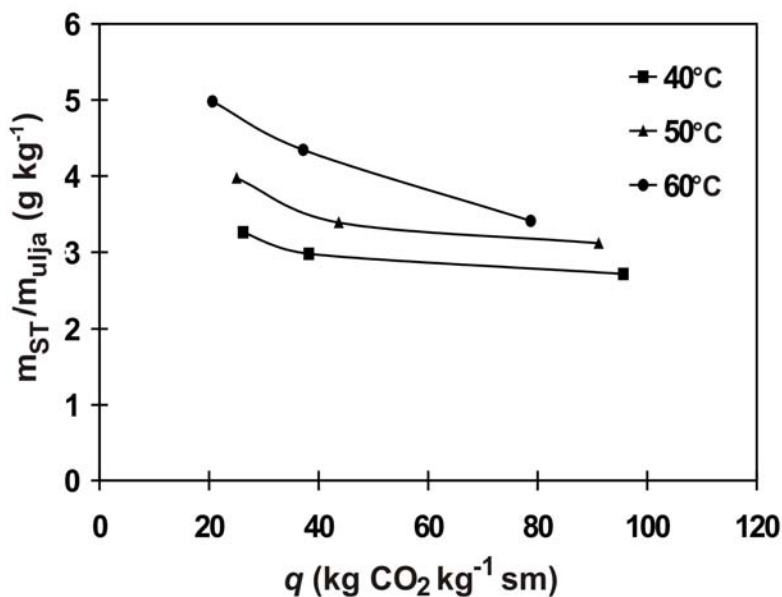
**Slika 57.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj sterola u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Pritisak ekstrakcije 300 bar, protok CO<sub>2</sub> 0,2 kg h<sup>-1</sup>, srednji prečnik čestica 0,56 mm. ST - ukupni steroli

Prema dobijenim rezultatima, na pritisku 300 bar, na početku procesa, raste sadržaj sterola u ekstrahovanom ulju pri porastu temperature od 40, preko 50 do 60°C, što je posledica činjenice da se sa porastom temperature povećava i rastvorljivost sterola u natkritičnom ugljendioksidu, odnosno da je prelazni pritisak (*engl. crossover pressure*) ispod 300 bar.

Slika 58 prikazuje krive brzine ekstrakcije sterola u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim temperaturama ekstrakcije. Dobijeni rezultati za brzinu ekstrakcije sterola za utrošenih prvih 20 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala kreću se između 0,1 i 0,2 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>, za sve ispitivane temperature.



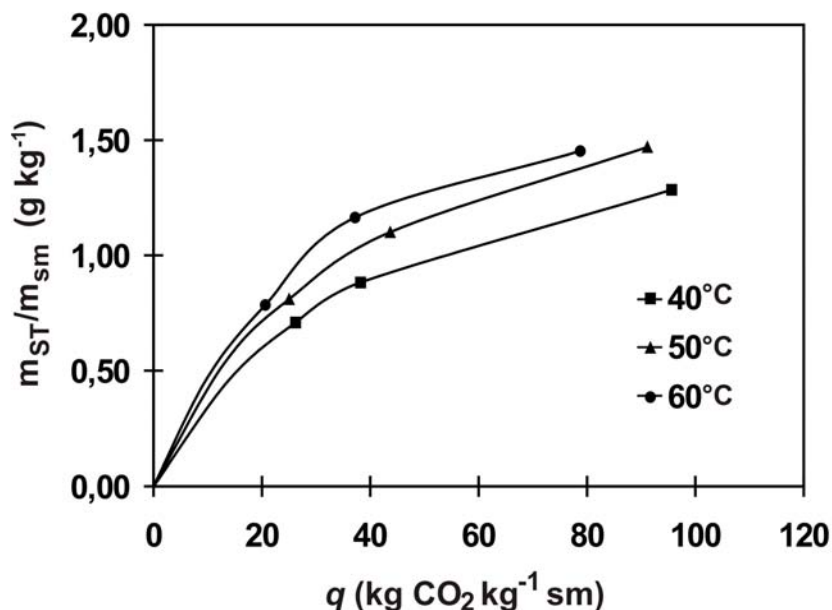
**Slika 58.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu natkritične ekstrakcije sterola iz usitnjenog semena tikve goliće. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi isti kao na Slici 41. ST - ukupni steroli.



**Slika 59.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj sterola u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve goliće. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi su dati na Slici 41. ST – ukupni steroli.

Slika 59 prikazuje promenu sadržaja ukupnih sterola (ST) u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve goliće, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C i pritisku ekstrakcije 300 bar, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup>. Za iste uslove, Slika 60 pokazuje promenu prinosa ukupnih sterola po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje

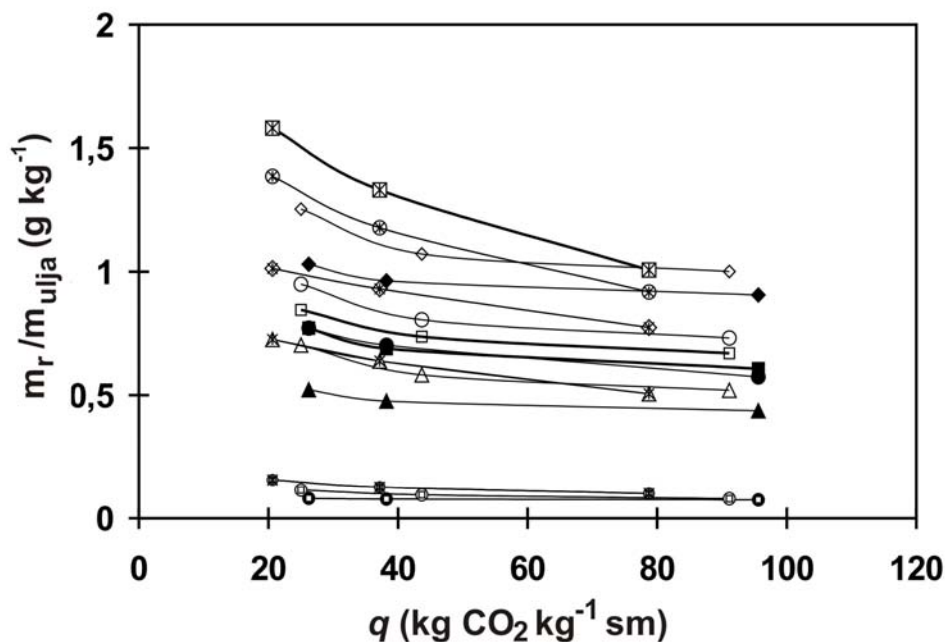
ugljendioksida. Na 40 i 50 °C, pri potrošnji CO<sub>2</sub> od 40 do 80 kg kg<sup>-1</sup> suvog materijala ne dolazi do velikog smanjenja sadržaja sterola u ekstraktima.



**Slika 60.** Ukupni prinos sterola po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C, u toku natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice. Ostali uslovi dati su na Slici 41. ST – ukupni steroli.

Slika 61 pokazuje promenu sadržaja β-sitosterola, spinasterola, Δ7-avenasterola, stigmasta-7,22,25-trienola i zbira Δ7-stigmastenola i stigmasta-7,25-dienola u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve golice, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na temperaturama 40, 50 i 60°C i pritisku ekstrakcije 300 bar, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup>.

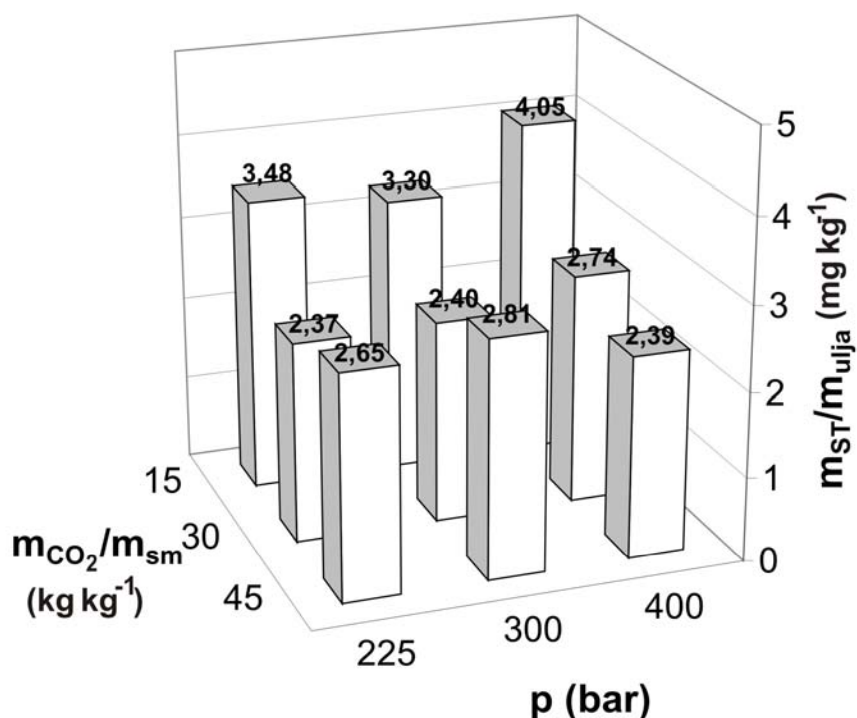
Na 40 i 50°C, nakon što je utrošeno oko 40 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala, pa sve do utrošenih 80 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala u ekstraktoru, ne dolazi do značajnog smanjenja sadržaja sterola u ulju, dok se na 60°C sadržaj sterola neprekidno smanjuje u toku procesa. Na 40 i 50°C, najveći sadržaj u ulju ima zbir dva sterola, Δ7-stigmastenola i stigmasta-7,25-dienola, ali je na 60°C u ulju veći sadržaj i stigmasta-7,22,25-trienola i spinasterola, koga ujedno ima i najviše. Pojava smanjenja sadržaja sterola u ulju na temperaturi od 60°C, u odnosu na njegov sadržaj na 40 i 50°C, primećuje se, ne samo za zbir Δ7-stigmastenola i stigmasta-7,25-dienola, već i kod Δ7-avenasterola.



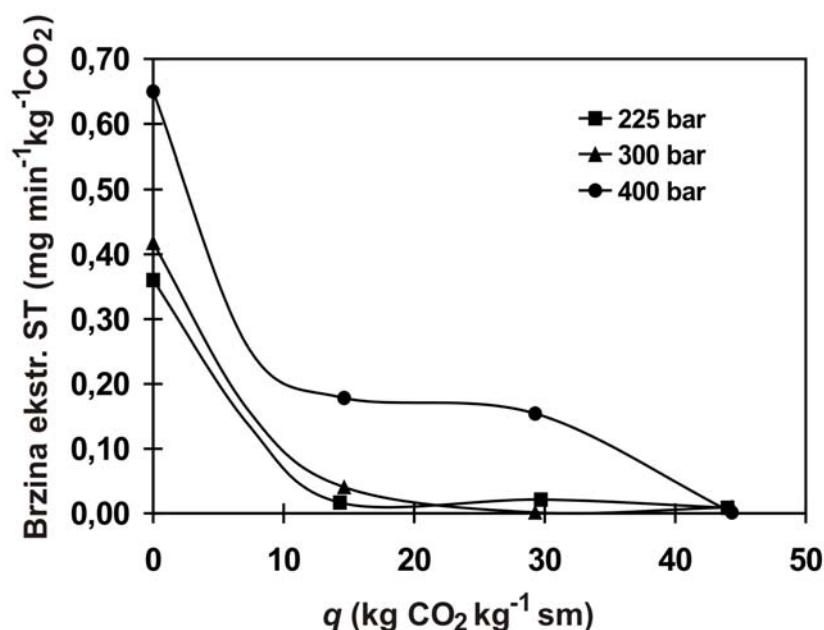
**Slika 61.** Uticaj temperature i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj pojedinih sterola u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve golice. Ispitivane temperature 40, 50 i 60°C. Ostali uslovi dati su na Slici 41. r-rastvorak. Ispunjen simbol - 40°C; prazan simbol - 50°C; simbol sa zvezdicom - 60°C; kvadrat – spinasterol; trougao –  $\Delta$ 7-avenasterol; krug - stigmasta-7,22,25-trienol; romb -  $\Delta$ 7-stigmastenol i stigmasta-7,25-dienol; krug sa ucrtanim kvadratom –  $\beta$ -sitosterol.

Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida, izračunate u odnosu na masu suvog materijala u ekstraktoru, na sadržaj sterola u frakcijama ekstrakata sakupljanim u toku sukcesivnih vremenskih intervala u procesu natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve golice prikazuje Slika 62. Uslovi ekstrakcije, kao i način na koji su sakupljane frakcije dati su u delu teksta u kome su izloženi rezultati ispitivanja uticaja pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj tokoferola u ulju. Na svim ispitivanim pritiscima, sadržaj sterola u frakcijama sakupljenim u potrošenih prvih 15 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala je najveći. Sadržaj ukupnih sterola kreće se u granicama od 3,3 do 4,05 g kg<sup>-1</sup> na pritisku 400 bar. Sa porastom vremena ekstrakcije smanjuje se u svim frakcijama na 400 bar, dok je na pritiscima 225 i 300 bar sadržaj u trećoj frakciji nešto veći nego u drugoj.

Krive brzine ekstrakcije sterola u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim pritiscima ekstrakcije prikazuje Slika 63. Brzina ekstrakcije sterola je najmanja na pritisku 225 bar (0,01 mg·kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>·min<sup>-1</sup>, u trenutku kada je utrošeno 15 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> suvog materijala, a najveća na 400 bar i iznosi oko 0,65 mg kg<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>.



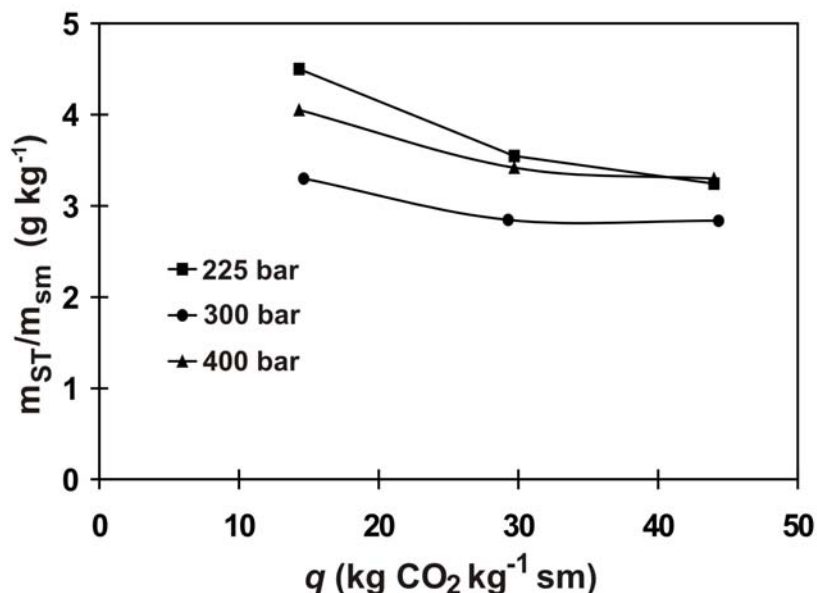
**Slika 62.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj sterola u tikvinom ulju dobijenom ekstrakcijom natkritičnim ugljendioksidom. Ispitivani pritisci su: 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 45. ST – ukupni steroli.



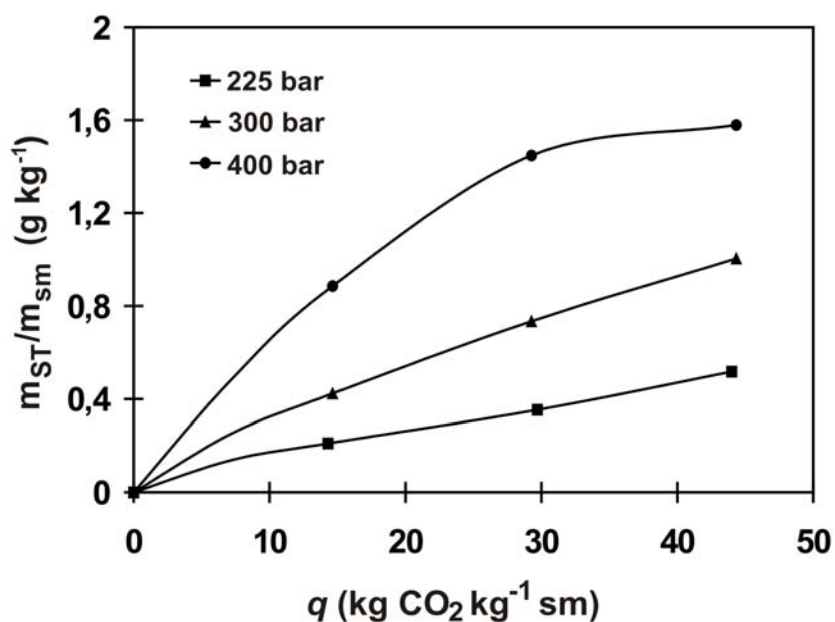
**Slika 63.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na brzinu natkritične ekstrakcije sterola iz usitnjenog semena tikve golice. Ispitivani pritisci su: 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 45. ST – ukupni steroli.

Slika 64 prikazuje promenu sadržaja sterola u ulju dobijenom iz usitnjenog semena tikve golice, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na pritiscima 225, 300 i 400 bar i temperaturi ekstrakcije 40°C, pri protoku  $CO_2$  od oko  $0,2\ kg\ h^{-1}$ . Za iste uslove, Slika 65 prikazuje promenu ukupnog prinosa sterola po

jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida. Rezultati prikazani na slikama 64 i 65, ukazuju da sadržaj sterola u ulju raste sa porastom pritiska ekstrakcije i da se na 400 bar može dobiti prinos od 1,6 g ukupnih sterola po kg suvog materijala.



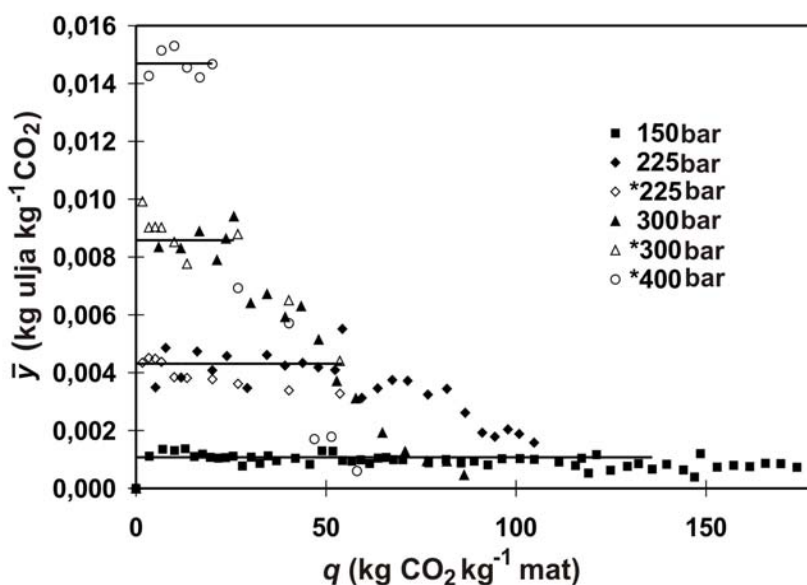
**Slika 64.** Uticaj pritiska i specifične potrošnje ugljendioksida na sadržaj sterola u ulju dobijenom natkritičnom ekstrakcijom usitnjenog semena tikve goliće. Ispitivani pritisci 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 45. ST – ukupni steroli.



**Slika 65.** Ukupni prinos sterola po jedinici mase suvog materijala u ekstraktoru u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida, na pritiscima 225, 300 i 400 bar. Ostali uslovi dati su na Slici 45. ST – ukupni steroli.

## 5.2.2. MATEMATIČKO MODELOVANJE EKSTRAKCIJE SEMENA TIKVE GOLICE NATKRITIČNIM CO<sub>2</sub>

Pri izboru odgovarajućeg matematičkog modela kojim bi se opisala ekstrakcija ulja iz semena tikve, važno je uočiti, na osnovu dobijenih eksperimentalnih podataka, kakav je oblik ekstrakcionih krivih, kojima se prikazuje zavisnost prinosa ekstrakcije od vremena ili specifične potrošnje natkritičnog ugljendioksida (Slike 32, 34-39). U saglasnosti sa rezultatima dosadašnjih ispitivanja kinetike ekstrakcije uljarica natkritičnim CO<sub>2</sub>, pri visokim koncentracijama ulja u semenu, proces prenosa mase je stacionaran, dok se pri niskim koncentracijama ulja u semenu, brzina ekstrakcije smanjuje, odnosno proces postaje nestacionaran. Vreme trajanja stacionarnog dela procesa se smanjuje sa porastom pritiska ekstrakcije od 150 do ispitivanih 400 bar.

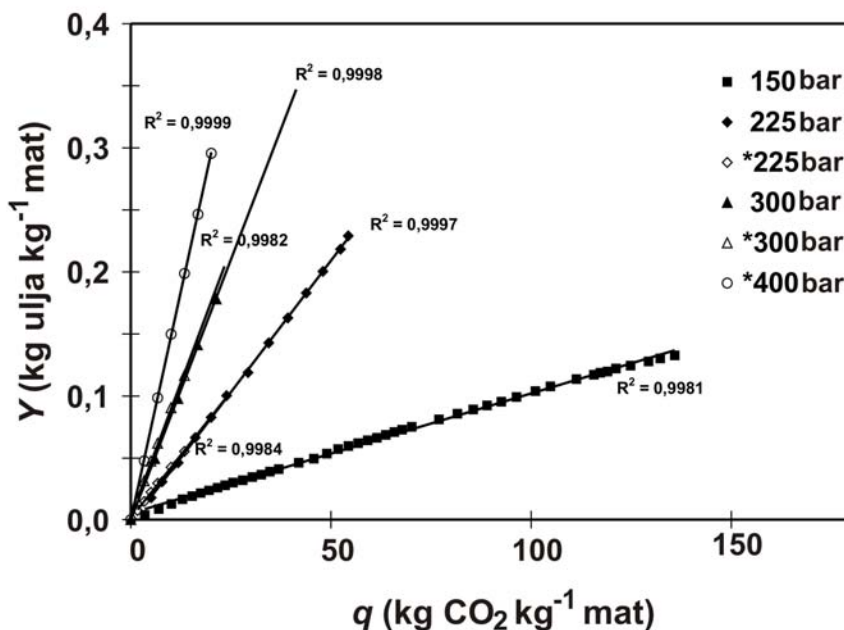


**Slika 66.** Izlazna koncentracija ulja semena tikve golice u natkritičnom ugljendioksidu u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida na različitim pritiscima.  
\* - eksperiment u većem ekstraktoru.

Na osnovu ekstrahovane količine ulja i utrošene mase CO<sub>2</sub>, u kratkim vremenskim intervalima, preračunate su vrednosti srednje koncentracije ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub>,  $\bar{y}$  za svaki interval. Ove vrednosti su uzete kao vrednosti izlazne koncentracije ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub>,  $y_i$ . Promenu koncentracije ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> na izlazu iz ekstraktora u toku procesa ekstrakcije, pri čemu je koncentracija izražena kao maseni odnos ekstrahovanog ulja i CO<sub>2</sub>,  $y_i$ , prikazuje Slika 66. I pored rasipanja rezultata, moguće je uočiti da u zavisnosti od pritiska, postoji duži početni period, na nižim pritiscima, ili kraći početni period, na višim pritiscima, u kome se izlazna koncentracija ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> može smatrati konstantnom, odnosno vrednosti izlazne koncentracije za dati pritisak, variraju oko neke prosečne vrednosti, što na Slici 66 odgovara vrednosti ordinate tačkaka na punoj liniji. Sa porastom pritiska, vrednosti izlazne koncentracije ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> rastu.

Izlazna koncentracija ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> u stacionarnom delu procesa,  $y_i$ , praktično se određuje iz nagiba početnog linearnog dela ekstrakcionih krivih prikazanih kao zavisnost prinosa ulja od specifične potrošnje CO<sub>2</sub>,  $Y=f(q)$  (Slika 67). Na Slici 67 prikazan je

samo linearni deo ekstrakcionih krivih na osnovu čijih nagiba su procenjene vrednosti izlazne koncentracije ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub>, C<sub>i</sub>, u kg m<sup>-3</sup> (Tabela 31).

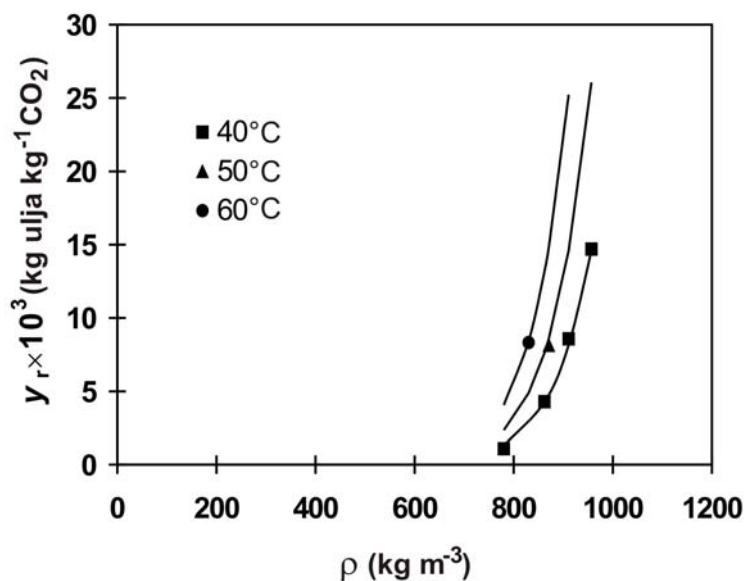


**Slika 67.** Linearni deo ekstrakcionih krivih dobijenih u procesu natkritične ekstrakcije uljane tikve golicе ugljendioksidom, na temperaturi 40° i različitim pritiscima. Ekstrakcione krive - Slika 34; izlazne koncentracije ulja - Slika 66. \* - eksperiment u većem ekstraktoru.

Rastvorljivost masnih ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> procenjuje se najčešće tako da se usvoji pretpostavka da je na početku procesa ekstrakcije CO<sub>2</sub> na izlazu iz ekstraktora zasićen uljem. Iz nagiba početnog dela ekstrakcionih krivih, odnosno zavisnosti prinosa ulja od specifične potrošnje CO<sub>2</sub>, dobija se izlazna koncentracija i samim tim rastvorljivost ulja u CO<sub>2</sub>. Međutim, radi proračuna prenosa mase preko vrednosti srednje logaritamske razlike koncentracija na međufaznoj površini i u natkritičnom fluidu, pomoću jednačina (6) - (10), potrebno je koncentraciju ulja na međufaznoj površini, C<sup>\*</sup>=c<sub>sat</sub>, proceniti na osnovu maksimalne vrednosti, ili prosečnih vrednosti tačaka čije su ordinate iznad ordinata ucrtanih linija na Slici 66. Slika 68 prikazuje ravnotežne rastvorljivosti ulja tikve golicе u natkritičnom CO<sub>2</sub>, y<sub>r</sub>, u zavisnosti od gustine CO<sub>2</sub>. Simbolima su prikazane eksperimentalno utvrđene ravnotežne rastvorljivosti, dok su punim linijama prikazane izoterme rastvorljivosti tikvinog ulja izračunate preko korelacije (65), koju je predložio Chrastil [52], sa parametrima optimizovanim prema eksperimentalnim rezultatima, tako da su: c<sub>0</sub> = -73,1, c<sub>1</sub> = 12,765 i c<sub>2</sub> = -5881.

Slaganje vrednosti rastvorljivosti tikvinog ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub> na različitim ispitivanim uslovima, kao i izračunatih vrednosti rastvorljivosti masnih ulja iz korelacija predloženih iz literature je dobro (Tabela 28).





**Slika 68.** Zavisnost ravnotežne rastvorljivosti ulja tikve golice,  $y_r$ , od gustine  $\text{CO}_2$ . Simbolima su prikazane eksperimentalno određene vrednosti rastvorljivosti:  $40^\circ\text{C}$  (■),  $50^\circ\text{C}$  (▲) i  $60^\circ\text{C}$  (●). Punim linijama su prikazane izoterme izračunate preko korelacije (65), koju je predložio Chrastil [52], sa optimizovanim parametrima:  $c_0 = -73,1$ ,  $c_1 = 12,765$ ,  $c_2 = -5881$ .

**Tabela 28.** Ravnotežne rastvorljivosti masnih ulja u natkritičnom  $\text{CO}_2$  na različitim uslovima.

| USLOVI     |              |                                 | OVAJ<br>RAD | $y_r \times 10^3$ (kg kg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> ) |  |   |   |
|------------|--------------|---------------------------------|-------------|--|--|---|---|
| $T$<br>(K) | $p$<br>(bar) | $\rho$<br>(kg m <sup>-3</sup> ) |             | Chrastil<br>[52]<br>jed. (65) <sup>1</sup>               | Chrastil<br>[52]<br>jed. (65) <sup>2</sup> | Adachi-Lu<br>[53]<br>jed. (66) <sup>3</sup> | Del Valle i Aguilera<br>[54]<br>jed. (68) |
| 313        | 150          | 780                             | 1,06        | 1,31   | 1,32                                       | 1,68  | 1,68                                      |
| 313        | 225          | 862                             | 4,3         | 4,26   | 4,13                                       | 4,39  | 4,39                                      |
| 313        | 300          | 911                             | 7,99        | 8,16   | 7,99                                       | 7,62  | 7,62                                      |
| 313        | 400          | 957                             | 14,7        | 14,57  | 14,0                                       | 12,0  | 12,0                                      |
| 323        | 300          | 871                             | 8,14        | 8,61   | 8,18                                       | 7,96  | 8,20                                      |
| 333        | 300          | 830                             | 8,33        | 8,44   | 7,55                                       | 7,38  | 8,39                                      |

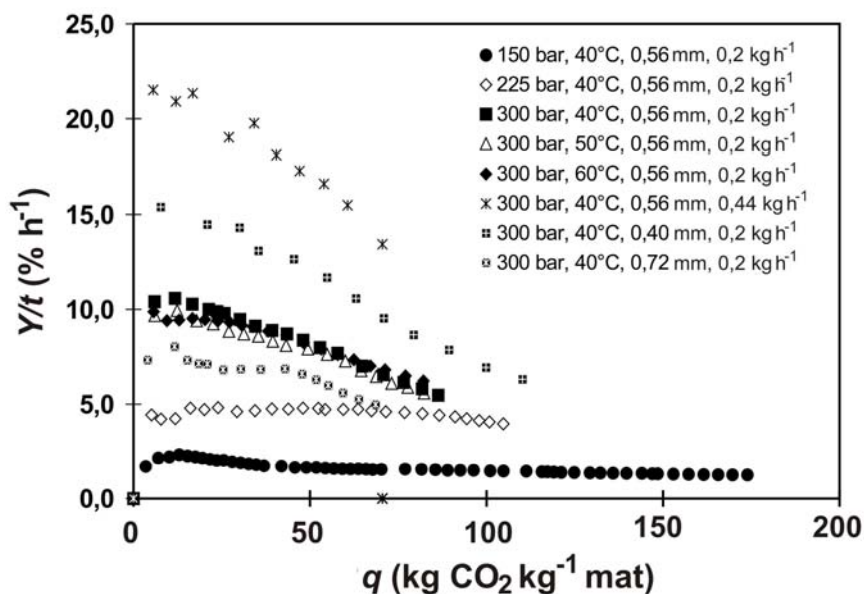
<sup>1</sup>  $c_0 = -73,1$ ,  $c_1 = 12,765$ ,  $c_2 = -5881$ . optimizovani parametri u ovom radu

<sup>2</sup>  $c_0 = -67,07$ ,  $c_1 = 12,6$ ,  $c_2 = -5270$  [57].

<sup>3</sup>  $c_{10} = 1,4$ ,  $c_{11} = 0,0048$ ,  $c_{12} = -0,000002$ ,  $c_0 = -10,14$ ,  $c_2 = -5000$  [57].

Količnik ukupnog prinosa sa vremenom ekstrakcije,  $Y/t$ , mogao bi se uslovno shvatiti kao brzina ekstrakcije. Na ovaj način definisana brzina ekstrakcije ulja tikve golice u zavisnosti od specifične potrošnje  $\text{CO}_2$  za sve ispitivane uslove ekstrakcije u manjem ekstraktoru prikazana je na Slici 69. Na početku procesa, brzina ekstrakcije ulja raste sa porastom pritiska od 150, preko 225 do 300 bar, tako da su maksimalne brzine ekstrakcije, koje se postižu pri utrošenih oko 10 kg  $\text{CO}_2$  po kg sirovog materijala, za ove pritiske: 2,3, 4,8 i 10,6 g ulja na 100 g materijala po 1 h. Brzina ekstrakcije na pritisku 300 bar se nije značajnije menjala pri promeni temperature ekstrakcije sa 40, preko 50 do  $60^\circ\text{C}$ . Iako je na početku procesa ekstrakcije, pri utrošenih oko 10 kg  $\text{CO}_2$  po kg sirovog materijala, brzina ekstrakcije ulja nešto veća na  $40^\circ\text{C}$  (10,6 g/100g/h), nego na  $50^\circ\text{C}$  (9,9 g/100g/h) i na  $60^\circ\text{C}$

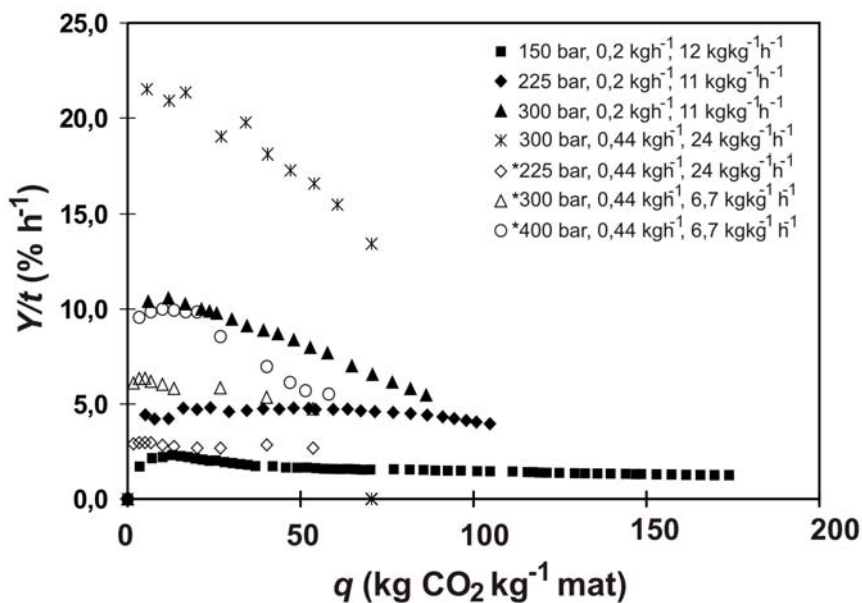
(9,4 g/100g/h), ove krive se u kasnijim fazama procesa presecaju, a sve vrednosti pri istoj potrošnji CO<sub>2</sub> su veoma slične. Na 300 bar i 40°C ekstrakcija ulja se može ubrzati ukoliko se usitne čestice. Za smanjenje srednjeg prečnika čestica usitnjenog semena tikve golice od vrednosti 0,56 mm do oko 0,40 mm, maksimalna brzina ekstrakcije, pri približno istoj specifičnoj potrošnji CO<sub>2</sub> povećana je približno 45%, sa već pomenutih 10,6 na 15,4 g/100g/h, dok je sa povećanjem prečnika do vrednosti od oko 0,72 mm, smanjena brzina ekstrakcije ulja za 24,5%, odnosno sa 10,6 na 8,0 g/100g/h. Za ekstrakciju na 300 bar i 40°C, povećanje protoka CO<sub>2</sub> od vrednosti oko 0,2 na 0,44 kg h<sup>-1</sup>, povećalo je brzinu ekstrakcije ulja 2 puta, na 22 g ulja/100 g materijala/h.



**Slika 69.** Brzina ekstrakcije ulja semena tikve golice natkritičnim ugljendioksidom u zavisnosti od specifične potrošnje ugljendioksida za sve ispitivane uslove ekstrakcije u manjem ekstraktoru.

Na Slici 70 upoređene su vrednosti brzine ekstrakcije ulja semena tikve golice natkritičnim CO<sub>2</sub> u zavisnosti od specifične potrošnje CO<sub>2</sub> u dva različita ekstraktora. Iako se protok CO<sub>2</sub> pokazao kao bitan faktor koji utiče na brzinu ekstrakcije ulja iz semena tikve golice u manjem ekstraktoru, kada je eksperiment urađen na 300 bar i 40°C u većem ekstraktoru, pri većem protoku CO<sub>2</sub> (0,44 kg h<sup>-1</sup>) od protoka koji je korišćen u manjem ekstraktoru (oko 0,2 kg h<sup>-1</sup>), dobijene su za 40% niže vrednosti maksimalne brzine ekstrakcije ulja (6,4 g/100 g/h) i nešto više od tri puta (3,4) manje vrednosti brzine ekstrakcije nego kada je isti protok (0,44 kg h<sup>-1</sup>) korišćen u manjem ekstraktoru. Međutim, ukoliko se za ova tri slučaja uporede vrednosti protoka CO<sub>2</sub> po jedinici mase materijala smeštenog u ekstraktor, odnosno specifičnog protoka CO<sub>2</sub>,  $\dot{q}$ , dolazi se do zaključka da su vrednosti u malom ekstraktoru bile oko 11 i 24 kg/kg/h, redom za protoke 0,22 i 0,44 kg h<sup>-1</sup>, a za eksperiment u velikom ekstraktoru 6,7 kg/kg/h za protok oko 0,44 kg h<sup>-1</sup>. Znači da je specifični protok CO<sub>2</sub> u većem ekstraktoru, 6,7 kg/kg/h, bio za 39% manji u odnosu na vrednost 11 kg/kg/h specifičnog protoka u eksperimentu u malom ekstraktoru sa protokom CO<sub>2</sub> 0,22 kg h<sup>-1</sup> i 3,6 puta manji od vrednosti 24 kg/kg/h specifičnog protoka CO<sub>2</sub> u eksperimentu sa većim protokom u manjem ekstraktoru (Tabele 29 i 30).

Za uslove ekstrakcije 225 bar i temperaturu 40°C, rezultati takođe pokazuju da je vrednost odnosa specifičnih protoka za dva eksperimenta približno jednaka vrednosti odnosa maksimalnih vrednosti  $Y/t$  i iznosi 1,6.



**Slika 70.** Brzina ekstrakcije ulja semena tikve golice natkritičnim ugljendioksidom u zavisnosti od specifične potrošnje ugljen-dioksida. Poređenje ekstrakcija na različitim pritiscima u manjem i većem ekstraktoru.

**Tabela 29.** Tabelarni prikaz maksimalnih vrednosti  $Y/t$  (% h<sup>-1</sup>) u zavisnosti od veličine ekstraktora i protoka CO<sub>2</sub>, za ekstakcije na 300 bar i 40°C

| Zapremina ekstraktora<br>$V_E$ (cm <sup>3</sup> ) | Protok CO <sub>2</sub><br>$\dot{m}$ (kg/h) | Specifični protok CO <sub>2</sub><br>$\dot{q}$ (kg/kg/h) | Maks.vrednosti<br>$Y/t$ (% h <sup>-1</sup> ) |
|---|--|--|--|
| 60  | 0,22                                       | 11   | 10,6   |
| 60  | 0,44                                       | 24   | 22   |
| 200   | 0,44                                       | 6,7  | 6,4  |

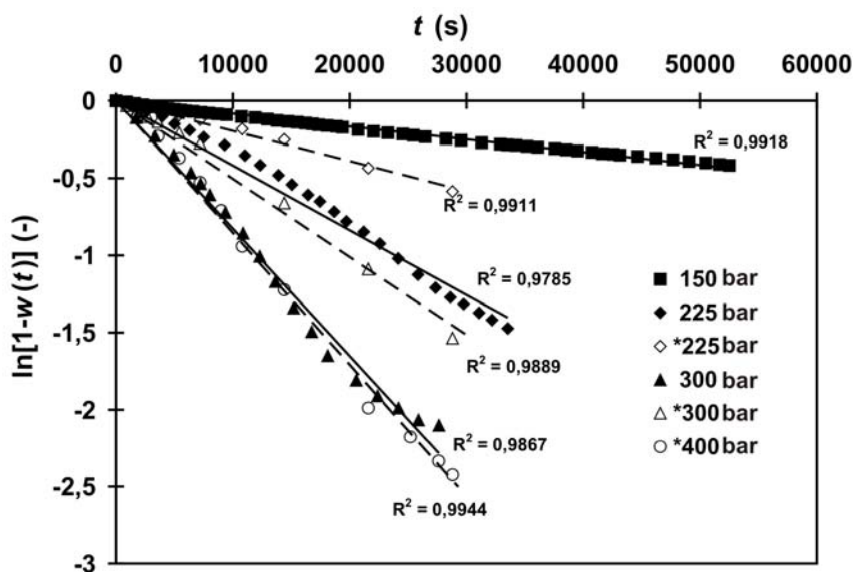
**Tabela 30.** Tabelarni prikaz maksimalnih vrednosti  $Y/t$  (% h<sup>-1</sup>) u zavisnosti od veličine ekstraktora i protoka CO<sub>2</sub>, za ekstakcije na 225 bar i 40°C

| Zapremina ekstraktora<br>$V_E$ (cm <sup>3</sup> ) | Protok CO <sub>2</sub><br>$\dot{m}$ (kg/h) | Specifični protok CO <sub>2</sub><br>$\dot{q}$ (kg/kg/h) | Maks.vrednosti<br>$Y/t$ (% h <sup>-1</sup> ) |
|---|--|--|--|
| 60  | 0,22                                       | 11   | 4,8  |
| 200   | 0,44                                       | 6,7  | 3,0  |

Jedan od najvažnijih faktora koji utiču na matematičko modelovanje je dobra procena polaznog sadržaja ulja u materijalu. Postoje dva pristupa, da se za vrednost polaznog sadržaja ulja u materijalu uzme maksimalan prinost ekstrakta dobijen ekstrakcijom usitnjenog materijala organskim rastvaračem ili da se vrednost proceni kao vrednost ordinate tačaka

asimptote koju kriva dostiže pri beskonačnom vremenu ekstrakcije. Neki autori koriste različite asimptotske prinose za čestice različitog prečnika [74], dok drugi uzimaju asimptitski prinos dobijen natkritičnom ekstrakcijom najsiťnije frakcije čestica [80]. U ovom radu, za potrebe modelovanja vrednosti za polazni sadržaj ulja u dva ispitivana materijala uzete su na osnovu maksimalne količine ulja ekstrahovne iz najsiťnije frakcije čestica *n*-heksanom (47,9%), za seme tikve golice poreklom iz Slovenije i petroletrom (48,5%), za seme tikve golice poreklom iz Vojvodine.

Grafička zavisnost stepena ekstrakcije,  $w(t)$ , definisanog jed. (2), odnosno funkcije  $\ln[1-w(t)]$  od vremena ekstrakcije,  $t$ , za ekstrakcione krive dobijene na različitim pritiscima, prikazana je na Slici 71.



**Slika 71.** Izmerene vrednosti stepena ekstrakcije u obliku  $\ln[1-w(t)]$  u zavisnosti od vremena ekstrakcije na različitim pritiscima. \* - eksperiment u većem ekstraktoru.

Funkcija tipa  $w(t)=1-\exp(const t)$ , ne može se jednako uspešno iskoristiti za modelovanje ekstrakcije ulja semena tikve golice u celokupnom vremenu ekstrakcije na svim pritiscima, ali se mogu uočiti određene oblasti u kojima krive na Slici 71 imaju približno konstantan gradijent. Zbog toga je testirana primenljivost i matematičkih modela koji se baziraju na ovakvom tipu eksponencijalne veze. Model karakterističnog vremena (MKV), na koga se odnosi set jednačina (91)-(94), upravo predviđa ovaj jednostavni eksponencijalni oblik funkcije.

Pored ovog modela, na eksperimentalnim rezultatima proverena su još dva modela tipa jedne sfere, koji se mogu primeniti na procese kod kojih brzina unutrašnje difuzije kontroliše proces. Dva modela tipa jedne sfere su: složeniji oblik modela jedne sfere, MJS-1, jednačine (88) i (89), koji uključuje otpor prenosu mase u fazi fluida i prostiji oblik modela, koji izuzima ovaj fenomen, MJS-2, a dat jednačinom (90). S obzirom da MJS-1 može da se primeni i na način da se koeficijent prenosu mase u filmu fluida,  $k_f$ , odredi kao nepoznati parametar na osnovu eksperimentalnih rezultata, proverena je i efikasnost matematičkog modelovanja modelom jedne sfere sa dva prilagodljiva parametra MJS-1 (2 par).

Pošto se proces ekstrakcije ulja tikve golice može podeliti na stacionaran i nestacionaran deo, za modelovanje se može koristiti i kombinovani model koji su predložili

Hong i sar. [39]. U ovom modelu, period u kome brzinu procesa kontroliše prenos mase kroz film natkritičnog fluida oko čestice, definisan je koeficijentom prelaza mase u filmu,  $k_f$  ( $\text{m s}^{-1}$ ). Period u kome brzina ekstrakcije opada sa vremenom kontrolisan je difuzijom ulja unutar čvrste faze semena tikve. Prema autorima ovog modela [39] ova dva tipa proračuna prenosa mase se izvode nezavisno jedan od drugoga, a njihovi rezultati se kombinuju na osnovu uočenih eksperimentalnih podataka. Vremenski trenutak prelaza iz jednog u drugi period,  $t_p$ , i masa dobijenog ekstrakta u tom trenutku prelaza,  $m_p$ , definišu se na osnovu eksperimentalnih podataka.

Takođe, proverena je i uspešnost fitovanja eksperimentalnih podataka proširenim modelom klipnog toka, koji je razvila Sovová [79]. Model ima tri parametra koji se optimizuju  $x_k$ ,  $F$  i  $S$ , i kao rezultat modelovanja dobijaju su koeficijenti prenosa mase u čvrstoj i fluidnoj fazi.

### 5.2.2.1. Određivanje $k_f$

Za vrednosti gustine i koeficijenta dinamičke viskoznosti natkritične faze uzete su odgovarajuće vrednosti za  $\text{CO}_2$ . Gustina  $\text{CO}_2$  je procenjena na osnovu Dohrn-Prausnic jednačine stanja, softverskim paketom PE2000 [223], a koeficijent dinamičke viskoznosti na osnovu Jossi, Stiel i Thodos metoda, jednačine (23), (24), (28) i (29) [25]. Za binarnu difuzivnost tikvinog ulja u ugljendioksidu uzete su vrednosti procenjene za trigliceride oleinske i linolne kiseline, odnosno gliceroltrioleat i gliceroltrilinolat, a za proračun je korišćen metod koju su predložili Catchpole i King [32], jednačine (30)-(32). Koeficijent samodifuzije ugljendioksida je izračunat iz jednačine (34), a kritična molarna zapremina rastvorka metodom koju je predložio Joback [25], prema jednačini (36). Vrednosti koeficijenta prelaza mase u fazi natkritičnog ugljendioksida procenjene su na osnovu vrednosti Šervudovog broja, iz jednačine (46), koja je procenjena iz korelacija (48)-(53), koje su predložili, redom: Wakao i Kagaei [43], Tan i sar. [44], King i Catchpole [45], Puiggené i sar. [46], Hong i sar. [39] i King i sar. [40]. Karakteristična dimenzija u izrazu (46) je prečnik čestice.

U Tabeli 31 dati su uslovi na kojima je izvedeno osam eksperimenata natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve goliće, u ekstraktoru zapremine  $60 \text{ cm}^3$ , na različitim pritiscima, temperaturama, pri različitim protocima rastvarača i veličinama čestica materijala. Takođe, Tabela 31 daje vrednosti koeficijenta prenosa mase tikvinog ulja kroz film natkritičnog  $\text{CO}_2$ ,  $k_f$ , oko usitnjenog semena tikve goliće, preračunate iz kriterijalnih jednačina i ispitivanih modela (MJS-1 (2 par), Hong i sar [39] i Sovová [79]), kao i vrednosti odgovarajućih bezdimenzionih grupa.

Vrednosti Re broja u eksperimentima kreću se u vrlo uskom opsegu od 0,7 do 2,4, a vrednosti Sc broja od 1,7 do 9,8. Vrednosti koeficijenta prelaza mase izračunate primenom kriterijalnih jednačina (48)-(53) značajno se razlikuju i kreću se u opsegu od  $0,7 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , za vrednosti Sh procenjene iz jednačine (52), do  $126 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , za vrednosti Sh procenjene iz jednačine (48). Vrednosti Re i Sc broja u prikazanim eksperimentima zadovoljavaju samo uslove potrebne za primenu kriterijalnih jednačina (50), (52) i (53).

**Tabela 31.** Rezultati modelovanja ekstrakcije semena tikve golice u ekstraktoru zapremine 60 cm<sup>3</sup>. Vrednosti koeficijenta prenosa mase tikvinog ulja kroz film natkritičnog CO<sub>2</sub>,  $k_f$ , oko usitnjenog semena tikve golice, procenjene preko modela MJS-1 (2 par), modela koji predlaže Hong i sar. [39] i Sovová [79], uz vrednosti odgovarajućih veličina potrebnih za proračun  $k_f$ , i vrednosti bezdimenzionih brojeva, pri čemu je Sh broj procenjen na osnovu korelacija (48-53) preuzetih iz literature.  $A_E=2,9865 \times 10^{-4}$  m<sup>2</sup>,  $V_E=6 \times 10^{-5}$  m<sup>3</sup>,  $L_E=0,195$  m.  $Y_\infty=0,479$

| <i>Eksperiment</i>                                     | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> | <b>8</b> |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>p</i> (bar)   | 150      | 225      | 300      | 300      | 300      | 300      | 300      | 300      |
| <i>T</i> (K)   | 313      | 313      | 313      | 323      | 333      | 313      | 313      | 313      |
| $\rho$ (kg m <sup>-3</sup> )                           | 780      | 862      | 911      | 871      | 830      | 911      | 911      | 911      |
| $\mu \times 10^5$ (Pa s)                               | 6,879    | 8,394    | 9,513    | 8,603    | 7,790    | 9,513    | 9,513    | 9,513    |
| $\dot{V}$ (dm <sup>3</sup> h <sup>-1</sup> )           | 0,31     | 0,28     | 0,24     | 0,22     | 0,25     | 0,48     | 0,21     | 0,20     |
| $\dot{m}$ (kg h <sup>-1</sup> )                        | 0,24     | 0,24     | 0,22     | 0,19     | 0,21     | 0,44     | 0,19     | 0,18     |
| $U \times 10^4$ (m s <sup>-1</sup> )                   | 2,9      | 2,6      | 2,2      | 2,0      | 2,4      | 4,5      | 1,9      | 1,8      |
| $m_{mat}$ (kg)   | 0,020    | 0,021    | 0,020    | 0,018    | 0,017    | 0,018    | 0,012    | 0,02     |
| $d_p \times 10^3$ (m)                                  | 0,56     | 0,56     | 0,56     | 0,56     | 0,56     | 0,56     | 0,40     | 0,72     |
| $\rho_s$ (kg m <sup>-3</sup> )                         | 1170     | 1170     | 1170     | 1170     | 1170     | 1170     | 1200     | 1150     |
| $\rho_{priv}$ (kg m <sup>-3</sup> )                    | 615,0    | 615,0    | 615,0    | 615,0    | 615,0    | 615,0    | 810,0    | 590,0    |
| $\rho_{sloj}$ (kg m <sup>-3</sup> )                    | 333      | 349      | 333      | 294      | 290      | 306      | 203      | 333      |
| $\varepsilon$  | 0,46     | 0,43     | 0,46     | 0,52     | 0,53     | 0,50     | 0,75     | 0,44     |
| $\varepsilon_p$  | 0,47     | 0,47     | 0,47     | 0,47     | 0,47     | 0,47     | 0,33     | 0,49     |
| $C_i$ (kg m <sup>-3</sup> )                            | 0,834    | 3,714    | 7,551    | 7,087    | 6,915    | 7,005    | 7,041    | 0,008    |
| $c_{sat}=C^*$ (kg m <sup>-3</sup> )                    | 0,833    | 3,653    | 7,449    | 6,961    | 6,801    | 6,733    | 6,993    | 0,008    |
| $D_{12} \times 10^8$ (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) | 5,13     | 1,20     | 1,07     | 1,21     | 1,37     | 1,07     | 1,07     | 1,07     |
| Re   | 1,8      | 1,5      | 1,2      | 1,2      | 1,4      | 2,4      | 0,7      | 1,3      |
| Sc   | 1,718    | 8,122    | 9,801    | 8,163    | 6,827    | 9,801    | 9,801    | 9,801    |
| <b>Sh</b>  |          |          |          |          |          |          |          |          |
| jed. (48)  | 4,88     | 4,82     | 4,65     | 4,42     | 4,57     | 6,01     | 3,97     | 4,70     |
| jed. (49)  | 1,15     | 1,07     | 0,96     | 0,87     | 0,96     | 1,70     | 0,64     | 0,98     |
| jed. (50)  | 2,24     | 2,16     | 2,00     | 1,82     | 1,96     | 3,17     | 1,44     | 2,05     |
| jed. (51)  | 0,61     | 0,57     | 0,52     | 0,47     | 0,52     | 0,90     | 0,35     | 0,53     |
| jed. (52)  | 0,05     | 0,05     | 0,05     | 0,04     | 0,04     | 0,07     | 0,03     | 0,05     |
| jed. (53)  | 0,23     | 0,35     | 0,34     | 0,31     | 0,32     | 0,48     | 0,23     | 0,35     |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )                 |          |          |          |          |          |          |          |          |
| jed. (48)  | 126,0    | 102,3    | 88       | 95       | 111      | 113      | 106      | 70       |
| jed. (49)  | 29,6     | 22,7     | 18       | 19       | 23       | 32       | 17       | 15       |
| jed. (50)  | 57,8     | 45,9     | 38       | 39       | 48       | 60       | 38       | 30       |
| jed. (51)  | 15,7     | 12,2     | 10       | 10       | 13       | 17       | 9        | 8        |
| jed. (52)  | 1,2      | 1,0      | 0,87     | 0,91     | 1,08     | 1,23     | 0,85     | 0,71     |
| jed. (53)  | 21,0     | 7,4      | 6,3      | 6,6      | 7,8      | 9,0      | 6,2      | 5,2      |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )                 |          |          |          |          |          |          |          |          |
| MJS-1 (2 par)  | 0,001    | 0,0041   | 0,0086   | 0,0093   | 0,0069   | 0,020    | 0,0090   | 0,0087   |
| Hong i sar. [39]                                       | 1,84     | 0,86     | 0,85     | 0,80     | 0,89     | 1,45     | 1,28     | 1,03     |
| Sovová [79]  | 931,2    | 459,6    | 324,0    | 366,4    | 454,0    | 582,6    | 642,7    | 322,8    |

Optimizovane vrednosti  $k_f$ , dobijene minimizovanjem sume kvadrata razlike izmerenih prinosa i vrednosti izračunatih preko modela MJS-1 (2 par), za tri reda veličine su manje od vrednosti procenjenih iz jednačine (52) koja od svih ispitivanih korelacija daje najniže vrednosti  $k_f$ . Takođe, ove vrednosti pokazuju suprotan trend u odnosu na očekivani, odnosno sa porastom pritiska rastu i vrednosti  $k_f$ . Esquivel i sar. [100] objasnili su niže uočene vrednosti koeficijenta  $k_f$ , koje se dobijaju modelom MJS-1 (2 par) kao posledicu postojanja fenomena adsorpcije rastvorka na porama čestica. Što je veći odnos koncentracije adsorbovanog rastvorka na površini pora i koncentracije rastvorka u porama, manji je koeficijent prenosa mase u natkritičnom fluidu. Pošto vrednost odnosa koncentracije adsorbovanog rastvorka na površini pora i koncentracije rastvorka u porama opada sa porastom pritiska, uočeni koeficijent  $k_f$  pri tome raste [100]. Izbor početne vrednosti rastvorka u materijalu nije imao veliki uticaj na vrednosti  $k_f$  izračunate primenom modela MJS-1 (2 par).

Vrednosti  $k_f$  procenjene iz modela Sovová [79], jednačine (96)-(101), osamnaest puta su veće od vrednosti procenjenih korelacijom (50) i iznose za temperaturu 40°C i pritiske 150, 225 i 300 bar, redom  $9,3 \times 10^{-4}$ ,  $4,6 \times 10^{-4}$ , i  $3,2 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$ . Za ekstrakciju uljane repice na 205 bar i 51,5°C Brunner [2] je dobio vrednosti  $k_f$   $4 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$ , a za 350 bar i 42,8°C  $3,4 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$ . Vrednosti koje su dobijene u ovom radu odgovaraju po redu veličine navedenim vrednostima. Za početne koncentracije ulja u materijalu uzeta je vrednost maksimalno ostvarenog prinosa na 300 bar  $Y_\infty=0,479$ , a  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalne vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub>, ili prosečnih vrednosti tačaka čije su ordinate iznad ordinata ucrtanih linija na Slici 66, kako je to prethodno objašnjeno. Sovová [75] nagoveštava da procenjena vrednost  $k_f a_0$  nema fizičko značaje kada je ekstrakcija takva da na početku procesa ima uspostavljenu ravnotežu  $y_0=y_r$ . Ovaj model ne treba koristiti za procenu  $k_f a_0$  u slučaju ravnotežnih ekstrakcionih krivih, nego samo kada je nagib ekstrakcione krive manji od onog koji odgovara ravnoteži.

Vrednosti  $k_f$  procenjene iz modela koji predlažu Hong i sar. [39], na osnovu jednačina (6)-(10), istog su reda veličine kao i vrednosti koje se mogu proceniti iz korelacije koju predlažu Hong i sar., i imaju vrednosti od 0,8 do  $1,84 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ , opadaju sa porastom pritiska i sa povećanjem prečnika čestica, a rastu sa porastom temperature i porastom protoka.

### 5.2.2.2. Određivanje $D_e$

Tabeli 32, za ovih 8 eksperimenata date su vrednosti koeficijenata efektivne difuzije kojima se postiže najbolje slaganje ekstrakcionih krivih izračunatih pomoću modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2, MKV i Hong i sar. [39], sa eksperimentalnim podacima.

**Tabela 32.** Rezultati modelovanja ekstrakcije semena tikve na 300 bar. Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije u čvrstoj fazi,  $D_e$ , procenjene preko modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2, MKV i modela koji su predložili Hong i sar. [39] Vrednosti odgovarajućih veličina koje se odnose na uslove eksperimenta isti su kao i u Tabeli 31.

| MODEL            | $D_e \times 10^{13} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$ |      |      |      |      |      |       |      |
|------------------|--|------|------|------|------|------|-------|------|
| eksperiment      | 1  | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7     | 8    |
| MJS-1            | 0,2  | 1,5  | 3,5  | 3,5  | 3,3  | 6,2  | 3,4   | 4,2  |
| MJS-1 (2 par)    | 2,7  | 56,8 | 29,5 | 28,6 | 17,4 | 37,3 | 158,7 | 32,6 |
| MJS-2            | 0,2  | 1,4  | 3,4  | 3,4  | 2,4  | 6,8  | 3,3   | 4,0  |
| MKV              | 0,5  | 2,1  | 4,2  | 4,1  | 4,1  | 8,8  | 3,5   | 5,2  |
| Hong i sar. [39] | 0,1  | 2,3  | 4,7  | 4,8  | 4,9  | 7,6  | 3,7   | 5,6  |

Prilagođene vrednosti  $D_e$  su tri do četiri reda veličine manje od binarne difuzivnosti za sistem ulje - CO<sub>2</sub>. Izuzev modela MJS-1 (2 par) koji daje za jedan red veličine veće vrednosti, za ekstrakciju čestica srednjeg prečnika 0,56 mm na 40°C i 300 bar, pri prividnoj brzini CO<sub>2</sub>  $2,2 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$  dobijene su pomoću ostala četiri modela približno iste vrednosti  $D_e$ , a procenjena srednja vrednost, sa verovatnoćom od 95%, nalazi se u intervalu od 3,02 do  $4,91 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Za veće čestice, veće pritiske i veće protoke dobijaju se veće vrednosti koeficijenta efektivne difuzije. Esquivel i sar. [100] su modelovali natkritičnu ekstrakciju koštica masline modelima jedne sfere MJS-1 i MJS-2 i, takođe, zaključili da oba modela daju gotovo identične procene vrednosti  $D_e$ . Na pritisku 150 bar, temperaturi 40°C i za prividnu brzinu CO<sub>2</sub>  $1,8 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$ , vrednost  $D_e$  je iznosila  $3,5 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , a za brzinu  $5,5 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$   $11,6 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Pri većim prividnim brzinama natkritičnog fluida,  $D_e$  vrednosti su značajno rasle sa porastom pritiska od  $6,4 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  za 100 bar do  $24,6 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  za 180 bar. Esquivel i sar. [100] objašnjavaju uticaj pritiska na efektivni koeficijent difuzije time da je deo ulja adsorbovan na čvrstoj fazi. Pri porastu pritiska smanjiće se odnos koncentracija adsorbovanog rastvorka i rastvorka u natkritičnom fluidu unutar pora čestice, a to će dovesti do porasta vrednosti efektivne difuzije. Uticaj protoka na vrednost  $D_e$  upućuje da unutrašnja difuzija nije jedini mehanizam koji utiče na brzinu prenosa mase.

### 5.2.2.3. Model koji je predložila Sovová

Rezultati modelovanja natkritične ekstrakcije usitnjenog semena uljane tikve golice za uslove osam eksperimenata datih u Tabeli 31, modelom koji je predložila Sovová [79], prikazani su u Tabeli 33.

**Tabela 33.** Rezultati modelovanja ekstrakcija semena tikve golice u manjem ekstraktoru  $A_E = 2,9865 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,195 \text{ m}$ . Model Sovová [79], jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvaren prinos na 300 bar  $Y_\infty = 0,479$ .  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalne vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub>, ili prosečnih vrednosti tačaka čije su ordinate iznad ordinata ucrtanih linija na Slici 66. \*\* -odnosi se na celokupnu zapreminu čestice.

| <i>Eksperiment</i>                                  | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $x_k$ (-)   | 0,821 | 0,481 | 0,344 | 0,473 | 0,617 | 0,364 | 0,282 | 0,239 |
| $F$ (s <sup>-1</sup> )                              | 12,2  | 6,36  | 4,96  | 6,08  | 7,29  | 9,72  | 29,24 | 3,77  |
| $S \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )                  | 2,04  | 10,1  | 13,9  | 18,8  | 19,8  | 14,1  | 10,8  | 3,90  |
| $Z \times 10^{-3}$ (-)                              | 1,895 | 1,06  | 0,828 | 1,056 | 1,129 | 0,776 | 3,486 | 0,792 |
| $W$ (-)   | 0,317 | 1,682 | 2,311 | 3,26  | 3,072 | 1,126 | 1,287 | 0,819 |
| $q_m$   | 7,66  | 16,43 | 13,99 | 9,29  | 5,25  | 7,62  | 2,85  | 20,99 |
| $q_n$   | 215,7 | 173,3 | 99,8  | 93,2  | 74,9  | 102,3 | 99,6  | 104,1 |
| $r$   | 0,893 | 0,523 | 0,374 | 0,514 | 0,671 | 0,396 | 0,307 | 0,292 |
| $x_u$   | 0,919 | 0,919 | 0,919 | 0,919 | 0,919 | 0,919 | 0,919 | 0,919 |
| $y_r \times 10^3$ (-)                               | 1,06  | 4,20  | 8,29  | 7,90  | 7,90  | 7,50  | 7,66  | 8,60  |
| ** $k_s a_0 \times 10^3$ (s <sup>-1</sup> )         | 1,11  | 5,72  | 7,50  | 8,97  | 9,34  | 7,01  | 2,70  | 2,20  |
| ** $k_s \times 10^7$ (m s <sup>-1</sup> )           | 1,04  | 5,39  | 7,06  | 8,45  | 8,79  | 6,60  | 1,80  | 2,64  |
| ** $k_s a_0 \times 10^3 / (1-r)$ (s <sup>-1</sup> ) | 10,3  | 12,0  | 12,0  | 18,5  | 28,4  | 11,6  | 3,90  | 3,11  |
| $k_f a_0$ (s <sup>-1</sup> )                        | 9,89  | 4,88  | 3,44  | 3,89  | 4,82  | 6,19  | 9,64  | 2,69  |
| $k_f \times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )              | 931   | 460   | 324   | 366   | 454   | 583   | 643   | 323   |
| <i>AARD</i> (%)                                     | 4,14  | 2,19  | 1,71  | 2,41  | 1,19  | 2,78  | 2,09  | 3,53  |
| <i>SD</i> (%)                                       | 0,03  | 0,03  | 0,18  | 0,29  | 0,04  | 0,40  | 0,26  | 0,46  |



Ukoliko se za vrednost polaznog sadržaja ulja u semenu tikve golice,  $x_0$ , uzme vrednost 47,9%, vrednosti koeficijenta prenosa mase u čvrstoj fazi,  $k_s$ , procenjenih modelom koji predlaže Sovová [79], rastu od 1,0, preko 5,4 do  $7,1 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ , sa porastom pritiska od 150, preko 225 do 300 bar na temperaturi 40°C. Na 300 bar, sa porastom temperature od 40 do 60°C, rastu i vrednosti  $k_s$  od 7,1 do  $8,8 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ . Za ispitivani opseg uslova vrednosti  $k_s a_0$  kreću se u opsegu od 1,11 do  $9,34 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ . U literaturi se može naći podatak da odgovarajuća vrednost dobijena za natkritičnu ekstrakciju usitnjenog semena suncokreta bogatog oleinskom kiselinom, srednjeg prečnika čestica 0,25 mm, na pritisku 250 bar i temperaturi 40°C iznosi  $1,42 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Prelazni period ( $\Delta t_2$ ), u toku kojeg se slobodan rastvorak uklanja sa površine čestica unutar ekstraktora dalje od ulaza, tako da one postaju delimično iscrpljene na rastvorak, daleko je duži od onog koji je utvrđen sa ekstrakciju kleke, odnosno razlika između vrednosti  $q_n$  i  $q_m$ , za eksperimente na ispitivanim uslovima je velika. Za ekstakcije na 300 bar i 40° vrednosti parametra koji govori o efikasnosti mlevenja,  $r$ , su u opsegu od 0,29 do 0,40, pri čemu je manja granična vrednost dobijena za najkrupnije čestice korišćene u eksperimentima. Vrednosti  $r$  rastu sa snižavanjem pritiska ekstrakcije, što je posledica odabrane konstantne vrednosti  $x_0$  za sve eksperimente.

#### 5.2.2.4. Poređenje uspešnosti ispitivanih modela

Na osnovu vrednosti srednjeg relativnog odstupanja izračunatih od izmerenih vrednosti (*AARD*) i standardnog odstupanja (*SD*) izračunatih iz izraza (114) i (115), Tabela 34, može se zaključiti da je od svih ispitivanih modela najbolje slaganje sa eksperimentalnim rezultatima dao model koji je predložila Sovová [79]. Model koji su predložili Hong i sar. [39], izuzev u slučaju ekstrakcije na 150 bar, pokazao se takođe dobar za modelovanje kinetike ekstrakcije ulja iz semena tikve golice natkritičnim ugljendioksidom na ispitivanim uslovima. Model karakterističnog vremena, pokazao se boljim u odnosu na Modele jedne sfere.

**Tabela 34.** Poređenje modela MJS, MJS-1 (2 par), MKV, Hong i sar. [39] i modela Sovová [79], na osnovu vrednosti *AARD* (%) i *SD* (%) za osam eksperimenata u manjem ekstraktoru za koje su uslovi dati u Tabeli 31.  $Y_\infty=0,479$ .

| <i>Eksperiment</i> | 1               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6     | 7    | 8    |
|--------------------|-----------------|------|------|------|------|-------|------|------|
| <b>MODEL</b>       | <b>AARD (%)</b> |      |      |      |      |       |      |      |
| MJS-1              | 36,2            | 53,0 | 25,8 | 27,1 | 31,9 | 40,14 | 27,6 | 40,5 |
| MJS-1 (2 par)      | 6,0             | 17,8 | 6,4  | 11,1 | 11,7 | 13,69 | 10,1 | 13,6 |
| MJS-2              | 40,5            | 54,3 | 26,3 | 27,6 | 28,9 | 43,50 | 28,0 | 41,4 |
| MKV                | 8,3             | 14,5 | 5,2  | 6,8  | 8,5  | 9,37  | 9,2  | 11,1 |
| Hong i sar. [39]   | 20,0            | 2,3  | 4,1  | 6,3  | 6,9  | 6,93  | 8,6  | 5,4  |
| Sovová [79]        | 4,14            | 2,19 | 1,71 | 2,41 | 1,19 | 2,78  | 2,09 | 3,53 |
|                    | <b>SD (%)</b>   |      |      |      |      |       |      |      |
| MJS-1              | 1,6             | 5,0  | 4,5  | 4,6  | 5,0  | 5,11  | 5,1  | 5,1  |
| MJS-1 (2 par)      | 0,3             | 2,1  | 1,2  | 2,1  | 1,9  | 1,95  | 2,2  | 2,2  |
| MJS-2              | 1,7             | 5,1  | 4,6  | 4,7  | 4,7  | 5,29  | 5,2  | 5,2  |
| MKV                | 0,4             | 1,7  | 1,1  | 1,4  | 1,5  | 1,47  | 2,1  | 1,7  |
| Hong i sar. [39]   | 1,25            | 0,36 | 1,02 | 1,33 | 1,41 | 1,96  | 2,06 | 0,93 |
| Sovová [79]        | 0,02            | 0,03 | 0,18 | 0,29 | 0,04 | 0,4   | 0,87 | 0,16 |

### 5.2.2.5. Ekstrakcija u većem ekstraktoru

U Tabeli 35 prikazani su uslovi na kojima su izvedeni eksperimenti natkritične ekstrakcije usitnjenog semena tikve goliće, srednjeg prečnika 0,56 mm na 40°C, pri protoku CO<sub>2</sub> oko 0,44 kg·h<sup>-1</sup> u ekstraktoru zapremine 20×10<sup>-5</sup> m<sup>3</sup> i pritiscima 225, 300 i 400 bar. Takođe, Tabela 35 daje rezultate  $k_f$ , procenjene modelima MSJ-1 (2 par.), Hong i sar. [39] i Sovová [79] na svim ispitivanim uslovima.

**Tabela 35.** Rezultati modelovanja ekstrakcije semena tikve goliće u većem ekstraktoru.

Vrednosti koeficijenta prenosa mase tikvinog ulja kroz film natkritičnog CO<sub>2</sub>,  $k_f$ , oko usitnjenog semena tikve goliće, procenjene preko modela MJS-1 (2 par.), modela koji predlaže Hong i sar. [39] i Sovová [79], uz vrednosti odgovarajućih veličina potrebnih za proračun  $k_f$ , i vrednosti bezdimenzionih brojeva, pri čemu je Sh broj procenjen na osnovu korelacija (50), (52) i (53) preuzetih iz literature.  $A_E=12,56\times 10^{-4}$  m<sup>2</sup>,  $V_E=2\times 10^{-4}$  m<sup>3</sup>,  $L_E=0,16$  m.  $Y_\infty=0,485$ .

| Eksperiment                                  | 9     | 10    | 11     |
|--|-------|-------|--------|
| $p$ (bar)                                    | *225  | *300  | *400   |
| $T$ (K)                                      | 313   | 313   | 313    |
| $\rho$ (kg m <sup>-3</sup> )                 | 862   | 911   | 957    |
| $\mu\times 10^5$ (Pa s)                      | 8,394 | 9,513 | 10,760 |
| $\dot{V}$ (dm <sup>3</sup> h <sup>-1</sup> ) | 0,51  | 0,49  | 0,46   |
| $\dot{m}$ (kg h <sup>-1</sup> )              | 0,443 | 0,443 | 0,443  |
| $U\times 10^4$ (m s <sup>-1</sup> )          | 1,1   | 1,1   | 1,0    |
| $m_{mat}$ (kg)                               | 0,066 | 0,066 | 0,066  |
| $d_p\times 10^3$ (m)                         | 0,56  | 0,56  | 0,56   |
| $\rho_p$ (kg m <sup>-3</sup> )               | 1200  | 1200  | 1200   |
| $\rho_{priv}$ (kg m <sup>-3</sup> )          | 650,0 | 650,0 | 650,0  |
| $\rho_{sloja}$                               | 330   | 330   | 330    |
| $\varepsilon$                                | 0,49  | 0,49  | 0,49   |
| $\varepsilon_p$                              | 0,46  | 0,46  | 0,46   |
| $C_i$ (kg m <sup>-3</sup> )                  | 3,715 | 8,081 | 14,644 |
| $c_{sat}=C^*$ (kg m <sup>-3</sup> )          | 3,678 | 7,959 | 14,107 |
| $D_{12}\times 10^8$ (m <sup>2</sup> /s)      | 1,20  | 1,07  | 0,95   |
| Re   | 0,6   | 0,6   | 0,5    |
| Sc   | 8,084 | 9,755 | 11,785 |
| <b>Sh</b>                                    |       |       |        |
| jed. (50)                                    | 1,23  | 1,21  | 1,18   |
| jed. (52)                                    | 0,03  | 0,03  | 0,03   |
| jed. (53)                                    | 0,23  | 0,23  | 0,23   |
| $k_f\times 10^6$ (m·s <sup>-1</sup> )        |       |       |        |
| jed. (50)                                    | 26,6  | 23,2  | 20,3   |
| jed. (52)                                    | 0,7   | 0,6   | 0,5    |
| jed. (53)                                    | 4,9   | 4,4   | 3,9    |
| $k_f\times 10^6$ (m s <sup>-1</sup> )        |       |       |        |
| MJS-1 2 parametra                            | 0,002 | 0,004 | 0,007  |
| Hong i sar. [39]                             | 0,58  | 0,52  | 0,39   |
| Sovová [79]                                  | 169   | 128   | 124    |

Za modele koji predlažu Hong i sar. [39] i Sovová [79],  $k_f$  opada sa porastom pritiska, dok je za MJS-1 (2 par) uočen porast vrednosti  $k_f$  sa porastom pritiska. Vrednosti  $k_f$  koje se procene modelom koji su predložili Hong i sar [39] su reda veličine vrednosti koje se dobijaju iz kriterijalne jednačine (52). Vrednosti koje predviđa model Sovová [79] su 1,7, 1,3 i  $1,2 \times 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$  za pritiske od najmanjeg do najvećeg. Vrednosti koje se dobijaju modelim MJS-1 (2 par) su 2, 4 i  $7 \times 10^{-9} \text{ m s}^{-1}$ .

U Tabeli 36, za eksperimente u ekstraktoru zapremine  $60 \text{ cm}^3$ , date su vrednosti koeficijenata efektivne difuzije kojima se postiže najbolje slaganje ekstrakcionih krivih izračunatih pomoću modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2, MKV i Hong i sar. [39], sa eksperimentalnim podacima. Maseni udeo ulja u polaznom materijalu, u odnosu na vlažan materijal, procenjen je na 48,5%. Za sve modele osim modela MJS-1 (2 par), procenjene vrednosti efektivnog koeficijenta difuzije rastu sa povećanjem pritiska. Izuzev modela MJS-1 (2 par) koji daje za dva reda veličine veće vrednosti, za ekstrakciju čestica srednjeg prečnika 0,56 mm na  $40^\circ\text{C}$ , pri protoku  $\text{CO}_2$  oko  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$ , i pritiscima 225, 300 i 400 bar, dobijene su pomoću ostala četiri modela približno iste vrednosti  $D_e$ . Može se uočiti da MJS-1 i MJS-2 daju gotovo iste procene vrednosti  $D_e$ , a vrednosti su  $0,3, 1,35$  i  $2,95 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  za ispitivane pritiske od najnižeg do najvišeg.

**Tabela 36.** Rezultati modelovanja ekstrakcije semena tikve u ekstraktoru zapremine  $20 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3$ . Vrednosti koeficijenta efektivne difuzije u čvrstoj fazi,  $D_e$ , procenjene preko modela MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2, MKV i modela koji su predložili Hong i sar. [39]. Vrednosti odgovarajućih veličina koje se odnose na uslove eksperimenta isti su kao i u Tabeli 35.

| MODEL            | $D_e \times 10^{13} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$ |       |       |
|------------------|--|-------|-------|
| eksperiment      | 9  | 10    | 11    |
| MJS-1            | 0,3  | 1,4   | 3,0   |
| MJS-1 (2 par)    | 130,7  | 640,5 | 397,1 |
| MJS-2            | 0,3  | 1,3   | 2,9   |
| MKV              | 1,0  | 2,4   | 4,2   |
| Hong i sar. [39] | 1,6  | 2,2   | 5,1   |

Rezultati modelovanja natkritične ekstrakcije usitnjenog semena uljane tikve golice u većem ekstraktoru za uslove tri eksperimenata prikazana u Tabeli 35, modelom koji je predložila Sovová [79], prikazani su u Tabeli 37. Ukoliko se za vrednost polaznog sadržaja ulja u semenu tikve golice, uzme vrednost  $0,4850 \text{ kg kg}^{-1}$  sirovog materijala, vrednosti koeficijenta prenosa mase u čvrstoj fazi,  $k_s$ , procenjenih modelom koji predlaže Sovová [79], rastu od 3,76, preko 7,50 do  $12,09 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$ , sa porastom pritiska od 225, preko 300 do 400 bar na temperaturi  $40^\circ\text{C}$ . Porast vrednosti  $k_s$  sa porastom pritiska uočen je i kod drugih autora [100]. Slaganje sa vrednostima za odgovarajuće eksperimente u manjem ekstraktoru je dobro, pošto su za manji ekstraktor dobijene vrednosti  $5,39 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$  (na 225 bar) i  $7,06 \times 10^{-7} \text{ m s}^{-1}$  (na 300 bar). Razlike u vrednostima  $k_s$  u dva ekstraktora posledica su toga što, kao što je to i kod drugih autora uočeno [100],  $k_s$  nije nezavisno od protoka  $\text{CO}_2$ , odnosno od prividne brzine rastvarača.

**Tabela 37.** Rezultati modelovanja ekstrakcija semena tikve golice u velikom ekstraktoru  $A_E = 12,56 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $V_E = 20 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ,  $L = 0,16 \text{ m}$ .  $Y_\infty = 0,485$ . Model Sovová [79], jednačine (96)-(101). Početne koncentracije ulja u materijalu procenjene u odnosu na maksimalno ostvaren prinos na 400 bar.  $y_r$  procenjeno na osnovu maksimalne vrednosti izlazne koncentracije ulja u  $\text{CO}_2$ , ili prosečnih vrednosti tačaka čije su ordinate iznad ordinata ucrtanih linija na Slici 66. \*\* - odnosi se na celokupnu zapreminu čestice.

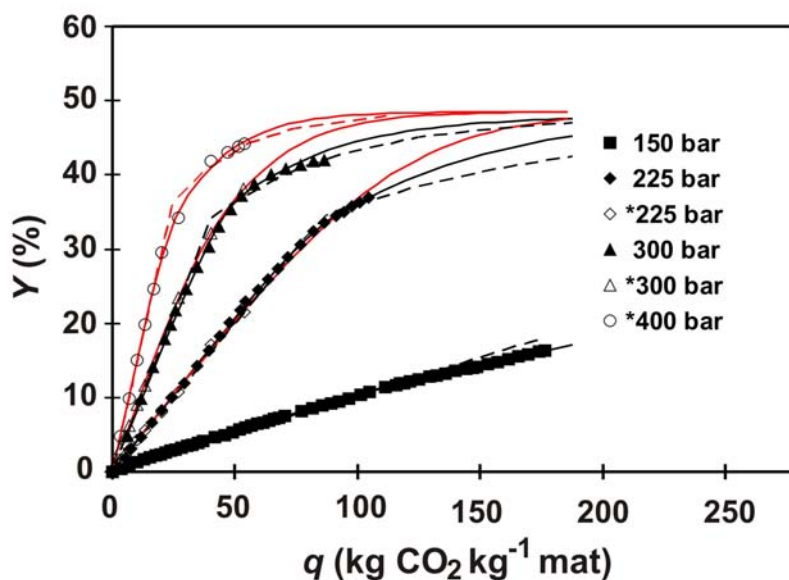
| <b>Eksperiment</b>                                    | <b>9</b>    | <b>10</b>   | <b>11</b>   |
|---|-------------|-------------|-------------|
| $x_k$ (-)   | 0,93        | 0,842       | 0,368       |
| $F$ ( $\text{s}^{-1}$ )                               | 1,06        | 2,08        | 2,10        |
| $S \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )                   | 8,01        | 16,0        | 25,8        |
| $Z \times 10^{-3}$ (-)                                | 0,294       | 0,574       | 0,581       |
| $W$ (-)   | 2,22        | 4,42        | 7,12        |
| $q_m$   | 2,48        | 4,37        | 15,8        |
| $q_n$   | 9,45        | 21,3        | 56,7        |
| $r$   | 0,988       | 0,894       | 0,39        |
| $x_u$   | 0,942       | 0,942       | 0,942       |
| $y_r \times 10^3$ (-)                                 | 4,3         | 11          | 17,3        |
| ** $k_{sa_0} \times 10^3$ ( $\text{s}^{-1}$ )         | 4,05        | 8,07        | 13,0        |
| ** $k_s \times 10^7$ ( $\text{m s}^{-1}$ )            | 3,76        | 7,50        | 12,1        |
| ** $k_{sa_0} \times 10^3 / (1-r)$ ( $\text{s}^{-1}$ ) | 337         | 76,1        | 21,3        |
| $k_{fa_0}$ ( $\text{s}^{-1}$ )                        | 0,747       | 1,38        | 1,331       |
| $k_f \times 10^6$ ( $\text{m s}^{-1}$ )               | 69,4        | 128         | 124         |
| <b>AARD (%)</b>                                       | <b>3,31</b> | <b>2,17</b> | <b>3,04</b> |
| <b>SD (%)</b>   | <b>0,05</b> | <b>0,05</b> | <b>0,37</b> |

**Tabela 38.** Poređenje modela MJS, MJS-1 (2 par), MKV, Hong i sar. [39] i modela Sovová [79], na osnovu vrednosti AARD (%) i SD(%), u uspešnosti modelovanja natkritične ekstrakcije semena tikve golice u ekstraktoru zapremine  $20 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ , za tri eksperimenata za koje su uslovi dati u Tabeli 35.

| <b>Eksperiment</b>      | <b>9</b> | <b>10</b>       | <b>11</b> |
|-------------------------|----------|-----------------|-----------|
| <b>MODEL</b>            |          | <b>AARD (%)</b> |           |
| <b>MJS-1</b>            | 86,3     | 87,0            | 38,5      |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>    | 3,7      | 7,0             | 9,5       |
| <b>MJS-2</b>            | 93,6     | 90,6            | 39,4      |
| <b>MKV</b>              | 9,5      | 14,9            | 11,3      |
| <b>Hong i sar. [39]</b> | 3,68     | 7,48            | 1,5       |
| <b>Sovová [79]</b>      | 3,31     | 2,17            | 3,04      |
|                         |          | <b>SD (%)</b>   |           |
| <b>MJS-1</b>            | 3,1      | 5,8             | 5,5       |
| <b>MJS-1 (2 par)</b>    | 1,1      | 2,6             | 2,3       |
| <b>MJS-2</b>            | 3,2      | 6,0             | 5,6       |
| <b>MKV</b>              | 0,7      | 1,5             | 1,7       |
| <b>Hong i sar. [39]</b> | 0,40     | 3,87            | 0,9       |
| <b>Sovová [79]</b>      | 0,05     | 0,05            | 0,37      |

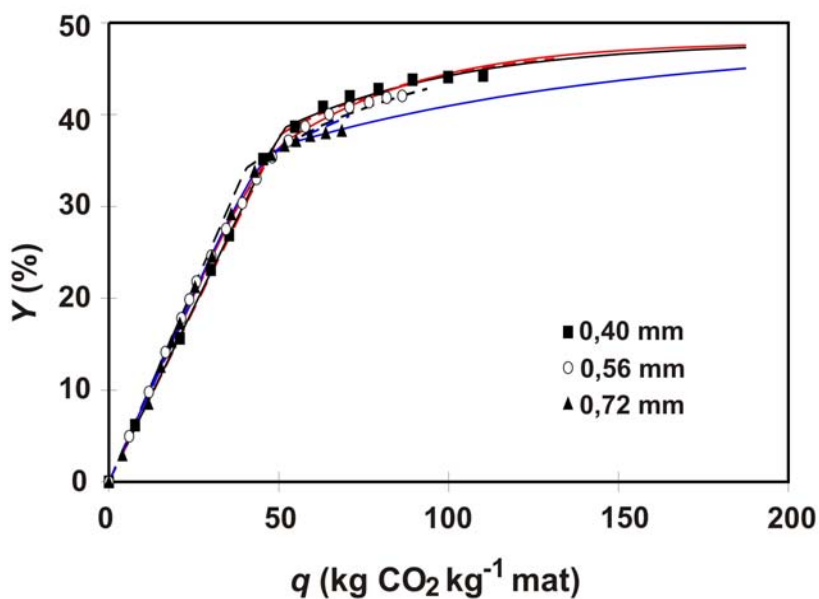
Na osnovu vrednosti *AARD* i *SD* (Tabela 38) izračunatih iz izraza (114) i (115), može se zaključiti da je od svih ispitivanih modela, najbolje slaganje sa eksperimentalnim rezultatima ekstrakcije semena tikve golice u većem ekstraktoru dao model koji je predložila Sovová [79]. Model koji su predložili Hong i sar. [39], pokazao se takođe dobar za modelovanje kinetike ekstrakcije ulja iz semena tikve golice natkritičnim ugljendioksidom na ispitivanim uslovima. Ukoliko se preko vrednosti *SD* procenjuje efikasnost modela, model karakterističnog vremena, pokazao se boljim u odnosu na modele jedne sfere.

Na Slikama 72, 73 i 74, prikazano je slaganje izmerenih vrednosti prinosa sa izračunatim vrednostima pomoću modela koje su predložili Sovová [79] i Hong i sar. [39]. Prosečna vrednost *AARD* za sve eksperimente, za model koji je predložila Sovová [79] je 2,6%. Za model koji su predložili Hong i sar. [39] ova vrednost iznosi 6,6%.

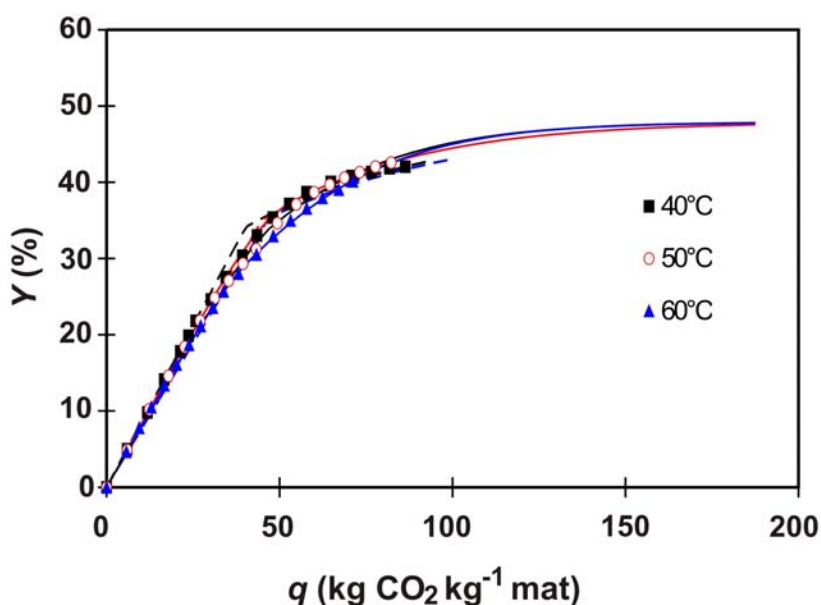


**Slika 72.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa u toku ekstrakcije semena tikve golice, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup> na temperaturi 40°C i različitim pritiscima: 150 bar (■), 225 bar (◆), 300 bar (▲), \*225 bar (◇), \*300 bar (△), \*400 bar (○). Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama model Sovová [79]; isprekidanim linijama model Hong i sar. [39]. Crvenom bojom su označeni rezultati modelovanja za eksperimente u velikom ekstraktoru. \* - Eksperiment u većem ekstraktoru.

Proširenim modelom klipnog toka koji je predložila Sovová [79], mogu se dobro opisati ekstrakcione krive dobijene za eksperimente natkritične ekstrakcije semena uljane tikve golice u oba ekstraktora, na svim ispitivanim uslovima.



**Slika 73.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa u toku ekstrakcije semena tikve golice, ugljendioksidom protoka  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$  na pritisku 300 bar i temperaturi  $40^\circ\text{C}$ , čestica različitog stepena usitnjenosti. Srednji prečnik čestica:  $0,4 \text{ mm}$  (■);  $0,56 \text{ mm}$  (○);  $0,72 \text{ mm}$  (▲). Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama model Sovová [79]; isprekidanim linijama model Hong i sar. [39].



**Slika 74.** Poređenje izmerenih i izračunatih vrednosti prinosa u toku ekstrakcije semena tikve golice, veličine čestica srednjeg prečnika  $0,56 \text{ mm}$ , ugljendioksidom protoka  $0,44 \text{ kg h}^{-1}$  na pritisku 300 bar i različitim temperaturama:  $40^\circ\text{C}$  (■);  $50^\circ\text{C}$  (○);  $60^\circ\text{C}$  (▲). Simbolima su prikazane eksperimentalne vrednosti; punim linijama model Sovová [79]; isprekidanim linijama model Hong i sar. [39].

## 6 ZAKLJUČCI

### *Kleka*

Ekstrakcijom ploda kleke ugljendioksidom u natkritičnom stanju, na pritiscima 80, 90, 100, 150 i 200 bar i temperaturi 40°C, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup> kroz sloj formiran od 20 g bobica kleke, usitnjenih na srednju veličinu čestica od 0,325 mm (prečnici čestica u opsegu 0,25-0,40 mm) dobijeni su ukupni prinosi ekstrakcije 0,65±0,03%, 1,48±0,04%, 4,00±0,10%, 9,18% i 10,48%. Ukupni prinosi rastu sa porastom pritiska i gustine ugljendioksida (280, 490, 630, 780 i 840 kg m<sup>-3</sup>), zbog porasta rastvorne moći ugljendioksida, odnosno povećane rastvorljivosti etarskog ulja u natkritičnom fluidu.

U ekstraktima dobijenim ugljendioksidom veće gustine, pored etarskog ulja kleke, nalaze se i manje isparljive i neisparljive komponente visokih tačaka ključanja, kao što su viši terpeni, estri, slobodne masne kiseline, masna ulja, voskovi i smole, pa se ekstrakti dobijeni na različitim pritiscima vizuelno značajno razlikuju. Samo ekstrakt dobijen na 80 bar je svetla, bledožućkasta, uljasta tečnost, koja ima izgled sličan etarskom ulju kleke dobijenom hidrodestilacijom. Ekstrakti dobijeni na 90 bar i 100 bar bili su svetlije i tamnije žute, viskozne tečnosti na sobnoj temperaturi. Ekstrakti dobijeni na 150 i 200 bar su tamno žuti, delimično čvrsti, odnosno čvrsti na sobnoj temperaturi, usled prisustva pigmenta i kutikularnih voskova.

Više od 200 konstituenata je detektovano u različitim ekstraktima bobica kleke dobijenim natkritičnim ugljendioksidom. Komponente prisutne u ekstraktima grupisane su u pet osnovnih grupa: monoterpena (M), oksidovane monoterpena (OM), seskviterpena (S), oksidovane seskviterpena (OS) i ostale komponente (O). U grupu O svrstane su komponente velikih molekulskih masa (kao što su masna ulja, voskovi i/ili smole i neka druga neidentifikovana jedinjenja). Određen je sadržaj 50 identifikovanih komponenata, među kojima je 13 monoterpena, 18 seskviterpena, 10 oksidovanih monoterpena i 9 oksidovanih seskviterpena.

Variranjem pritiska ekstrakcije i vremena trajanja procesa mogu se dobiti ekstrakti bobica kleke (*Juniperus communis* L.) sa različitim odnosima glavnih terpenskih grupa. Pošto bi se određene grupe terpenskih komponenata, koje se ekstrahuju istom brzinom i po pravilu pokazuju sinergetski efekat i imaju slično delovanje, na ovaj način mogle koncentrisati u ekstraktima, postoji mogućnost kreiranja novih prirodnih proizvoda na bazi kleke, a prema željenoj nameni.

Pre isteka prvih 0,6 h ekstrakcije, 99 % monoterpena prisutnih u bobicama kleke izekstrahuje na svim ispitivanim pritiscima. Oksidovani monoterpeni se mogu skoro u potpunosti izolovati iz materijala ekstrakcijom na pritisku od 100 bar, u toku prvih 0,5 h, a na pritisku od 90 bar, u toku 1,2 h. Međutim, na pritisku od 80 bar, tokom 4 h ekstrakcije, moguće je u ekstraktu dobiti samo 75% od maksimalne količine OM koja se dobija na 100 bar. Intenzivna ekstrakcija seskviterpena ne može se izbeći ni na jednom ispitivanom pritisku, ali se na početku procesa ekstrakcije (u prvih 0,6 h) na 80 bar, seskviterpeni ekstrahuju 3 i 8 puta sporije nego na 90 i 100 bar. Frakcije obogaćene komponentama visoke

tačke ključanja su dobijene kada je gustina CO<sub>2</sub> bila veća. Ukoliko se ekstrakcije bobica kleke odvija na pritisku od 80 bar, kutikularni voskovi, masti, smole i druge komponente visoke tačke ključanja, neće u značajnoj meri biti prisutne u ekstraktu, čak i ako ekstrakcija traje 3 h. S druge strane, komponente svrstane u grupu O, u ekstraktima dobijenim na 90 i 100 bar, već posle 0,6 h ekstrakcije prisutne su u količinama 10%, odnosno 30%. Stoga, ekstrakcija bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom na višim pritiscima od 80 bar treba da se izvodi u uređaju sa dva separatora. Uz to, može se primetiti i da bi se deterpenizacijom etarskog ulja na 80 bar i 40°C veoma lako i za kratko vreme mogli ukloniti monoterpeni. Monoterpenska frakcija se može koristiti u različite svrhe, između ostalog, i kao ekološki prihvatljiva alternativa preparatima za suzbijanje štetočina. S druge strane, deterpenizovana frakcija ima jače antibakterijsko delovanje od polaznog ulja. Rezultati pokazuju da bi se ekstrakcijom na pritisku od 90 bar i temperaturi od 40°C, u trajanju do 2 h (40 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> mat) dobili ekstrakti sa najvećom vrednošću masenog odnosa oksidovanih i neoksidovanih komponenata. Zbog smanjene brzine ekstrakcije seskviterpena posle 2 h ekstrakcije i još uvek velike brzine ekstrakcije OS nakon tog perioda, proces koji bi trajao do 3 h (60 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> mat) imao bi za posledicu povećani maseni odnos OS/S.

Veličina čestica ima uticaj na prinos i brzinu ekstrahovanja etarskog ulja kleke natkritičnim ugljendioksidom na 80 bar i 40°. Prinos ekstrakta je veći za sitnije čestice.

Pri istoj specifičnoj potrošnji ugljendioksida ne postoji statistički značajna razlika između prinosa za ispitivane protoke CO<sub>2</sub> (0,2 i 0,8 kg h<sup>-1</sup>) pri istoj potrošnji rastvarača.

Ekstrakcija bobica kleke natkritičnim ugljendioksidom je od samog starta nestacionaran proces, a izlazna koncentracija etarskog ulja u natkritičnom fluidu opada progresivno u toku procesa. Veća izlazna koncentracija ulja u CO<sub>2</sub> dobija se na većim pritiscima ekstrakcije i pri većem protoku natkritičnog ekstragensa. Koncentracija etarskog ulja ploda kleke u CO<sub>2</sub> na izlazu iz ekstraktora uvek je daleko manja od ravnotežne rastvorljivosti terpena prisutnih u ulju.

Uspešnost modelovanja procesa i rezultati optimizovanih parametara zavise od pretpostavljene vrednosti polaznog sadržaja ulja u polaznom materijalu i od vrednosti ravnotežne rastvorljivosti ulja. Takođe, važno je da je prečnik čestica pravilno procenjen. Modeli za koje je ispitana mogućnost primene na proces natkritične ekstrakcije etarskog ulja kleke su: modeli jedne sfere (MJS-1, MJS-1 (2 par) i MJS-2), model karakterističnog vremena (MKV) i prošireni model klipnog toka koga je predložila Sovová. Eksperimenti su izvedeni u opsegu Re vrednosti od 1,5 do 10,5, i Sc vrednosti oko 1,4.

Najmanje odstupanje izračunatih od eksperimentalnih vrednosti prinosa dobija se kada se za polazni sadržaj ulja u materijalu uzme vrednost maksimalnog prinosa ostvarenog u tom eksperimentu, pri dužem vremenu ekstrakcije (8-9 h). Proračun se može izvesti i sa maksimalnom vrednošću ukupnog prinosa ostvarenom na najvećem ispitivanom pritisku (200 bar). Takođe, za prošireni model klipnog toka, važno je znati ravnotežnu rastvorljivost ulja u materijalu. Jedna varijanta proračuna je da se uzme vrednost nagiba početnog dela ekstrakcionih krivih, što odgovara maksimalnim vrednostima izlazne koncentraciji ulja u CO<sub>2</sub>. Druga varijanta je da se ravnotežna rastvorljivost proceni iz neke od korelacija za rastvorljivost, ili iz izraza koji uključuje koeficijent fugaciteta ulja u natkritičnoj fazi, koji se može izračunati na osnovu neke od jednačina stanja. S obzirom na veliki broj jedinjenja u ekstraktima, kao i na činjenicu da se sastav ekstrahovanog ulja menja sa promenom pritiska i dužinom ekstrakcije, procena ravnotežne rastvorljivosti na bilo koji od ova dva načina veoma je nepouzdana. U ovom radu je ravnotežna rastvorljivost korišćena kao promenljivi parametar, čija vrednost je optimizovana tako da parametar  $F$  u modelu Sovová ima vrednost  $6 U^{0,54}$ , koju je predložio autor modela originalno primenjenog na ekstrakciju masnih



ulja. Kada se ravnotežna rastvorljivost proceni na ovaj način, prošireni model klipnog toka daje nabolje slaganje sa eksperimentalnim rezultatima, sa prosečnom vrednošću *AARD* od 3,8%, za eksperimente na 90, 100, 120 i 200 bar. Naravno na ovaj način dobijene vrednosti  $y_r^*$ , samo su procena vrednosti ravnotežne rastvorljivosti etarskog ulja kleke, dok bi prave vrednosti trebalo odrediti eksperimentalno.

Model koji najbolje opisuje natkritičnu ekstrakciju ploda kleke na 80 bar i 40°C je Model jedne sfere u kome su optimizovana dva parametra, koeficijent efektivne difuzije i koeficijent prenosa mase kroz film natkritičnog fluida koji je formiran oko čestica materijala. Prosečna vrednost za *AARD* za ovaj model je 4,2%, dok je za model koji je predložila Sovová, koji ima tri prilagodljiva parametra, ova vrednost 4,8%.

### ***Tikva***

Ekstrakcijom semena tikve goliće ugljendioksidom u natkritičnom stanju, na pritiscima 150, 225 i 300, na temperaturi 40°C, pri protoku CO<sub>2</sub> od 0,2 kg h<sup>-1</sup> kroz sloj formiran od 20 g semena tikve, usitnjenog na srednju veličinu čestica od 0,56 mm (prečnici čestica u opsegu 0,50-0,63 mm) dobijeni su ukupni prinosi, redom: 18,14% (14 h ekstrakcije), 36,3% (9 h ekstrakcije), i 42,0% (7 h ekstrakcije). Prinosi rastu zbog toga što sa porastom pritiska rastu i gustine ugljendioksida od 780, preko 860 do 910 kg m<sup>-3</sup>, kao i rastvorna moć ugljendioksida, odnosno povećava se rastvorljivost tikvinog ulja u natkritičnom CO<sub>2</sub>.

Pri svim ispitanim uslovima, na početku ekstrakcije postoji linearna zavisnost količine ekstrahovanog ulja iz semena tikve od vremena ekstrakcije, odnosno od mase natkritičnog ugljendioksida utrošenog za ekstrakciju. Nakon početnog perioda konstantne brzine prenosa mase ulja iz semena u natkritični ugljendioksid, dolazi do usporavanja brzine procesa ekstrakcije, tj. nagib ekstrakcionih krivih počinje da se smanjuje.

Ulje semena tikve dobijeno na pritisku od 150 bar je svetlo žuto i njegova boja se nije menjala u toku ekstrakcije. Ulje dobijeno na pritisku od 225 bar je tamnije u odnosu na ulje dobijeno na pritisku od 150 bar i njegova boja se menjala u toku ekstrakcije, postajući crvenkastija u odnosu na svetlo žutu boju na početku procesa. Na pritisku od 300 bar, boja dobijenog ekstrakta tokom vremena ekstrakcije se menja, od blede žute (prva 2 h), preko oranž žute (od 2 do 4 h), do crvene, odnosno tamno crvene (nakon 4 h), a njegova gustina opada sa 921,3, preko 919,1 do 918,2 kg m<sup>-3</sup>. Ulje dobijeno ekstrakcijom *n*-heksanom i petroletrom ima tamno zelenu boju, sa nijansama tamno crvene. Ugljendioksid slabije rastvara hlorofile zbog njihove polarne prirode.

Temperatura u opsegu 40-60°C ne utiče na prinos ekstrakta na pritisku 300 bar, pa se može smatrati da je prelazni pritisak (*engl. crossover pressure*) upravo na tom pritisku ili u opsegu vrednosti koje obuhvataju 300 bar.

Na 300 bar i 40°C, kada se srednji prečnik čestica menja od 0,40 do 0,72 mm, na početku procesa ekstrakcije nema razlike u prinosisima za istu specifičnu potrošnju CO<sub>2</sub>, ali nakon određene utrošene količine CO<sub>2</sub>, prinos ekstrakta, pri konstantnoj specifičnoj potrošnji CO<sub>2</sub>, počinje da zavisi od prečnika čestica i najveća vrednost se dobija korišćenjem najsitnijih čestica. Smanjenje prečnika čestica dovodi do povećanja brzine difuzije, odnosno do skraćenja difuzionog puta. Dodatni efekat na porast prinosa ekstrakcije pri smanjenju prečnika čestica ima i povećanje specifične međufazne površine usitnjenog materijala kada su čestice manjeg prečnika, što omogućava intenzivan kontakt ugljendioksida i korišćenog materijala.

Kada se ekstrakcija izvodi na pritisku 300 bar i temperaturi 40°C, pri različitom protoku CO<sub>2</sub> i pri različitom specifičnom protoku izraženom po jedinici mase materijala, pri

istoj vrednosti specifične potrošnje ugljendioksida (masa utrošenog ugljendioksida po masi ekstrahovanog materijala) nema razlike u prinosima. Ekstrakcione krive na 300 bar se poklapaju, a uticaj protoka i časovne potrošnje ugljendioksida po jedinici mase ekstrahovanog materijala, odnosno specifičnog protoka CO<sub>2</sub> se ne primećuje.

Analizom masnokiselinskog sastava ekstrakata, odnosno ulja tikve golice dobijenom natkritičnom ekstrakcijom, dobijeno je da je najzastupljenija oleinska kiselina, 38,5-45,9%, a zatim linolna, 36,7-41,6%, i palmitinska, 11,4-13,9%. Uočeno je da se sadržaj zasićenih masnih kiselina (ZMK) i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) malo povećava u ekstraktima, kada se ekstrakcije izvode na višoj temperaturi, dok sadržaj mononezasićenih masnih kiselina (MNMK) opada. Step en usitnjenosti nema značaja za promenu masnokiselinskog sastava ekstrakata dobijenih nakon 2 h ekstrakcije natkritičnim ugljendioksidom. Međutim, kada se vreme ekstrakcije produži na 6 h, ekstrakti koji se dobijaju iz semena tikve golice različitog stepena usitnjenosti razlikuju se po sadržaju linolne i oleinske kiseline. Nakon 4 h ekstrakcije, dužina trajanja procesa ekstrakcije ima presudnu ulogu na ispoljavanje razlika u masnokiselinskom sastavu ekstrakta. Dvofaktorska ANOVA analiza je pokazala da pritisak nema značajan uticaj na sadržaj MNMK ( $p=0,051$ ) i PNMK ( $p=0,154$ ), odnosno na sadržaj oleinske i linolne kiseline ( $p=0,109$ ), dok je vreme trajanja ekstrakcije, sa verovatnoćom od 95%, imalo značajan uticaj na promenu sadržaja MNZK ( $p=0,0015$ ) i PNMK ( $p=0,0011$ ), tako da se povećao sadržaj MNZK, a smanjio sadržaj PNMK. Ova promena sastava ulja najverovatnije je uzrok blagog povećanja oksidativne stabilnosti ulja, koja je utvrđena Rancimat testom, sa produžavanjem vremena ekstrakcije sa 4, preko 6, na 8 h. Kiselinški broj, peroksidni broj, anisidinski broj i oksidativna stabilnost ulja zadovoljavaju standarde za jestiva nerafinisana ulja.

U svim dobijenim ekstraktima sadržaj  $\gamma$ -tokoferola je značajno veći od sadržaja  $\alpha$ -tokoferola, a sa porastom vremena ekstrakcije, odnosno specifične potrošnje ugljendioksida, odnos sadržaja  $\gamma$ - i  $\alpha$ -tokoferola raste. Uticaj temperature na sadržaj  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferola u ekstraktima dobijenim na 300 bar i 40° najizraženiji je na početku procesa ekstrakcije, odnosno pri utrošenih prvih oko 20 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktor. Naime, na početku procesa sa porastom temperature raste i rastvorljivost tokoferola u natkritičnom ugljendioksidu, tako da se to odražava i na porast sadržaja tokoferola u ekstrahovanom ulju od 571, preko 727 do 946 mg kg<sup>-1</sup> ekstrahovanog ulja za temperature 40, 50 i 60°C, dok je sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u istim uzorcima 99, 110 i 178 mg kg<sup>-1</sup> ekstrahovanog ulja. U kasnijim fazama procesa, kada fazna ravnoteža ima manji uticaj u odnosu na brzinu difuzionog prenosa mase, uticaj temperature postaje zanemarljiv i na različitim temperaturama ekstrahuje se gotovo ista količina tokoferola.

Uticaj pritiska na sadržaj  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferola u ekstraktima najizraženiji je na početku procesa ekstrakcije, odnosno pri utrošenih prvih oko 30 kg CO<sub>2</sub> po kg suvog materijala u ekstraktor. Na početku procesa, na nižim pritiscima veći je sadržaj tokoferola u ekstrahovanom ulju, što je posledica različitog uticaja povećanja pritiska na brzinu ekstrakcije ulja i brzinu ekstrakcije tokoferola. Smanjenje sadržaja tokoferola u ulju na višim pritiscima nije posledica manje rastvorljivosti tokoferola na višim pritiscima, već velikog porasta ukupnog prinosa ekstrahovanog ulja sa porastom pritiska, odnosno povećanja rastvorljivosti ostalih komponenti ulja. Ovaj efekat nije imao značaja kod ispitivanja uticaja temperature, pošto temperatura nije imala značajan uticaj na ukupni prinos. U kasnijim fazama procesa, uticaj pritiska postaje manje značajan, i na različitim pritiscima ekstrahuje se gotovo ista količina tokoferola.

Frakcije koje su ekstrahovane na pritisku 300 bar i na temperaturama 40, 50 i 60°C, na početku procesa, odnosno nakon utrošenih prvih oko 20 kg CO<sub>2</sub> po svakom kg suvog

materijala u ekstraktoru, imaju izrazito visok sadržaj skvalena, do vrednosti od  $9,55 \text{ g kg}^{-1}$  ulja (na temperaturi  $60^\circ\text{C}$ ), dok se u kasnijim fazama procesa ekstrahuje mnogo manja količina skvalena, pa je sadržaj skvalena u narednim frakcijama mnogo manji. Na pritisku 300 bar, na početku procesa, raste sadržaj skvalena u ekstrahovanom ulju pri porastu temperature od 40, preko 50 do  $60^\circ\text{C}$ , što je najverovatnije posledica činjenice da se sa porastom temperature neznatno povećava i rastvorljivost skvalena u natkritičnom ugljendioksidu, tako da je vrednost pritiska pri kome dolazi do temperaturne inverzije, odnosno prelaznog pritiska između 250 i 300 bar.

Na nižim pritiscima sadržaj skvalena u jedinici mase ekstrahovanog ulja je veći u toku čitavog procesa, što je posledica različitog uticaja povećanja pritiska na brzinu ekstrakcije ulja i brzinu ekstrakcije skvalena. U prvoj frakciji ekstrakta dobijenoj na 225 bar, sadržaj skvalena je bio  $10 \text{ g kg}^{-1}$  ekstrahovanog ulja. Smanjenje sadržaja skvalena u ulju na višim pritiscima nije posledica njegove manje rastvorljivosti, već velikog porasta ukupnog prinosa ekstrahovanog ulja sa porastom pritiska, odnosno povećanja rastvorljivosti triglicerida, diglicerida i ostalih prisutnih jedinjenja. Ovaj efekat nije imao značaja kod ispitivanja uticaja temperature, pošto temperatura nije imala značajniji uticaj na ukupni prinos. Separaciju skvalena od trigliceridnih komponenata ulja, odnosno dobijanje frakcija obogaćenih skvalenom, moguće je izvesti na pritisku od 225 bar.

Utvrđeno je da su najzastupljeniji steroli u uzorcima  $\Delta 7$  tipa, i to stigmasta-7,25-dienol,  $\Delta 7$ -stigmastenol, stigmasta-7,22,25-trienol,  $\Delta 7$ -avenasterol i spinasterol. U proseku, sadržaj  $\Delta 7$ -sterola je oko 16,5 puta veći od sadržaja  $\Delta 5$ -sterola. Ovaj odnos se kreće od najmanje dobijene vrednosti 12,4 do najveće 22,0.

Frakcije koje su ekstrahovane na početku procesa na 300 bar i temperaturama 40, 50 i  $60^\circ\text{C}$ , odnosno nakon utrošenih prvih oko  $20 \text{ kg CO}_2$  po  $\text{kg}$  suvog materijala u ekstraktoru, imaju oko 1,5 puta veći sadržaj sterola nego frakcija dobijena u intervalu vrednosti specifične potrošnje  $\text{CO}_2$  od 20 do  $40 \text{ kg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  suvog materijala. Sadržaj sterola u prvoj frakciji ekstrakta dobijenoj na temperaturi  $60^\circ\text{C}$  je  $4,98 \text{ g kg}^{-1}$  ulja. U frakciji sakupljenoj u intervalu vrednosti specifične potrošnje  $\text{CO}_2$  40-80  $\text{kg kg}^{-1}$  suvog materijala, na 40 i  $50^\circ\text{C}$  dolazi do blagog porasta sadržaja sterola u odnosu na prethodnu frakciju, što je verovatno posledica promene brzine ekstrakcije triglicerida i sterola. Na pritisku 300 bar, na početku procesa, raste sadržaj sterola u ekstrahovanom ulju pri porastu temperature od 40, preko 50 do  $60^\circ\text{C}$ , što je posledica činjenice da se sa porastom temperature povećava i rastvorljivost sterola u natkritičnom ugljendioksidu, odnosno da je prelazni pritisak ispod 300 bar.

Na pritisku 300 bar i temperaturama 40 i  $50^\circ\text{C}$ , najveći sadržaj u ulju ima suma dva sterola,  $\Delta 7$ -stigmastenaola i stigmasta-7,25-dienola, dok je na  $60^\circ\text{C}$  u ulju veći sadržaj stigmasta-7,22,25-trienola i spinasterola, koga ujedno ima i najviše. Pojava smanjenja sadržaja sterola na većoj temperaturi primećuje se i kod  $\Delta 7$ -avenasterola.

Na temperaturi  $40^\circ\text{C}$  i pritiscima 225, 300 i 400 bar, sadržaj sterola u frakcijama dobijenim nakon utrošenih prvih  $15 \text{ kg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  suvog materijala je najveći. Sadržaj ukupnih sterola kreće se u granicama od 3,3 do  $4,05 \text{ g kg}^{-1}$ , a najveći je u prvoj frakciji ekstrakta sakupljenog na pritisku 400 bar. Sa porastom vremena ekstrakcije sadržaj sterola smanjuje se u svim frakcijama na 400 bar, dok je na pritiscima 225 i 300 bar sadržaj u trećoj frakciji nešto veći nego u drugoj.

U zavisnosti od pritiska, postoji duži početni period na nižim pritiscima ili kraći početni period, na višim pritiscima, u kome se izlazna koncentracija tikvinog ulja u natkritičnom  $\text{CO}_2$  može smatrati konstantnom, odnosno vrednosti izlazne koncentracije za dati pritisak, variraju oko neke prosečne vrednosti. Određena je rastvorljivost tikvinog ulja na

osnovu maksimalnih vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub> na početku procesa, a vrednosti parametara u jednačini za rastvorljivost koju je predložio Chrastil, optimizovani prema eksperimentalnim rezultatima ovoga rada, iznose:  $c_0 = -73,1$ ,  $c_1 = 12,765$  i  $c_2 = -5881$ .

Modeli koji su ispitani na eksperimentalnim rezultatima natkritične ekstrakcije uljane tikve golice u ovom radu su: modeli jedne sfere: MJS-1, MJS-1 (2 par), MJS-2, model MKV, prošireni model klipnog toka koga je predložila Sovová i kombinovani model koga su predložili Hong i sar. Početni sadržaj ulja u materijalu određen je na osnovu prinosa Sokslet ekstrakcije heksanom, odnosno petroletrom. Ravnotežne rastvorljivosti tikvinog ulja određene su na osnovu maksimalnih vrednosti izlazne koncentracije ulja u CO<sub>2</sub> na početku procesa. Vrednosti Re broja u eksperimentima kreću se u vrlo uskom opsegu od 0,7 do 2,4, a vrednosti Sc broja od 1,7 do 9,8. Vrednosti koeficijenta prenosa mase u filmu natkritičnog CO<sub>2</sub> formiranog oko čestica, izračunate primenom kriterijalnih jednačina dostupnih u literaturi značajno se razlikuju, i kreću se u opsegu od  $0,7 \times 10^{-6}$  do  $162 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . Najmanje odstupanje izračunatih od eksperimentalnih vrednosti prinosa dobija se primenom proširenog modela klipnog toka koji je predložila Sovová. Kombinovani model koji su predložili Hong i sar. nije dao dobre rezultate za ekstrakciju izvedenu na 150 bar, pošto je bilo potrebno izvoditi proces duže od 14 h da bi pomoću ovog modela mogle proceniti vrednosti efektivnog koeficijenta difuzije. Na pritiscima 300 i 400 bar, model koji predlažu Hong i sar. dobro opisuje proces. Ukoliko se preko vrednosti standardnog odstupanja procenjuje efikasnost primenjenih modela, model karakterističnog vremena se pokazao boljim u odnosu na modele jedne sfere.

Proširenim modelom klipnog toka koji je predložila Sovová mogu se dobro opisati ekstrakcione krive dobijene za eksperimente natkritične ekstrakcije semena uljane tikve golice u oba ekstraktora, na svim ispitivanim uslovima. Prosečna vrednost *AARD* za sve eksperimente je 2,6%.

### ***Opšti zaključak***

Variranjem vrednosti pritiska, temperature i potrošnje ugljendioksida u procesu natkritične ekstrakcije, moguće je kreirati nove prirodne proizvode, kako na bazi kleke, tako i na bazi uljane tikve golice, a prema željenoj nameni. Proizvodi dobijeni na ovaj način, etarsko ulje i masno ulje, ne sadrže tragove rastvarača, dobijaju se u najmanje moguće izmenjenom obliku u odnosu na njihovo stanje u sirovini, i ciljano mogu imati veći sadržaj jedinjenja sa aktivnim delovanjem, npr. monoterpena ili oksidovanih terpena u ekstraktima ploda kleke, i tokoferola, sterola i/ili skvalena u ekstraktima semena tikve golice. Ovakvi proizvodi mogu se koristiti kao polazna osnova za formiranje pomoćnih lekovitih sredstava sa visokim sadržajem aktivnih komponenata, za proizvodnju dijetetskih proizvoda namenjenih za ciljnu grupu potrošača, odnosno kao funkcionalna hrana.

## 7 LITERATURA

- [1] Schlieper L., "Measurement and modelling of mass transfer rates of extraction of useful components from selected herbs and algae using supercritical carbon dioxide as solvent", *Doctoral Thesis*, (1995), [http://www.dr.-schlieper.de/home-Is/supercritical\\_lang.pdf](http://www.dr.-schlieper.de/home-Is/supercritical_lang.pdf)
- [2] Brunner, G., Mass transfer from solid material in gas extraction, *Berichte Bunsengesellschaft fuer Physikalische Chemie* **88** (1984) 887-891.
- [3] Čretnik, J., Škerget, M., Knez, Ž., Separation of parthenolide from feverfew: performance of conventional and high-pressure extraction techniques, *Separation and Purification Technology* **41** (2005) 13-20.
- [4] Schwartzberg, H. G., Expression of fluid from biological solids, *Separation and Purification Methods* **26** (1997) 1-213.
- [5] Reverchon, E., De Marco, I., Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter, *The Journal of Supercritical Fluids* **38** (2006) 146-166.
- [6] Reverchon, E. J., Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products, *The Journal of Supercritical Fluids* **10** (1997) 1-13.
- [7] del Valle, J. M., de la Fuente, J. C., Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of oilseeds: Review of kinetic and equilibrium models, *Critical Reviews in Food science and Nutrition* **46** (2006) 131-160.
- [8] Kaiser, C. S., Römpf, H., Schmidt, P.C., Pharmaceutical applications of supercritical carbon dioxide, *Pharmazie* **56 (12)** (2001) 907-926.
- [9] Rozzi, N.L., Singh, R.K., Supercritical fluids and the food industry, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **1** (2002) 33-44.
- [10] Raventós, M., Duarte, S., Alarcón, R., Application and possibilities of supercritical CO<sub>2</sub> extraction in food processing industry: An overview, *Food Science and Technology International* **8(5)** (2002) 269-284.
- [11] Temelli, F. King, J- W., Application of critical fluid technology to nutraceutical extraction and refining, *Journal of Food Science* **65** (2000) 1-45.
- [12] Kiran, E. Dodebenedetti, P.G., Peters, C.J., (2000) „Supercritical Fluids: Fundamentals and Application“, Eds., Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- [13] McHugh, M. A., Krukonis, V. J., (1994) „Supercritical fluid Extraction Principles and Practice“, Butterworth-Heinemann, Boston.
- [14] Cygnarowicz, M., Primena ekstrakcije superkričnim fluidima u prehrambenoj industriji i poljoprivredi, *Hemijska industrija* **43 (11-12)** (1989) 405-410.
- [15] Skala, D., Žižović, I., Petrović, S., Etarska ulja – Destilacija, ekstrakcija, izbor tehnologije i kvalitet, *Hemijska Industrija* **53 (4-5)** (1999) 123-138.
- [16] Dimić, E., (2005) „Hladno ceđena ulja“, monografija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

- [17] Stahl, E., Schütz, E., Mangold, H., Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide, *J. Agric. Food Chem.* **28** (1980) 1153-1157.
- [18] Brogle, H., CO<sub>2</sub> in solvent extracton; CO<sub>2</sub> as a solvent: its properties and applications, *Chemistry and Industry*, 19 june (1982) 385-390.
- [19] Johnston, K. P., Peck D. G., Modeling supercritical mixtures: How predictive is it? Reviews, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **28** (1989) 1115-1125.
- [20] Hildebrand, J. H., Scott, R.L., (1950) "The Solubility of Nonelectrolytes", 3rd ed.; Reinhold Publishing Co., New York, Chapter 23.
- [21] Giddings, J.C., Myers, M.N., McLaren, L., Keller, R.A., High pressure gas chromatography of nonvolatile species, *Science* **162** (1968) 67-73.
- [22] Rizvi, S.S.H., Yu, Z.R., Bhaskar, A.R., Chidambra Raj, C.B., (1994), Fundamentals of Processing with Supercritical Fluids, Chapter 1, in "Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials" Rizvi, S.S.H., Chapman & Hall, Bishopbriggs, Glasgow, p 1-26.
- [23] Allada, S.R., Solubility parameters of supercritical fluids, *Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development* **23** (1984) 344-348.
- [24] Vargaftik, N-B., (1975) "Tables of thermophysical properties of liquids and gases", 2nd edn. New York, NY, USA: Hemisphere Publishing.
- [25] Ried, R. C., Prausnitz, J. M., Poling, B. E., (1987) "The properties of gases & liquids", Fourth edition, McGraw-Hill Book Company, New York.
- [26] Kikic, I., Thermodynamic properties, Socrates Intensive Program on High Pressure Chemical Engineering Processes: Basics and Applications (Bertucco, A., Cocero, M. J., Gamse, T., Hamley, P., Kikic, I., de Loos, T., Kleintjens, L., Knez, Ž., Lack, E., Luft, G., Recasens, F., Weichert, G., Simandi, B., Sovova, H., Schlücker, E.), Budapest, 2003.
- [27] Anisimov, M.A. and Sengers, J.V., (2000) "Critical and Crossover Phenomena in Fluids and Fluid Mixtures", in "Supercritical Fluids - Fundamentals and Applications", E.Kiran, P.G. Debenedetti, and C.J. Peters, eds. Kluwer, Dordrecht, , The Netherlands, pp. 89-121.
- [28] Recasens, F., Transport properties, Socrates Intensive Program on High Pressure Chemical Engineering Processes: Basics and Applications (Bertucco, A., Cocero, M. J., Gamse, T., Hamley, P., Kikic, I., de Loos, T., Kleintjens, L., Knez, Ž., Lack, E., Luft, G., Recasens, F., Weichert, G., Simandi, B., Sovova, H., Schlücker, E.), Budapest, 2003.
- [29] Vukalovich, M. P., Altunin, V.V., (1986) "Thermophysical properties of carbon dioxide", London, Wellingborough, Collets.
- [30] Uyehara, O.A., Watson, K.M., A universal viscosity correlation, *National Petroleum News* **36** (40) (1944) R714-R722.
- [31] Zavargo, Z. Z., R. N. Paunović, (1997) „Osnovi hemijske termodinamike”, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- [32] Catchpole, O.J., King, M. B., Measurement and correlation of binary diffusion coefficients in near critical fluids, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **33** (1994) 1828-1837.
- [33] Liu, H. Silva, C.M., Macedo, E.A., Unified approach to the self-diffusion coefficients of dense fluids over wide ranges of temperature and pressure-- hard-sphere, square-well, Lenard-Jones and real substances, *Chemical Engineering Science* **53** (1998) 2403-2422.

- [34] Liu, H. Silva, C.M., Macedo, E.A., New equations for tracer diffusion coefficients of solutes in supercritical and liquid solvents based on the Lenard-Jones fluid model, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **36** (1997) 246-252.
- [35] Funazukuri, T., Ishiwata, Y., Wakao, N., Predictive correlation for binary diffusion coefficients in dense carbon dioxide, *AIChE J.* **38** (1992) 1761-1768.
- [36] Funazukuri, T., Hachisu, S., Wakao, N., Measurement of binary diffusion coefficients of C<sub>16</sub>-C<sub>24</sub> unsaturated fatty acid methyl esters in supercritical carbon dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **30** (1991) 1323-1329.
- [37] He, C.H., Yu, Y.S., Su, W.K., Tracer diffusion coefficients of solutes in supercritical solvents, *Fluid Phase Equilibria* **142** (1998) 281-286.
- [38] Silva, C. M., Filho, C. A., Quadri, M. B., Macedo, E. A., Binary diffusion coefficients of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene in supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids* **32** (1-3) (2004) 167-175.
- [39] Hong, I. K., Rho, S. W., Lee, K. S., Lee, W. H., Yoo, K. P., Modeling of soybean oil bed extraction with supercritical carbon dioxide, *Korean Journal of Chemical Engineering*. **7** (1990) 40-46.
- [40] King, J. W., Cygnarowicz-Provst, M., Favati, F., Supercritical fluid extraction of evening primrose oil kinetic and mass transfer effects, *Italian Journal of Food Science* **9** (3) (1997) 193-204.
- [41] Fanazukari, T., Kong, C.Y., Kagei, S., Effects of molecular weight and degree of unsaturation on binary diffusion coefficients for lipids in supercritical carbon dioxide, *Fluid Phase Equilibria* **219** (2004) 67-73.
- [42] Lee, C.H., Holder, G.D., *Industrial & Engineering Chemistry Research* **34**(?) (1995) 906-?.
- [43] Wakao, N., Kaguei, S., (1982) "Heat and Mass transfer in Packed Beds", Gordon and Breach, New York, p. 156.
- [44] Tan, C.-S., Liang, S.-K, Liou, D.-C., Fluid-solid mass transfer in a supercritical fluid extractor, *Chemical Engineering Journal* **38** (1988) 17-22.
- [45] King, M. B., Catchpole, O. J., (1993) Physico-chemical Data Required for the Design of Near-Critical Fluid Extraction Process in "Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents", 184-231.
- [46] Puiggené, J., Larrayoz, M. A., Recasens, F., Free liquid- to -supercritical fluid mass transfer in packed bed, *Chemical Engineering Science* **52** (1997) 195-212.
- [47] Reverchon, E., Mathematical modeling of supercritical extraction of sage oil, *AIChE J.* **42** (1996) 1765-1771.
- [48] Wakao, N., Smith, J.M., Diffusion in catalyst pellets, *Chemical Engineering Science* **17** (1962) 825-834.
- [49] Goto, M., Smith, J.M., McCoy, B.J., Kinetics and mass transfer for supercritical fluid extraction of wood; *Industrial & Engineering Chemistry Research* **29**(2) (1990) 282-289.
- [50] Goto, M., Roy, B.C., Kodama, A., Hirose, T., Modelling supercritical fluid extraction process involving solute-solid interaction, *Journal of Chemical Engineering of Japan* **31** (1998) 171-177.

- [51] Perrut, M., Clavier, J. Y., Poletto, M., Reverchon, E., Mathematical modeling of sunflower seed extraction by supercritical CO<sub>2</sub>, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **36** (1997) 430-435.
- [52] Chrastil, J., Solubility of solids and liquids in supercritical gases, *The Journal of Physical Chemistry*. **86** (1982) 3016-3021.
- [53] Adachi, Y., Lu, B. C.-Y., Supercritical fluid extraction with carbon dioxide and ethylene, *Fluid Phase Equilibria* **14** (1983) 147-156.
- [54] dal Valle, J. M., Aguilera, J. M., An improved equation for predicting the solubility of vegetable oils in supercritical CO<sub>2</sub>, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **27** (1988) 1551-1553.
- [55] Güçlü-Üstündağ, Ö., Temelli, F., Correlating the solubility behavior of fatty acids, mono-, di-, and triglycerides, and fatty acid esters in supercritical carbon dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **39** (2000) 4756-4766.
- [56] Richter, M., Sovová, H., The solubility of two monoterpenes in supercritical carbon dioxide, *Fluid Phase Equilibria* **85** (1993) 285-300.
- [57] Sovová, H., Zarevucka, M., Vacek, M., Stransky, K., Solubility of two vegetable oils in supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids* **20** (2001) 15-28.
- [58] Hortaçsu, Ö., (2000) Modeling of natural materials extraction. In "Supercritical Fluids: Fundamentals and Application". Kiran, E. Dodebenedetti, P.G., and Peters, C.J., Eds., Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp-499-516.
- [59] Žižović, I., Stamenić, M., Orlović, A., Skala, D., Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: Mathematical modelling on the micro-scale, *The Journal of Supercritical Fluids*, **39** (2007) 338-346.
- [60] Kandiah, M., Spiro, M., Extraction of ginger rhizome: Kinetic studies with supercritical carbon dioxide, *International Journal of Food Science & Technology* **25** (1990) 328-332.
- [61] Bartle, K. D., Clifford, A. A., Hawthorne, S. B., Langenfeld, J. J., Miller, D. J., Robinson, R. A., A model for dynamic extraction using a supercritical fluid, *The Journal of Supercritical Fluids* **3** (1990) 143-147.
- [62] Reverchon, E., Donsi, G., Sesti Osséo, L., Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **32** (1993) 2721-2726.
- [63] Goto, M., Sato, M., and Hirose, T., Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering of Japan* **26**: (1993) 401-407.
- [64] Reverchon, E., Sesti Osséo, L., Gorgoglion, D., Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of basil oil: characterization of products and process modeling, *The Journal of Supercritical Fluids* **7** (3) (1994) 185-190.
- [65] Goodarznia, I., Eikani, M., Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils: Modeling and simulation, *Chemical Engineering Science*. **53** (7) (1998) 1387-1395.
- [66] Reis-Vasco, E. M. C., Coelho, J. A. P., Palavra, A. M. F., Marrone, C., Reverchon, E., Mathematical modelling and simulation of pennyroyal essential oil supercritical extraction, *Chemical Engineering Science*. **55** (2000) 2917-2922.



- [67] Gaspar, F., Lu, T., Santos, R., Al-Duri, B., Modelling the extraction of essential oils with the compressed carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids* **25** (2003) 247-260.
- [68] Žižović I., Stamenić M., Orlović A., Skala D., Supercritical carbon dioxide essential oil extraction of Lamiaceae family species: Mathematical modelling on the micro-scale and process optimization, *Chemical Engineering Science* **60** (2005) 6747-6756.
- [69] Akgün, M., Akgün, N.A., Dincer, S., Extraction and modelling of lavender flower essential oil using supercritical carbon dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **39** (2000) 473-474.
- [70] Cocero, M.J., García, J., Mathematical model of supercritical extraction applied to oil seed extraction by CO<sub>2</sub> + saturated alcohol. I. Description model, *The Journal of Supercritical Fluids* **20** (2001) 229-243.
- [71] Bulley, N. R., Fattori, M., Meisen, A., Moyls, L., Supercritical fluid extraction of vegetable seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61** (1984) 1362-1365.
- [72] Gangadhara Rao, V. S., Mukhopadhyay, M., Mass transfer studies for supercritical extraction of spices, Proc. of *The First Int. Symp. Supercritical Fluids*, Nice, France, 1988, 643.
- [73] Gil, M. G. B., King, M., Bott, T. R. Extraction of Rape-seed Oil using Compressed CO<sub>2</sub>: Evaluation of Mass transfer Coefficients, Proc. of *The First Int. Symp. Supercritical Fluids*, Nice, France, 1988, 651.
- [74] Reverchon, E. Marrone, C., Modelling and simulation of the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of vegetable oils, *The Journal of Supercritical Fluids* **19** (2001) 161-175.
- [75] Sovová, H., Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation, *The Journal of Supercritical Fluids* **33** (1) (2005) 35-52.
- [76] del Valle, J. M., Napolitano, P., Fuentes, N., Estimation of relevant mass transfer parameters for the extraction of packed substrate beds using supercritical fluids, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **39** (2000) 4720-4728.
- [77] Reverchon, E., Daghero, J., Marrone, C., Mattea, M., Poletto, M., Supercritical fractional of fennel seed oil and essential oil: experiments and mathematical modeling, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **38** (1999) 3069-3075.
- [78] Catchpole, O. J., Grey, J. B., Smallfield, B. M., Near-Critical Extraction of Sage, Celery, and Coriander Seed, *The Journal of Supercritical Fluids* **9** (1996) 273-279.
- [79] Sovová, H., Rate of vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>-modelling of extraction curves, *Chemical Engineering Science*. **49** (3) (1994) 409-414.
- [80] Sovová, H., Kučera, J., Jež, J., Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>-II. Extraction of grape oil, *Chemical Engineering Science*. **49** (3) (1994) 415-420.
- [81] Sovová, H., Komers, R., Kučera, J., Jež, J., Supercritical carbon dioxide extraction of caraway essential oil, *Chemical Engineering Science*. **49** (15) (1994) 2499-2505.
- [82] Štástová, J., Jež, J., Bártlova, M., Sovová, H., Rate of vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>. III Extraction from seed buckthorn, *Chemical Engineering Science*. **51** (1996) 4347-4352.
- [83] Marrone, C., Polleto, M., Reverchon, E., Stassi, A., Almond oil extraction by supercritical CO<sub>2</sub>: experiments and modelling, *Chemical Engineering Science*. **53** (1998) 3711-3718.

- [84] Reverchon, E., Kaziunas, A., Marrone, M., Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of hiprose seed oil: Experiments and mathematical modelling, *Chemical Engineering Science*. **55** (2000) 2195-2201.
- [85] Brunner, G., (1994) "Gas Extraction. An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes", Steinkopff Darmstadt Springer, New York.
- [86] Akgerman, A., Madras, G., (1994). Fundamentals of solids extraction by supercritical fluids. In: "Supercritical Fluids. Fundamentals and Application", Kiran, E., and Levelt Sengers J.M.H., Eds., Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 669–695.
- [87] Eggers, R., (1996) Supercritical fluid extraction (SFE) of oilseeds/lipids in natural products. In: "Supercritical Fluid Technology in Oil and Lipid Chemistry", King, J.W., and List, G.R., Eds., AOCS Press, Champaign, IL, pp 35-64.
- [88] Stüber, F., Julien, S., Recasens, F., Internal mass transfer in sintered metallic pellets filled with supercritical fluid. *Chemical Engineering Science*. **52** (1997) 3527-3542.
- [89] Lee, A. K. K., Bulley, N. R., Fattori, M., Meisen, A., Modelling of supercritical carbon dioxide extraction of canola oil seed in fixed bed, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **63** (7) (1986) 921-925.
- [90] Fattori, M., Bulley, N. R., Meisen, A., Carbon dioxide extraction of canola seed: oil solubility and effect of seed treatment, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **65** (6) (1988) 968-974.
- [91] Cuperus, F. P., Boswinkel, G., Muuse, B. G., Derksen, J. T. P., Supercritical carbon dioxide extraction of *Dimorphoteca pluvialis* oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73** (1996), 1675-1679.
- [92] Reverchon, E., Marrone, C., Supercritical extraction of clove bud essential oil: isolation and mathematical modeling, *Chemical Engineering Science*, **52** (20) (1997) 3421-3428.
- [93] Yagi, S., Kunii, D., *5th Symposium (International) on Combustion*. Reinhold, New York. 1955, p.231; *Chem. Eng. (Japan)*, **19** (1955) 500-506.
- [94] Jones, M.C., (1991) Mass transfer in supercritical extraction from solid matrices. In: "Supercritical fluid Technology: Reviews in Modern Theory and Applications" Bruno ,T.J., and Ely, J.F., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 365-381.
- [95] Goto, M., Roy, B.C., and Hirose, T., Shrinking-core leaching model for supercritical-fluid extraction, *The Journal of Supercritical Fluids* **9** (1996) 128-133.
- [96] Roy, B. C., Goto, M., Hirose, T., Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **35** (1996) 607-612.
- [97] Tezel, A., Hortaçsu, A., Hortaçsu, Ö, Multi-component models for seed and essential oil extractions, *The Journal of Supercritical Fluids* **19** (2000) 3-17.
- [98] Goto, M., Sato, M., Hirose, T., Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering of Japan* **26** (1993) 401-407.
- [99] Škerget, M., Knez, Ž., Modelling high pressure extraction processes, *Computers & Chemical Engineering* **25** (2001) 879-886.
- [100] Esquivel, M. M., Bernardo-Gil, M. G. and King, M. B., Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil, *The Journal of Supercritical Fluids* **16** (1999) 43-58.

- [101] Recasens, F., McCoy, B. J., Smith, J. M., Desorption processes: Supercritical fluid regeneration of activated carbon, *AIChE J.* **35** (1989) 951-958.
- [102] Roy, B. C., Goto, M., Hirose, T., Extraction rates from tomato seeds with supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering of Japan* **27** (1994) 768-772.
- [103] Peker, H., Srinivasan, M. P., Smith, J. M., McCoy, B. J., Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide, *AIChE J.* **38** (1992) 761-770.
- [104] Carslaw, H. S., Jaeger, J. S., (1959) "Conduction of Heat in Solids", Clarendon: Oxford, pp. 233-235.
- [105] Crank, J., (1975), "The Mathematics of Diffusion", Clarendon: Oxford, pp. 89-103.
- [106] Poletto, M. Reverchon, E., Comparison of models for supercritical fluid extraction of seed and essential oils in relation to the mass transfer rate, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **35** (1996) 3680-3686.
- [107] Reverchon, E., Sesti Osséo L., Modelling the Supercritical Extraction of Basil Oil; *Third Int. Symp. Supercrit. Fluids* Vol. 2., 1994, 189-196.
- [108] Villiermaux, J., Chemical engineering approach to dynamic modeling of linear chromatography: a flexible method for representing complex phenomena from simple concepts, *Journal of Chromatography* **406** (1987) 11-26.
- [109] del Valle, J. M., Uquicke, E. L., Particle size-effects on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil-containing seeds, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **79** (2002) 1261-1266.
- [110] King, M. B., Bott, T. R., Barr, M.J. Mahmud, R. S., Sanders, N., Equilibrium and rate data for the extraction of lipids using compressed carbon dioxide *Separation Science and Technology*. **22** (1987) 1103-1120.
- [111] Stamenić, M., Žižović I., Orlović, A., Skala, D., Mathematical modelling of essential oil SFE on the microscale-Classification of plant material, *The Journal of Supercritical Fluids*, **46** (2008) 285-292.
- [112] Fiori, L., Basso, D., Costa, P., Supercritical extraction kinetics of seed oil: A new model bridging the 'broken and intact cells' and 'shrinking-core models', *The Journal of Supercritical Fluids*, **48** (2009) 131-138.
- [113] Leung, A. Y., Foster, S., (1996) "Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics", 2nd Edition, John Wiley Sons, Inc.: New York Chichester Brisbane Toronto Singapore, p. 325-327.
- [114] Arctander, S., (1960) "Perfume and Flavor Materials of Natural Origin", Elizabeth: New York.
- [115] Stanković, M.Z., Veljković, V.B., Lazić, M.L., (1994) „Bioaktivni proizvodi iz ploda kleke (*Juniperus communis* L.)“-monografija, Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu, Leskovac, str. 7.
- [116] Horster, H., Variabilität der Ole von *Juniperus communis*. II. Die Zusammensetzung der Ole Reifer und Unreifer Fruchte, *Planta Medica* **25(1)** (1974) 73-79.
- [117] De Pascual Teresa, J., Bellido I. S., San Feliciano, A., Components of *Juniperus communis* L. fruits. II. Essential oil, *Anales de Quimica* **72 (7-8)** (1976) 657-660.
- [118] Bonaga, G., Galletti, G. C., Analysis of volatile components in juniper (*Juniperus communis*) oil by high-resolution gas chromatography and combined gas chromatography/mass spectrometry, *Annali Di Chimica (Italy)* **75(3-4)** (1985) 131-136.

- [119] Lamparsky, D., Klimeš, I., New results of the analysis of juniper berry oil in view of the terpenoid components, *Parfumerie und Kosmetik*, **66 (9)** (1985) 553-556, 558, 560.
- [120] Vernin, G., Boniface, C., Zamkostian, R. M., Vernin, G. M. F., Metzger, J., Suon, K. N., Fraisse, D., Parkanyi C., GC-MS-SPECMA Bank Analysis of *Juniperus communis* needles and berries, *Phytochemistry* **27(4)** (1988) 1061-1064.
- [121] Kallio, H.; Junger-Mannermaa K., Maritime influence on the volatile terpenes in the berries of different ecotypes of *Juniperus (Juniperus communis L.)* in Finland, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **37** (1989) 1013-1016.
- [122] Chatzopoulou, P. S., Katsiotis S. T., Study of the essential oil from *Juniperus communis* "berries" (cones) growing wild in Greece, *Planta Medica* **59(6)** (1993) 554-556.
- [123] Schilcher, H., Emmrich, D., Koehler, C., Gaschromatographischer Vergleich von ätherischen Wacholderölen und deren toxikologische Bewertung (GLC comparison of commercially available Juniper oils and their toxicological evaluation). *PZ-Wissenschaft* 1993, 3/4 6/138, 85-91.
- [124] Sybilska, D., Asztemborska, M., Kowalczyk, J., Ochocka, R. J., Ossicini, L., Perez, G., Enantiomeric composition of terpenic hydrocarbons in essential oils from *Juniperus communis L.*, *Journal of Chromatography A* 659(2) (1994) 389-394.
- [125] Ochocka, J. R.; Asztemborska, M. Enantiomers of monoterpenic hydrocarbons in essential oils from *Juniperus communis*, *Phytochemistry Oxford* **44(5)** (1997) 869-873.
- [126] Koukos, P., Papadopoulou, K. I., Essential oil of *Juniperus communis L.* grown in Northern Greece: Variation of fruit oil yield and composition, *Journal of Essential Oil Research* **9** (1997) 35-39.
- [127] Angioni, A., Barra, A., Russo, M. T., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51 (10)** (2003) 3073-3078.
- [128] Damjanovic, B. M., Skala, D., Petrović-Djakov, D., Baras, J., A Comparison Between the Oil, Hexane Extract and Supercritical Carbon Dioxide Extract of *Juniperus Communis L.*, *Journal of Essential Oil Research* **15 (2)** (2003) 90-92.
- [129] Damjanovic, B., Skala, D., Baras, J., Petrović-Djakov, D., Isolation of essential oil and supercritical carbon dioxide extract of *Juniperus Communis L.* fruits from Montenegro, *Flavour & Fragrance Journal* **21 (6)** (2006) 875-880.
- [130] Gmeiner, H., Wert und Wirkung von Fructus und Oleum Juniperi. *Deutsche Tierärztl. Wschr.*, **14** (1906) 169-198.
- [131] Schilcher, H., Heil, B.M., Nierentoxizität von Wacholderbeerzubereitungen: Eine kritische Literaturswertung von 1844 bis 1993. *Zeitschrift für Phytotherapie* **15** (1994) 205-213.
- [132] Corrigan, D., (1993) "Juniperus species. In: De Smet PAGM", Keller, K.; Hänsel, R.; Chandler, R. F.; "Adverse effects of herbal drugs", 2nd edition; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest, 217-229.
- [133] Monograph "Juniperus fructus", published by the Commission E of the Federal Health office in Berlin, *Bundesanzeiger*, Dec. 5, 1988, no. 228.
- [134] Wegener, T., G-P. Schmidt, Wacholderbeeröl-ein Aquaretikum. *Biologische medizin* **24 (2)** (1995) 111-113.

- [135] Glišić, S. B., Milojević. S. Ž., Dimitrijević S. I., Orlović A M, Skala D. U., Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics, *Journal of Serbian Chemical Society*. **72** (4) (2007) 311-320.
- [136] Österreichisches Arzneibuch 9 (ÖAB 9). Österreichisches Staatsdrkerei, Wien, 1967.
- [137] Pharmacopoeia Jugoslavica, Editio quarta (Ph. Jug. IV), Savezni Zavod za Zdravstvenu Zastitu, Beograd, 1984.
- [138] Farmacopoea Ufficiale Italiana X edizione, Droghe vegetali e preparacioni – Istituto Poligrafico e Zecca della Stato, 1998.
- [139] De Medina, S. F., Gamez, M. J., Jimenez, I., Osuna, J. I., Zarzuelo, A., Hypoglycaemic activity of juniper “berries”, *Planta Medica* 60 (1994) 197-200.
- [140] Gardner, D. R., Panter, K. E., James, L. F., Stegelmeier, B. L., Abortifacient effects of lodgepole pine (*Pinus contorta*) and common juniper (*Juniperus communis*) on cattle, *Veterinary and Human Toxicology* **40** (5) (1998) 260-263.
- [141] Tunon, H., Olavsdotter, C, Bohlin, L., Evaluation of Antiinflammatory Activity of Some Swedish Medicinal Plants – Inhibition of Prostaglandin Biosynthesis and PAF-induced Exocytosis, *Journal of Ethnopharmacology* **48** (2) (1995) 61-76.
- [142] Jimenez-Arellanes, A., Meckes, M., Ramirez, R., Torres, J., Luna-Herrera, J., Activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mexican plants used to treat respiratory diseases, *Phytotherapy Research* **17** (8), (2003) 903-908.
- [143] Filipowicz, N., Kaminski, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M., Ochocka, J.R., Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components, *Phytotherapy Research* 17 (3) (2003) 227-231.
- [144] Sovilj V., Petrović L., Sovilj M. Nikolovski B., Dimić G., Antibakterijska aktivnost mikrokapsuliranog ekstrakta kleke, *IX Dani lekovitog bilja*, Zbornik izvoda, Kosmaj, R. Srbija, 17-20. septembar 2008. 90-91.
- [145] Nikolovski B., Sovilj M. Kocić-Tanackov S., Primena natkritičnog ugljendioksida za dobijanje i deterpenizaciju etarskog ulja kleke (*Juniperus communis* L.), *IX Dani lekovitog bilja*, Zbornik izvoda, Kosmaj, R. Srbija, 17-20. septembar 2008, 104-105.
- [146] Moiler, D. A., CO<sub>2</sub> Extraction of Essential Oils: Part I, Hops, Juniper berry, Ginger, *Perfumer & Flavorist* **9** (1984) 109-133.
- [147] Moiler, D. A., Extraction of Essential Oils with Carbon Dioxide, *Flavour and Fragrance Journal* **8** (1993) 235-247.
- [148] Chatzopoulou, P., de Haan, A., Katsiotis, S.T., Investigation on the Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of the Volatile Constituents from *Juniperus communis* Obtained under Different Treatments of the “Berries” (Cones), *Planta Medica* **68** (9) (2002) 827-831.
- [149] Barjaktarović, B., Sovilj, M., Knez, Ž., Chemical composition of *Juniperus communis* L. fruits supercritical CO<sub>2</sub> extracts: dependence on pressure and extraction time, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (8) (2005) 2630-2636.
- [150] Branislava G. Barjaktarović, Milan N. Sovilj, Željko Knez: Supercritical Fluid Extraction of *Juniperus communis* L., *The 6th International Symposium on Interdisciplinary Regional Research Hungary - Romania - Yugoslavia*, Novi Sad, Yugoslavia: CD-ROM Proceedings, 3-4. October, 2002, p. 0428

- [151] Barjaktarović, B., Knez, Ž., Sovilj, M.: Extraction of *Juniperus communis* L. with Supercritical Carbon Dioxide, *4th European Congress of Chemical Engineering*, Granada, Spain: European Federation of Chemical Engineering, 20/22 September, 2003, pp. 224- 226.
- [152] Berenji, J., Uljana tikva i tikvino ulje, Revija „Agronomska saznanja“, *Internet magazin Poljoprivreda.info*, <http://www.poljoprivreda.info/?oid=2&id=168>, od 19.05.2003, datum poslednje promene 21.09.2008.
- [153] Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Tehnologija gajenja uljane tikve, *Int. magz. Poljoprivreda.info*, <http://www.poljoprivreda.info/?oid=2&id=565>, od 03.03.2006. , datum poslednje promene 21.09.2008.
- [154] Murkovic M., Pflannhauser, W., Stability of pumpkin seed oil, *European Journal of Lipid Science and. Technology* **102** (2000) 607-611.
- [155] El-Adawy, T. A., Taha, K. M., Characteristics and composition of different seed oils and flours, *Food Chemistry* **74** (2001) 47-54.
- [156] Bombardelli, E., Morazzoni, P., *Cucurbita pepo* L., *Fitoterapia* **68** (1997) 291-303.
- [157] Fahim A. T., Abd-El Fattah, A.A., Agha, A. M., Gad, M.Z., Effect of pumpkin-seed oil on the level of free radical scavengers induced during adjuvant-arthritis in rats, *Pharmacological Research* **31** (1995) 73-79.
- [158] Al-Zuhair, H., Abd El-Fattah, A.A., Abd El-Latif, H.A., Efficacy of simvastatin and pumpkin-seed oil in the management of dietary-induced hypercholesterolemia, *Pharmacological Research* **35** (1997) 403-408.
- [159] Al-Zuhair, H.; Abd El-Fattah, A.A., El-Sayed, M.I., Pumpkin-seed oil modulates the effect of felodipine and cartopril in spontaneously hypertensive rats, *Pharmacological Research* **41** (2000) 555-563.
- [160] <http://www.organicfoodee.com/herbs/ pumpkinseedoil.html>
- [161] Caili, F., Huan, S., Quanhong, L., A review of pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin, *Plant Foods for Human Nutrition* (formerly *Qualitas Plantarum*), **61(2)** (2006) 70-77.
- [162] Hillebrand, A., Murkovic, M., Winkler, J., Pflannhauser, W.: A high content of vitamin E and unsaturated fatty acids as a new aim of the pumpkin breeder, *Ernährung/Nutrition*, **20** (1996) 525-527.
- [163] Mandl, A., Reich, G. Lindner, W., Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific  $\Delta^7$ -phytosterols, *European Food Research and Technology* **209** (1999) 400-406.
- [164] Schuster, W., Zipse, W., Marquard, R. The influence of genotype and growing location on several substances of seeds of the pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), *Fat. Sci. Technol.* **85** (1983) 56-64.
- [165] Wentzel, C. Recent studies on the fatty acid composition of Styrian pumpkin seed oils. *Ernährung/Nutrition* **11** (1987) 752-755.
- [166] Murkovic, M., Hillebrand, A., Winkler, J., Pflannhauser, W.: Variability of fatty acid content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.) *European Food Research and Technology* **203** (1996) 216-219.

- [167] Mateos, R., Uceda, M., Aguilera, M. P., Escuderos, M. E., Maza, G. B., Relationship of Rancimat method values at varying temperatures for virgin oil, *European Food Research and Technology* **223** (2006) 246-252.
- [168] Nederal Nakić, S. Rade, D., Škevin, D., Štrucelj, D., Mokrovčak, Ž., Bartolić, M., Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L., *European Journal of Lipid Science and Technology*. **108** (2006) 936-943.
- [169] Shahidi, F., Shukla, V. K. S., Nantriacylglycerol constituents of fats, *Oils. Inform.* **7** (1996) 1227-1232.
- [170] Aust, O., Sies, H., Stahl, W., Polidori, M.C., Analysis of lipophylic antioxidants in human serum and tissues: Tocopherols and Carotenoids, *Journal of Chromatography A* **936** (2001) 83-93.
- [171] Johannsen, M., Brunner, G., Solubilities of the Fat-Soluble Vitamins A, D, E, and K in supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering Data* **42** (1997) 106-111
- [172] Murkovic, M., Piironen, V., Lampi, A M., Kraushofer, T., Sontag, G., Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds), *Food Chemistry* **84** (3) (2004) 359-365.
- [173] Akihisa, T., Ghosh, P., Thakur, S., Rosenstein, F. U, Matsumoto, T., Sterol compositions of seeds and mature plants of family *Cucurbitaceae*, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **63** (5) (1986) 653-658.
- [174] Wenzl, T., Prettnner, E., Schweiger, K., Wagner, F., An improved method to discover adulteration of Styrian pumpkin seed oil, *J. Biochem. Biophys. Methods* **53** (2002) 193-202.
- [175] Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T. A., Toivo, A., Lampi, A-M., Review: Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **80** (2000) 939-966.
- [176] Abidi, S.L., Review Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils, *Journal of Chromatography A*, **935** (1) (2001) 173-201.
- [177] Kelly, G.S., Squalene and its potential clinical uses, *Alternative Med. Rev.* **4** (1999) 29-36.
- [178] Smith, T.J., Yang, G.Y., Seril, D.N., Liao, J., Kim, S., Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene, *Carcinogenesis* **19** (1998) 703-706.
- [179] Vázquez, L., Torres, C.F., Fornari, T., Señoráns, F.J, Reglero, G., Recovery of squalene from vegetable oil sources using countercurrent supercritical carbon dioxide extraction, *The Journal of Supercritical Fluids* **40** (2007) 59-66.
- [180] Turner, C., King, J. W., Mathiasson, L., Supercritical fluid extraction and chromatography for fat-soluble vitamin analysis, *Journal of Chromatography A* **936** (2001) 215-237.
- [181] Sicilia, T., Niemeyer, H.B., Honig, D.M., Metzler, M., Identification and Stereochemical Characterisation of Lignans in Flaxseed and Pumpkin Seeds, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 1181-1188.
- [182] Friedrich, J. P., List, G. R., Characterization of soybean oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub> and hexane, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **30** (1982) 192-193.

- [183] Snyder, J. M., Friedrich, J. P., Christianson, Effect of Moisture and Particle size on the extractability of oils from seed with supercritical CO<sub>2</sub>, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61** (1984) 1851-1856.
- [184] Eggers, R., Sievers, U., Stein, W., High-pressure extraction of oil seed, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **62** (1985) 1222-1230.
- [185] Dobarganes Nodar, M., Molero Gómez, A., Martinez de la Ossa E., Characterisation and process development of supercritical fluid extraction of soybean oil, *Food Science and Technology International* **8 (6)** (2002) 337-342.
- [186] Bozan, B., Temelli, T., Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Flaxseed, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **79 (3)** (2002) 231-235.
- [187] Barthet, V. J., Daun, J. K., An Evaluation of Supercritical Fluid Extraction as an Analytical Tool to Determine Fat in Canola, Flax, Solin, and Mustard, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **79 (3)** (2002) 245-251.
- [188] Nikolovski, B. Sovilj, M., Đokić, M., Vidović, S., Kinetika i modelovanje ekstrakcije ulja iz semena lana (*Linum usitatissimum* L.) natkritičnim ugljendioksidom, *Hemijska industrija*, **62 (5)** (2008) 283-292.
- [189] List, G.R., Friedrich, J.P., Pominsky, J., Characterisation and processing of cottonseed oil obtained by extraction with supercritical carbon dioxide, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61** (1984) 1847-1893.
- [190] Christianson, D.D., Friedrich, J.P., List, G.R., Warner, K., Bagley, E.B., Stringfellow, A.C., Inglett, G.E., SFE of dry milled corn germ with carbon dioxide, *Journal of Food Science* **49** (1984) 229-233.
- [191] Taniguki, M., Tsuji, T., Shibata, M., Kobayashi, T., Extraction of weat germ with supercritical carbon dioxide, *Agricultural and Biological Chemistry*. **49(8)** (1985) 2367-2372.
- [192] Molero Gómez, A., Martinez de la Ossa, E., Quality of wheat germ oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide, *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77 (9)** (2000) 969-974.
- [193] Fors, S.M., Ericksson, C.E., Characterisation of oil extracted from from oats by supercritical carbon dioxide, *Lebensmittel Wiss. U. Technol.* **23** (1985) 390-395.
- [194] Ramsay, M. E., Hsu, J. T., Novak, R. A., Reigler, W. J., Processing rice bran by SFE, *Food Technology*. **98** (1991) 98-104.
- [195] Favati, F., King, J. W., Mazzanti, A., Supercritical carbon dioxide extraction of evening primrose oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **68** (1991) 422-427.
- [196] Stahl, E., Quirin, K. W., Blagrove, R. J., Extraction of seed oils with supercritical carbon dioxide: effect on residual proteins, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry* **32** (1984) 930-940.
- [197] Goodrum, J. W., Kilgo, M. B., Peanut oil Extraction, using compressed CO<sub>2</sub>, *Energy and Agriculture* **6** (1987) 265-271.
- [198] Molero Gómez, A., Pereyra Lopez, C., Martinez de la Ossa, E., Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide: a comparison with conventional solvent extraction, *The Chemical Engineering Journal* **61** (1996) 227-231.
- [199] Molero Gómez, A., Martinez de la Ossa, E., Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide, *The Chemical Engineering Journal* **86** (2001) 1-7.



- [200] Kalra, H., Chung, S. Y. -K., Chen, C. -J., Phase equilibrium data for supercritical extracton of lemon flavors and palm oils with carbon dioxide, *Fluid Phase Equilibria* **36** (1987) 263-278.
- [201] Barjaktarović B., Škrinjar M., Škerget M., Knez Ž., Sovilj M., "Recovery of pumpkin seed oil by supercritical carbon dioxide extraction: A comparison with conventional solvent extraction", Proceedings of the 16th International Congress of Chemical and Process Engineering, 22-26 August, 2004, Prague, Czech Republic
- [202] Wenli, Y., Yaping, Z., Jingjing, C., Bo, S., Comparison of two kinds of pumpkin seed oils obtained by supercritical CO<sub>2</sub> extraction, *European Journal of Lipid Science and Technology* **106** (2004) 355-358.
- [203] Bernardo-Gil, M.G., Cardoso Lopes, L. M., Supercritical fluid extraction of *Cucurbita ficifolia* seed oil, *European Food Research and Technology* **219** (2004) 593-597.
- [204] Taylor, S. L., Eller, F. J., Jackson, M. A., Stevenson, D. G., Pressurized fluid extraction of pumpkin seed and pumpkin seed pressed cake [abstract], Pittsburgh Conference, 2006, Pittsburgh, USA, p. 1220-5.
- [205] Zeković, Z., Doktorska disertacija: Ekstrakcija timijana (*Thymus vulgaris* L.) superkritičnim ugljendioksidom, Novi Sad, 1998.
- [206] Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode, „Službeni list SRJ“ br, 54/1999.
- [207] SRPS ISO 662: 2000 – Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje sadržaja vlage i isparljivih materija.
- [208] SRPS ISO 662: 2000 – Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti.
- [209] SRPS ISO 3960: 2001 – Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje peroksidnog broja.
- [210] SRPS ISO 6885: 2003 – Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje anisidinskog broja.
- [211] ISO 6886: 1986 – Animal and vegetable fats and oils – determination of oxidation stability (Accelerated oxidation test).
- [212] Humphrey, A. M.; Bevis, D. J.; Cummings, E.; Farley, D.; Forshaw, D. M.; Harris, J. R.; Matthews, W. S.; Michalkiewicz, D. M.; Milchard, M.; Moyler, D. A.; Osbiston, A.; Ridlington, J.; Silvester, D.; Wilson, J. J. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. 11. Monographs for Seven Essential Oils. *Analyst* **1984**, 109, 1343-1360.
- [213] Milchard, M. J.; Humphrey, A. M.; Boley, N.; Conway, B.; Esdale, R.; Flowerdew, M.; Michalkiewicz, D. M.; Moyler, D. A.; Osbiston, A.; Powis, D.; Sherlock, A.; Smith, R.; Smith, S.; Starr, B.; Stevens, T. M.; Wilson, J. J. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. 17. Fingerprinting of Essential Oils by Temperature-Programmed Gas-Liquid Chromatography Using Capillary Columns with Nonpolar Stationary Phases. *Analyst* **1997**, 122 (10), 1167-1174.
- [214] Vernin, G.; Metzger, J.; Suon, K. N.; Fraisse, D.; Ghiglione, C.; Hamoud, A.; Parkanyi, C. GC-MS-SPECMA Bank Analysis of Essential Oils and Aromas, GC-MS (EI-PCI) Data Bank Analysis of Sesquiterpenic Compounds in Juniper Needle Oil-Application of the Mass Fragmentometry SIM Technique. *Lebensm. -Wiss. U. -Technol.* **1990**, 23, 25-33.

- [215] Marjanović, N. J., Krstić, B. Đ., (1998) Instrumentalne metode u biološkim istraživanjima, Tehnološki i Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- [216] Strobl, M., (2004) Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades,  $\Delta^7$ -Sterole und  $\Delta^7$ -Sterolglykoside aus Samen von *Cucurbita pepo* L.: Isolierung und Strukturaufklärung, Fakultät für Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- [217] Barjaktarović, B., Sovilj, M.: “Ekstrakcija ploda kleke (*Juniperus communis* L.) natkritičnim ugljendioksidom: eksperiment i modelovanje ”, *XLIII Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, 24-25 januar, 2005., Beograd
- [218] Barjaktarović, B., Sovilj, M.: Modelovanje ekstrakcije različitih biljnih sirovina superkritičnim CO<sub>2</sub>, *XLII Savetovanje Srpskog Hemijskog Društva*, Novi Sad: Srpsko hemijsko društvo, 22.-23. januar 2004, str 51.
- [219] Barjaktarović, B., Sovilj M., Knez, Ž., Extraction of Pumpkin Seed Oil by Supercritical Carbon Dioxide, *XVIII Congress of the Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid, Republic of Macedonia, Society of Chemists and Technologists of Macedonia, CD-ROM, 23.-25. September, 2004.
- [220] Sovilj, M., Barjaktarović, G.: Kinetika ekstrakcije ulja iz semena uljane tikve (*Cucurbita pepo* L.) natkritičnim CO<sub>2</sub>”, *Hemijska Industrija*, 2005, Vol. 59, No. 9-10, str. 238- 243, UDK: 66:54 (05), ISSN 0367-598 X
- [221] Sovilj, M., Barjaktarović, B.: Kinetika ekstrakcije ulja iz semena uljane tikve (*Cucurbita pepo* L.) natkritičnim CO<sub>2</sub>, *VI Simpozijum “Savremene tehnologije i privredni razvoj”*, Leskovac: Tehnološki fakultet u Leskovcu, 21.-22. Oktobar, 2005, str. 235-236, UDK: 6(048), ISBN 86-82367-60-2.
- [222] Spiro, M, Kandiah, M., Extraction of ginger rhizome: kinetics studies with acetone, *International Journal of Food Science and Technology*, 24, (1989), 589-600.
- [223] Phohl, O., Petkov, S., Brunner, G., PE2000-A powerful tool to correlate phase equilibria, 2000.
- [224] Kim, K.H., Hong, J., Equilibrium solubilities of spearmint oil components in supercritical carbon dioxide, *Fluid phase Equilibria* (1999), 164, 107-115.
- [225] Sovová H., Stateva, R.P., Galushko, A.A., Essential oils from seeds: solubility of limonene in supercritical CO<sub>2</sub> and How it is affected by fatty oil, *The Journal of Supercritical Fluids*, (2001), 20, 113-129.
- [226] Di Giacomo, G., Brandini, V., Del Re, G., Mucciante, V., Solubility of essential oil components in compressed supercritical carbon dioxide, *Fluid phase equilibria*, (1989), 52, 405-411.
- [227] Stahl E., Gerard, D., Solubility behavior and Fractionation of Essential oils in Dense Carbon Dioxide., *Perf. Flavor.*, (1985) 10, 29-37.
- [228] Hrabovski N., Nikolovski, B., Pantaleeva, D., Mandić A., Sinadinović-Fišer, S, Sovilj, M., Tocopherols content in a supercritical carbon dioxide extracted pumpkin seed oil, Proceedings, International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business, ICoSTAF2008, Novembar 5-6, 2008, Szeged, Summaries of Lectures and Posters, 99-100.
- [229] Nikolovski B., Hrabovski N., Sinadinović-Fišer, S. Sovilj M., Sterols in a supercritical carbon dioxide extracted pumpkin seed oil, International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business, ICoSTAF2008, Novembar 5-6, 2008, Szeged, Summaries of Lectures and Posters, 101-102.

- [230] Nikolovski B., Hrabovski N, Sinadinović-Fišer S, Sovilj M., Dobijanje ulja semena tikve golice obogaćenog fitosterolima postupkom natkritične ekstrakcije, *IX Dani lekovitog bilja*, Zbornik izvoda, Kosmaj, R. Srbija, 17-20. septembar 2008, 68-69.
- [231] Lydersen, A. L., R. A. Greencorn, O. A. Hougen, “*Generalized Thermodynamic Properties of Pure Fluids*”, Univ. Wisconsin Coll. Eng., Eng. Exp. Stn., Rept 4., Madison, Wis., October 1955.
- [232] Hougen, O., K. M. Watson, R. A. Ragatz, (1959) “*Chemical Process Principles, pt. II*”, Wiley, New York.
- [233] Edwards, M. N. B., Thodos, G., Prediction of saturated vapor densities for nonpolar substances, *Journal of Chemical Engineering Data* **19** (1) (1974) 14-18.
- [234] Lee, B.I., Kesler, M.G., A generalized thermodynamic correlation based on three-parameter corresponding states thermodynamic properties, *AIChE J.* 21 (3) (1975) 510-527.
- [235] Nelson, L.C., Obert, E.F., Generalized p-v-T properties of gases, *Trans. ASME* 76 (7) (1954) 1057-1066.
- [236] Breedveld, G. J. E., Prausnitz, J. M., Thermodynamic properties of supercritical fluids and their mixtures at very high pressures, *AIChE J.* 19 (1973) 783-790.
- [237] Pitzer, K. S., Lippmann, D. Z., Curl, R. F., Huggins, C. M., Petersen, D. E., a volumetric and thermodynamic properties of fluids. II. Compressibility factor, vapor pressure and entropy of vaporization, *J. Am. Chem. Soc.* **77** (1955) 3433-3439.
- [238] Edmister, W. C., Applied hydrocarbon thermodynamics: part 4. compressibility factors and equations of state, *Petrol. Refiner.* **37**(4) (1958) 173-179.
- [239] Hsiao, Y-J., Lu, B. C.-Y., Extension of the pitzer correlation for compressibility factor calculations *Can. J. Chem. Eng.* **57** (1979) 102-106.
- [240] Lu B. C.-Y., Ruether, J. A. , His, C., Chiu, C.-H., Generalized correlation of saturated liquid densities, *J. Chem. Eng. Data* 18 (1973) 241-243.
- [241] Hankinson, R. W., Thomson, G. H. A new correlation for saturated densities of liquids and their mixtures” *AIChE J.*, 25 (1979) 653-663.
- [242] Kay, W. B., Density of hydrocarbon gases and vapors, *Ind. Eng. Chem.*, 28, (1936): 1014-1019.
- [243] Spencer, C. F., Danner, R. P., Prediction of bubble-point density of mixtures” *J. Chem. Eng. Data*, 18 (2) (1973): 230-234.
- [244] Chueh, P. L., Prausnitz, J. M., Vapor-liquid equilibria at high pressures: calculation of partial molar volumes in nonpolar liquid mixtures, *AIChE J.*, 13 (1967): 1099-1107.



## 8 PRILOG

### 8.1. NEOPHODNI PODACI ZA PRORAČUN REDUKOVANOG FAKTORA RASTVORLJIVOSTI

Vrednosti faktora stišljivosti  $Z$  i  $(U^{ig}-U)/T_C$  mogu se izračunati iz bilo koje od dobro poznatih jednačina stanja, na osnovu sledećih izraza:

$$pV_m = ZRT \quad (116)$$

$$Z = F(T_r, P_r, Z_c) \text{ ili } Z = F(T_r, P_r, \omega) \quad (117)$$

$$\left( \frac{H^{id} - H}{T_c} \right) = \left[ RT_r^2 \int_0^{P_r} \left( \frac{\partial Z}{\partial T_r} \right)_{P_r} \frac{dP_r}{P_r} \right]_T \quad (118)$$

$$\left( \frac{U^{id} - U}{T_c} \right) = \left( \frac{H^{id} - H}{T_c} \right) - (1 - Z)RT_r \quad (119)$$

gde je  $H$  entalpija natkritičnog fluida, a  $H^{ig}$  entalpija idealnog gasa na istoj temperaturi. Vrednosti za  $(H^{ig} - H)/T_C$  mogu se naći u literaturi [25].

Parametar stišljivosti se može proceniti na osnovu principa korespondentnih stanja. U Lydersen-Greencorn-Hougen tablicama [231], koje su se prvi put pojavile 1955. godine, a kasnije modifikovane [232], vrednosti faktora stišljivosti date su kao funkcije redukovanih vrednosti pritiska i temperature, ali za različite vrednosti kritičnog faktora stišljivosti kao parametra. Edwards i Thodos [233] su takođe upotrebili  $Z_c$  u jednoj korelaciji za procenu gustina zasićenih para nepolarnih supstanci. Pitzer i sar. [237] su utvrdili da je funkcija  $Z(T_r, P_r, \omega)$  približno linearna po  $\omega$ , pa su formulisali troparametarski princip korespondentnih stanja (TPKS) u formi:

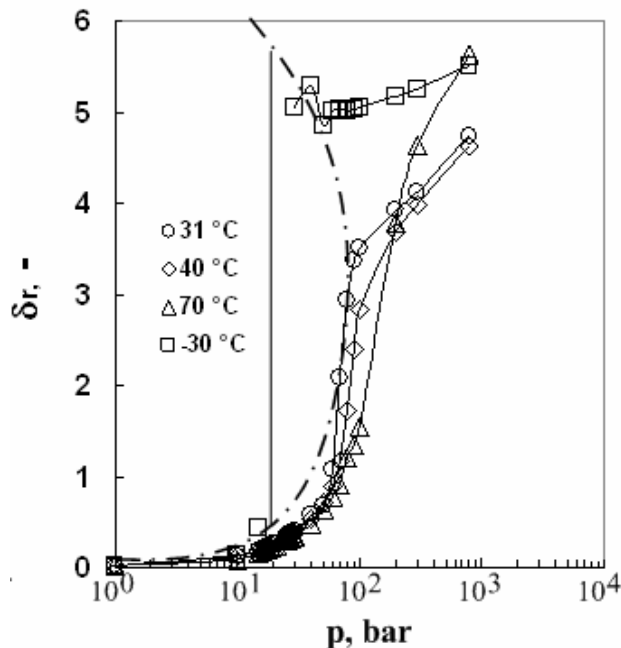
$$Z = Z^{(0)}(T_r, P_r) + \omega \cdot Z^{(1)}(T_r, P_r) \quad (120)$$

gde se  $Z^{(0)}$  odnosi na sferne molekule, a  $Z^{(1)}$  daje korekciju nesferičnosti. Jednačina (120), poznata kao Pitzer-Curl relacija, pokazala se tačnom i opštom u slučaju čistih gasova, ali se može primeniti i na tečnosti.

Pitzer i sar. [237] su tabelarno prikazali vrednosti za  $Z^{(0)}$  i  $Z^{(1)}$  u funkciji  $T_r$  i  $P_r$ , dok je Edmister [238] prikazao iste vrednosti grafički. U literaturi [239, 240] su prikazane modifikovane vrednosti parametara, kao i proširenja na širi opseg vrednosti  $T_r$  i  $P_r$ .

Reid i sar. u priručniku [25] daju tabele vrednosti  $Z^{(0)}$  i  $Z^{(1)}$ , za različite vrednosti dva redukovana parametra, čiji su autori Lee i Kesler [234], koje se mogu koristiti za izračunavanje koeficijenta stišljivosti ( $Z$ ) i za gasove i za tečnosti. U priručniku [25] su takođe dati i najčešće korišćeni dijagrami za određivanje koeficijenta stišljivosti, nastali na osnovu eksperimentalnih  $PVT$  podataka (autori Nelson i Obert [235]). Reid i sar. [25] preporučuju da je, za veoma visoke pritiske ili visoke temperature, poželjno koristiti redukovane pritisak-temperatura-gustina dijagrame, čiji su autori Breedveld i Prausnitz [236].

Na slici 8-1. prikazane su vrednosti redukovanog parametra rastvorljivosti za ugljendioksid na temperaturama 31, 40, 70 i -30°C,



**Slika 8-75.** Redukovani parametar rastvorljivosti za ugljendioksid: 31°C (○), 40°C (◇); 70°C (Δ); -30°C (□).

## 8.2. PRAVILA MEŠANJA – OPŠTI PRINCIPI

Svako pravilo mešanja tipično omogućava da se neki parametar smeše,  $Q_m$ , izrazi preko sastava date smeše i parametara čistih komponenata prisutnih u smeši na sledeći način [25]:

$$Q_m = \sum_i \sum_j x_i x_j Q_{ij} \quad (121)$$

U jednačini (121),  $Q_{ii}$  i  $Q_{jj}$  obuhvataju svojstva čistih komponenata  $i$  i  $j$ , tj. imaju iste vrednosti kao  $Q_i$  i  $Q_j$ , dok se za određivanje mešovitih koeficijenata (unakrsnih ili binarnih koeficijenata),  $Q_{ij}$ , koriste pravila kombinovanja, koja se svode na izjednačavanje pomenutih koeficijenata sa aritmetičkom ili geometrijskom sredinom, čime se dvostruko sumiranje u izrazu (121) redukuje na jednostruko sumiranje.

$$\text{Za } Q_{ij} = \frac{Q_{ii} + Q_{jj}}{2} \quad Q_m = \sum_i x_i Q_i \quad (122)$$

$$\text{Za } Q_{ij} = (Q_{ii}Q_{jj})^{1/2} \quad Q_m = (\sum_i x_i Q_i^{1/2})^2 \quad (123)$$

Navedene dve jednačine van der Waals je originalno predložio kao pravila mešanja za svoju jednačinu stanja. U većini slučajeva, aritmetička sredina se koristi u slučaju procene svojstava vezanih za veličinu molekula, a geometrijska sredina za određivanje energetskih parametara. Uvođenjem binarnog interakcionog parametra  $k_{ij}$  u izraz za  $Q_{ij}$ , popravljaju se predviđanja, a jedna mogućnost primene parametra  $k_{ij}$  je sledeća:

$$Q_{ij} = \frac{k_{ij}(Q_{ii} + Q_{jj})}{2} \quad (124)$$

Vrednosti  $k_{ij}$  za sve moguće binarne parove u nekoj smeši određuju regresijom eksperimentalnih podataka za binarnu smešu. Obično se smatra da vrednost binarnog interakcionog parametra za neku smešu ne zavisi od temperature, pritiska i sastava smeše. Prema definiciji datoj izrazom (124), vrednosti parametra  $k_{ij}$  bliske jedinici značile bi korektnost predloženog modela i potrebu samo manjih popravki, kako bi se eksperimentalni podaci mogli najbolje moguće fitovati. Da bi upotreba interakcionih parametara bila opravdana, moraju postojati dovoljno precizni podaci za binarne smeše, međutim, kada se predlaže najbolji set pravila mešanja, trebalo bi da on bude bez interakcionih parametara [241].

Drugi izrazi kojima se mogu definisati  $k_{ij}$  i  $Q_{ij}$  su:

$$Q_{ij} = k_{ij}(Q_{ii}Q_{jj})^{1/2} \quad (k_{ii} = 1) \quad (125)$$

$$Q_{ij} = \frac{(1 - k_{ij})(Q_{ii} + Q_{jj})}{2} \quad (k_{ii} = 0) \quad (126)$$

$$Q_{ij} = (1 - k_{ij})(Q_{ii}Q_{jj})^{1/2} \quad (k_{ii} = 0) \quad (127)$$

### ***Korespodentna stanja - pseudokritični parametri***

Da bi se princip korespodentnih stanja primenio na smešu, neophodno je imati odgovarajuće kritične parametre ( $T_c$ ,  $P_c$ ,  $\omega$ ) za smešu. Međutim, kritične temperatura i pritisak smeše variraju na veoma kompleksan način sa sastavom smeše, te su njihove vrednosti retko dostupne [31]. Zato se umesto pravih, pri primeni troparametarskog principa korespodentnih stanja (TPKS) koriste računске vrednosti kritičnih parametara – *pseudokritični parametri* ( $T_{cm}$ ,  $P_{cm}$ ,  $\omega_m$ ).

Za pseudokritičnu temperaturu često se koristi jednostavno linearno pravilo mešanja, čiji je autor Kay [25, 242]

$$T_{cm} = \sum_j x_j T_{c_j} \quad (128)$$

Razlike u rezultatima pri primeni ovog pravila i komplikovanijih pravila obično su manja od 2 %, za sve komponente za koje važi:

$$0,5 \leq \frac{T_{c_i}}{T_{c_j}} \leq 2 \quad \text{i} \quad 0,5 \leq \frac{P_{c_i}}{P_{c_j}} \leq 2 \quad (129)$$

Primena ovog jednostavnog aditivnog pravila za izračunavanje kritičnih svojstava na smeše sa komponentama veoma različitih tački ključanja, dovodi do značajnih grešaka.

Pravilo mešanja za određivanje gustine tečnih smeša na temperaturi ključanja prema Spancer i Danner modifikovanoj Rackett jednačini [243] glasi:

$$V_{m,mix} = R \left( \sum_i \frac{x_i T_{c_i}}{P_{c_i}} \right) Z_{RAm}^n \quad (130)$$

$$n = 1,0 + (1,0 - T_r)^{2/7} \quad (131)$$

$$Z_{RAm} = \sum_i x_i \cdot Z_{RAi} \quad (132)$$

$T_r$  u izrazu (131) se određuje relativno u odnosu na pseudokritičnu temperaturu  $T_{cm}$  ( $T_r = T/T_{cm}$ ), za koju se u literaturi [243] preporučuje Chueh-Prausnitz pravilo [244]:

$$T_{cm} = \sum_i \sum_j \phi_i \phi_j T_{cij} \quad (133)$$

$$\phi_i = \frac{x_i V_{c_i}}{\sum_i x_i V_{c_i}} \quad (134)$$

$$T_{cij} = (1 - k_{ij}) (T_{c_i} T_{c_j})^{1/2} \quad (135)$$

$$1 - k_{ij} = \frac{8 (V_{c_i} V_{c_j})^{1/2}}{(V_{c_i}^{1/3} V_{c_j}^{1/3})^3} \quad (136)$$

### 8.3. PRINCIPI FAZNE RAVNOTEŽE

#### Hemijski potencijal i Gibbs-ovo pravilo faza

Da bi se dvofazni sistem nalazio u ravnoteži, moraju biti zadovoljeni određeni ravnotežni uslovi, koje je najjednostavnije izvesti pomoću Gibbs-ove slobodne energije,  $G$ . Opšti izraz za promenu Gibbs-ove slobodne energije je sledeći:



$$dG = -SdT + VdP + \sum_i \mu_i dn_i \quad (137)$$

Hemijski potencijal komponente  $i$  u fazi  $\alpha$ , je definisan izrazom:

$$\mu_i^\alpha = \left( \frac{\partial G^\alpha}{\partial n_i^\alpha} \right)_{P,T,n_{j \neq i}} = \left( \frac{\partial \left( \left( \sum_i n_i^\alpha \right) g^\alpha \right)}{\partial n_i^\alpha} \right)_{P,T,n_{j \neq i}} = \bar{G}_i^\alpha \quad (138)$$

U gornjem izrazu  $g$  je molarna Gibbs-ova energija, a  $n_i^\alpha$  je broj molova komponente  $i$  u fazi  $\alpha$ . Iz izraza se vidi da je hemijski potencijal jednak parcijalnoj molarnoj Gibbs-ovoj slobodnoj energiji,  $\bar{G}_i$ .

Za parcijalnu molarnu slobodnu Gibbs-ovu energiju sistema sa konstantnim sastavom važi:

$$d\bar{G}_i = -\bar{S}_i dT + \bar{V}_i dP \quad (139)$$

odnosno, na konstantnoj temperaturi:

$$d\mu_i = d\bar{G}_i = \bar{V}_i dP \quad (140)$$

gde je  $\bar{V}_i$  parcijalna molarna zapremina za komponentu  $i$ .

Prema drugom zakonu termodinamike, u stanju ravnoteže ukupna Gibbs-ova energija zatvorenog sistema na konstantnoj temperaturi i pritisku ima minimalnu vrednost. Ukoliko se ovaj uslov kombinuje sa uslovom da je ukupan broj molova komponente  $i$  konstantan u zatvorenom sistemu, odnosno da važi:

$$\sum_\alpha n_i^\alpha = const \quad (141)$$

jednostavno se može pokazati da su za sistem od  $\Pi$  faza i  $N$  komponenata ravnotežni uslovi sledeći:

$$\mu_i^\alpha = \mu_i^\beta = \dots = \mu_i^\pi \quad \text{za } i = 1, 2, \dots, N \quad (142)$$

Gornji izraz predstavlja, ustvari, sistem od  $N(\Pi-1)$  jednačina.

Pošto je  $\mu_i^\alpha$  funkcija pritiska temperature i sastava smeše/faze, odnosno  $(N-1)$  molskih udela (dodatni uslov  $\sum_i x_i^\alpha = 1$ , čini da jedan molski udeo nije nezavisna promenljiva), ukupan broj nezavisnih promenljivih veličina je  $2 + \Pi(N-1)$ . Stoga je broj stepeni slobode:

$$F = 2 + \Pi(N-1) - N(\Pi-1) = 2 - \Pi + N \quad (143)$$

Prethodna jednačina je Gibbs-ovo pravilo faza. Prema ovom pravilu, stanje sa  $\Pi$  faza u sistemu od  $N$  komponenata je u potpunosti određeno (sva intenzivna termodinamička svojstva mogu se izračunati) ukoliko je broj od  $F$  promenljivih veličina poznat, pod uslovom da je zavisnost molarne Gibbs-ove energije od pritiska, temperature i sastava poznata.

### Fugacitet i aktivnost

Pri termodinamičkom razmatranju fazne ravnoteže, često se koriste veličine kao što su koeficijent fugaciteta i koeficijent aktivnosti, koje su blisko povezane sa Gibbs-ovom energijom.

Fugacitet komponente  $i$  u smeši,  $\hat{f}_i$ , definiše se preko izraza:

$$d\mu_i = RT d(\ln \hat{f}_i) \quad \text{na konstantnoj } T, \text{ uz} \quad (144a)$$

$$\lim_{P \rightarrow 0} \frac{\hat{f}_i}{P_i} = 1 \quad (144b)$$

Na osnovu definicije sledi da je  $\hat{f}_i$  jednak parcijalom pritisku  $P_i$  u slučaju idealnog gasa. Fugacitet se može interpretirati kao fiktivni ili "korigovani" pritisak.

Koeficijent fugaciteta komponente  $i$ ,  $\hat{\phi}_i$ , definiše se kao:

$$\hat{\phi}_i = \frac{\hat{f}_i}{P_i} \quad (145)$$

i ova veličina može se smatrati merom odstupanja od ponašanja idealnog gasa.

Jednačine za izračunavanje fugaciteta i koeficijenta fugaciteta za čistu komponentu ili za smešu konstantnog sastava iz jednačina stanja ili PTV podataka mogu se dobiti sledećim postupkom.

Kombinovanjem jednačine (140) koja važi pri konstantnoj temperaturi i konstantnom sastavu smeše i jednačine (144a) koja važi pri konstantnoj temperaturi dobija se:

$$RT d(\ln \hat{f}_i) = \bar{V}_i dP \quad (\text{const. } T, x), \quad (146)$$

Logaritmovanjem i diferenciranjem izraza (145) dobija se:

$$d(\ln \hat{f}_i) = d(\ln \hat{\phi}_i) + \frac{dP}{P} \quad (147)$$

Kombinovanjem izraza (146) i (147) sledi:

$$d(\ln \hat{\phi}_i) = \left( \frac{\bar{V}_i P}{RT} - 1 \right) \frac{dP}{P} \quad (\text{const. } T, x) \quad (148)$$

Kada se jedničina (148) integriše od pritiska nula, za koji važi da je  $\hat{\phi}_i = 1$ , do pritiska  $P$ , dobija se:

$$\ln \hat{\phi}_i = \int_0^P \left( \frac{\bar{V}_i P}{RT} - 1 \right) \frac{dP}{P} = \int_0^P (Z - 1) \frac{dP}{P} \quad (\text{const. } T, x) \quad (149a)$$

ili

$$RT \ln \hat{\phi}_i = \int_0^P \left( \bar{V}_i - \frac{RT}{P} \right) dP \quad (\text{const. } T, x) \quad (149b)$$

Ako se raspolože adekvatnom analitičkom zavisnošću – jednačinom stanja, integrali u izrazu (149a) mogu se rešavati analitički i tako dobiti analitički izrazi za

funkciju  $\hat{\phi}_i$ .  $\ln \frac{\hat{f}_i^V(T, p, y_i)}{y_i P} = \ln \hat{\phi}_i^V = \frac{1}{RT} \int_0^V \left( \frac{RT}{V} - N \left( \frac{\partial P}{\partial N_i} \right)_{T, V, N_{j \neq i}} \right) dV - \ln \frac{PV}{RT}$  (const.  $T, x$ )

Koeficijent fugaciteta može se izračunati iz jednačine stanja iz jednog od sledeća dva izraza dobijenih smenom integracione promenljive u (149a) i (149b):

$$\ln \hat{\phi}_i = Z - 1 - \ln Z - \int_{\infty}^{\bar{V}_i} (Z - 1) \frac{dV}{V} \quad (\text{const. } T, x) \quad (150a)$$

ili

$$RT \ln \hat{\phi}_i = - \int_{\infty}^V \left( \left( \frac{\partial P}{\partial n_i} \right)_{T, V, n_j} - \frac{RT}{V} \right) dV - RT \ln Z \quad (\text{const. } T, x) \quad (150b)$$

Na osnovu ravnotežnog uslova (142) i veze date izrazom (144a), uslov ravnoteže može se napisati i kao:

$$\hat{f}_i^\alpha = \hat{f}_i^\beta = \dots = \hat{f}_i^\pi \quad \text{za } i = 1, 2, \dots, N \quad (151)$$

Aktivnost komponente  $i$ ,  $a_i$ , definiše se kao odnos fugaciteta komponente  $i$  u smeši i fugaciteta komponente  $i$  u standardnom stanju na istom pritisku i temperaturi.

$$a_i = \frac{\hat{f}_i(P, T, x)}{\hat{f}_i^0(P, T, x^0)} \quad (152)$$

Idealan rastvor se definiše na sledeći način:

$$a_i^{id} = x_i \quad (153)$$

Koeficijent aktivnosti komponente  $i$ ,  $\gamma_i$ , je mera odstupanja ponašanja rastvora od ponašanja idealnog rastvora:

$$\gamma_i = \frac{a_i}{a_i^{id}} \quad (154)$$

Stoga se fugacitet komponente u neidealnom čvrstom ili tečnom rastvoru može izraziti na sledeći način:

$$\hat{f}_i = x_i \gamma_i f_i^0 \quad (155)$$

Koeficijent aktivnosti,  $\gamma_i$ , može se izračunati iz modela za dopunsku molarnu Gibbs-ovu energiju,  $g^E$ .

$$RT \ln \gamma_i = \left( \frac{\partial \left( \left( \sum_i n_i \right) g^E \right)}{\partial n_i} \right)_{P,T,n_{j \neq i}} = \bar{G}_i^E \quad (156)$$

Pošto je za idealan rastvor  $\bar{G}_i^E = 0$ , to koeficijenti aktivnosti komponenta idealnog rastvora imaju jedne vrednosti.

Prema ovom pristupu, u standardnom stanju fugaciteti tečne ili čvrste komponente rastvora smatraju se da su jednaki fugacitetu čiste čvrste ili čiste tečne komponente, odnosno da su blisko povezani sa pritiskom sublimacije,  $P_i^{sub}$ , ili naponom pare,  $P_i^{sat}$ .

Na krivi sublimacije čiste komponente važi:

$$f_i^S(P_i^{sub}, T) = f_i^V(P_i^{sub}, T) = \phi_i^V(P_i^{sub}, T) P_i^{sub} \quad (157)$$

Prema jednačini (144a):

$$\begin{aligned} f_i^S(P, T) &= f_i^S(P_i^{sub}, T) \exp \left( \int_{P_i^{sub}}^P \frac{d\mu_i^S}{RT} \right) = \\ &= f_i^S(P_i^{sub}, T) \exp \left( \int_{P_i^{sub}}^P \frac{V_{M,i}^S}{RT} dP \right) \end{aligned} \quad (158)$$

gde je  $V_{M,i}^S$  molarna zapremina čiste komponente  $i$  u čvrstom stanju.

Kombinovanjem izraza (157) i (158) dobija se:

$$f_i^S(P, T) = \phi_i^V(P_i^{sub}, T) P_i^{sub} \exp \left( \int_{P_i^{sub}}^P \frac{V_{M,i}^S}{RT} dP \right)$$

(159)

Na potpuno analogan način može se izvesti:

$$f_i^L(P, T) = \phi_i^V(P_i^{sat}, T) P_i^{sat} \exp\left(\int_{P_i^{sat}}^P \frac{V_{M,i}^L}{RT} dP\right)$$

(160)

Na niskim pritiscima koeficijenti fugaciteta i eksponencijalni članovi su bliski 1, tako da se prethodni izrazi svode na:

$$f_i^S \approx P_i^{sub} \quad \text{i} \quad f_i^L \approx P_i^{sat}$$

(161)

Ukoliko se pretpostavi da se ugljendioksid ne rastvara u čvrstoj fazi, rastvorljivost čvrste supstance (rastvorka) u sistemu natkritični fluid-čvrsta faza može se izračunati iz sledećeg izraza koji proizilazi iz uslova ravnoteže (151) i jednačine (159):

$$y_r = \frac{\phi_r^V(P_r^{sub}, T) P_r^{sub} \exp\left(\int_{P_i^{sub}}^P \frac{V_{M,r}^S}{RT} dP\right)}{\hat{\phi}_r^{scf} P}$$

(162)

Koeficijent fugaciteta čistog čvrstog rastvorka na pritisku sublimacije,  $\phi_r^V(P_r^{sub}, T)$ , se uzima da je jednak jedinici, a fugacitet rastvorka u fazi natkritičnog fluida se računa iz jednačine stanja u kombinaciji sa odabranim pravilom mešanja.

Ukoliko je čvrsta faza nekompresibilna, napon pare čvrsta faze jako mali i njena molarna zapremina nezavisna od pritiska, izraz (162) se dalje pojednostavljuje:

$$y_r = \frac{P_r^{sub} \exp\left(V_{M,r}^S \frac{P - P_r^{sub}}{RT}\right)}{\hat{\phi}_r^{scf} P}$$

(163)

Fugaciteti komponenata u parnoj fazi mogu se izračunati iz sledećeg izraza, (sličan izraz važi i za tečnu fazu, ali ovde nije prikazan):

$$\ln \frac{\hat{f}_i^V(T, p, y_i)}{y_i P} = \ln \hat{\phi}_i^V = \frac{1}{RT} \int_{\infty}^V \left( \frac{RT}{V} - N \left( \frac{\partial p}{\partial N_i} \right)_{T, V, N_{j \neq i}} \right) dV - \ln \frac{pV}{RT} \quad (\text{const. } T, x)$$

(164)

gde je  $N_i$ , broj molova komponente  $i$  u smeši.

## KRITIČNA TAČKA

### *Kritični fenomeni*

Dve faze koje su u ravnoteži u kritičnoj tački postaju identične. Proračun kritične tačke izvodi se rešavanjem dva uslova koji moraju biti zadovoljeni u kritičnoj tački, onako kako je to izveo Gibbs. Za sistem od  $N$  komponentata ovi uslovi su:

$$(D_{sp})_T = \begin{vmatrix} \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M^2} & \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_1} & \cdots & \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_{N-1}} \\ \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_1} & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1^2} & \cdots & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1 \partial x_{N-1}} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_{N-1}} & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1 \partial x_{N-1}} & \cdots & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_{N-1}^2} \end{vmatrix} = 0 \quad (165)$$

i

$$(D_c)_T = \begin{vmatrix} \frac{\partial D_{sp}}{\partial V_M} & \frac{\partial D_{sp}}{\partial x_1} & \cdots & \frac{\partial D_{sp}}{\partial x_{N-1}} \\ \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_1} & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1^2} & \cdots & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1 \partial x_{N-1}} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 A_M}{\partial V_M \partial x_{N-1}} & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_1 \partial x_{N-1}} & \cdots & \frac{\partial^2 A_M}{\partial x_{N-1}^2} \end{vmatrix} = 0 \quad (166)$$

Molarna Hemholtz-ova energija,  $A_M$ , sa dobija iz jednačine stanja uz primenu relacije:

$$\left( \frac{\partial A_M}{\partial V_M} \right)_{T,x} = -P$$

Svi izvodi u ove dve determinante mogu se dobiti iz jednačine stanja. Za čistu komponentu samo (1,1) elementi determinanti ostaju, tako da se dobijaju dobro poznati uslovi za kritičnu tačku čiste komponente:

$$\left( \frac{\partial P}{\partial V_M} \right)_T = 0 \quad \text{i} \quad \left( \frac{\partial^2 P}{\partial V_M^2} \right)_T = 0 \quad (167)$$

Na osnovu ovih uslova, izotermska kompresibilnost,  $K_T$ , ima beskonačnu vrednost u kritičnoj tački, zato što je:

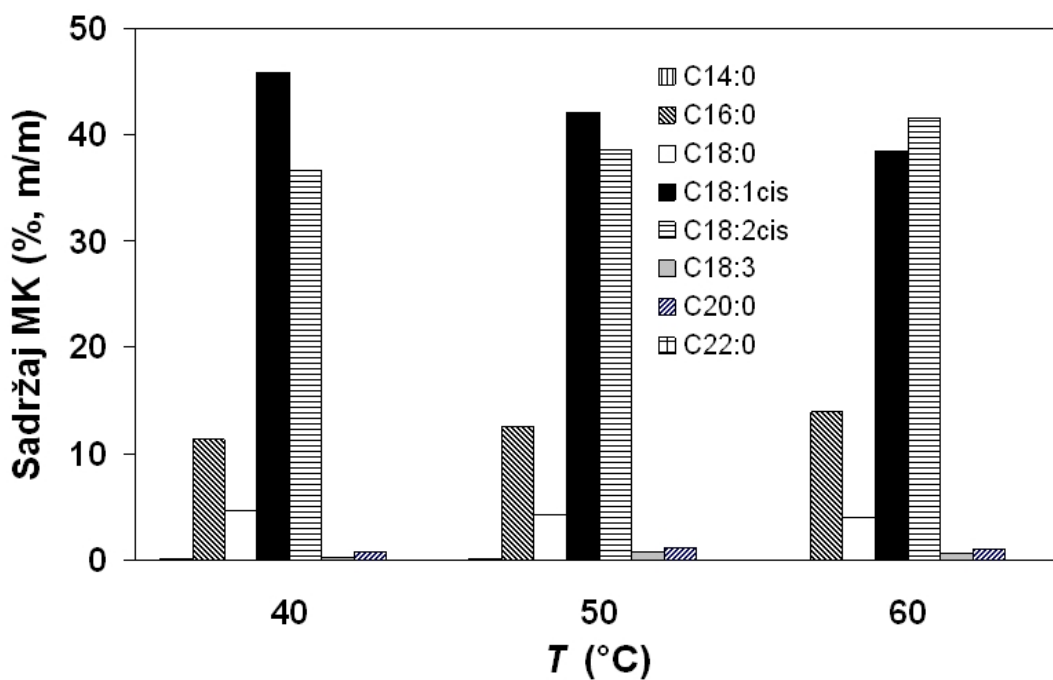
$$K_T \equiv -\frac{1}{V_M} \left( \frac{\partial V_M}{\partial P} \right)_T \quad (168)$$

Eksperimenti i moderna fizika dokazali su da je način na koji koeficijent izotermske kompresibilnosti i druga termodinamička svojstva menjaju svoje vrednosti približavanjem kritičnoj tački, svim klasičnim analitičkim jednačinama stanja opisivane na pogrešan način. Promena ovih veličina zavisi od putanje, odnosno od načina promene stanja. Sve jednačine

stanja bazirane na teoriji srednjeg polja, zanemaruju značajne promene gustine i koncentracije u blizini kritične tačke.

### 8.3. REZULTATI ANALIZA EKSTRAKATA SEMENA TIKVE

*Sadržaj masnih kiselina u ulju semena tikve ekstrahovanom natkritičnim ugljendioskidom*



**Slika 8-76.** Uticaj temperature na masnokiselinski sastav ekstrakata nakon 2 h ekstrakcije. Pritisak i protok CO<sub>2</sub> su 300 bar i 0,2 kg h<sup>-1</sup> u smeru na gore kroz sloj formiran od 20 g semena tikve, usitnjenog na srednju veličinu čestica od 0,56 mm.

**Tabela 8-39.** Uticaj stepena usitnjenosti na sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) poreklom iz Slovenije dobijenim u toku 2 h ekstrakcije 20 g usitnjenog semena, natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,2 kg h<sup>-1</sup>, na 300 bar i temperaturi 40°C; za srednje prečnike čestica 0,35, 0,56 i 0,72 mm. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Srednji prečnik čestica (mm) |            |            |
|--|------------------------------|------------|------------|
|  | 0,35                         | 0,56       | 0,72       |
| C14:0  | 0,13±0,01                    | 0,09±0,01  | 0,09±0,03  |
| C16:0  | 12,65±1,48                   | 11,39±0,63 | 10,94±0,42 |
| C17:0  | 0,16±0,02                    | 0,17±0,01  | 0,15±0,02  |
| C18:0  | 4,22±0,27                    | 4,69±0,33  | 5,06±0,39  |
| C18:1cis   | 46,24±1,45                   | 45,86±3,10 | 45,97±3,90 |
| C18:2cis   | 35,48±0,96                   | 36,70±3,64 | 36,62±4,50 |
| C18:3  | 0,27±0,16                    | 0,32±0,03  | 0,38±0,39  |
| C20:0  | 0,76±0,04                    | 0,76±0,02  | 0,77±0,11  |
| C22:0  | 0,08±0,06                    | 0,02±0,01  | 0,01±0,01  |
| ZMK  | 18,01±1,88                   | 17,12±1,08 | 17,02±0,98 |
| MNMK   | 46,24±1,45                   | 45,86±3,10 | 45,97±3,90 |
| PNMK   | 35,75±1,12                   | 37,02±3,67 | 37,00±4,89 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 580±20                       | 550±40     | 580±70     |



**Tabela 8-40.** Uticaj pritiska na sadržaj masnih kiselina (mas. %) u ekstraktima semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) poreklom iz Slovenije dobijenim u toku 2 h ekstrakcije 20 g usitnjenog semena, natkritičnim ugljendioksidom protoka  $0,2 \text{ kg h}^{-1}$ , na temperaturi  $40^\circ\text{C}$ ; za srednji prečnik čestica  $0,56 \text{ mm}$  i pritiske 225 i 300 bar-. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

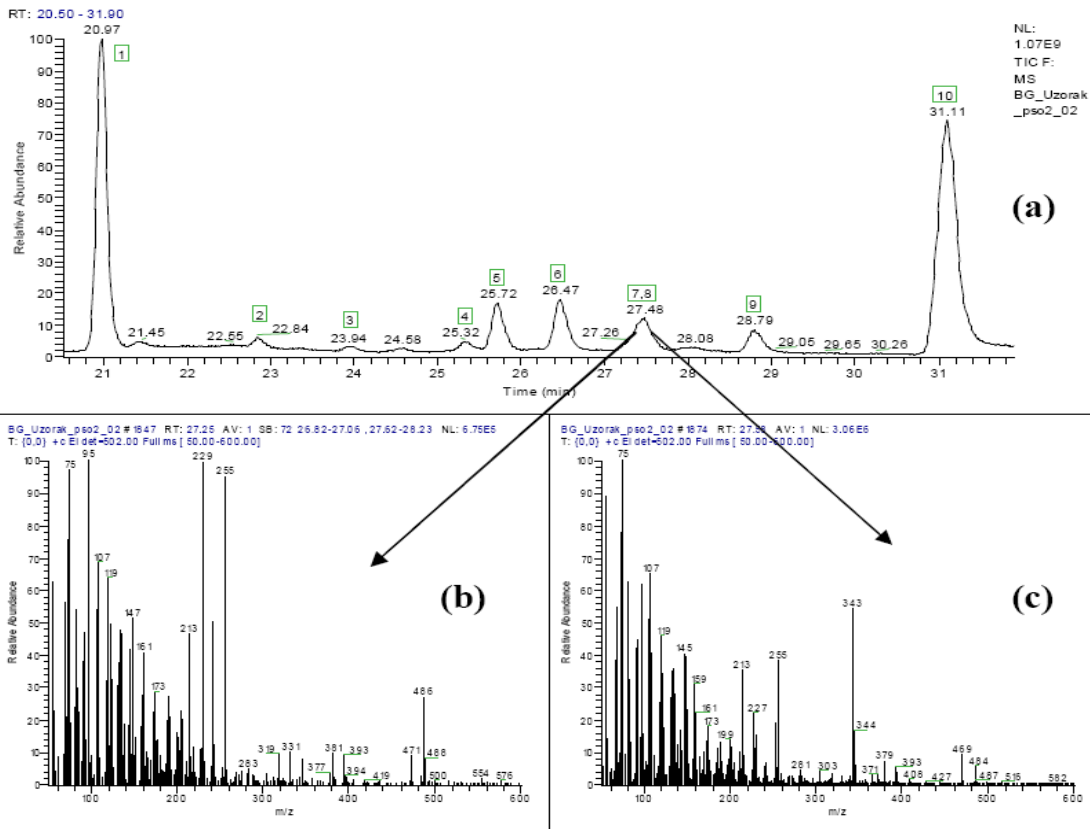
| Masna kiselina  | Pritisak (bar) |            |
|---|----------------|------------|
|   | 225            | 300        |
| C14:0   | 0,09±0,05      | 0,09±0,01  |
| C16:0   | 10,17±0,43     | 11,39±0,63 |
| C17:0   | 0,21±0,07      | 0,17±0,01  |
| C18:0   | 4,57±0,29      | 4,69±0,33  |
| C18:1cis  | 47,85±2,00     | 45,86±3,10 |
| C18:2cis  | 35,23±1,90     | 36,70±3,64 |
| C18:3   | 0,81±0,21      | 0,32±0,03  |
| C20:0   | 0,94±0,23      | 0,76±0,02  |
| C22:0   | 0,13±0,06      | 0,02±0,01  |
| ZMK   | 16,11±1,12     | 17,12±1,08 |
| MNMK  | 47,85±2,00     | 45,86±3,10 |
| PNMK  | 36,04±2,11     | 37,02±3,67 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za analizu ( $\mu\text{g mg}^{-1}$ ) | 445±98         | 550±40     |

**Tabela 8-41.** Sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) poreklom iz Vojvodine dobijenim u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije 66 g usitnjenog semena, srednjeg prečnika čestica 0,56 mm, natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup>, na pritisku 400 bar i temperaturi 40°C. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |
|--|-----------------------|------------|------------|
|  | 0-2                   | 2-4        | 4-6        |
| C14:0  | 0,23±0,05             | 0,24±0,08  | 0,22±0,05  |
| C16:0  | 11,41±0,59            | 10,28±0,57 | 7,38±0,30  |
| C17:0  | 0,05±0,02             | 0,05±0,04  | 0,05±0,02  |
| C18:0  | 5,10±0,29             | 4,96±0,73  | 6,47±0,09  |
| C18:1cis   | 24,76±0,46            | 27,95±4,67 | 33,24±1,57 |
| C18:2cis   | 57,41±0,49            | 55,33±3,00 | 51,37±1,97 |
| C18:3  | 0,70±0,10             | 0,77±0,37  | 0,46±0,06  |
| C20:0  | 0,27±0,01             | 0,31±0,15  | 0,56±0,06  |
| C22:0  | 0,07±0,05             | 0,12±0,02  | 0,25±0,12  |
| ZMK  | 17,13±1,00            | 15,94±1,58 | 14,93±0,63 |
| MNMK   | 24,76±0,46            | 27,95±4,67 | 33,24±1,57 |
| PNMK   | 58,11±0,60            | 56,10±3,37 | 51,83±2,03 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 690±50                | 640±200    | 700±130    |

**Tabela 8-42.** Sadržaj masnih kiselina (% m/m) u ekstraktima semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) poreklom iz Vojvodine dobijenim u sukcesivnim vremenskim intervalima u toku ekstrakcije 66 g usitnjenog semena, srednjeg prečnika čestica 0,24 mm, natkritičnim ugljendioksidom protoka 0,44 kg h<sup>-1</sup>, na 400 bar i temperaturi 40°C. Oznake: ZMK- zasićene masne kiseline, MNMK – mononezasićene masne kiseline, PNMK – polinezasićene masne kiseline.

| Masna kiselina   | Vreme ekstrakcije (h) |            |            |            |
|--|-----------------------|------------|------------|------------|
|  | 0-2                   | 2-4        | 4-6        | 6-8        |
| C14:0  | 0,08±0,03             | 0,07±0,03  | 0,04±0,01  | 0,06±0,01  |
| C16:0  | 13,01±0,32            | 13,09±0,87 | 10,16±0,25 | 9,52±0,18  |
| C17:0  | 0,22±0,02             | 0,23±0,01  | 0,15±0,00  | 0,21±0,01  |
| C18:0  | 4,26±0,15             | 4,78±0,55  | 5,34±0,00  | 6,57±0,32  |
| C18:1cis   | 23,31±0,74            | 28,45±2,55 | 36,52±0,51 | 38,20±0,71 |
| C18:2cis   | 57,66±0,83            | 51,81±1,79 | 46,41±0,61 | 43,71±0,75 |
| C18:3  | 0,29±0,09             | 0,37±0,39  | 0,47±0,11  | 0,47±0,23  |
| C20:0  | 1,14±0,08             | 1,15±0,13  | 0,85±0,02  | 1,14±0,05  |
| C22:0  | 0,02±0,02             | 0,05±0,02  | 0,05±0,02  | 0,12±0,06  |
| ZMK  | 18,73±0,63            | 19,37±1,62 | 16,60±0,31 | 17,62±0,64 |
| MNMK   | 23,31±0,74            | 28,45±2,55 | 36,52±0,51 | 38,20±0,71 |
| PNMK   | 57,95±0,92            | 52,18±2,18 | 46,88±0,72 | 44,18±0,98 |
| Ukupni sadržaj po miligramu pripremljenog uzorka za analizu (µg mg <sup>-1</sup> ) | 390±30                | 360±15     | 670±50     | 480±25     |



**Slika 8-77.** Hromatogram natkritičnog ekstrakta semena uljane tikve golice (*Cucurbita pepo* L.) (a): 1. holesterol, 2. desmosterol, 3. stigmasterol, 4.  $\beta$ -sitosterol, 5. spinasterol, 6.  $\Delta$ 7,22,25-stigmastatrienol, 7.  $\Delta$ 7-stigmastenol, 8.  $\Delta$ 7,25-stigmastadienol, 9.  $\Delta$ 7-avenasterol, 10. betulin, i snimljeni maseni spektri  $\Delta$ 7-stigmastenola (b) i  $\Delta$ 7, 25-stigmastadienola (c)

**Tabela 8-43.** Relativna retenciona vremena i jonski fragmenti (m/z) koji su korišćeni za identifikaciju TMS etara fitosterola u natkritičnim ekstraktima semena tikve golice.

| Pik | Fitosterol                    | RR <sub>t</sub> <sup>a</sup> | Glavni jonski fragmenti, m/z (RI) <sup>b</sup> |                     |                     |                      |                                   | Ostali  |
|-----|-------------------------------|------------------------------|--|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------------------------|---|
|     |                               |                              | [M] <sup>+</sup>                               | [M-15] <sup>+</sup> | [M-90] <sup>+</sup> | [M-105] <sup>+</sup> | [M-129] <sup>+</sup> <sup>c</sup> |   |
| 1   | Desmosterol                   | 0,88                         | 456<br>(7)                                     | 411<br>(11)         | 366<br>(11)         | 351 (17)             | 327 (20)                          | 372 (6), 345 (9),<br>343 (30), 253 (28),<br>129 (89), 69 <sup>d</sup>   |
| 2   | Kampesterol                   | 0,90                         | 472<br>(10)                                    | 457 (5)             | 382<br>(34)         | 367 (17)             | 343 (40)                          | 315 (2), 261 (7),<br>255 (25), 129 <sup>d</sup>   |
| 3   | Stigmasterol                  | 0,93                         | 484<br>(13)                                    | 469 (2)             | 394<br>(19)         | 397 (7)              | 355 (7)                           | 255 (25), 253 (7),<br>213 (11), 129 (69),<br>83 <sup>d</sup>  |
| 4   | β-Sitosterol                  | 1                            | 486<br>(11)                                    | 471 (4)             | 396<br>(46)         | 381 (21)             | 357 (48)                          | 255 (3), 129 <sup>d</sup>   |
| 5   | Spinasterol                   | 1,02                         | 484<br>(17)                                    | 469<br>(14)         | 364 (6)             | 379 (9)              |                                   | 441 (5), 345 (16),<br>343 (79), 329 (7),<br>303 (5), 255 (73),<br>253 (30), 213 (31),<br>129 (16), 83 (92), 75 <sup>d</sup> |
| 6   | Δ7,22,25-<br>Stigmastatrienol | 1,05                         | 482<br>(9)                                     | 467 (9)             | 392 (3)             | 377 (6)              |                                   | 345 (13), 343 (59),<br>329 (7), 255 (59),<br>253 (22), 213 (24),<br>129 (20), 81 (99), 75 <sup>d</sup>                      |
| 7   | Δ7-Stigmastenol               | 1,09                         | 486<br>(73)                                    | 471<br>(19)         | 396 (8)             | 381 (24)             |                                   | 345 (7), 329 (7),<br>303 (5), 255 <sup>d</sup> ,<br>213 (50), 75 (83)   |
| 8   | Δ7, 25-<br>Stigmastadienol    | 1,10                         | 484<br>(17)                                    | 469<br>(24)         | 394 (7)             | 379 (15)             |                                   | 345 (8), 343 (90),<br>329 (5), 303 (4),<br>255 (43), 253 (21),<br>213 (46), 75 <sup>d</sup>                                 |
| 9   | Δ7-Avenasterol                | 1,15                         | 484<br>(1)                                     | 469 (5)             | 394 (1)             | 379 (4)              |                                   | 386 (31), 371 (7),<br>345 (7), 343 <sup>d</sup> ,<br>329 (5), 303 (2),<br>296 (6), 255 (12),<br>253 (27), 213 (23),         |

<sup>a</sup> Relativno retenciono vreme u odnosu na β-sitosterol TMS etar (25,31 min). Relativno retenciono vreme za unutrašnji standard, betulin, je 1,23

<sup>b</sup> Relativni intenzitet u odnosu na bazni pik

<sup>c</sup> M<sup>+</sup> označava molekularni jon; M-15, M-90, M-105, M-129 odgovara gubitku sledećih grupa: metil, trimetilsilanol, metil i trimetilsolanol i fragmenaciji 1,2-ciklopentanofenantrenske strukture.

<sup>d</sup> Bazni pik (relativni intenzitet = 100%)



## 9 BIOGRAFIJA



Branislava Nikolovski, od oca Gojka i majke Milice Barjaktarović, je rođena 02. juna 1974., u Novom Sadu. Nakon završetka Osnovne škole „22. Oktobar”, sada „Sveti Sava”, u Rumenki, završila je gimnaziju „Jovan Jovanović Zmaj” u Novom Sadu, smer prirodnih nauka, i upisala se na Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu 1993. godine. Od školske 1995/96 godine do kraja studija bila je stipendista Univerziteta. Nakon završetka Fakulteta, studijska grupa/smer Hemijsko inženjerstvo, sa prosečnom ocenom 9,61, od 1998 godine radi na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, na predmetu Tehnološke operacije, prvo kao tehnički saradnik, zatim kao

asistent pripravnik na predmetima Tehnološke operacije, a kasnije i Procesna merna tehnika. Magistrirala je na Tehnološkom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, na studijskoj grupi Hemijsko inženjerstvo 2003. godine, sa prosečnom ocenom 10.

Zahvaljujući ljubaznosti doktora Željka Kneza, redovnog profesora Fakulteta za hemiju i hemijsku tehnologiju Univerziteta u Mariboru, dobila je priliku da provede u Sloveniji ukupno pola godine, dva puta po tri meseca (septembar-novembar 2001. god) i (septembar-novembar 2003. god), i da se kroz praktičan rad u Laboratoriji za separacione procese, uz pomoć prof. Kneza i njegovih saradnika upozna sa problematikom procesa sa fluidima pod visokim pritiskom. Osim u oblasti superkritičnih fluida, usavršavala se i u oblastima analitičke hemije i zaštite životne sredine, kroz pohađanje tri Internacionalne letnje škole: International Summer School on Environment Analysis in South East Europe - Hydrocarbons (Novi Sad, Tehnološki fakultet, 26.08.-31.08.2002), CAS (Center for Applied Spectroscopy) International Summer School on Environment Analysis – 2004 (Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, 29.08.-03.09.2004) i CAS-2004 (Sofia, Bulgarian Academy of Science, Institute for Organic Chemistry, 12.09.-19.09.2004.). U 2009. godini, ovoga puta kao asistent, bila je uključena u izvođenje laboratorijskih vežbi u Internacionalnoj letnjoj školi Centra za primenjenu spektroskopiju, koja se održavala na Tehnološkom Fakultetu u Novom Sadu.

Od 2001. godine uključena je kao istraživač u projekte Republičkog programa, u oblasti Osnovnih istraživanja, a od 2002. godine u projekte Nacionalnog programa Biotehnologija i agroindustrija, Program novih tehnologija u prehrambenoj industriji. Kroz Naučno-tehničku saradnju koju Fakultet ostvaruje sa A.D. „Hipol“, uključena je rešavanje problema optimizacije rada uređaja u hemijskoj industriji i povećanja energetske efikasnosti procesa. U naučno istraživačkom radu koristi i softverski paket ASPEN (Advanced System for Process Engineering).

Zaposlena je na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, na radnom mestu Asistenta za užu naučnu oblast Hemijsko inženjerstvo. Na predmetima Tehnološke operacije I, Tehnološke operacije II i Procesna merna tehnika izvodi računске i eksperimentalne vežbe.

Ima trogodišnjeg sina Dimitrija i bezrezervnu podršku svoga muža i majke.