

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**  
кандидата мр Браниславе Николовски, дипломираног инжењера технологије

**I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

1. Датум и орган који је именовало комисију  
18.09.2009., на LI седници, Наставно-научно веће Технолошког факултета у Новом Саду именовало је комисију.
2. Састав комисије:
  1. др Милан Совиљ, редовни професор, хемијско инжењерство, 09.03.1995., Технолошки факултет, Нови Сад
  2. др Ратомир Пауновић, редовни просефор, хемијско инжењерство, 20.04.1997., Технолошки факултет, Нови Сад
  3. др Зоран Зековић, редовни професор, фармацеутско инжењерство, 19. 02.2009., Технолошки факултет, Нови Сад
  4. др Дејан Скала, редовни професор, хемијско инжењерство, 12.12.1991., Технолошко-металуршки факултет, Београд

**II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ**

1. Име, име једног родитеља, презиме:  
Бранислава, Гојко, Николовски, рођена Барјактаровић
2. Датум рођења, општина, република:  
02.06.2004., Нови Сад, Р. Србија
3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе:  
28.02.2003., Технолошки факултет, Нови Сад, „Одеђивање и корелисање физичких особина вишеккомпонентних течних смеша“.
4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:  
Хемијско инжењерство

**III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

„Кинетика и моделовање екстракције уља из бобица клеке (*Juniperus communis* L.) и семенки тикве (*Cucurbita pepo* L.) наткритичним угљендиоксидом“.

**IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Докторска десертација је написана јасно и прегледно и састоји се из следећих поглавља:

1. Листа ознака (странице 1-5)
2. Увод (странице 7-8)
3. Општи део (странице 9-60, 8 слика, 2 табеле)
4. Експериментални део (странице 61-72, 2 слике (шеме))
5. Резултати и дискусија (странице 73-154, 64 оригиналне слике, 36 табела)
6. Закључци (странице 155-160)
7. Литература (странице 161-175, 244 литературна навода)
8. Прилог (странице 176-194, 3 слике, 5 табела)
9. Биографија (страница 195)

Докторска дисертација се састоји од 9 поглавља, написаних на 195 страна А4 формата, са 77 слика и 43 табеле. Цитирано је 244 литературна навода и дата је кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

## V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

**Листа ознака** садржи ознаке и грчке симболе коришћене у раду. Поред сваке ознаке/симбола, наведено је њено значење, јединица, дефиниција или број једначине у којој се дефинише, односно користи. Уколико се ознака помиње на више места у тексту и у више од четири једначине, није наведен број сваке једначине у којој се користи. Ове ознаке су детаљније објашњене у самом тексту, на месту где се наводе.

У **Уводу** овог рада у кратким цртама поменуте су најважније теме обрађиване у оквиру дисертације, као и циљ рада и научни значај који има рад. Поменуте су основне предности процеса наткритичне екстракције угљендиоксидом у односу на класичне поступке добијања етарских уља и масних уља. Истакнуто је да је циљ рада испитивање утицаја најважнијих процесних параметара (притиска, температуре, времена екстракције, протока растварача, као и величине честица материјала) на кинетику наткритичне екстракције високовредних компонената из две биљне сировине, бобица клеке (*Juniperus communis* L.) и семени тикве (*Cucurbita pepo* L.), као и математичко моделовање процеса одабраним моделима из литературе, у циљу одређивања вредности кинетичких параметара модела. Такође, наведени су разлози за избор ове две сировине и поменута најзначајнија високовредна једињења, чији је садржај анализиран у екстрактима, како би се одредили најповољнији услови за њихово концентрисање. На крају, истакнуто је да би рад требало да допринесе бољем познавању екстракционих механизма дубљем разумевању основних феномена преноса масе у овом савременом процесу.

**Општи део** докторске дисертације подељен је у четири целине. У првој целини се обрађују теоријске основе процеса наткритичне екстракције, детаљно разматрају фактори који утичу на процес, даје преглед литературе из које се може сагледати ширина области примене овог процеса и наводе предности примене овог процеса за добијање два најважнија типа производа, етарских уља и масних уља, у односу на класичне поступке њиховог добијања. Такође, посебно место се даје угљендиоксиду, као растварачу који се најчешће примењује у наткритичној екстракцији, његовој моћи растварања, густини у наткритичном стању и прорачунима вискозности и молекулске дифузивности. У овом делу обрађени су и механизми преноса масе у наткритичном угљендиоксиду, са нагласком на спољашњи и унутрашњи пренос масе, одређивање спољашњег коефицијента преноса масе и коефицијента ефективне дифузије. У наставку је посвећена пажња дефинисању фазне равнотеже и прорачунима растворљивости једињења у наткритичном угљендиоксиду.

Други део овог поглавља обрађује широку и сложenu област математичког моделовања процеса наткритичне екстракције. Наводе се примери неколико класификација математичких модела, и даје преглед којим је обухваћен велики број феноменолошких модела насталих у периоду од осамдесетих година прошлог века па до данас. Постојање великог броја модела произилази из изузетне шароликости екстракционих процеса који обухватају много разнородних природних сировина, што подразумева и различите типове основног нерастворног дела материјала, унутар кога се налазе на више могућих начина распоређена различита хемијска једињења која се могу екстраховати у процесу. Крајње захтевне потребе једног универзалног математичког модела којим би се описао процес наткритичне екстракције свих сировина до сада није задовољио нити један модел, а расположиви математички модели најчешће су применљиви само на одређене системе и имају нека друга ограничења. У раду је дат критички преглед великог броја модела који се користе за наткритичну екстракцију етарских уља и/или масних уља, полазећи од најопштијег модела који укључује диференцијалне билансе масе за растворак у маси наткритичног флуида, у флуиду унутар пора честица уситњеног материјала и у чврстој фази, па кроз читаву лепезу модела који настају увођењем одређених претпоставки и поједностављења сложенијих модела, да би се стигло до модела који су изабрани да буду испитани у овом раду.

Трећа и четврта целина овог поглавља су посвећене сировинама које су коришћене у раду, *бобицама клеке* (*J. communis* L.), односно семену уљане тикве (*C. pepo* L.), а посебан нагласак је дат етарском уљу клеке и масном уљу тикве. Дат је детаљан преглед литературе у којој се етарско уље клеке и уље тикве проучавају са различитих аспеката, било да је у питању њихова примена, квалитет или садржај једињења са активним деловањем. Акцент је дат и на значај компонената чији је садржај испитиван у овом раду, монотерпена, сесквитерпена и оксидованих терпена код етарског уља клеке, односно токоферола, сквалена и стерола код уља тикве. На крају четврте и пете целине, аутор је указао на непостојање одговарајућих истраживања кинетике наткритичне екстракције ове две сировине у литератури, што доводи до тога да нема објављених резултата о успешности примене нити једног феноменолошког модела, или постојања било каквих кинетичких параметара модела, осим онога што је сам аутор објавио.

**Експериментални део** ове докторске дисертације обухвата наткритичну екстракцију две биљне сировине и то: *бобице клеке* и *семенке тикве голице*, односно карактеризацију материјала, коришћене хемикалије, описе апаратура на којима су изведени експерименти, услове екстракције, припрему екстраката за анализу једињења од значаја и услове на којима су анализирани екстракти, као и неке податке о математичком апарату, односно софтверу који је коришћен за математичко моделовање.

У почетном делу рада детаљно су описани поступци за припрему сировина за наткритичну екстракцију: уситњавање полазног материјала, фракционисање добијених смеша да би се добио просечни пречник појединих фракција и одређивање полазног садржаја уља и влаге у материјалу. Такође, на одговарајући

начин побројане су све хемикалије и стандарди коришћени у раду. Након тога, детаљно је приказана и објашњена лабораторијска апаратура за наткритичну екстракцију, екстрактора запремине 60 ml, која се налази у Лабораторији за Сепарационе процесе, Факултета за хемију и хемијску технологију, Универзитета у Марибору, применом које су екстраховане бобице клеке и семенке тикве голице пореклом из Словеније. Семе тикве голице пореклом из Војводине екстраховано је применом апаратуре смештене у лабораторији за Фармацеутско инжењерство, Технолошког факултета у Новом Саду, која има екстрактор запремине 200 ml. Услови на којима су екстраховане испитиване сировине, такође су детаљно приказани. Уситњене бобице клеке екстраховане су у опсегу притисака 80-200 bar, на температури од 40 °C, при протоку угљендиоксида од око 0,2 kg h<sup>-1</sup>, на честицама уситњеног материјала у опсегу величина 0,250-0,400 mm, а утицај величина честица и протока растварача испитиван је на 80 bar и 40 °C. Материјал је екстрахован угљендиоксидом при константном притиску до константе масе добијеног екстракта, односно док промена масе екстракта у два узастопна циклуса није изгубила статистички значај, при чему су добијене екстракционе криве на основу којих се може пратити кинетика екстракције. Наткритична екстракција уља из семена тикве голице пореклом из Словеније праћена је на температури 40 °C и притисцима 150, 225, и 300 bar, као и на притиску од 300 bar и температурама 40, 50 и 60 °C, при протоку растварача од 0,2 kg h<sup>-1</sup>, на честицама уситњеног материјала од 0,500-0,630 mm, док је провера утицаја величине честица и протока растварача извршена на 300 bar и 40 °C. Такође, семе тикве голице пореклом из Војводине, уситњено до величине честица истог средњег пречника од 0,56 mm, екстраховано је на температури 40 °C и притисцима 225, 300 и 400 bar. Експерименти су понављани довољан број пута како би се резултати могли обрадити статистички.

Велика пажња је посвећена анализи наткритичних екстраката обе сировине, за шта су искоришћене најсавременије инструменталне методе анализе, у складу са актуелним научним истраживањима која се баве анализама етарских уља и масних уља. Екстракти бобица клеке добијени наткритичним угљендиоксидом анализирали су гасном хроматографијом, уз коришћење хроматографа Hewlett Packard 5890, са водониковим пламено-јонизационим детектором (FID) и хроматографа Hewlett Packard 5890 (серија А) са масено-спектрометријским детектором (GC-MS) Hewlett Packard 5871. Садржај метилестара масних киселина, стерола и сквалена у екстрактима уља из семена тикве, након одговарајуће припреме узорака за сваку анализу, квалитативно и квантитативно је одређиван на GC-MS систему произвођача Thermo Finnigan, који чине гасни хроматограф TRACE 2000 GC и масени спектрометар TRACE MS, при чему је уређај опремљен аутосемплером (AS 2000, Autosampler, Thermo Finnigan), а резултати су обрађивани софтвером *Trace MS 1.2 Xcalibur 1.4, GC 2000 1.4 SRI and Autosampler 1.4 SRI*. Такође, садржај α- и γ-токоферола у екстрактима семена тикве добијеним у екстракцији наткритичним угљендиоксидом одређен је течном хроматографијом под високом притиском (HPLC), применом инструмента HP1090 Hewlett Packard са DAD детектором. Све анализе су изведене довољан број пута како би се резултати могли обрадити статистички. За обраду резултата и математичко моделовање коришћен је софтверски пакет *Mathcad, Microsoft Excel*, као и стандардни додаток *Excel-a Solver*, при чему су одговарајући програми за моделе написани помоћу *Visual Basic* едитора у *Excel-у*.

**Резултати и дискусија.** У овом поглављу докторске дисертације јасно и прегледно су приказани и дискутовани многобројни резултати, а с обзиром на чињеницу да су две потпуно различите сировине екстраховане наткритичним угљендиоксидом, поглавље је подељено на два дела. У првом делу су приказани резултати наткритичне екстракције, односно принос и квалитет екстраката у зависности од испитиваних технолошких параметара процеса (притисак, време екстракције, проток растварача и уситњеност полазног материјала). У процесу наткритичне екстракције етарских уља није пожељно да температура процеса буде већа од 40 °C, тако да утицај температуре није испитиван. Добијене екстракционе криве на различитим притисцима и анализа зависности састава екстракта у функцији притиска и времена екстракције, дали су увид у кинетику екстракције етарског уља, односно појединих терпенских група у екстрактима. Више од 200 конституената је детектовано у различитим екстрактима бобица клеке добијеним наткритичним угљендиоксидом. На оригиналан и илустративан начин на једној слици су упоређени хроматограми који приказују релативни процентни садржај компонената присутних у екстрактима клеке, сакупљеним током 36 минута од почетка екстракције са наткритичним угљендиоксидом на притисцима 80, 90, 100 и 150 bar, али и слике на којима су приказани хроматограми фракција екстраката сакупљених у sukcesивним временским интервалима током екстракције на притисцима 80, 90 и 100 bar. Компоненте присутне у екстрактима груписане су у пет основних група: монотерпене (М), оксидоване монотерпене (ОМ), сесквитерпене (С), оксидоване сесквитерпене (ОС) и остале компоненте (О). У групу О сврстане су компоненте великих молских маса (као што су масна уља, воскови и/или смоле и неки други неидентификовани пикови). У фракцијама екстраката добијеним на притисцима 80, 90 и 100 bar одређен је садржај 50 идентификованих компонената, међу којима је 13 монотерпена, 18 сесквитерпена, 10 оксидованих монотерпена и 9 оксидованих сесквитерпена. Утицај процесних параметара приказан је и за овако груписане компоненте. Такав приступ проблему осветљава могућност креирања производа у коме ће масени удео оксидованих терпенских једињења у екстрактима бити највећи. Математичко моделовање процеса наткритичне екстракције бобице клеке је посебна целина у оквиру овога дела поглавља. Из мноштва модела којима се може моделовати овај процес на макро и микро-скали, при чему у литератури не постоје

результати примене на процес наткритичне екстракције бобица клеке ни за један од њих, аутор се одлучио да провери могућност примене поједностављених модела испитиваних на другим сировинама. Испитани су модели креирани по аналогији са хлађењем вреле кугле у маси флуида, тј. модели типа једне сфере, и то модел једне сфере-1 (МЈС-1), који поред утицаја коефицијента ефективне дифузије уља у материјалу на брзину преноса масе узима у обзир и утицај коефицијента преноса масе кроз филм наткритичног флуида око честице, при чему је његова вредност процењена преко постојећих корелација, МЈС-1 (2 пар) у коме је спољашњи коефицијент преноса масе узет као други прилагодљив параметар модела и МЈС-2 где је коефицијент ефективне дифузије једини прилагођени параметар. Такође, проверен је и модел карактеристичног времена (МКВ) као и проширени модел клипног тока, који је предложила Согова. Одређене су вредности кинетичких параметара свих пет модела, и добијене вредности упоређене са резултатима сличних истраживања објављених у литератури. Аутор је показао да успешност моделовања процеса и резултати оптимизованих параметара зависе од усвојене вредности садржаја уља у полазном материјалу и од вредности равнотежне растворљивости уља, као и да је важно да пречник честица буде правилно процењен. На основу средње вредности релативног одступања приноса (*ААРД*), израчунатог помоћу модела и измереног експерименталним мерењима, као и стандардне девијације израчунатих од измерених вредности (*СД*) упоређена је успешност примене испитиваних модела на процес наткритичне екстракције бобица клеке.

У другом делу овог поглавља приказани су резултати наткритичне екстракције семенки тикве голице (*C. pepo* L.) пореклом из Словеније, односно добијене екстракционе криве на различитим притисцима, температурама, за различите протоке растварача и за различиту уситњеност. Испитивања утицаја притиска наткритичне екстракције су проширена екстраховањем семенки тикве голице пореклом из Војводине у екстрактору запремине 200 ml. Слагање екстракционих кривих у почетној фази експеримента изведених у екстракторима мање и веће запремине на истим притисцима, доказује да брзину екстракције на почетку процеса одређује успостављена равнотежа, тј. да су добијене екстракционе криве равнотежне. Испитан је утицај притиска и утрошене количине угљендиоксида, као и температуре и утрошене количине угљендиоксида на маснокиселински састав, садржај  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола, стерола и сквалена. Додатно је испитан и утицај величине честица и времена екстракције на маснокиселински састав екстракта из семенки уљане тикве голице из оба региона. За вредноснање утицаја фактора коришћена је двафакторска ANOVA анализа. Уочени су услови под којима се добијају екстракти са највећим садржајем токоферола, сквалена и стерола, добијене су криве брзине екстракције ових једињења, приказано је како се мења њихов садржај у уљу и како се са временом мења екстрахована количина ових једињења по маси нерастворног дела материјала. За одабрани наткритички екстракт уљане тикве голице урађен је Ранцимат тест, и утврђено је да киселински број, пероксидни број, анисидински број и оксидативна стабилност екстракта задовољавају стандарде за јестива нерафинисана уља. Слично као и код бобица клеке, математички је моделован процес наткритичне екстракције уља тикве голице, али овог пута за експерименте реализоване у екстракторима веће и у мање запремине. У анализу је поред већ поменутих модела за клеку укључен и двостепени модел који су предложили Хонг и сар. Одређени су кинетички параметри свих шест испитиваних модела и њихове вредности коментарисане и упоређене са резултатима сличних истраживања објављених у литератури. На основу истих параметара као и код клеке, упоређена је успешност примене испитиваних модела на процес наткритичне екстракције семенки уљане тикве голице.

Сви резултати испитивања су разложно и јасно протумачени и повезани са савременим теоријским сазнањима у овој области.

У **Закључку** су у 30 тачака правилно формулисани сумирани резултати ове дисертације.

Поглавље **Литература** садржи 244 литературна навода, међу којима су и наводи из текуће године.

У **Прилогу** су дати корисни прорачуни моћи растварања угљендиоксида, равнотеже, растворљивости, као и табеле и слике (хроматограми) који нису приказани у самом раду.

**VI** Списак научних и стручних радова који су објављени или прихваћени за објављивање на основу резултата истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији

**уз напомену:**

1. 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", *J. Agric. Food Chem.* **53**, 2630-2636 (2005). **M21**
2. Sovilj, M. N., Barjaktarović, B. G., "Kinetika ekstrakcije ulja iz semena uljane tikve (*Cucurbita pepo* L.) natkritičnim CO<sub>2</sub>", *Hemijska industrija*, **59** (9-10), 238-242 (2005). **M51**
3. Hrabovski, N., Nikolovski, B., Pantaleeva, D., Mandić, A., Sinadinović-Fišer, S., Sovilj, M., „Tocopherols Content in a Supercritical Carbon Dioxide Extracted Pumpkin Seed Oil”, International Conference on Science and Technique oSTAF2008, November, 5-6 (2008), Szeged, Hungary, pp. 99-100. **M33**
4. Nikolovski, B., Hrabovski, N., Sinadinović-Fišer, S., Sovilj, M., "Sterols in Supercritical Carbon Dioxide Extracted Pumpkin Seed Oil", International Conference on Science and Technique in the

- Agri-Food Bussines, ICoSTAF2008, November, 5-6 (2008), Szeged, Hungary, pp. 101-102. **M33**
5. Barjaktarović, B., Skrinjar, M., Skerget, M., Knez, Ž., Sovilj, M., "Recovery of Pumpkin Seed Oil by Supercritical Carbon Dioxide Extraction: A Comparison with Conventional Solvent Extraction", 16<sup>th</sup> International Congress of Chemical and Process Engineering-CHISA2004, August, 22-24 (2004), Prague, Czech Republic, P3.88. **M33**
  6. Barjaktarović, B., Sovilj, M., Knez, Ž., "Extraction of Pumpkin Seed Oil by Supercritical Carbon Dioxide", XVIII Congress of the Chemists and Technologists of Macedonia, September 23-25 (2004), Ohrid, Republic of Macedonia. **M34**
  7. Barjaktarović, B., Knez, Ž., Sovilj, M., "Extraction of *Juniperus communis* L. with Supercritical Carbon Dioxide", Proceedings of the 4<sup>th</sup> European Congress of Chemical Engineering, September 20-22 (2003), Granada, Spain. CD-ROM, P-12.2-011. **M33**
  8. Barjaktarović, B., Sovilj, M., Knez, Ž., "Supercritical Fluid Extraction of *Juniperus communis* L.", Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Symposium " Interdisciplinary Regional Research", October 3-4, S4-428 (2002), Novi Sad, Yugoslavia. **M33**
  9. 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
  10. 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.
  11. 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.
  12. 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.
- Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

### Бобице клеке

Екстракцијом плода клеке угљендиоксидом у наткритичном стању, на притисцима 80, 90, 100, 150 и 200 bar и температури 40°C, при протоку CO<sub>2</sub> од 0,2 kg h<sup>-1</sup> кроз слој формиран од 20 g г бобица клеке, уситњених на средњу величину честица од 0,325 mm добијени су укупни приноси екстракције 0,65±0,03%, 1,48±0,04%, 4,00±0,10%, 9,18% и 10,48%. Укупни приноси расту са порастом притиска и густине угљендиоксида (280, 490, 630, 780 и 840 kg m<sup>-3</sup>), због пораста растворне моћи угљендиоксида, односно повећане растворљивости етарског уља у наткритичном флуиду.

У екстрактима добијеним угљендиоксидом веће густине, поред етарског уља клеке, налазе се и мање испарљиве и неиспарљиве компоненте високих температура кључања, као што су виши терпени, естри, слободне масне киселине, масна уља, воскови и смоле, па се екстракти добијени на различитим притисцима визуелно значајно разликују. Само екстракт добијен на 80 bar је светла, бледожућкаста, уљаста течност, која има изглед сличан етарском уљу клеке добијеном хидродестилацијом. Екстракти добијени на 90 и 100 bar били су светлије и тамније жуте, вискозне течности на собној температури. Екстракти добијени на 150 и 200 bar су тамно жути, делимично чврсти, односно чврсти на собној температури, услед присуства пигмената и кутикуларних воскова.

Више од 200 конституената је детектовано у различитим екстрактима бобица клеке добијеним наткритичним угљендиоксидом. Компоненте присутне у екстрактима груписане су у пет основних група: монотерпене (М), оксидоване монотерпене (ОМ), сесквитерпене (С), оксидоване сесквитерпене (ОС) и остале компоненте (О). У групу О сврстане су компоненте великих молских маса (као што су масна уља, воскови и/или смоле и нека друга неидентификована једињења). Одређен је садржај 50 идентификованих компонената, међу којима је 13 монотерпена, 18 сесквитерпена, 10 оксидованих монотерпена и 9 оксидованих сесквитерпена.

Варирањем притиска екстракције и времена трајања процеса могу се добити екстракти бобица клеке (*Juniperus communis* L.) са различитим односима главних терпенских група. Пошто би се одређене групе терпенских компонената, које се екстрахују истом брзином и по правилу показују синергетски ефекат и имају слично деловање, на овај начин могле концентрисати у екстрактима, постоји могућност креирања нових природних производа на бази клеке, а према жељеној намени.

Пре истека 36 минута од почетка екстракције, 99 % монотерпена присутних у бобицама клеке се изолује (екстрахује) на свим испитиваним притисцима. Оксидовани монотерпени се могу скоро у потпуности изоловати екстракцијом на притиску од 100 bar, у периоду од 30 минута од почетка екстракције, а на притиску од 90 bar, за 72 минута. Међутим, на притиску од 80 bar, током 4 h екстракције, могуће је у екстракту добити само 75% од максималне количине ОМ која се добија на 100 bar. Интензивна екстракција сесквитерпена не може се избећи ни на једном испитиваном притиску, али се на почетку процеса екстракције (36 минута од почетка екстракције) на 80 bar, сесквитерпени екстрахују 3 и 8 пута спорије него на 90 и 100 bar. Фракције обогаћене компонентама високе температуре кључања су добијене када је густина CO<sub>2</sub> била већа. Уколико се екстракција бобица клеке одвија на притиску од 80 bar, кутикуларни воскови, масти, смоле и друге компоненте високе температуре кључања, нису у значајној мери присутни у екстракту, чак и након екстракције која је трајала 3 h. С друге стране, компоненте сврстане у групу О, у екстрактима добијеним на 90 и 100 bar, већ после 36 минута од почетка екстракције присутне су у количинама 10%, односно 30%. Стога, екстракција бобица клеке наткритичним угљендиоксидом на вишим притисцима од 80 bar треба да се изводи у уређају у коме је омогућено раздвајање екстракта у систему који има два сепаратора. Уз то, утврђено је да се детерпенизацијом етарског уља на 80 bar и 40°C веома лако и за кратко време могу уклонити монотерпени. Монотерпенска фракција се може користити у различите сврхе, између осталог, и као еколошки прихватљива алтернатива препаратима за сузбијање штеточина. С друге стране, детерпенизована фракција има јаче антибактеријско деловање од полазног уља. Резултати показују да би се екстракцијом на притиску од 90 bar и температури од 40°C, у трајању до 2 h (40 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> мат) добили екстракти са највећом вредношћу масеног односа оксидованих и неоксидованих компонената. Због смањене брзине екстракције сесквитерпена после 2 h екстракције и још увек велике брзине екстракције ОС након тог периода, процес који би трајао до 3 h (60 g CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> мат) имао би за последицу повећани масени однос ОС/С.

Величина честица има утицај на принос и брзину екстраховања етарског уља клеке наткритичним угљендиоксидом на 80 bar и 40°C. Принос екстракта је већи када се у екстракцији користе ситније честице.

При истој специфичној потрошњи угљендиоксида не постоји статистички значајна разлика између приноса за испитиване граничне протоке CO<sub>2</sub> (0,2 и 0,8 kg h<sup>-1</sup>) при истој потрошњи растварача.

Екстракција бобица клеке наткритичним угљендиоксидом је од самог старта нестационаран процес, а излазна концентрација етарског уља у наткритичном флуиду опада прогресивно у току процеса. Већа излазна концентрација уља у CO<sub>2</sub> добија се на вишим притисцима екстракције и при већем протоку наткритичног екстрагенса. Концентрација етарског уља плода клеке у CO<sub>2</sub> на излазу из екстрактора увек је далеко мања од равнотежне растворљивости терпена присутних у уљу.

Успешност моделовања процеса и резултати оптимизованих параметара зависе од претпостављене вредности полазног садржаја уља у биљном материјалу и од вредности равнотежне растворљивости уља.

Такође, важно је да је пречник честица правилно процењен. Модели за које је испитана могућност примене на процес наткритичне екстракције етарског уља клеке су: модели једне сфере (МЈС-1, МЈС-1 (2 пар) и МЈС-2), модел карактеристичног времена (МКВ) и проширени модел клипног тока кога је предложила Согова. Експерименти су изведени у опсегу  $Re$  вредности од 1,5 до 10,5, и  $Sc$  вредности око 1,4.

Најмање одступање израчунатих од експерименталних вредности приноса добија се када се за полазни садржај уља у материјалу узме вредност максималног приноса оствареног у том експерименту, при дужем времену екстракције (8-9 h). Прорачун се може извести и са максималном вредношћу укупног приноса оствареном на највишем испитиваном притиску (200 bar). Такође, за проширени модел клипног тока, важно је знати равнотежну растворљивост уља у материјалу. Једна варијанта прорачуна је да се узме вредност нагиба почетног дела екстракционих кривих, што одговара максималним вредностима излазне концентрације уља у  $CO_2$ . Друга варијанта је да се равнотежна растворљивост процени из неке од корелација за растворљивост, или из израза који укључује коефицијент фугацитета уља у наткритичној фази, који се може израчунати на основу неке од једначина стања. С обзиром на велики број једињења у екстрактима, као и на чињеницу да се састав екстрахованог уља мења са променом притиска и временом трајања екстракције, процена равнотежне растворљивости на било који од ова два начина веома је непоуздана. У овом раду је равнотежна растворљивост коришћена као променљиви параметар, чија вредност је оптимизирана тако да параметар  $F$  у моделу Согова зависи од привидне брзине угљендиоксида ( $U$ ), према функцији  $6U^{0,54}$ , коју је предложио аутор модела оригинално примењеног на екстракцију масних уља.

Када се равнотежна растворљивост,  $y_r^*$  процени на овај начин, проширени модел клипног тока даје најбоље слагање са експерименталним резултатима, са просечном вредношћу средњег релативног одступања израчунатих од измерених вредности приноса ( $AAPD$ ) од 3,8%, за експерименте на 90, 100, 120 и 200 bar. Наравно, на овај начин добијене вредности  $y_r^*$ , само су процена вредности равнотежне растворљивости етарског уља клеке, док би праве вредности требало одредити експериментално.

Модел који најбоље описује наткритичну екстракцију плода клеке на 80 bar и 40°C је модел једне сфере у коме су оптимизирана два параметра, коефицијент ефективне дифузије и коефицијент преноса масе кроз филм наткритичног флуида, који је формиран око честица материјала. Просечна вредност за  $AAPD$  за овај модел је 4,2%, док је за модел који је предложила Согова, који има три прилагодљива параметра, ова вредност 4,8%.

#### Семе тикве голице

Екстракцијом семена тикве голице угљендиоксидом у наткритичном стању, на притисцима 150, 225 и 300 bar, на температури 40°C, при протоку  $CO_2$  од 0,2 kg h<sup>-1</sup> кроз слој формиран од 20 g семена тикве, уситњених на средњу величину честица од 0,56 mm (пречници честица у опсегу 0,50-0,63 mm) добијени су укупни приноси, редом: 18,14% (14 h екстракције), 36,3% (9 h екстракције), и 42,0% (7 h екстракције). Приноси расту због тога што са порастом притиска расту и густине угљендиоксида од 780, преко 860 до 910 kg m<sup>-3</sup>, чиме се повећава растворна моћ угљендиоксида, односно повећава принос тиквиног уља у наткритичном  $CO_2$ .

При свим испитаним условима, на почетку екстракције постоји линеарна зависност количине екстрахованог уља из семена тикве од времена екстракције, односно од масе наткритичног угљендиоксида утрошеног за екстракцију. Након почетног периода константне брзине преноса масе уља из семена у наткритични угљендиоксид, долази до успоравања брзине процеса екстракције, тј. нагиб екстракционих кривих почиње да се смањује.

Уље семена тикве добијено на притиску од 150 bar је светло жуто и његова боја се није мењала у току екстракције. Уље добијено на притиску од 225 bar је тамније у односу на уље добијено на притиску од 150 bar и његова боја се мењала у току екстракције, постајући црвенкастија у односу на светло жуто боју на почетку процеса. На притиску од 300 bar, боја добијеног екстракта током времена екстракције се мења, од бледо жуте (прва 2 h), преко оранж жуте (од 2 до 4 h), до црвене, односно тамно црвене (након 4 h), а његова густина опада са 921,3, преко 919,1 до 918,2 kg m<sup>-3</sup>. Уље добијено екстракцијом хексаном и петролетром има тамно зелену боју, са нијансама тамно црвене. Угљендиоксид слабије раствара хлорофиле због њихове поларне природе.

Температура у опсегу 40-60°C не утиче на принос екстракта на притиску 300 bar, па се може сматрати да је прелазни притисак (*engl. crossover pressure*) управо на том или око тог притиска.

На 300 bar и 40°C, када се средњи пречник честица мења од 0,40 до 0,72 mm, на почетку процеса екстракције нема разлике у приносима за исту специфичну потрошњу  $CO_2$ , али након одређене утрошене количине  $CO_2$ , принос екстракта, при константној специфичној потрошњи  $CO_2$ , почиње да зависи од пречника честица и највећа вредност се добија коришћењем најситнијих честица. Смањење пречника честица доводи до повећања брзине дифузије, односно до скраћења дифузионог пута. Додатни ефекат на пораст приноса екстракције при смањењу пречника честица има и повећање специфичне међуфазне површине уситњеног материјала када су честице мањег пречника, што омогућава интензиван контакт угљендиоксида и коришћеног материјала.

Када се екстракција изводи на притиску 300 bar и температури 40°C, при различитом протоку  $CO_2$  и при различитом специфичном протоку израженом по јединици масе материјала, при истој вредности

специфичне потрошње угљендиоксида (маса утрошеног угљендиоксида по маси екстрахованог материјала) нема разлике у приносима. Наиме, екстракционе криве на 300 bar се поклапају, што указује да нема утицаја протока и часовне потрошње угљендиоксида по јединици масе екстрахованог материјала, односно специфичног протока CO<sub>2</sub> на принос екстракта.

Анализом маснокиселинског састава екстракта, односно уља тикве голице добијеном наткритичном екстракцијом, добијено је да је најзаступљенија олеинска киселина, 38,5-45,9%, а затим линолна, 36,7-41,6%, и палмитинска, 11,4-13,9%. Уочено је да се садржај засићених масних киселина (ЗМК) и полинезасићених масних киселина (ПНМК) мало повећава у екстрактима, када се екстракције изводе на вишој температури, док садржај мононезасићених масних киселина (МНМК) опада. Степен уситњености нема значаја за промену маснокиселинског састава екстракта добијених након 2 h екстракције наткритичним угљендиоксидом. Међутим, када се време екстракције продужи на 6 h, екстракти који се добијају из семена тикве голице различитог степена уситњености разликују се по садржају линолне и олеинске киселине. Након 4 h екстракције, дужина трајања процеса екстракције има пресудну улогу на испољавање разлика у маснокиселинском саставу екстракта. Двофакторска ANOVA анализа је показала да притисак нема значајан утицај на садржај МНМК ( $p=0,051$ ) и ПНМК ( $p=0,154$ ), односно на садржај олеинске и линолне киселине ( $p=0,109$ ), док је време трајања екстракције, са вероватноћом од 95%, имало значајан утицај на промену садржаја МНЗК ( $p=0,0015$ ) и ПНМК ( $p=0,0011$ ), тако да се повећао садржај МНЗК, а смањило садржај ПНМК. Ова промена састава уља највероватније је узрок благог повећања оксидативне стабилности уља, која је утврђена Ранцимат тестом, са продужавањем времена екстракције са 4, преко 6, на 8 h. Киселински број, пероксидни број, анисидински број и оксидативна стабилност уља задовољавају стандарде за јестива нерафинисана уља.

У свим добијеним екстрактима садржај  $\gamma$ -токоферола је значајно већи од садржаја  $\alpha$ -токоферола, а са порастом времена екстракције, односно специфичне потрошње угљендиоксида, однос садржаја  $\gamma$ - и  $\alpha$ -токоферола расте. Утицај температуре на садржај  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола у екстрактима добијеним на 300 bar и 40° најизраженији је на почетку процеса екстракције, односно при утрошених око 20 kg CO<sub>2</sub> по kg сувог материјала у екстрактору. Наиме, на почетку процеса са порастом температуре расте и растворљивост токоферола у наткритичном угљендиоксиду, тако да се то одражава и на пораст садржаја токоферола у екстрахованом уљу од 571, преко 727 до 946 mg kg<sup>-1</sup> екстрахованог уља за температуре 40, 50 и 60°C, док је садржај  $\alpha$ -токоферола у истим узорцима 99, 110 и 178 mg kg<sup>-1</sup> екстрахованог уља. У каснијим фазама процеса, када фазна равнотежа има мањи утицај у односу на брзину дифузионог преноса масе, утицај температуре постаје занемарљив и на различитим температурама екстрахује се готово иста количина токоферола.

Утицај притиска на садржај  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола у екстрактима најизраженији је на почетку процеса екстракције, односно при утрошених око 30 kg CO<sub>2</sub> по kg сувог материјала у екстрактору. На почетку процеса, на нижим притисцима већи је садржај токоферола у екстрахованом уљу, што је последица различитог утицаја повећања притиска на брзину екстракције уља и брзину екстракције токоферола. Смањење садржаја токоферола у уљу на вишим притисцима није последица мање растворљивости токоферола на вишим притисцима, већ великог пораста укупног приноса екстрахованог уља са порастом притиска, односно повећања растворљивости осталих компоненти уља. Овај ефекат није имао значаја код испитивања утицаја температуре, пошто температура није имала значајан утицај на укупни принос. У каснијим фазама процеса, утицај притиска постаје мање значајан, и на различитим притисцима екстрахује се готово иста количина токоферола.

Фракције које су екстраховане на притиску 300 bar и на температурама 40, 50 и 60°C, на почетку процеса, односно након утрошених око 20 kg CO<sub>2</sub> по kg сувог материјала у екстрактору, имају изразито висок садржај сквалена, до вредности од 9,55 g kg<sup>-1</sup> уља (на температури 60°C), док се у каснијим фазама процеса екстрахује много мања количина сквалена, па је садржај сквалена у наредним фракцијама много мањи. На притиску 300 bar, на почетку процеса, расте садржај сквалена у екстрахованом уљу при порасту температуре од 40, преко 50 до 60°C, што је највероватније последица чињенице да се са порастом температуре незнатно повећава и растворљивост сквалена у наткритичном угљендиоксиду, тако да је вредност притиска при коме долази до температурне инверзије, односно прелазног притиска између 250 и 300 bar.

На нижим притисцима садржај сквалена у јединици масе екстрахованог уља је већи у току читавог процеса, што је последица различитог утицаја повећања притиска на брзину екстракције уља и брзину екстракције сквалена. У првој фракцији екстракта добијеној на 225 bar, садржај сквалена је био 10 g kg<sup>-1</sup> екстрахованог уља. Смањење садржаја сквалена у уљу на вишим притисцима није последица његове мање растворљивости, већ великог пораста укупног приноса екстрахованог уља са порастом притиска, односно повећања растворљивости триглицерида, диглицерида и осталих присутних једињења. Овај ефекат није имао значаја код испитивања утицаја температуре, пошто температура није имала значајнији утицај на укупни принос. Сепарацију сквалена од триглицеридних компоненти уља, односно добијање фракција обогаћених скваленом, могуће је извести на притиску од 225 bar.

Утврђено је да су најзаступљенији стероли у узорцима  $\Delta 7$  типа, и то стигмаста-7,25-диенол,  $\Delta 7$ -стигмастенол, стигмаста-7,22,25-триенол,  $\Delta 7$ -авенастерол и спинастерол. У просеку, садржај  $\Delta 7$ -стерола је

око 16,5 пута већи од садржаја  $\Delta 5$ -стерола. Овај однос се креће од најмање добијене вредности 12,4 до највеће 22,0.

Фракције које су екстраховане на почетку процеса на 300 бар и температурама 40, 50 и 60°C, односно након утрошених првих око 20 kg CO<sub>2</sub> по kg сувог материјала у екстрактору, имају око 1,5 пута већи садржај стерола него фракција добијена у интервалу вредности специфичне потрошње CO<sub>2</sub> од 20 до 40 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> сувог материјала. Садржај стерола у првој фракцији екстраката добијеној на температури 60°C је 4,98 g kg<sup>-1</sup> уља. У фракцији сакупљеној у интервалу вредности специфичне потрошње CO<sub>2</sub> 40 – 80 kg kg<sup>-1</sup> сувог материјала, на 40 и 50°C долази до благог пораста садржаја стерола у односу на претходну фракцију, што је вероватно последица промене брзине екстракције триглицерида и стерола. На притиску 300 бар, на почетку процеса, расте садржај стерола у екстрахованом уљу при порасту температуре од 40, преко 50 до 60°C, што је последица чињенице да се са порастом температуре повећава и растворљивост стерола у наткритичном угљендиоксиду, односно да је прелазни притисак испод 300 бар.

На притиску 300 бар и температурама 40 и 50°C, највећи садржај у уљу има сума два стерола,  $\Delta 7$ -стигмастенола и стигмаста-7,25-диенола, док је на 60°C у уљу већи садржај стигмаста-7,22,25-триенола и спинастерола, кога уједно има и највише. Појава смањења садржаја стерола на већој температури примећује се и код  $\Delta 7$ -авенастерола.

На температури 40°C и притисцима 225, 300 и 400 бар, садржај стерола у фракцијама добијеним након утрошених 15 kg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> сувог материјала је највећи. Садржај укупних стерола креће се у границама од 3,3 до 4,05 g kg<sup>-1</sup>, а највећи је у првој фракцији екстракта сакупљеног на притиску 400 бар. Са порастом времена екстракције садржај стерола смањује се у свим фракцијама на 400 бар, док је на притисцима 225 и 300 бар садржај у трећој фракцији нешто већи него у другој.

У зависности од притиска, постоји дужи почетни период на нижим притисцима или краћи почетни период, на вишим притисцима, у коме се излазна концентрација тиквиног уља у наткритичном CO<sub>2</sub> може сматрати константном, односно вредности излазне концентрације за дати притисак, варирају око неке просечне вредности. Одређена је растворљивост тиквиног уља на основу максималних вредности излазне концентрације уља у CO<sub>2</sub> на почетку процеса, а вредности параметара у једначини за растворљивост коју је предложио Chrastil, оптимизовани према експерименталним резултатима овога рада, износе:  $c_0 = -73,1$ ,  $c_1 = 12,765$  и  $c_2 = -5881$ .

Модел који су испитани на експерименталним резултатима наткритичне екстракције уљане тикве голице у овом раду су: модели једне сфере, МЈС-1, МЈС-1 (2 пар), МЈС-2, модел МКВ, проширени модел клипног тока кога је предложила Согова́ и комбиновани модел кога су предложили Хонг и сар. Почетни садржај уља у материјалу одређен је на основу приноса Сокслет екстракције хексаном, односно петролетром. Равнотежне растворљивости тиквиног уља одређене су на основу максималних вредности излазне концентрације уља у CO<sub>2</sub> на почетку процеса. Вредности Re броја у експериментима крећу се у врло уском опсегу од 0,7 до 2,4, а вредности Sc броја од 1,7 до 9,8. Вредности коефицијента преноса масе у филму наткритичног CO<sub>2</sub> формираног око честица, израчунате применом критеријалних једначина доступних у литератури значајно се разликују, и крећу се у опсегу од  $0,7 \times 10^{-6}$  до  $162 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ . Најмање одступање израчунатих од експерименталних вредности приноса добија се применом проширеног модела клипног тока који је предложила Согова́. Комбиновани модел који су предложили Хонг и сар. није дао добре резултате за екстракцију изведена на 150 бар, пошто је било потребно изводити процес дуже од 14 h да би се помоћу овог модела могле проценити вредности ефективног коефицијента дифузије. На притисцима 300 и 400 бар, модел који предлажу Хонг и сар. добро описује процес. Уколико се преко вредности стандардног одступања процењује ефикасност примењених модела, модел карактеристичног времена се показао бољим у односу на моделе једне сфере.

Проширеним моделом клипног тока који је предложила Согова́ могу се добро описати екстракционе криве добијене за експерименте наткритичне екстракције семена уљане тикве голице у екстракторима различитих запремина (60 и 200 ml) на свим испитиваним условима. Просечна вредност *AAPD* за све експерименте је 2,6%.

#### *Оштити закључак*

Варирањем вредности притиска, температуре и потрошње угљендиоксида у процесу наткритичне екстракције, могуће је креирати нове природне производе, како на бази клеке, тако и на бази уљане тикве голице, а према жељеној намени. Производи добијени на овај начин, старско уље и масно уље, не садрже трагове растварача, добијају се у најмање могуће измењеном облику у односу на њихово стање у сировини, и циљано могу имати већи садржај једињења са активним деловањем, нпр. монотерпена или оксидованих терпена у екстрактима плода клеке, и токоферола, стерола и/или сквалена у екстрактима семена тикве голице. Овакви производи могу се користити као полазна основа за формирање помоћних лековитих средстава са високим садржајем активних компонената, за производњу дијететских производа намењених за циљану групу потрошача, односно као функционална храна.

<p><b>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</b>  <b>НАПОМЕНА:</b> Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p> <p>Резултати истраживања у оквиру ове докторске дисертације приказани су јасно и прегледно у табелама, на графицима, односно сликама. Резултати су математички и статистички обрађени. Тумачење резултата је студиозно, а израчунате вредности параметара кинетичких модела су у складу са вредностима објављеним у научној литератури за слична истраживања.</p>
<p><b>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>  <b>НАПОМЕНА:</b> Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање.</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме <b>ДА</b>  <b>Докторска дисертација је написана у потпуности у складу са образложењем наведеним у пријави теме.</b></p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе <b>ДА</b>  <b>Докторска дисертација садржи све битне елементе.</b></p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци  <b>Оригиналан допринос науци ове докторске дисертације је то што су по први пут приказани резултати опсежних истраживања кинетике наткритичне екстракције етарског уља клеке и масног уља уљане тикве голице, као и математичко моделовање ових процеса са више модела из литературе, чиме су добијене вредности кинетичких параметара ових модела за процес екстракције обе сировине. Такође, први пут је испитан и утицај времена екстракције на садржај високовредних компонената у етарском уљу клеке (монотерпена, оксидованих монотерпена, сесквитерпена, оксидованих сесквитерпена), односно маснокиселински састав, садржај <math>\alpha</math>- и <math>\gamma</math>-токоферола, сквалена и стерола у уљу тикве голице, добијеним наткритичним угљендиоксидом. Показано је да је варирањем вредности притиска и/или температуре и потрошње угљендиоксида у процесу наткритичне екстракције, могуће креирати нове природне производе, како на бази клеке, тако и на бази уљане тикве голице, а према жељеној намени.</b></p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања <b>НЕМА</b>  <b>Докторска дисертација нема недостатака.</b></p>
<p><b>X ПРЕДЛОГ:</b>  На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p>
<p>- Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом „Кинетика и моделовање екстракције уља из бобица клеке (<i>Juniperus communis</i> L.) и семенки тикве (<i>Cucurbita pepo</i> L.) наткритичним угљендиоксидом“, мр Браниславе Николовски и предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана.</p>

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.