

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO METALURŠKI FAKULTET

Miljana S. Marković

FRAKCIONA HIDRODESTILACIJA I REKTIFIKACIJA
ETARSKOG ULJA PLODA KLEKE (*Juniperus communis*
L.)

Doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Miljana S. Marković

FRACTIONAL HYDRODISTILLATION AND
RECTIFICATION OF JUNIPER BERRY (*Juniperus
communis* L.) ESSENTIAL OIL

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor:

dr Nevenka Bošković-Vragolović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Komentor:

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

Članovi komisije:

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

dr Rada Pjanović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Kandidat:

Datum odbrane: _____

Neizmernu zahvalnost dugujem svom mentoru, profesorki dr Nevenki Bošković Vragolović, na korisnim savetima i sugestijama tokom izrade ove doktorske disertacije, kao i na neizmernom strpljenju i pomoći kad god je to bilo potrebno.

Zahvaljujem se i komentoru, profesoru dr Svetomiru Milojeviću, sa kojim sam započela svoj naučni rad tokom izrade diplomskog rada na master studijama, a potom ga na moje veliko zadovoljstvo uspešno nastavila u okviru ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem profesoru dr Vladi Veljkoviću. Njegova stručnost i znanje su u najvećoj meri doprineli kvalitetu ove teze.

Veliko zahvalnosti za pomoć i sugestije u eksperimentalnom radu koji su doprineli kvalitetnijem istraživanju dugujem profesoru dr Vladimiru Pavićeviću.

Zahvalnost dugujem profesorici dr Radi Pjanović.

Iskrenu zahvalnost dugujem mr Mihailu Ristiću sa Instituta za proučavanje lekovitog bilja „dr Josif Pančić“, koji nažalost nije sa nama, a bez koga analiza hemijskog sastava etarskih ulja u ovom radu ne bi bila moguća.

Takođe se zahvaljujem Milošu Miloševiću na pomoći u eksperimentalnom radu, kao i profesorici dr Dragani Radosavljević na pomoći u statističkoj obradi podataka ove doktorske disertacije.

Zahvalnost dugujem svojoj porodici na podršci i ljubavi koju mi uvek pružaju.

IZVOD

U ovoj doktorskoj disertaciji ispitivani su kinetika hidrodestilacije, prinos, sastav i frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis* L.) ubranog na Kopaoniku. Određeni su prinos, sastav etarskog ulja i razvijena su tri fenomenološka modela kinetike hidrodestilacije etarskog ulja iz ploda kleke. Modeli su zasnovani na pretpostavci da se etarsko ulje koje se nalazi na površini čestica biljke izdvaja brzom destilacijom i ta faza je nazvana "ispiranje". Preostalo etarsko ulje se izdvaja kroz dve faze, tj. dve difuzije. Tokom prvog difuzionog procesa, nazvanog "neometana difuzija", dolazi do prenosa etarskog ulja kroz rupturu organa bez ometanja ka površini čestica biljnog materijala. Sa druge strane, tokom drugog difuzionog procesa, nazvanog "ometana difuzija", dolazi do prenosa etarskog ulja kroz membrane neoštećenih organa i druge barijere prisutne u česticama biljnog materijala. Razvijeni modeli pokazuju vrlo dobro slaganje sa eksperimentalnim podacima, pri čemu su verifikovani i za slučajeve dobijanja etarskog ulja tehnikom hidrodestilacije iz drugih biljnih vrsta. S obzirom da je jedan od razvijenih modela, koji polazi od pretpostavke da maksimalne brzine izdvajanja u fazama ispiranja i difuzije nisu na početku procesa destilacije, već nakon određenog vremenskog intervala, zasnovan na fizičkom mehanizmu ekstrakcije etarskog ulja kleke, ima najveće vrednosti koeficijenta determinacije i nisko srednje relativno procentualno odstupanje, preporučeno je za modelovanje kinetike izdvajanja etarskog ulja kleke pomoću klasične hidrodestilacije i posebno mikrotalasne hidrodestilacije.

Primećeno je da sa porastom vremena mlevenja plodova kleke dolazi do smanjenja prinosa, dok je prinos rastao sa porastom vremena bubrenja plodova. Samim tim, optimalni predtretman procesa uključuje potapanje kleke i jednogminutno mlevenje, što je potvrđeno eksperimentom. Metode analize procesnih parametara su uspešno primenjene za predviđanje optimalnog prinosa etarskog ulja. Predviđeni najbolji prinos JEO od 2,22 g/100 g se složio sa eksperimentalno dobijenim JEO prinosom od 2,23 g/100 g plodova kleke.

U cilju praćenja promene sastava etarskog ulja u toku hidrodestilacije izdvojene su frakcije i ispitan njihov sastav. Utvrđeno je da se sastav etarskog ulja značajno menja u toku procesa. Sastavi frakcija etarskog ulja ploda kleke tokom hidrodestilacije i

mikrotalasne hidrodestilacije ukazuju da je koncentracija lako isparljivih komponenata, bez obzira na tretman plodova pre mlevenja, najveća u prvim frakcijama, a teško isparljive grupe komponenata su najzastupljenije u poslednjoj frakciji. Takođe, primena istovremene hidrodestilacije i rektifikacije i istovremene mikrotalasne hidrodestilacije i rektifikacije je imalo pozitivan efekat na sastav frakcija etarskog ulja.

Ključne reči: *Juniperus communis* L., etarsko ulje, mikrotalasna hidrodestilacija, fracionisanje, istovremena mikrotalasna hidrodestilacija i rektifikacija, matematičko modelovanje.

ABSTRACT

The kinetics of hydrodistillation (HD), as well as the yield, the composition and the fractionation of essential oil from juniper (*Juniperus communis* L.) berries collected at the Kopaonik mountain was studied. The yield and the composition of the essential oil were determined. Three models of the essential oil HD kinetics were developed, based on the assumption that juniper essential oil (JEO) from the external surfaces was extracted during the fast initial stage of distillation process, the so-called "washing". The remaining JEO was extracted during the two stages, i.e. two diffusions. During the first diffusion process, called "unhindered diffusion", the essential oil from the ruptured reservoirs diffused without any limitations towards the external surface of the plant particles. On the other side, during the second diffusion process, called "hindered diffusion", the essential oil transferred from the intact reservoirs through the membranes and other barriers presented in the plant particles. Developed models were shown to fit very well with the experimental data. Furthermore, they were also verified for the extraction of the essential oils by HD from other plants. Since one of developed models based on assumption that maximum washing and diffusion rates' values were not at the beginning of the distillation process, but occurred later, was based on the physical mechanism of JEO extraction and had the largest coefficient of determination, the low MRPD value and the statistically significant parameters, it was recommended for the modeling the kinetics of JEO extraction by HD and especially microwave-assisted HD (MAHD).

It was observed that the JEO yield increased with increasing the swelling time and with decreasing the grinding time. Thus, the optimal pretreatment process involved no swelling and one-minute grinding, which was verified by the experiment. Methods of analysis of process parameters have been successfully applied to predict optimal yield of essential oil. The predicted best JEO yield of 2.22 g/100 g agreed with the experimentally obtained JEO yield of 2.23 g/100 g.

In order to monitor changes in the composition of essential oil during HD, fractions of the essential oil were collected and their composition was determined. It was found that the composition of essential oil significantly changed during the process. The composition of the fractions of the essential oil of juniper fruit during HD and MAHD

indicated that the first fractions contained mainly easily-volatile constituents regardless of the pretreatment of the fruit before grinding, while the fractions collected during the final phase of the HD contained heavily-volatile components. Also, the application of simultaneous HD and rectification and simultaneous MAHD and rectification had a positive effect on the composition of the fraction of essential oil.

Key words: *Juniperus communis* L., essential oil, microwave-assisted hydrodistillation, fractionation, simultaneous microwave-assisted hydrodistillation and rectification, mathematical modeling

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DEO	4
2.1. Kleka	4
2.1.1. Morfološke karakteristike ploda kleke	5
2.1.2. Mikroskopske karakteristike ploda kleke	6
2.1.3. Upotreba i delovanje ploda kleke	7
2.2. Etarska ulja	8
2.2.1. Etarsko ulje ploda kleke	10
2.3. Izdvajanje etarskog ulja	12
2.3.1. Konvencionalne metode izdvajanja etarskog ulja	13
2.3.1.1. Hladno presovanje	13
2.3.1.2. Anfleraž postupak	14
2.3.1.3. Hidrodestilacija	14
2.3.1.4. Ekstrakcija organskim rastvaračima	16
2.3.1.5. Natkritična ekstrakcija	17
2.3.2. Nove metode izdvajanja etarskog ulja	17
2.3.2.1. Ultrazvučna ekstrakcija	17
2.3.2.2. Izdvajanje etarskog ulja pomoću mikrotalasa	19
2.3.2.3. Proces trenutno kontrolisanih padova pritiska	20
2.4. Frakcionisanje etarskog ulja	22
2.4.1. Frakcionisanje etarskog ulja rektifikacijom	23
2.5. Kinetika hidrodestilacije etarskog ulja	25
3. EKSPERIMENTALNI DEO	30
3.1. Materijal	30

3.1.1.	Priprema ploda kleke za HD.....	30
3.2.	Izolacija bioaktivnih komponenata	31
3.2.1.	Aparatura za HD	31
3.2.2.	Aparatura za MAHD	32
3.2.3.	Aparatura za SHDR.....	33
3.2.4.	Aparatura za SMAHDR.....	34
3.3.	Određivanje sastava etarskog ulja ploda kleke	34
3.3.1.	Gasna hromatografija sa plameno jonizujućim detektorom	36
3.3.2.	Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom	36
3.4.	Ekperimentalna i statistička obrada podataka	37
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	39
4.1.	Sastav etarskog ulja plodova kleke dobijenog HD i MAHD.....	39
4.2.	Frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke HD i MAHD.....	53
4.3.	Frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke SHDR I SMAHDR.....	59
4.4.	Kinetika hidrodestilacije	65
4.4.1.	Mehanizam izdvajanja etarskog ulja ploda kleke.....	65
4.4.2.	Modelovanje kinetike izdvajanja etarskog ulja ploda kleke.....	67
4.4.3.	Upoređivanje razvijenih modela na bazi AICc.....	80
4.4.4.	Verifikacija modela	81
4.5.	Uticaj predtretmana plodova kleke na prinos etarskog ulja.....	83
4.6.	Kinetika izdvajanja etarskog ulja iz ploda kleke metodama SHDR i SMAHDR.....	87
5.	ZAKLJUČAK	90
	Literatura	97
	Prilog I.....	112
	Prilog II.....	120

Prilog III	124
Biografija autora	125

1. UVOD

Lečenje biljem je najstariji metod lečenja koji se primenjuje od davnina i održao se kroz istoriju do današnjih dana. Savremena naučna istraživanja su potvrdila ili opovrgla tradicionalnu upotrebu određene vrste lekovitog bilja. Lekovito bilje se primenjuje u prevenciji i lečenju raznih stanja i bolesti, a ima široku primenu zahvaljujući realnom terapijskom dejstvu za različite indikacije, i relativno veću bezbednost i neškodljivost u odnosu na sintetičke lekove (Živanović, 2010).

Etarska ulja su postala sastavni deo svakodnevnog života. Poslednjih godina, značaj etarskih ulja i mogućnost njihove primene kao repelenata insekata (etarsko ulje citorenele) dovela je do detaljnije analize njihovih antimikrobnih potencijala. Etarska ulja su i dobar prirodni izvor supstanci koje imaju komercijalni potencijal kao polazni materijali za hemijsku sintezu. Etarska ulja su poznata čovečanstvu već stotinama, čak hiljadama godina. Mnogo pre nego što su se počela koristiti kao mirisi, važna uloga ulja kao medicinskog sredstva bila je priznata. Bez medicinske nege koja postoji danas, samoisceljenje je bila jedina opcija u borbi protiv parazita ili bola. Kasnije, etarska ulja su korišćena u pripremi kozmetičkih proizvoda, praškova i sapuna. Sa počecima industrijske proizvodnje sintetičkih hemikalija i njenim razvojem tokom XIX veka, proizvodnja etarskih ulja se takođe povećala. Količine etarskih ulja proizvedenih širom sveta se razlikuju. Godišnja proizvodnja nekih etarskih ulja prelazi 35000 tona, dok je proizvodnja nekih drugih tek nekoliko kilograma (Baser and Buchbauer, 2010).

Etarsko ulje ploda kleke (*Juniperus communis* L. *Cupressaceae*), kao najvažniji bioaktivni sastojak ploda kleke (*Fructus Juniperi*), primenjuje se u farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji, kao i veterini (Damjanović, 2000).

Za dobijanje etarskog ulja ploda kleke do sada su primenjivane sledeće tehnike: hidrodestilacija (Butkienė i sar., 2004; Chatzopoulou i Katsiotis, 1995; Milojević i sar., 2008), ekstrakcija natkritičnim ugljenik-(IV)-oksidom (Barjaktarović i sar., 2005; Damjanović i sar., 2003, 2006; Marongiu i sar., 2006), ekstrakcija organskim rastvaračima (Damjanović i sar., 2003), istovremena destilacija i ekstrakcija (Chatzopoulou i Katsiotis, 1995) i mikrotalasna hidrodestilacija (Pavićević i sar., 2016).

Svaka od tehnika ima svoje prednosti i nedostatke. Ipak, etarsko ulje kleke najčešće se dobija hidrodestilacijom. Tokom poslednje decenije klasična hidrodestilacija (HD) sa električnim grejanjem je unapređena uvođenjem tehnike mikrotalasnog zračenja za zagrevanje vodene suspenzije biljnog materijala. Mikrotalasna hidrodestilacija (MAHD) je široko korišćena za izdvajanje etarskog ulja iz raznih biljnih materijala (Amaresh i sar., 2017; Dong i sar., 2017; Golmakani and Rezaei, 2008; Kapás i sar., 2011; Karakaya i sar., 2014; Kusuma and Mahfud, 2017a,b,c; Mohammadhosseini, 2017; Pavićević i sar., 2016; Phutdhawong i sar., 2007; Sourmaghi i sar., 2014) zato što ima niz prednosti: veća brzina zagrevanja, nema direktnog kontakta biljnog materijala sa toplotnim izvorom, lakša kontrola procesa i tako dalje (Nitthiyah i sar., 2017). Uprkos svim prednostima, MAHD se retko koristi za izdvajanje etarskog ulja ploda kleke. Do sada, samo su Pavićević i sar. (2016) proučavali kinetiku izdvajanja pomoću mikrotalasa i hemijski sastav etarskog ulja ploda kleke. Pored toga, Dahman i sar. (2015) su proučavali hemijski sastav etarskog ulja dobijenog iz iglica kleke pomoću MAHD.

Napisan je veliki broj radova na temu prinosa i sastava etarskog ulja bobica kleke dobijenog različitim tehnikama i na osnovu ovih radova može se zaključiti da prinos i sastav ulja kleke zavisi od raznih faktora, kao što su: zemljište i klima u kojima su biljke uzgajane (Butkienė i sar., 2004; Tasić i sar., 1993), proces mlevenja (Chatzopoulou i Katsiotis, 1995, Damjanović i sar., 2006), brzina hidrodestilacije i hidromodul (Pavićević i sar. 2016) i upotrebljena tehnika dobijanja ulja (Damjanović i sar., 2003; Milojević i sar., 2008; Pavićević i sar., 2016). Kada je u pitanju najčešće korišćena tehnika HD, priprema sirovine i radni uslovi, tj. procesni parametri utiču i na prinos i na hemijski sastav dobijenog etarskog ulja (Pavićević i sar. 2016).

Frakcionisanje etarskog ulja vrši se kako bi se izolovale frakcije koje sadrže određeno jedinjenje u većim količinama, a ponekada čak i čiste komponente. Da bi se postiglo potrebno odvajanje, frakcionisanje se vrši najčešće pod sniženim pritiskom (pod vakuumom), kako bi se sprečila razgradnja i oksidacija nekih komponenata (Baser i Buchbauer, 2010). U literaturi postoji nekoliko radova koji izveštavaju o frakcionisanju etarskih ulja pod vakuumom (Babu i Koul, 2007; Beneti i sar., 2011; Fang i sar., 2004; Farah i sar., 2006; Lopes i sar., 2003; Stuart i sar., 2001), a samo

jedan rad o frakcionisanju etarskog ulja ploda kleke pod vakuumom (Milojević i sar., 2010).

U ovoj doktorskoj disertaciji je ispitivana obična HD i MAHD etarskog ulja iz zrelih, nefermentisanih plodova kleke ubranih sa područja Kopaonika, opština Leposavić, srednji tok reke Ibar, koja su pripremljena različitim predtretmanom. Analiziran je prinos etarskog ulja i njegov sastav, kao i kinetika izdvajanja etarskog ulja. Takođe, izvršena su ispitivanja izdvajanja etarskog ulja istovremenom običnom i mikrotalasnom hidrodestilacijom i rektifikacijom (SDHR i SMAHDR, respektivno). Posebna pažnja je posvećena frakcionisanju etarskog ulja ploda kleke primenom navedenih tehnika izdvajanja etarskog ulja i analizi dobijenih frakcija.

Cilj ove doktorske disertacije je definisanje uticaja operativnih parametara (vreme mlevenja i bubrenja plodova i primenjenja tehnika za izdvajanje etarskog ulja) na prinos, sastav i kinetiku izdvajanja etarskog ulja ploda kleke. Takođe, cilj je bio upoređivanje sastava frakcija etarskog ulja izdvojenih tehnikama HD, MAHD, SDHR i SMAHDR. Pored toga, cilj doktorske disertacije je bio razvoj modela kinetike izdvajanja etarskog ulja ploda kleke HD i MAHD, kao i upoređivanje razvijenih modela sa već postojećim modelima u literaturi.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Kleka

Rod *Juniperus* L se sastoji od 67 vrsta i 34 sorti. Sve klasifikacione grupe (taksoni) rastu na severnoj hemisferi sem *J. procera* Hochst. Rod je podeljen u tri dela: *Caryocedrus* Endlicher kome pripada samo vrsta *J. drupacea* Labill., *Juniperus* (syn. sect. *Oxycedrus* Spach) sa 10 vrsta i *Sabina* (Miller) Spach sa 56 vrsta (Adams, 2004).

Osam taksona na nivou vrsta i podvrsta spadaju pod *Juniperus* (takson sa tri oštre igle u pršljanovima), u okviru flore Evrope, od kojih su na Balkansko poluostrvo prisutno pet vrsta: *J. communis* L. sa tri podvrste, *J. deltoides* Adams i *J. macrocarpa* Sibth. & Sm. (Amaral 1993; Adams 2004).

J. communis L. je vrsta sa prilično velikom rasprostranjenošću i široke ekološke valence, može se naći u regionima Evrope, Male Azije, Azije (Kavkaza, Irana, Avganistana i Himalaja), Severne Amerike i ređe u planinama Severne Afrike. Njena široka valentnost u odnosu na klimu joj omogućava da se nastani pored kserofita listopadnih šuma i šipražja, suvim i toplim četinarskim šumama, zakišljenim zemljištima, kao i devastiranim (razorenim) bukovim šumama i regionima bukva-jela (Adams 2008; Jovanović 1992; Lakušić 1980; Šilić, 1990; Vidaković i Franjić 2004).

Kleka je zimzelen, vrlo otporan, gusto i nepravilno razgranat grm, visine 1-3 m, ili stablo visine 8-12 m. Jednodoma, češće dvodoma biljka. Krana je konusna ili ovalna, kod muških primeraka je uža, kod ženskih primeraka je viša. Kora je tamno siva ili sivo smeđa, uzdužno perutava. Listovi su raspoređeni pršljenasto, po tri u svakom pršljenju. Šišarke su brojne, sa prečnikom od 5 do 9 mm, duguljaste - jajaste ili okrugle, bledozelene. Plodovi su bobice, braon ili plave boje sa plavim premazom ili bez njega (slika 1), zri u drugoj godini s jeseni (Serebryanaya i Shinkarenk, 2015). Koren je jako razgranat sa izraženim glavnim korenom (Stanković i sar. 1994). *J. communis* L. se razmnožava uglavnom polnim putem u sušnim oblastima i na manjim visinama. Bobice kleke sadrže od jedne do pet semenki, obično tri (slika 2). U Republici Srbiji je ima mnogo, a najviše po brdskim i planinskim krčevinama, pašnjacima, retkim šumama i po zapuštenim i neobrađenim mestima (Tucakov, 1973).



Slika 1 Grm, iglice i plod kleke (Bais i sar., 2014)



Slika 2 Presek ploda kleke (zelena posle 1 godine, braon posle 2 godine) (Ward, 2007)

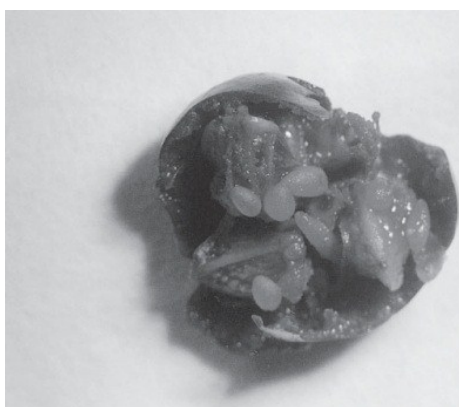
2.1.1. Morfološke karakteristike ploda kleke

Plod kleke je mesnata bobica, sfernog oblika, prečnika 5-10 mm, ljubičasto-crni, često plavkaste boje. Na vrhu ploda nalaze se tri zvezdasto raspoređene brazdaste linije. U mesnatom tkivu ploda (parenhim) žućkaste, zeleno-braon do svetlo-braonkaste boje, nalaze se tri (ređe dve) male duguljaste (dužina 4-5 mm), troivične, na poleđeni nešto zaobljene, na vrhu špicaste, braonkaste, veoma tvrde semenke koje su u podnožju ploda srasle sa parenhimom, ali međusobno slobodne (Bais i sar., 2014; Svoboda i sar, 2000).

U parenhimu ploda, naročito na spoljnim površinama semenki, se pod lupom vide krupni sekretorni sudovi (po dva na svaku semenku) etarskog ulja u obliku zaobljenih trouglastih piramida. Mnogobrojni sekretorni organi nalaze se rasuti i u mezokarpu između više slojeva ćelija nežnih zidova, tako da su teško uočljivi. Nezreli plodovi su različite boje (zelene, svetlo braon, crvene, sive) (Skala i sar., 2002).

2.1.2. Mikroskopske karakteristike ploda kleke

Epidermis ploda kleke se na spoljnoj strani sastoji od gusto poređanih ćelija dok se sa unutrašnje strane nalaze porozne ćelije koje su po rubovima prekrivene međusobno sraslim, gustim papilama. Pukotine su retke i uglavnom prisutne samo na vrhu ploda. Ispod epidermisa je tanak kolenhimski sloj, a zatim sloj parenhimskih ćelija sa tankim zidovima od kojih je izgrađen najveći deo mase ploda. U njima se nalaze mnogobrojni šizogeni (razdvojeni) sudovi sa etarskim uljem i grupisani su oko semena (slika 3), snopovi drugih sudova, kao i prilično veliki, žuti i malo zadebljali idioblasti (individualne biljne ćelije različite prirode ili sadržine od okolnog tkiva). Izdvojeni šizogeni sudovi iz ploda u različitim oblicima su prikazani na slici 4.



Slika 3 Šizogeni sudovi u plodu kleke, povećanje 4x. (Shahmi i sar., 2003)



Slika 4 Šizogeni sudovi, povećanje 4x. (Shahmi i sar., 2003)

Semenke se sastoje iz pet slojeva: epidermis, perenhim, sklerenhim sa sadržajem kristala kalcijum-oksalata u lumenu ćelija, perisperm i unutrašnji epidermis (endosperm) (Lukić, 1979). Na ispupčenoj strani svaka semenka ima sa obe strane leđnog rebra po nekoliko nejednakih ulegnuća u kojima su velike (do 1 mm) mrke cevaste šupljine sa oleo-rezinskim sekretom (terpetinom). U endospermu i embrionima

semenke, bogatim masnim uljem i aleuronskim zrnima, nalaze se jedan ili više globuloida i kristaloida (SANU, 1989).

2.1.3. Upotreba i delovanje ploda kleke

Plod kleke se već vekovima koristi u medicini. Starogrčki i arapski iselitelji, kao i Indijanci, koristili su ih za lečenje brojnih bolesti (Adams, 2004). Tradicionalno u zapadnoj Evropi, plodovi i ulje kleke su korišćeni za lečenje inflamatornih bolesti. Takođe se široko koristi zbog njenog diuretičkog efekta koji je rezultat prisustva terpinen-4-ol, za koji je poznato da povećava nivo bubrežne glomerularne filtracije. Međutim, pineni u uljima mogu takođe uzrokovati iritaciju urinarnog trakta i zbog toga se ne preporučuje produžena upotreba bobičastih plodova (Ravindran i sar., 2012). Ekstrakti kleke se koriste za ublažavanje menstrualnih poremećaja. Nedavne studije pokazale su da plodovi kleke sadrže jedinjenja koja pomažu u podsticanju pravilnog rada hormona, slično kao što su riblje ulje i EPA suplementi, što može objasniti njegovu upotrebu kod menstrualnih poremećaja. Ova jedinjenja takođe objašnjavaju antiinflamatornu i antitrombocidnu aktivnost čaja od kleke, za koji se smatra da postiže svoje efekte kroz inhibiciju biosinteze prostaglandina (Anon, 2009; Ravindran i sar., 2012). Čaj od plodova kleke je takođe naveden u nemačkoj farmakopeji kao tretman protiv gorušice, indigestije i nadimanja (Blumenthal i sar., 1998, 2003).

Kleka je prijavljena kao diuretik i koristi se u narodnoj medicini, ima antiinflamatorna svojstva (Modnicki i Łabędzka, 2009; Tunon i sar., 1995), antifugalnu aktivnost (Abbassy i Marei, 2013), analgetičku aktivnost (Banerjee i sar., 2012), hepatoprotektivnu aktivnost (Manvi i Garg, 201), antidijabetičku i antihiperlipidemičnu aktivnost (Banerjee i sar., 2013), antimikrobnu aktivnost (Pepeljnjak i sar., 2005), antioksidativnu aktivnost (Hoferl i sar., 2014), antibakterijsku aktivnost (Sati i Joshi, 2010) i neuroprotektivnu aktivnost kod Parkinsonove bolesti (Bais i sar., 2014; Rana i Bais, 2014).

Plodovi kleke korišćeni su u fitoterapiji i kozmetičkim proizvodima u regionu Mediterana i u zapadnoj Evropi (na primer u "klekinim kupatilima" za lečenje neuroze i psorijaze). Trenutno, plod kleke se istražuje kao mogući tretman za dijabetes, jer oslobađa insulin iz pankreasa (a time i ublažava glad). Ima široku primenu u

farmaceutskoj industriji i aromatizaciji alkoholnih pica. Prema propisima EU, kleka mora biti dominantni ukus u svim vrstama džina i identifikovana je kao senzorna karakteristika koja razlikuje džin od drugih alkoholnih pića (Aumatell, 2012; McDonnell i sar., 200). Kleka služi i kao začim za meso, a pržena i mlevena kleka koristi se kao zamena za kafu (Lim, 2012).

2.2. Etarska ulja

Aromatična bilja su korišćena od davnina za razne namene uključujući medicinske tretmane, konzerviranje hrane i kao začini. Termin "etarsko ulje" je prvo korišćeno, u 16. veku, kao efektivna komponenta leka od strane Paracelsus od Hohenheim u svojoj knjizi, "Quintum Esse" (Guenther, 1950). U starom Egiptu etarska ulja su dobijena od aromatičnog bilja i korišćena su za prevenciju i lečenje bolesti. Kasnije, Grci i Rimljani su nasledili ovu egipatsku praksu, ali su proširili korišćenje etarskih ulja da bi poboljšali kvalitet života (Hamdy i sar., 2012). Sredinom XX veka mnogi naučnici počeli su da uviđaju značaj tradicionalne medicine, kao i to da podaci o korišćenju lekovitog bilja starih naroda uz primenu i potvrdu savremene nauke, mogu da se iskoriste u cilju dobijanja novih medikamenata (Hammer i sar. 1999).

Etarska ulja su veoma interesantni prirodni biljni proizvodi dobijeni od različitih biljnih materijala (cvetovi, pupoljci, semena, lišće, grančice, kora, bilje, drvo, voće i korenje) i imaju različite "biološke" osobine (Baser i Buchbauer, 2010; Burt, 2004).

Analiza etarskog ulja pokazuje da se ono sastoji iz različitih komponenata, terpeni su najrasprostranjeniji bilo kao hemiterpeni, monoterpeni ili seskviterpeni, kao i njihovih derivata poput alkohola, estara, acetata i dr. Terpeni čine jedinstvenu grupu u smislu raspona i raznolikosti jedinjenja koje oni predstavljaju. Strukturne vrste i njihovi derivati obuhvataju hiljade jedinjenja (Connolly i Hill, 1992).

Etarska ulja su našla primenu u medicini, farmaciji, prehrambenoj industriji, kozmetičkoj industriji, industriji alkoholnih i bezalkoholnih pića, kao i u industriji boja i lakova. Mikrobiološka ispravnost, poboljšane fizičko-hemijske i organoleptičke osobine proizvoda od etarskih ulja čine ih prihvatljivim, organizam ih usvaja, bez neželjenih posledica, što nije slučaj sa nekim prehrambenim proizvodima koji u sebi sadrže sintetičkim putem proizvedena mirisna i antioksidativna jedinjenja. Zbog toga se etarska

ulja koriste u proizvodnji izuzetno cenjenih i veoma biološki zdravih proizvoda (Sovilj i Spasojević, 2001). Poznato je da etarska ulja imaju antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost i zato služe kao prirodni aditivi u prehrambenim proizvodima (Tongnuanchan i Benjakul, 2014). Mnoge sintetičke antibakterijske hemikalije se koriste kao konzervansi u hrani za kontrolu kvarenja i sprečavanja rasta patogenih mikroorganizama. Zbog zabrinutosti potrošača u vezi toksičnosti sintetičkih preparata, antibakterijska jedinjenja koja se nalaze u biljkama počinju da dobijaju veliku pažnju kao sigurni aditivi (Hamdy i sar., 2012). Antimikrobna aktivnost i hidrofobnost etarskih ulja može poslužiti da se ona koriste kao aktivna jedinjenja pri pakovanju namirnica. Zbog povećane tražnje za prirodnim dodacima u hrani, etarska ulja iz nekoliko biljaka su korišćeni šire, posebno u kombinaciji sa drugim konzervansima pod pojmom "*hurdle technology*" (tehnologija "prepreka" je metod kojom se obezbeđuje da se patogeni u prehrambenim proizvodima mogu eliminisati ili kontrolisati). U poslednjih nekoliko godina došlo je do interesovanja za biološki aktivna jedinjenja koja su izolovana iz biljnih vrsta za eliminaciju patogenih mikroorganizama zbog rezistentnosti koji su mikroorganizmi izgradili protiv antibiotika i njihovih nus pojava (Essawi i Srour, 2000) i zato što su ekološki bezbednija (Lee i sar., 2005). Etarska ulja izdvojena iz biljaka treba smatrati kao potencijalne alternativne lekove, jer potrošači lekova su danas fokusirani na toksičnost sintetičkih lekova. Pokazalo se da imaju blagotvornu lekovitu aktivnost, uključujući antibakterijsko, antivirusno i antikancerogeno delovanje. Međutim važno je razviti bolje razumevanje bioloških aktivnosti etarskih ulja za primenu u prevenciji raznih degenerativnih bolesti bez oslanjanja na sintetičke hemikalije. Osim toga, etarska ulja treba da imaju mnogo više pažnje kao prirodni i sigurni lekovi u poređenju sa sintetičkim kao sredstva za zaštitu ekološke ravnoteže (Hamdy i sar., 2012). Antioksidativna aktivnost je jedna od najintenzivnijih proučavanih bioloških aktivnosti u istraživanju etarskih ulja zbog reakcija slobodnih radikala u raznim biološkim materijama koji mogu da izazovu mnoge bolesti uključujući rak (Halliwell i Gutteridge, 1990; Paz-Elizur i sar., 2008), bolesti jetre (Preedy i sar., 1998), Alzheimerovu bolest (Moriara i sar., 2005.), artritis (Colak, 2008), diabetes (Jain, 2006), aterosklerozu (Heinecke, 1997) i dr. Zbog ovoga, mnoge bolesti su tretirane sa antioksidantima da bi sprečili oksidativno oštećenje (Moon and Shibamoto, 2009). Etarsko ulje majčine dušice ima najveće antioksidativno dejstvo među 25 testiranih

etarskih ulja, zatim list karanfilića, list cimeta, bosiljak, eukaliptus i kamilica (Wei i Shibamoto, 2010). Etarska ulja korijandera, kleke, kumina, bosiljka, karanfilića, takođe poseduje znatnu antioksidativnu aktivnost (Billot i Wells, 1975; El-Ghorab i sar., 2008; Tomaino i sar., 2005). Primetan broj etarskih ulja su pokazala snažno antivirusno dejstvo, ali nažalost, ne postoji gotovo nijedna studija antivirusne aktivnosti etarskih ulja protiv glavnih virusa naše ere, kao što su HIV i hepatitis C (Allahverdiyev i sar., 2004; Armaka i sar., 1999; Garcia i sar., 2003). Tradicionalna upotreba etarskih ulja kao antizapaljenskih agenasa ukazuje na to da ona imaju snažno antiupalno dejstvo. Aloe vera je jedna od najpoznatijih biljaka sa antizapaljenskim dejstvom (Schmid-Scheonbein, 2006; Vogler i Ernst, 1999).

2.2.1. Etarsko ulje ploda kleke

Etarsko ulje kleke je bezbojna ili žućkasta tečnost, karakterističnog mirisa. Fizičko-hemijske osobine etarskog ulja, po kojima se najčešće i procenjuje njegov kvalitet, propisane po Evropskoj farmakopeji 8 navedene su u tabeli 1. Etarsko ulje kleke se čuva u hladnom, suvom i tamnom prostoru bez vazduha.

Tabela 1 Fizičko hemijske karakteristike etarskog ulja ploda kleke (European Pharmacopoeia, 2013)

Gustina	0,857–0,876
Indeks refrakcije	1,471– ,483
Ugao rotacije	– 15° do – 0.5°
Peroksidna vrednost	Max 20

Prinos i sastav etarskog ulja zavisi od geografskog porekla biljke, zrelosti bobica, starosti biljke i drugih faktora životne sredine (Chatzapoulou i Katsiotis, 1993, 1995; Orav i sar., 2010). Zbog toga, sastav etarskog ulja može značajno da varira i to je razlog za veoma širok spektar vrednosti u zahtevima Evropske farmakopeje za karakteristične sastojke ulja kleke, što se može sagledati u tabeli 2 (European Pharmacopoeia, 2013). Bez obzira što sastav etarskog ulja kleke varira, kod njega dominiraju terpeni ugljovodonici (Höferl i sar. 2014): monoterpeni (do 85 %) i seskviterpeni (do 27 %) i njihovi oskigenovani derivati (do 4 %) (Pavićević, 2016).

Tabela 2 Raspon sadržaja nekih komponenti u etarskom ulju kleke (European Pharmacopoeia, 2013)

α -pinen	20 -50 %
Sabinen	max 20 %
β -pinen	1-12 %
β -mircen	1-35 %
α -felandren	max 1 %
Limonen	0.5 -12 %
Terpinen-4-ol	0.5 -10 %
Bornil acetat	max 2 %
β -karifilen	max 7 %

Terpeni su velika grupa prirodnih jedinjenja opšte formule $(C_5H_8)_n$. Poznato je oko 30000 različitih terpena, a njihova osnovna struktura izgrađena je od 2-metilbutanske jedinice koja se često naziva i izoprenska jedinica. Na osnovu broja n u opštoj formuli $(C_5H_8)_n$ ili broja C atoma terpeni se dele na hemiterpene (C5), monoterpene (C10), seskviterpene (C15), diterpene (C20), sesterpene (C25), triterpene (C30), tetraterpene (C40), politerpene (>C 40). Terpeni se često nazivaju i izoprenoidi. S obzirom na funkcionalne grupe terpena uglavnom čine ugljovodonici, alkoholi i njihovi glikozidi, etri, aldehidi, ketoni, karboksilne kiseline i estri (Eberhard, 2006). Terpeni imaju širok spektar bioloških aktivnosti (Ramawat i Merillon, 2013). Studije su pokazale da terpeni poseduju različita farmakološka svojstva, uključujući antifungalno, antibakterijsko, antioksidativno, antikancerogeno, antinflamatorne, antihistaminske, anti-spazmodične aktivnosti i tako dalje (Banthorpe i sar., 1972; Degenhardt i sar., 2009; Feraz i sar., 2013; Garcia i sar., 2008; Ishnava i sar., 2014; Jeena i sar., 2013; Manoj i sar., 2017; Ornano i sar., 2013; Park i sar., 2011; Zwenger i Basu, 2008). Tako α -pinen i β -pinen imaju antibakterijsko, antiviralno, antifungalno i hipotenzivno dejstvo. Oni poseduju anti-IVB svojstva (IVB - infektivni virus bronhitisa), stoga su oni potencijalni izvori anti-IVB jedinjenja za farmaceutsku industriju (Kozioł i sar., 2014). U mnogim slučajevima, antioksidativna aktivnost etarskog ulja ne može se pripisati dominantnim jedinjenjima α - i β -pinenu. Nosioci antioksidativnog svojstava su α - i γ -terpinen i, znatno u manjem stepenu, njihovi seskviterpenski analozi. Ovo je utvrđeno i za etarska ulja ploda kleke (Misharina, i Samusenko, 2008; Misharina i sar., 2009; Wei i Shibamoto, 2007) i za čiste terpenske ugljovodonike: terpinolen, α -terpinen i γ -terpinen (Ruberto i Baratta, 2000). Mircen, kao i α - i β -pinen, samo inhibira peroksidaciju lipida u drugoj

fazi; sabinen, limonen, α -pinen i miren pokazuju anti-radikalnu aktivnost u odnosu na DPPH radikal (Bua-in i Paisooksantivatana, 2009; Höferl i sar., 2014; Roberto i sar., 2010). β -mircenu se pripisuju antibakterijsko, kardiotonično i diuretsko dejstvo. Limonenu antibakterijsko, antifugalno, antiinflamatorno, antioksidativno i antikancerogeno dejstvo. Terpinol-4-ol, α -terpinol i γ -terpinen imaju antibakterijsko dejstvo, dok α -terpinol deluje i kao sedativ. p-cymene pored antibakterijskog dejstva poseduje i antifugalno dejstvo. Verbenol ima antifugalno i anti-ishemično dejstvo. Linalol ima jako antibakterijsko dejstvo protiv gram pozitivnih (*Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus*) i gram negativnih bakterija (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*) kao i značajna antibakterijska svojstva protiv paradontopatske i kariogene bakterije, *E.coli* i mikoplazme. Linalol takođe igra glavnu ulogu u antiinflamatornoj aktivnosti etarskih ulja koja ih sadrže (Koziola i sar. 2014).

Etarsko ulje ploda kleke pokazalo je umereno neželjene reakcije na koži za koje je odgovorna oksidacija α -terpena. Takođe, nisu nađeni dokazi o iritaciji bubrega, dok postoje dokazi o nedostatku nefrotoksičnosti ovog ulja. Ulje je testirano na pacovima, dodatno je testiran terpinen-4-ol i uprkos visokim dozama nijedna od ispitanih supstanci nije izazvala promenu bubrežne funkcije ili morfologije. Iako α -pinen, β -pinen, sabinen, β -mircen i limonen imaju malu reproduktivnu toksičnost ipak se sugeriše da ulje ploda kleke nije opasno u trudnoći (Tisserand i Young, 2014).

Etarsko ulje ploda kleke se tradicionalno koristi u medicinske i aromatične svrhe (Höferl i sar., 2014).

2.3. Izdvajanje etarskog ulja

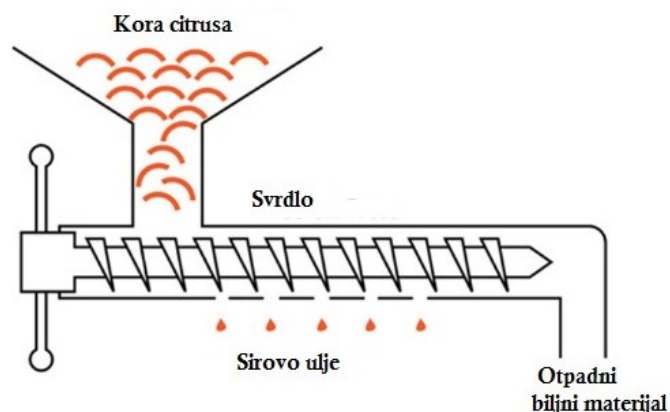
Danas je jasno da etarska ulja imaju kompleksan i varijabilni sastav, koji se sastoji od brojnih jedinjenja, naročito ugljovodonika i oksidovanih jedinjenja. Njihova aroma je rezultat kombinacije arome svakog od ovih jedinjenja. Komponente u tragovima su takođe važne jer daju ulje karakterističnog mirisa. Stoga je važno da se prirodni odnos komponenti održava tokom izdvajanja etarskih ulja iz biljaka bilo kojom korišćenom tehnologijom. Različite metode se koriste za odvajanje ovih ulja iz različitih biljnih materijala. Iako izgleda relativno jednostavno izolovati takva ulja, sastav ulja

može varirati u velikoj meri u zavisnosti primenjene metode izolacije (Anitescu i sar., 1997; Cassel i sar., 2009). Konvencionalne tehnologije za izdvajanje etarskog ulja karakteriše nekoliko nedostataka među kojima je i velika potrošnja energije. Povećanje troškova energije i usvojeniji ekološki pristup omogućili su razvoj alternativnim tehnologijama koje su ekonomične, održive i sposobne za proizvodnju etarskih ulja sa istim ili poboljšanim karakteristikama (Stratakos i Koidis, 2016).

2.3.1. Konvencionalne metode izdvajanja etarskog ulja

2.3.1.1. Hladno presovanje

Hladno presovanje je najstariji metod za izdvajanje etarskih ulja i koristi se isključivo za proizvodnju etarskih ulja iz kore ploda limuna, pomorandže, grejpfruta i mandarina (Sovilj i Spasojević, 2001). Metod se sprovodi ili odvajanjem kore biljke ili istiskivanjem pulpe iz ploda i nakog toga primena pritiska (slika 5). Dobijena masa se zatim centrifugira u cilju odvajanja čvrstih ostataka tkiva (Petrović, 2014). Hladno presovana tečna smeša vode i etarskog ulja se slobodnim taloženjem odvaja (Sovilj i Spasojević, 2001). Ovaj proces osigurava da se dobije ulje 100 % čisto koje zadržava sve osobine biljke (Rassem i sar. 2016).



Slika 5 Aparatura za hladno ceđenje (Ferhat i sar., 2016)

2.3.1.2. Anfleraž postupak

Anfleraž postupak je još jedna konvencionalna metoda koja datira još iz vremena antike, koristi se za izdvajanje etarskih ulja iz cvetova (Stratakos i Koidis, 2016). Proces ceđenja se može izvoditi u hladnim ili toplim uslovima. U režimu hladnog procesa, mast se širi na staklenim pločama u drvenim okvirima. Sveže cveće se onda širi preko masti (slika 6). Nakon što masnoća apsorbuje etarska ulja iz cveća, cveće se uklanja ručno. Sveže cveće se zatim opet stavlja na površinu masti, a ova procedura se ponavlja sve dok mast ne postane potpuno zasićena uljima (Salomé-Abarca i sar. 2015). Zatim se mast sakuplja i ekstrahuje alkoholom. Prema današnjim standardima, to je dugotrajan, radno intenzivan i skup metod (Stratakos i Koidis, 2016). Primenom toplog procesa (maceracija) cvetovi se potapaju u vruću mast (45-60 °C), tako da je vreme izdvajanja smanjeno na 1 do 2 sata u zavisnosti od biljne vrste. Nakon svakog uranjanja, masnoća se filtrira i cvetovi ili latice se uklanjaju. Nakon 10 do 20 potopa, mast se čisti od cvetnih ostataka (Salomé-Abarca i sar. 2015).



Slika 6 Anfleraž postupak(www.flickr.com, pristup 20.06.2018)

2.3.1.3. Hidrodestilacija

HD se primenjuje za izdvajanje supstanci koje se ne mešaju ili vrlo slabo mešaju sa vodom, pri čemu su na temperaturama ključanja nestabilne ili podložne oksidaciji (Milojević, 2011). Najčešće korišćena metoda izdvajanja etarskih ulja je HD. Ovaj

proces izdvajanja može trajati od 1 do 10 h. Količina proizvedenog ulja zavisi od dužine vremena destilacije, temperature, pritiska i vrste biljnog materijala (Naves, 1974). Tokom destilacije biljni materijal je izložen ključaloj vodi ili pari tako da postoje tri načina izvođenja HD:

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

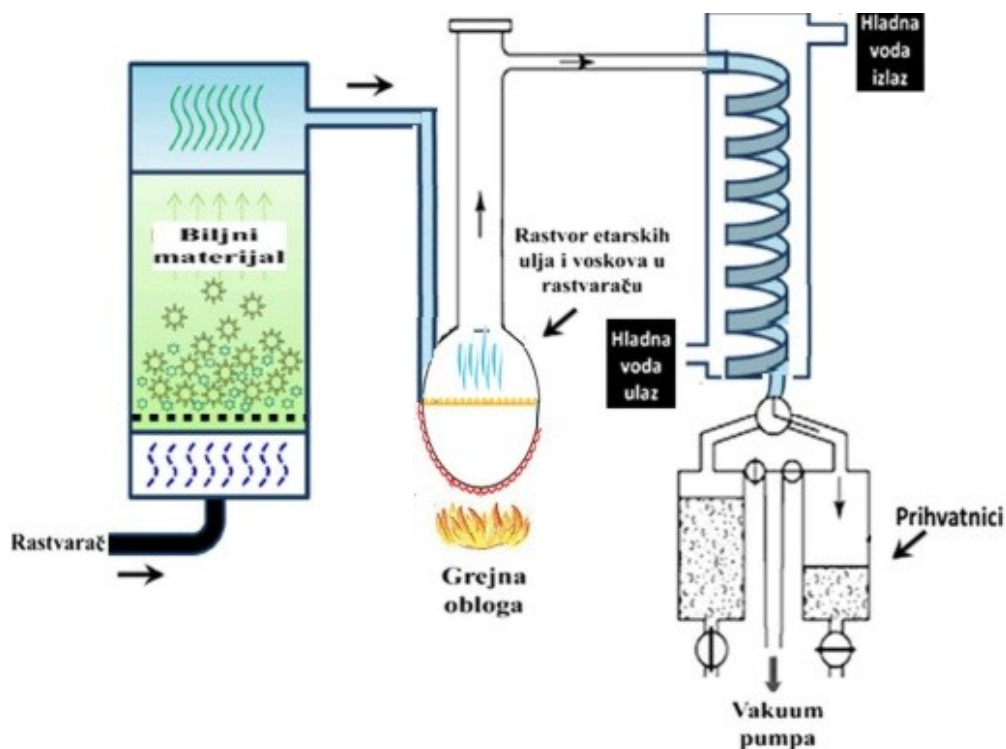
Kod destilacije vodom biomasa se potapa u vodu i vrši se njeno zagrevanje. Kod destilacije vodom i vodenom parom u biljni materijal potopljen u vodi koja se zagreva, uvodi se direktno vodena para. Destilacija samo vodenom parom podrazumeva prođuvavanje vodene pare kroz biljni materijal. Bilo koja od navedene tri kombinacije može se fenomenološki posmatrati kao destilacija vodenom parom koja se primenjuje za izolovanje, prečišćavanje ili razdvajanje supstanci koje se ne mešaju ili se u vrlo maloj meri mešaju sa vodom (Skala i sar, 1999). Najjednostavnija definicija za HD bi bila “isparavanje i naknadna kondenzacija tečnosti” (Baser i Buchbauer, 2010). Osnovni proces bilo koje destilacije je transformacija tečnosti u paru. Migracija molekula iz tečnosti u paru preko površine tečnosti (tj. isparavanje) je kontinualan proces i njegova brzina se povećava sa temperaturom. Tokom ključanja, isparavanje se odvija unutar tečnosti. Pritisak pare iznad tečnosti je tada jednak spoljašnjem pritisku. U ovom trenutku, uneta toplota se uglavnom troši na toplotu isparavanja, gubitak energije koji se predaje okolnom vazduhu, i povećanju temperature usled promene sastava smeše (Brud, 1991). Na isparljivost sastojaka ne utiče brzina isparavanja, ali utiče njihova rastvorljivost u vodi. Kao rezultat, komponente etarskog ulja koje su više rastvorljive će se destilovati pre nego isparljivije komponente koje se lošije rastvaraju u vodi (Baser i Buchbauer, 2010).

Iako je izdvajanje etarskog ulja ovom metodom najzastupljenije ona ima nedostatke. Pošto su etarska ulja izložena ključaloj vodi u dugom vremenskom periodu stvaranje nusprodukata je moguće zbog visoke temperature ili kiseline vode, što može dovesti do razlike u sastavu izdvojenih etarskih ulja. Tokom HD može doći do hidrolize estara u alkohol i kiseline, što može izazvati ozbiljne promene kod etarskih ulja sa velikom

količinom estara. Štaviše, neka etarska ulja zahtevaju rektifikaciju. Ovaj proces uključuje redestilaciju ulja kako bi se eliminisale neželjene nečistoće (npr. voskovi), kao i sastojci koji mogu izazvati neprihvatljive mirise etarskog ulja (Stratakos i Koidis, 2016; Baser i Buchbauer, 2010).

2.3.1.4. Ekstrakcija organskim rastvaračima

Ekstrakcija organskim rastvaračima (petroletar, etan, aceton i slično) koristi se zbog termolabilnosti nekih komponenti etarskog ulja. Šematski prikaz procesa ekstrakcije sa organskim rastvaračima je prikazan na slici 7. Korišćeni organski rastvarači se odstranjuju uparavanjem na sniženim pritiscima, pri čemu pri samom uparavanju na povišenoj temperaturi može doći do termalne degradacije bioaktivnih komponenata osetljivih na povišenu temperaturu. Lipofilni deo koji zaostaje nakon uparavanja je sastavljen od etarskog ulja i od smole, masti i voskovi, tzv. konkrete koji se tretiraju etanolom kako bi se etarsko ulje odvojilo od ostalih materija i koriste se kao mirisne supstance u kozmetičkoj industriji (Bogdanović, 2016; Petrović i sar., 2012).



Slika 7 Šematski prikaz postrojenja za ekstrakciju sa organskim rastvaračima (Bogdanović, 2016)

Nedostaci ove metode su zaostatak u manjoj ili većoj meri tragova rastvarača što ograničava njihovu primenu u prehrambenoj i hemijskoj industriji i česta potreba za primenom višestepene ekstrakcije sa dva ili više rastvarača zbog nedovoljne selektivnosti pojedinih rastvarača u odnosu na željenu grupu jedinjenja (Ivanović, 2011).

2.3.1.5. Natkritična ekstrakcija

Superkritična ekstrakcija je postupak ekstrakcije fluidom koji se nalazi na temperaturi iznad svoje kritične temperature (T_c) i na pritisku iznad svog kritičnog pritiska (P_c) (Filip, 2014). Ekstrakcija pomoću natkritičnih fluida ima nekoliko karakteristika koje je čine alternativnom tehnikom za izdvajanje etarskih ulja u poređenju sa metodom ekstrakcija organskim rastvaračima. Pošto se izvodi na niskim temperaturama, veoma je pogodna za termolabilna jedinjenja. Kontrola moći rastvaranja superkritičnog fluida i razdvajanje ekstrakta od superkritičnog fluida je lako i brzo i postiže se promenom pritiska i/ili temperature. Superkritični fluid, zbog niskog viskoziteta i veće difuzivnosti, mogu ući u porozne čvrste materijale efikasnije u poređenju sa tečnim rastvaračima što rezultira bržim prenosom mase i brzom ekstrakcijom (Cossuta, 2010; Lang i Wai, 2001). Natkritična ekstrakcija je ekološki prihvatljiviji metod jer koristi netoksične fluide kao što je CO_2 . Nedostaci su joj rad na relativno visokim pritiscima, veliki utrošak energije, znatni energetske troškovi za regeneraciju rastvarača i veliki investicioni troškovi za procesnu opremu (Filip, 2014).

2.3.2. Nove metode izdvajanja etarskog ulja

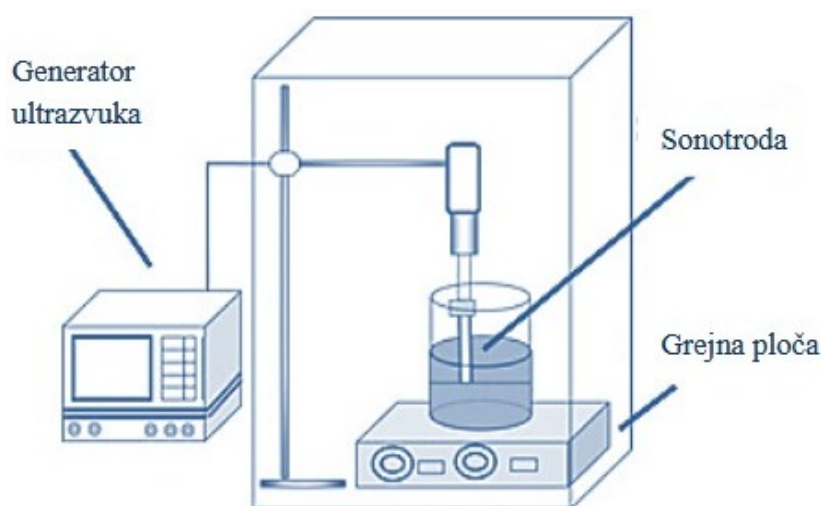
2.3.2.1. Ultrazvučna ekstrakcija

Glavne prednosti primene ultrazvuka su minimalni efekti na ekstrakcionu jedinjenja, smanjenje/izbegavanje organskih rastvarača i smanjenje vremena ekstrakcije (Vilkhu i sar., 2008). Efekti ultrazvuka su posledica fenomena kavitacije, odnosno proizvodnje i razgradnje mikroskopskih mehurića. Kada mehurić dosegne određenu

kritičnu veličinu i ne može više apsorbovati energiju, a bez ulazne energije mehurić se ne može održavati, urušava se sam u sebe. Ovaj nasilni kolaps izaziva mehaničke sile koje dovode do oštećenja ćelijske membrane što dovodi do visokog prinosa i brze stope ekstrakcije (Cameron i sar., 2009).

Brzina kavitacionog mehura raste skoro linearno sa porastom ultrazvučne snage, što utiče na fenomen kavitacije (Tsochatzidis, 2001). Ultrazvuk utiče na proces ekstrakcije višestruko. Ima uticaja na koeficijent prenosa mase (Neis, 2002) i razaranje biljnih ćelija (Vinatoru i sar., 1999). Ultrazvukom se potpomaže penetracija rastvarača u nerazorene biljne ćelije, što ima za posledicu povećanje prinosa u kraćem vremenskom periodu i smanjuje vreme popunjavanja kapilara i ćelija rastvaračem (Stanisavljević, 2006).

Prednosti ultrazvučne ekstrakcije su veći prinos, smanjeno vreme ekstrakcije i dobijanje kvalitetnijih ekstrakta (Assami i sar., 2012; Shah i sar., 2005; Sharma i Gupta, 2006). Aparatura za ultrazvučnu ekstrakciju je prikazana na slici 8. Ultrazvuk kao predtretman takođe je kombinovan sa novijim tehnikama ekstrakcije. Superkritična ekstrakcija ulja od badema nakon tretmana ultrazvukom povećala je prinos ulja i smanjila vreme obrade za oko 30 % u poređenju sa natkritičnom ekstrakcijom bez predtretmana (Riera i sar., 2004). Ultrazvuk, iako skup zbog kapitalnih troškova, može poboljšati proces ekstrakcije koji može dovesti do povećanog prinosa za kraće vreme i time obezbediti održivu alternativu konvencionalnim i novijim procesima proizvodnje etarskih ulja.



Slika 8 Aparatura za ultrazvučnu ekstrakciju (Tomišik, 2018)

2.3.2.2. Izdvajanje etarskog ulja pomoću mikrotalasa

U elektromagnetnom spektru, mikrotalasno zračenje se nalazi između infracrvenog zračenja i radio talasa. Mikrotalasi imaju frekvenciju između 0,3 GHz i 300 GHz. Da bi se izbegla interferencija sa mikrotalasima koje koriste telekomunikacioni i radarski uređaji, sve industrijske i laboratorijske mikrotalasne pećnice koriste frekvenciju od 2,45 GHz za rad, što znači da u nekoj tački u prostoru električno polje promeni orijentaciju oko dve milijarde puta u sekundi (Mijin i Petrović, 2005; Rajković i sar., 2011).

Mikrotalasi su beskontaktni izvor toplote koji može obezbediti efikasnije zagrevanje, ubrzavajući prenos energije i smanjenje toplotnog gradijenta. Nekoliko klasa jedinjenja, kao što su etarska ulja, antioksidanti, pigmenti, arome i druga organska jedinjenja, mogu se efikasno odvojiti primenom ove metode (Li i sar., 2013). Prema Leadbeater-u (2014), upotreba mikrotalasne opreme je napredna tehnologija jer se lako i bezbedno i na ponovljiv način pristupa visokim temperaturama, vreme reakcije se može smanjiti, prinos se može povećati, čistoća se može poboljšati, u poređenju sa konvencionalnim metodama grejanja.

Osnovi procesa mikrotalasne ekstrakcije su različiti od onih kod konvencionalnih metoda, jer je ekstrakcija rezultat promena strukture ćelije izazvane elektromagnetnim talasima. Osim toga, pri konvencionalnoj ekstrakciji toplota se prenosi sa grejnog medijuma u unutrašnjost uzorka, kod mikrotalasne ekstrakcije toplota se zapreminski raspršuje unutar ozračnog medijuma. Rastvarač prodire unutar čvrste matrice difuzijom i supstanca se rastvara sve dok ne dostigne koncentraciju ograničenu karakteristikama čvrste materije (Angiolillo i sar., 2015).

U poređenju sa konvencionalnim metodama ekstrakcije (na primer, Soksletovom ekstrakcijom), mikrotalasna ekstrakcija dovodi do većeg prinosa, kraćeg vremena ekstrakcije i veće selektivnosti (Chan i sar., 2011). Osim toga, mikrotalasna ekstrakcija se, takođe, može smatrati superiornijim od superkritične ekstrakcije u smislu jednostavnosti i operativnih troškova (Zhang i sar., 2011), ali to obično zahteva veću količinu organskih rastvarača što je čini manje ekološki prihvatljivom (Huie, 2002). U pokušaju da iskoriste mikrotalasno zagrevanje, istraživači su kombinovali mikrotalasne pećnice sa konvencionalnim metodama i tako je došlo do razvijanja novih metoda kao

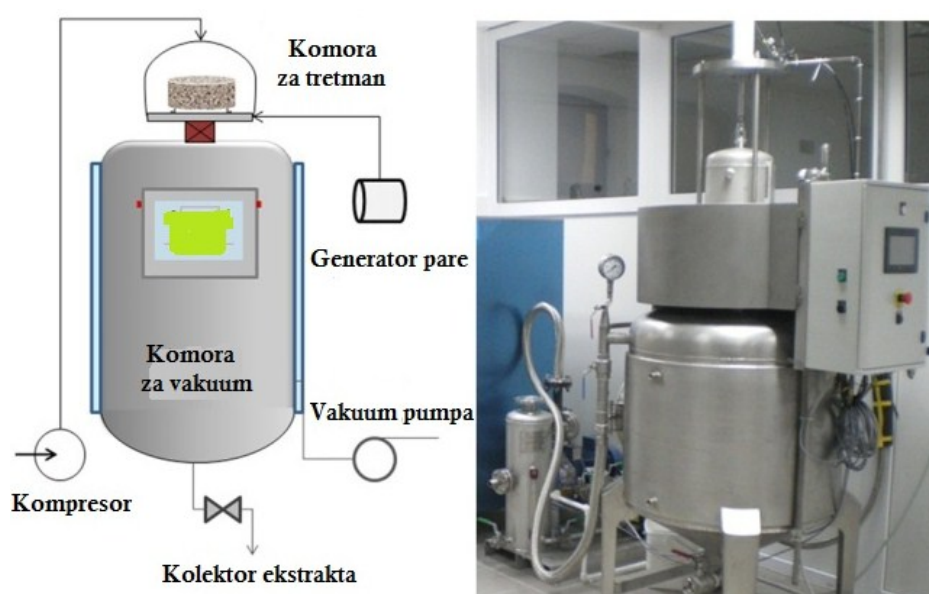
što su ekstrakcija rastvaračima pomoću mikrotalasa, mikrotalasna hidrodestilacija, vakuum mikrotalasna hidrodestilacija, mikrotalasna ekstrakcija bez rastvarača, mikrotalasna gravitaciona hidrodifuziju i mikrotalasna destilacija komprimovanim vazduhom i tako dalje (Jacotet-Navarroi sar., 2016).

Sahraoui i sar. (2008) razvili su novu metodu za ekstrakciju cveta suve lavande pod nazivom mikrotalasna parna destilacija i uporedili je sa konvencionalnom parnom destilacijom. Etarska ulja izolovana mikrotalasnom parnom destilacijom i parnom destilacijom su kvantitativno i kvalitativno slična, ali je mikrotalasna parna destilacija bolja od parne destilacije u smislu brzine izdvajanja (6 min u odnosu na 30 min, respektivno). Procesna MAHD, koju su razvili Stašenko i sar. (2004) se zasniva potpuno na principu HD. MAHD je široko korišćena za izdvajanje etarskog ulja iz raznih biljnih materijala (Amaresh i sar., 2017; Dong i sar., 2017; Golmakani i Rezaei, 2008; Kapás i sar., 2011; Karakaya i sar., 2014; Kusuma i Mahfud, 2017a,b,c,d; Mohammadhosseini, 2017; Pavićević i sar., 2016; Phutdhawong i sar., 2007; Sourmaghi i sar., 2014) zbog niza prednosti: veća brzina zagrevanja, nema direktnog kontakta biljnog materijala sa toplotnim izvorom, lakša kontrola procesa, selektivno zagrevanje, manje dimenzije uređaja i tako dalje (Karabegović, 2011). Jedna od najperspektivnijih i najčešće korišćenih metoda za izdvajanje etarskih ulja je mikrotalasna ekstrakcija bez korišćenja rastvarača. Mikrotalasna ekstrakcija bez korišćenja rastvarača značajno smanjuje vreme ekstrakcije u poređenju sa konvencionalnim metodama. Osim toga, karakteriše je pristupačna cena opreme i niski operativni troškovi (Chan i sar., 2011). Etarska ulja izdvojena pomoću SFME iz kardamoma (*Elettaria cardamomum* L.) su vrednija u poređenju sa onima koja su izdvojena pomoću HD zbog veće količine prisutnih oksigenovanih sastojaka, koji se sastoje od visoko aromatičnih jedinjenja (Lucchesi i sar., 2007). Iako se MAE uspešno koristi u laboratorijskim razmerama, upotreba u industrijskom obimu je mala (Leonelli i Maso, 2010).

2.3.2.3. Proces trenutno kontrolisanih padova pritiska

Vrlo perspektivna metoda je postupak trenutno kontrolisanih padova pritiska (Allaf i sar., 1998). Ova metoda se inicijalno koristila za teksturisiranje i sušenje različitih proizvoda i kasnije je proširena kao referentna metoda za izdvajanje visokokvalitetnih

etarskih ulja. DIC je termo-mehanički proces generisan izlaganjem sirovog materijala tokom kratkog vremenskog intervala visoko zasićenom parom pod pritiskom, a koja je praćena naglim padom pritiska prema vakuumu (Allaf i sar., 2013). Korišćenje procesa trenutno kontrolisanih padova pritiska poboljšava globalnu difuzivnost i dostupnost tečnosti u biljci i ne zahteva upotrebu rastvarača (Rezzoug i sar., 2005). Aparatura za procesa trenutno kontrolisanih padova pritiska je prikazana na slici 9. Mogućnost korišćenja ove metode za ekstrakciju etarskih ulja iz biljaka dokazana je i upoređena sa konvencionalnim metodama ekstrakcije. Studija Kristiavan i sar. (2008) pokazala je da je moguće izdvojiti etarsko ulje iz Indonežanske Kanange za manje od 6 min sa prinosom od 2,8 g/100 g suve materije. Sličan prinos (2,5 g/100 g suve materije) postignut je parnim destilacijom, ali posle 16 h prerade. Mellouk i sar. (2004) su izolovali etarsko ulje iz kleke koristeći proces trenutno kontrolisanih padova pritiska. Oni su objavili da su dva ciklusa od 150 s pri 0,6 MPa dala 95 % ulja dobijenog parnom destilacijom za 12 sati. Slična smanjenja u pogledu vremena izdvajanja etarskog ulja između HD i procesa trenutno kontrolisanih padova pritiska su objavili Allaf i sar. (2013). Prema Berka-Zougali i sar. (2010), primenom ove metode dobijen je veći prinos (10 %) etarskog ulja iz alžirskih mirisnih listova u poređenju sa parnom destilacijom. To je, takođe, brži metod (2 min u poređenju sa 180 min) i dovodi do proizvodnje etarskog ulja višeg kvaliteta, kao što pokazuje njegov sastav i antioksidativna aktivnost. Takođe, zahteva manje količine energije i koristi manje pare i



Slika 9. Aparatura za proces trenutno kontrolisanih padova pritiska

vode. Izdvajanje etarskog ulja zasnovano na ovom procesu je zanimljiva alternativa ne samo standardnim tehnikama ekstrakcije etarskog ulja, kao što je ekstrakcija sa rastvaračima ili parna destilacija, već i još efikasnijim metodama od natkritične ekstrakcije (Rezzoug i sar., 2005).

2.4. Frakcionisanje etarskog ulja

Etarska ulja predstavljaju smeše velikog broja komponenata sa različitim fizičko-hemijskim osobinama, temperaturama ključanja i farmakološkim dejstvom, ali koje su ipak slične po nekim osobinama na osnovu kojih se mogu kao frakcije razdvojiti od ostalog dela smeše, ili od drugih grupa komponenata (frakcija), npr. monoterpeni od seskviterpena i slično (Glišić i sar. 2007). Frakcionisanje etarskog ulja vrši se kako bi se izolovale frakcije koje sadrže određeno jedinjenje u većim količinama, a ponekada čak i čiste komponente koje imaju veću komercijalnu vrednost (Baser i Buchbauer, 2010). Kao rezultat toga, postoji težnja istraživača da ispituju kako najefikasnije obaviti seperaciju etarskog ulja do čistih komponenata ili njihovih frakcija (Farah i sar., 2006; Glišić i sar., 2007; Milojević i sar. 2010; Perini i sar., 2017; Reverchon, 2007; Silvestre i sar., 2016).

U literaturi se mogu naći radovi u vezi ekstrakcije i frakcionisanja etarskog ulja upotrebom natrkitičnog ugljen-dioksida. Glavna prednost superkritičnog sistema je njegova niska radna temperatura, koja čuva termolabilna jedinjenja koja će, na višim temperaturama, biti uništena. Međutim, visoki radni pritisak zahteva robusnu opremu, uz skupu konstrukciju i posebne sigurnosne i radne sisteme (Silva i sar., 2016; Glišić i sar., 2007; Vega i sar., 2016). Farah i sar. (2010), radeći sa *Mirtus communis* L., primenili su frakcionu destilaciju bez vakuuma, poboljšavajući kvalitet dobijenih frakcija u odnosu na sirovo ulje.

Frakcionisanje etarskog ulja se trenutno najviše primenjuje za deterpenizaciju ulja. Deterpenacija je proces koncentrisanja jedinjenja u tragovima uklanjanjem monoterpenskih ugljovodonika. Ovo razdvajanje je neophodno kako bi se povećala stabilnost ulja, kao i njegova komercijalna vrednost, s obzirom na to da su oksidovana jedinjenja preferirana od strane industrije u funkciji njegove arome i kvaliteta (Perini i sar., 2017). Na primer, komercijalno ulja bez terpena se proizvode frakcionom

destilacijom, ekstrakcijom oksigenovanih jedinjenja sa razblaženim alkoholom ili drugim rastvaračima ili kombinacijom ove dve metode. Ove metode, međutim, imaju nekoliko nedostataka; najznačajniji među njima je da primena toplote u frakcionoj destilaciji ima štetan uticaj na ukus i miris ulja. Dalje, zbog kompleksnih smeša i sličnosti tačaka ključanja komponenti ulja, seskviterpeni se ne mogu lako ukloniti kvantitativno iz ulja. Ova neadekvatnost razdvajanja je takođe tipična za metod ekstrakcije (Kirchner i Miller, 1955). Da bi se postiglo potrebno odvajanje, frakcionisanje se vrši najčešće pod sniženim pritiskom (pod vakuumom), kako bi se sprečila nepostojanost i oksidacija nekih komponenata (Baser i Buchbauer, 2010). Ovaj problem može da se reši rektifikacijom sa vodenom parom, rektifikacijom pod niskim pritiscima ili frakcionom separacijom u toku procesa izdvajanja etarskog ulja (Milojević, 2011).

2.4.1. Frakcionisanje etarskog ulja rektifikacijom

Etarsko ulje je smeša velikog broja komponenti sa temperaturama ključanja višim od temperature ključanja vode. Da bi se postiglo željeno odvajanje, frakcionisanje se pretežno vrši pod sniženim pritiskom, kako bi se sprečilo termička razgradnja komponenata, korišćenjem efikasne kolone. Poznati su različiti tipovi rektifikacionih kolona, ali onaj koji se najčešće koristi u laboratorijskim uslovima je staklena ili kolona od nerđajućeg čelika napunjena Rašigovim prstenovima. Rašigovi prstenovi su kratki, malog prečnika, od stakla ili bilo kog drugog hemijski inertnog materijala (Baser i Buchbauer, 2010). Takođe, niži radni pritisci povećavaju relativnu isparljivost komponenata što omogućava efikasnu separaciju. Druga prednost sistema na sniženim pritiscima je ta što je pritisak u prostoriji veći od pritiska sistema, tako da kada bi došlo do havarije došlo bi do implozije, što nije slučaj kod superkritičnih sistema za ekstrakciju. U literaturi se mogu naći radovi o frakcionisanju etarskog ulja vakuum frakcionom destilacijom, uglavnom radi deterpenizacije ulja (Arizaga i sar., 2007; Benetia i sar., 2011; Fang i sar., 2004; Lopes i sar., 2003; Silvestre i sar. 2016; Stuart i sar., 2001; Stüke i sar., 2011). Interesantna je HD uz upotrebu rektifikacione kolone za seperaciju etarskog ulja i frakcionisanje u toku procesa izdvajanja etarskog ulja. Ovo je složeniji problem od frakcionisanja već izdvojenog etarskog ulja. Potrebno je

poznavanje fenomenologije difuzije etarskog ulja zarobljenog u čvrstim česticama prema njihovoj površini, kao i frakcionisanje destilacijom već rastvorenih komponenti u rastvaraču (Milojević, 2011). Rektifikacija ulja ne mora obavezno da dovede do poboljšanja kvaliteta etarskog ulja, u nekim slučajevima čak i suprotno. To je posebno slučaj sa uljima koja sadrže lako saponifikacione estere koji se u kontaktu sa ključalom vodom ili parom hidrolizuju (Guenther, 1950).

Separacija etarskog ulja rektifikacijom može se posmatrati kao razdvajanje multikomponentne smeše. Usvajanjem pretpostavke da za komponente etarskog ulja važi Raulov zakon, mogu se opisati dešavanja u rektifikacionoj koloni.

Ako kolona radi pod atmosferskim uslovima, pritisak na vrhu kolone je:

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

a na bilo kom podu n duž kolone:

$$P_{atm} = P_{H_2O}^o + \sum_{i=1}^n x_{ni} P_{ni}^o \quad (2)$$

Pošto se raspodela komponentata od dna prema vrhu kolone vrši prema isparljivosti, lakše isparljive komponente se koncentrišu od dna prema vrhu zajedno sa vodenom parom, koja je istovremeno glavni nosilac toplote od rebojlera do vrha kolone. Komponente etarskog ulja posle kondenzacije razdvajaju se od vode u separatoru, odakle se kao gornji sloj odvođe, dok se kohobaciona voda vraća kao refluks u kolonu. Na početku rektifikacije u frakcijama etarskog ulja sa vrha kolone dominiraće lakše isparljive, a sa daljim tokom rektifikacije dominantne su više teže isparljive komponente.

Temperatura vrha kolone raste od početne T_1 na kojoj je zbir napona pare najisparljivije komponente 1 i vode jednak atmosferskom pritisku, do krajnje T_n , pri kojoj je

$$P_n + P_{H_2O}^o = P_{atm} \quad (3)$$

kada se izdvoji samo čista najteže isparljiva komponenta n .

Jasno je da je $T_1 < T_2 < T_3 < \dots < T_n < 100^\circ\text{C}$, jer je voda u recirkulaciji i na kraju ostaje skoro čista u balonu – rebojleru, kada temperature vrha kolone dostigne 100°C . Za proračun separacije multikomponentnog sistema koji se izvodi preko ključnih komponenata koriste se različite metode proračuna od poda do poda (Milojević, 2011).

2.5. Kinetika hidrodestilacije etarskog ulja

Mnogi matematički pristupi mogu se koristiti za modelovanje procesa izdvajanja etarskog ulja. Jednačine za modelovanje su ili teoretski izvedene ili empirijski formulisane. Najčešće korišćene jednačine su drugi Fikov zakon difuzije, hemijske kinetičke jednačine i druge parametarske empirijske jednačine koje se primenjuju za opisivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja (Chan i sar, 2013). Modelovanjem kinetike izdvajanja etarskog ulja doprinosi se boljem razumevanju procesa, boljoj kontroli i većoj efikasnosti (Milojević, 2011).

Nekoliko istraživača je koristilo modele zasnovane na drugom Fikovom zakonu za jednostavne geometrijske oblike (ploča, sfera i cilindar) da bi opisali kinetiku izdvajanja etarskog ulja (Ammar i sar., 2014; Benyoussef i sar., 2002; Boutekedjiret i sar., 2005; Cassel i Vargas, 2006; Katiyar, 2017). Pretpostavke ovih modela bile su sledeće: etarsko ulje je homogeno i istog sastava za sve biljne čestice koje su istih dimenzija i ne menjaju veličinu i oblik u toku izdvajanja etarskog ulja. Ne postoji otpor prenosu mase etarskog ulja sa spoljne površine biljnih čestica, efektivni koeficijent difuzije je konstantan i koncentracija etarskog ulja na spoljašnjim površinama čestica u bilo kom trenutku tokom procesa ekstrakcije je nula (Katiyar, 2017). Benyoussef i sar. (2002) predložili su dva modela za izdvajanje etarskog ulja iz semena korijandra pomoću hidrodistilacije. Prvi uzima u obzir samo difuziju ulja kroz čvrstu matricu, dok je drugi modifikacija prvog i uključuje brzine rastvaranja etarskog ulja iz biljnih čestica u fluid koji ispunjava pore čestica (jednačine 4 i 5):

$$\frac{\partial X_f(t,r)}{\partial t} = -K_c X_f(t,r) \quad (4)$$

$$\frac{\partial X_f(t,r)}{\partial t} = -D_a \frac{\partial^2 X_f(t,r)}{\partial r^2} + \frac{2D_a}{r} \frac{\partial X_f(t,r)}{\partial t} + K_c X_f(t,r) \quad (5)$$

gde su: K_c – pseudokonstanta reakcije, D_a – koeficijent difuzije, t – vreme, r – prostorna promenljiva, X_t – koncentracija slobodnog rastvorka i X_f – koncentracija u graničnom sloju.

Oni su koristili numeričke metode da bi rešili parcijalne diferencijalne jednačine drugog Fikovog zakona za slučaj sferičnog oblika čestice. Modeli su složeni i kao takvi nisu pogodni za inženjerske proračune. Ostali istraživači su koristili analitička rešenja ovih parcijalnih diferencijalnih jednačina.

Boutekedjiret i sar. (2005) su u cilju opisa kinetike izdvajanja etarskog ulja ružmarina hidrodestilacijom, polazeći od drugog Fikovog zakona (za slučaj kada su čestice sfernog oblika) za pretpostavljeni model izveli jednačinu:

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} e^{-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D_{eff} t}{L^2}} \quad (6)$$

gde su: q i q_∞ – prinosi etarskog ulja u bilo kom trenutku t i beskonačnom vremenu ($t \rightarrow \infty$), L – debljina ravne ploče i D_{eff} – efektivni koeficijent difuzije etarskog ulja.

Ova jednačina može da se uprosti za početni period, tj. za male vrednosti $\frac{q}{q_\infty}$:

$$\frac{q}{q_\infty} = \frac{4}{\pi^{1/2}} \frac{D_{eff}^{1/2}}{L} t^{1/2} \quad (7)$$

Za kasniji period, gde je $\frac{q}{q_\infty}$ blizu svoje granične vrednosti ($\frac{q}{q_\infty} = 1$) jednačina se svodi na:

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} e^{-\frac{\pi^2 D_{eff} t}{L^2}} \quad (8)$$

Osim modela izvedenih iz Fikovog zakona, model zasnovan na zakonu brzine izdvajanja etarskog ulja je prilagođen za modelovanje kinetike izdvajanja etarskog ulja iz različitih biljaka (Xiao i sar., 2012). Model zasnovan na zakonu brzine izdvajanja etarskog ulja drugog reda ima veliku primenu i znači da se izdvajanje odvija u dva istovremena procesa. Količina izdvojenog ulja povećava se brzo na početku i lagano se smanjuje do kraja procesa (Ho i sar., 2005; Kusuma i Mahfud, 2017a,c,d; Meizane i Kadi 2008; Rabesiaka i sar., 2007; Uhm i Yoon 2011). Jednačina za model kinetike drugog reda može biti napisana:

$$\frac{dq}{dt} = k_2 (q_\infty - q)^2 \quad (9)$$

gde je k_2 - konstanta brzine. Nakon integracije i transformacije izveden je sledeći izraz:

$$q = q_2 \frac{t}{\frac{1}{q_\infty k_2} + t} \quad (10)$$

gde je $1/q_\infty k_2$ odgovara vremenu kada je $q = q_\infty/2$. Ovo je hiperbola koja znači kada je $t \rightarrow \infty$, tada je $q \rightarrow q_\infty$.

Logaritamska jednačina zasnovana na kinetici pseudo prvog reda u odnosu na etarsko ulje preostalo u biljnom materijalu je najčešće korišćeni model za vodenu i parnu destilaciju (Milojević, 2011; Radosavljević, 2017). Osnovna pretpostavka ovih modela za slučaj parne destilacije je da se porozni sloj biljnog materijala posmatra kao šarža bez promene u obliku i rasporedu za vreme procesa, dok je parna faza idealno izmešana sa konstantnim protokom, a za slučaj destilacije sa vodom suspenzija u destilacionom sudu je idealno izmešana. Etarsko ulje se posmatra kao jedna komponenta, biljne čestice su izotropne, jednake veličine, oblika i početnog sadržaja etarskog ulja, efektivni koeficijent difuzije je konstantan, ne postoji otpor prenosu mase etarskog ulja sa spoljne površine biljne čestice i etarsko ulje i kondenzovana voda su potpuno nemešljive (Morin i sar., 1985; Hanci i sar., 2003). Prinos etarskog ulja se povećava po logaritamskom zakonu, što podrazumeva da ekstrakcija etarskog ulja sledi kinetiku pseudo prvog reda u odnosu na etarskog ulje preostalo u biljnom materijalu:

$$-\frac{dq_p}{dt} = k_1 \cdot q_p \quad (11)$$

Integracijom jednačine (11) sa početnim uslovima $q_p = q_0$ za $t = 0$ dobija se:

$$-\ln \frac{q_p}{q_0} = k_1 \cdot t \quad (12)$$

gde je q_p sadržaj etarskog ulja u biljnim česticama u bilo kom trenutku t , a k_1 konstanta brzine.

Ukoliko se pretpostavi da nema gubitaka etarskog ulja u toku hidrodestilacije, kao i da se etarsko ulje ne rastvara u vodi može se usvojiti da je početni sadržaj etarskog ulja u biljnom materijalu jednak zbiru prinosa etarskog ulja i njegovog sadržaja u bilo kom trenutku:

$$q_0 = q_p + q \quad (13)$$

pa jednačina (12) postaje:

$$-\ln \frac{q_0 - q}{q_0} = k_1 \cdot t \quad (14)$$

Dva najčešće korišćena fenomenološka modela su troparametarski model jednačina (15) (Sovova i Aleksovski, 2006) i dvoparametarski model (Milojević i sar., 2008). Kod troparametarskog modela koji je razvijen na primeru hidrodestilacije etarskog ulja iz semena korijandera (*Corianderum satirum* L.), pretpostavlja se da se odvijaju dva istovremena procesa. Prvi proces podrazumeva da se etarsko ulje sa površine razorenih ćelija brzo izdvaja, a drugi predstavlja difuziju etarskog ulja iz nerazorenih ćelija prema površini čestica:

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - f \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) - (1-f) \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \quad (15)$$

Ovo je model koji do sada najbolje opisuje kinetiku hidrodestilacije pa je i najčešće primenjivan (Pavićević i sar., 2016; Pornpunyapat i sar., 2011; Radosavljević i sar., 2017; Rezazi i sar., 2017) .

Milojević i sar. (2008) su razvili model koji se zasniva na pretpostavci da se u početnoj fazi (brzoj) etarsko ulje brzo izdvaja (trenutno), i da je taj proces praćen difuzijom etarskog ulja iz usitnjenih čestica biljnog materijala prema njihovoj spoljnoj površini:

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - (1 - f) \cdot e^{-kt} \quad (16)$$

Takođe, ovaj model se često koristi u literaturi (Pornpunyapat i sar., 2011; Radosavljević i sar., 2017).

U literaturi postoji veliki broj radova koji se odnose na ispitivanje kinetike izdvajanja etarskih ulja (Busato i sar., 2014; Milojević i sar., 2013; Rezazi, 2016; Sovova i Aleksovski, 2006), dok je kinetika MAHD nešto manje ispitivana (Kusuma i Mahfud, 2017a,b,c,d; Pavićević i sar., 2016). Međutim nema mnogo radova o kinetici hidrodestilacije etarskog ulja ploda kleke. Kinetiku izdvajanja etarskog ulja ploda kleke pomoću HD i MAHD obično opisuju modeli sa dva i tri parametra (Milojević i sar., 2008; Pavićević i sar., 2016). Samo Pavićević i sar. (2016) su upoređivali kinetiku izdvajanja etarskog ulja ploda kleke pomoću HD i MAHD. Ovi modeli pretpostavljaju dva istovremena procesa: (a) brza destilacija etarskog ulja sa spoljašnjih površina biljnih čestica (tzv. ispiranje) i (b) spora difuzija etarskog ulja kroz biljne čestice.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Materijal

U eksperimentu je korišćena kleka ubrana na južnim padinama Kopaonika (1000 m n.v.), Kosovo i Metohija, u septembru 2016. godine. Očišćeni plodovi kleke su osušeni prirodnim provetravanjem i spakovani u višeslojne papirne kese, koje su čuvane u mračnoj i suvoj prostoriji sa provetravanjem, kako bi se izbegla fermentacija.

3.1.1. Priprema ploda kleke za HD

Priprema kleke je obuhvatala sušenje i mlevenje suvih i nabubrelih plodova u dezintegratoru (BOSH, 500 W) u određenim vremenskim intervalima (1, 2 i 3 min).

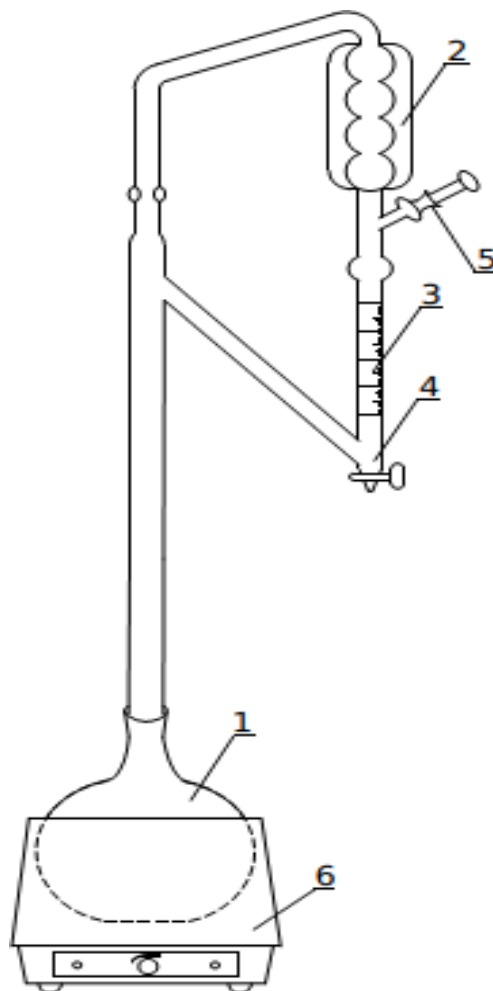
Kod mlevenja suvih plodova, 300 g kleke je podeljeno na tri jednaka dela i svaki deo je mleven sa prekidima na svakih 20 s, da ne bi došlo do zagrevanja materijala koje bi prouzrokovalo gubitke lako isparljivih komponenata, kao i da bi se stresao deo biljnog materijala sa zidova dezintegratora u cilju postizanja ravnomernog mlevenja.

Kod mlevenja nabubrelih plodova, 300 g plodova kleke je potopljeno u 1000 cm³ destilovane vode i ostavljeno da bubri 24, 48 ili 72 h. Posle bubrenja, plodovi su odvojeni od vode i podeljeni u tri jednaka dela. Svaki deo mleven je uz pauzu na 20 s uz dodatak vode u kojoj je kleka bubrila: pre početka mlevenja 100 cm³, za vreme prekida po 50 cm³ (kod mlevenja 1, 2 i 3 minuta na svakih 20, 40 i 60 s, respektivno). Na kraju, suspenziji je dodat preostali deo vode od bubrenja i 200 cm³ destilovane vode, da bi se postigao maseni odnos kleka-voda (hidromodul) 1:4.

3.2. Izolacija bioaktivnih komponenata

3.2.1. Aparatura za HD

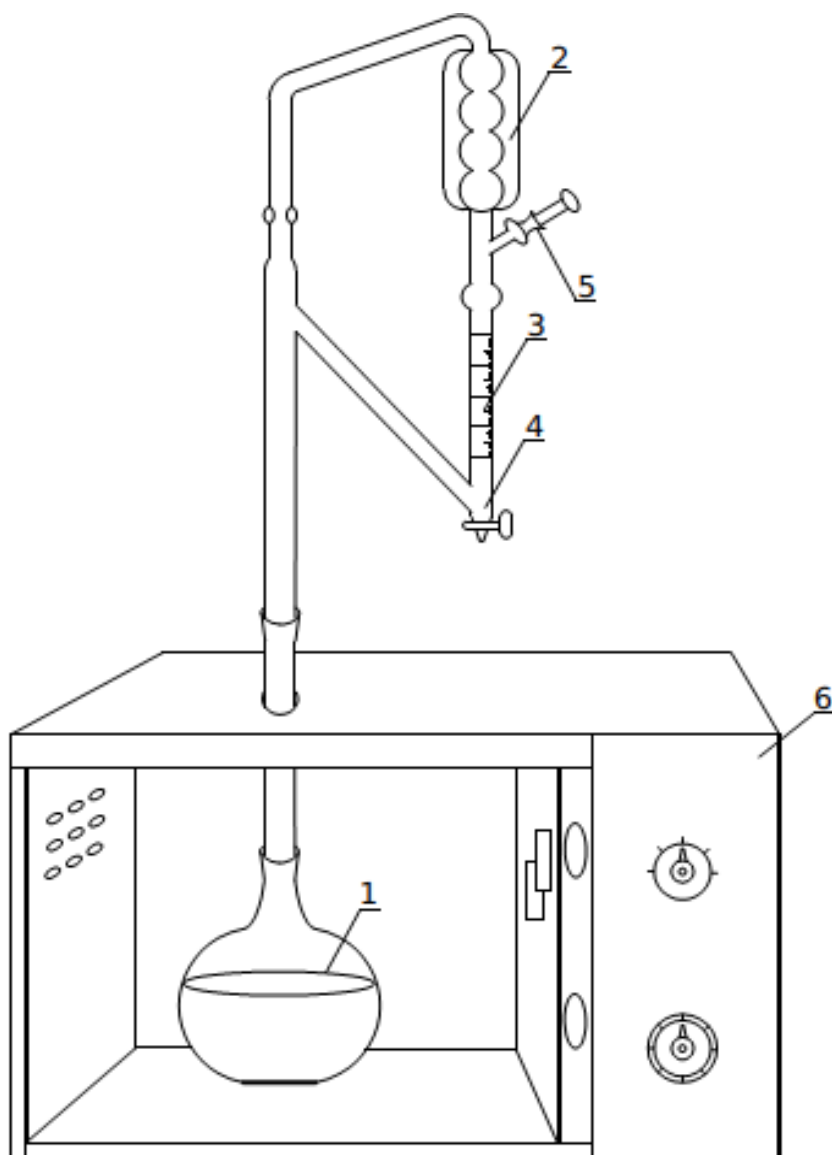
Hidrodestilacija etarskog ulja kleke je izvedena na aparaturi po Klevendžeru (slika 10). Samleveni plodovi kleke (300 g) su stavljeni u balon (2 dm³) u koji je dodata destilovana voda pri hidromodulu 1:4. Zagrevanje je vršeno kalotom 240 min pri brzini hidrodestilacije $8 \pm 0,5$ cm³/min. Na graduisanom delu aparature je očitavana zapremina izdvojenog ulja, i to od trenutka kada je prva kap etarskog ulja dospela u separator aparature.



Slika 10 Aparatura za HD po Klevendžeru: 1) balon za destilaciju, 2) kondenzator, 3) graduisana cev za merenje zapremine etarskog ulja, 4) slavina sa nastavkom, 5) od vazdušenje sa brušenim zapašaćem i 6) električni grejač

3.2.2. Aparatura za MAHD

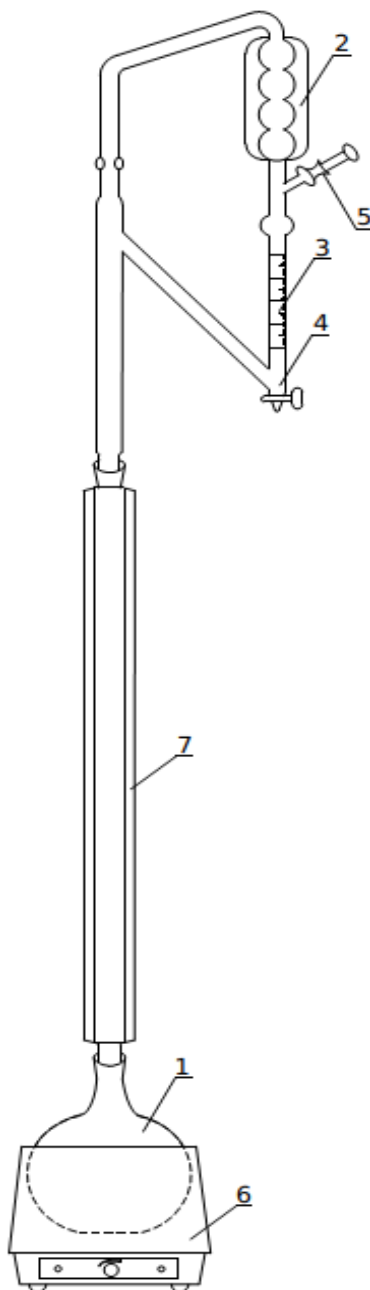
Samleveni plodovi kleke i destilovana voda u odnosu 1:4 su nasuti u balon (2 dm³) sa ravnim dnom koji je stavljen modifikovanu mikrotalasnu pećnicu (maksimalna snaga 900 W, učestanost 50 Hz). Balon je šlifovanim staklenim nastavkom spojen s aparaturom po Klevendžeru (slika 11). Zagrevanje je vršeno 240 min pri brzini hidrodestilacije 9,0 cm³/min.



Slika 11 Aparatura za MAHD: 1) balon za destilaciju, 2) kondenzator, 3) graduisana cev za merenje zapremine etarskog ulja, 4) slavina sa nastavkom, 5) odvazdušenje sa brušenim zapašaćem i 6) mikrotalasna pećnica

3.2.3. Aparatura za SHDR

Aparatura za SHDR se sastojala od balona (2 dm³) na koji je postavljena kolona sa 36 teorijskih podova ispunjena NORMAG pakovanjem tip A i na nju je postavljena aparatura po Klevendžeru (slika 12). Samleveni biljni materijal je ubačen u balon zajedno sa destilovanom vodom u odnosu 1:4. Zagrevanje je vršeno kalotom 240 min



Slika 12 Aparatura za SHDR: 1) balon za destilaciju, 2) kondenzator, 3) graduisana cev za merenje zapremine etarskog ulja, 4) slavina sa nastavkom, 5) od vazdušenja sa brušenim zapušaćem, 6) električni grejač i 7) rektifikaciona kolona

pri brzini hidrodestilacije $8 \pm 0,5 \text{ cm}^3/\text{min}$. Na graduisanom delu aparature je očitavana zapremina izdvojenog ulja, i to od trenutka kada je prva kap etarskog ulja dospela u separator aparature.

3.2.4. Aparatura za SMAHDR

Samleveni plodovi kleke i destilovana voda u odnosu 1:4 su nasuti u balon (2 dm^3) sa ravnim dnom koji je stavljen u modifikovanu mikrotalasnu pećnicu (maksimalna snaga 900 W, učestanost 50 Hz) i šlifovanim staklenim nastavkom spojen sa kolonom na koju je nastavljena aparatura po Klevendžeru (slika 13). Zagrevanje je vršeno 240 min pri brzini hidrodestilacije $9,0 \text{ cm}^3/\text{min}$.

Sve četiri aparature su korišćene za određivanje sadržaja etarskog ulja, kao i njegovo frakcionisanje, dok su aparature za HD i MAHD korišćene i za ispitivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja ploda kleke. Za ispitivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja i njegovog sadržaja očitavanje zapremine etarskog ulja na graduisanom delu aparature je vršeno u prvih 30 min procesa na svakih 5 min (do 30 min), zatim na 10 min (do 60 min), pa na 30 min (do 120 min) i kasnije na 60 min (do kraja hidrodestilacije).

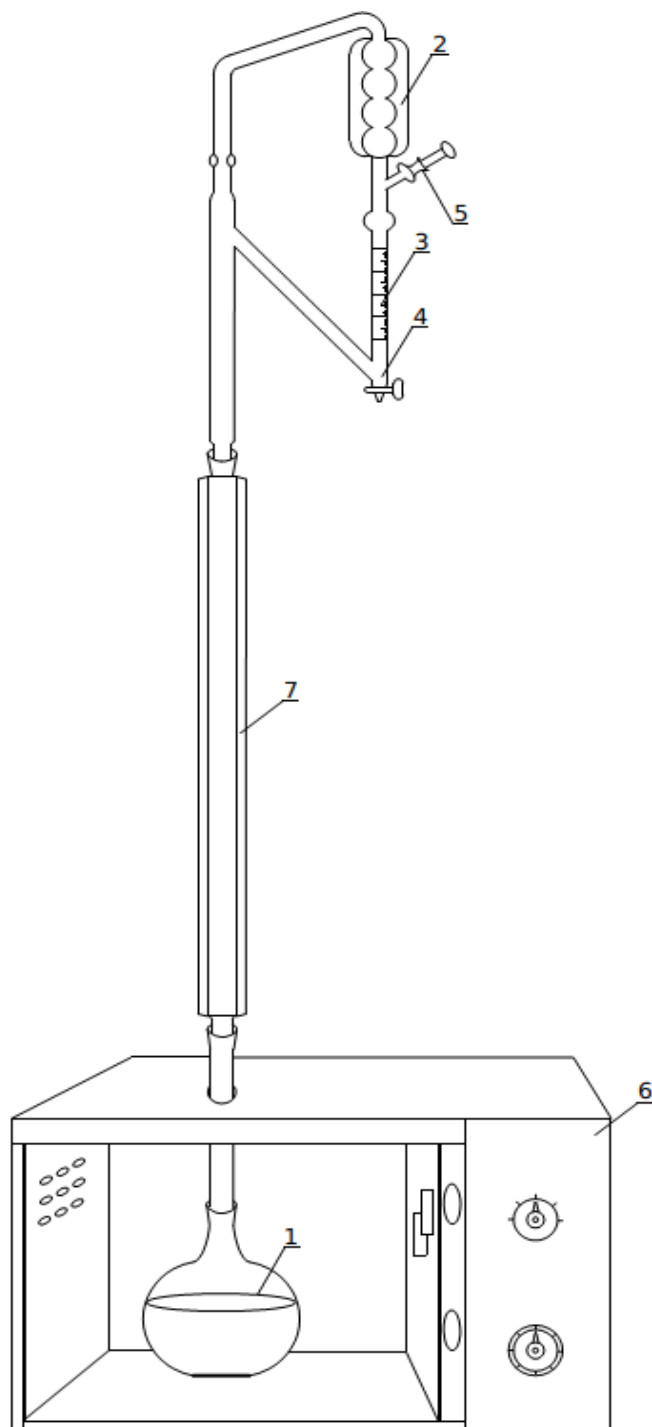
Frakcije etarskog ulja ploda kleke su izdvajane fizički, tako što je prva frakcija bila zapremine 1,5 ml, druga, treća, četvrta, i peta frakcija po 1 ml i šesta frakcija ostatak etarskog ulja koje je izdvojeno do kraja procesa destilacije.

Dobijeno ulje i frakcije su osušene bezvodnim natrijum-sulfatom i čuvano na temperaturi $4 \text{ }^\circ\text{C}$ do kvalitativne analize.

3.3. Određivanje sastava etarskog ulja ploda kleke

Hemijski sastav etarskog ulja i njegovih frakcija određivan je gasnom hromatografijom sa plameno-jonizujućim detektorom (GC/FID) i gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom (GC/MS) na Institutu za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“. Identifikacija pikova je izvršena poređenjem

retencionih vremena iz hromatograma ulja kleke i korišćenjem hromatograma odgovarajućeg standarda.



Slika 13 Aparatura za SMAHDR: 1) balon za destilaciju, 2) kondenzator, 3) graduisana cev za merenje zapremine etarskog ulja, 4) slavina sa nastavkom, 5) odvazdušenje sa brušenim zapušaćem, 6) mikrotalasna pećnica i 7) rektifikaciona kolona

3.3.1. Gasna hromatografija sa plameno jonizujućim detektorom

Analize su rađene na gasnom hromatografu (model 7890A, Agilent Technologies Co. Ltd, Shanghai Branch Company, Shanghai, China), opremljenom split-splitless injektorom i automatskim semplerom za tečnosti (ALS), povezanim sa HP-5 silika kapilarnom kolonom (30 m x 0,32 mm, debljina filma 0.25 μ m) i podešenim sa plameno-jonizujućim detektorom (FID). Kao noseći gas, korišćen je vodonik protoka 1 ml/min na 210 °C (režim konstantnog pritiska), temperatura injektora iznosila je 220 °C, detektora 240 °C, dok je temperatura kolone linearno programirana od 60 do 240 °C (pri brzini od 3 °/min), i održavana izotermiski na 240 °C sledećih 10 min. Rastvori etarskih ulja u etanolu (~1 %) injektirani su pomoću ALS (1 μ l, splitrežim, 1:30). Procentni izveštaji, dobijeni kao rezultat standardne obrade hromatograma, korišćeni su kao osnova za kvantifikaciju. Kvantifikacija je postignuta metodom normalizacije, prema preporuci iz standarda ISO 8897:2010.

3.3.2. Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom

Za potrebe su korišćeni isti hromatografski analitički uslovi koji su navedeni za GC/FID, sa kapilarnom kolonom HP-5MS (30 m x 0.25 mm, debljina filma 0.25 μ m), korišćenjem HP G 1800C GCD Series II Electron Ionization Detector (EID) sistema (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA). Umesto vodonika, helijum je korišćen kao noseći gas. Temperatura transfer linije iznosila je 240 °C. Maseni spektri snimani su u EI režimu (70 eV), u opsegu m/z 40–400. Rastvori uzoraka u etanolu (~1 %) injektirani su pomoću ALS (1 μ l, split-režim, 1:30). Sastojci su identifikovani poređenjem njihovih masenih spektara sa onim iz baza podataka Wiley275 i NIST/NBS, korišćenjem različitih načina pretrage, Probability Merge Search (PBM) prisutnom u instrumentu G1701DA. ver. D.00.00.38 data station software i NIST 2.0.32. Eksperimentalne vrednosti za retenciona vremena određene su korišćenjem kalibrisanog programa Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System Software (AMDIS ver.2.64), poređene su sa onima iz dostupne literature i korišćene su kao dodatno sredstvo da potvrde MS nalaze (Adams, 2007).

3.4. Eksperimentalna i statistička obrada podataka

Svi eksperimenti su izvedeni u dva ponavljanja, a rezultati predstavljeni kao srednja vrednost.

Prinos etarskog ulja kleke ostvaren primenom hidrodestilacije je procenjen metodologijom odziva površine (RSM) u kombinaciji sa eksperimentalnim dizajnom sa dva faktora (vreme mlevenja i vreme bubrenja na 3 i 4 nivoa sa replikacijom; ukupno 24 eksperimenta). Primenjeni softver (Design-Expert) predložio je korišćenje linearnog modela proširenog sa dvostrukom interakcijom za statističku procenu uticaja procesnih faktora na JEO prinos (nazvan ovde 2FI model):

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 \cdot X_2 \quad (17)$$

gde je: Y - prinos JEO, b_0 - konstantan koeficijent regresije, b_1 i b_2 - linearni koeficijenti regresije, b_{12} - dvofaktorski interaktivni koeficijent regresije, X_1 - vreme mlevenja i X_2 - vreme bubrenja. Višestruka nelinearna regresija korišćena je za određivanje parametara jednačine (17) razvijenog modela, dok je procena stepena tačnosti primenjene metodologije određena analizom varijansi (ANOVA), koja prikazuje i značajnost uticaja svakog pojedinačnog parametra, kao i njihove međusobne interakcije na primenjen model sa 95 % nivoom pouzdanosti (p -vrednost $< 0,05$). Kako su analizirani eksperimentalni podaci o JEO prinosu bili neuravnoteženi, primenjen je tip ANOVA III. Broj optimizacionih tačaka, gde je maksimalni prinos JEO postignut je za skup predtretmanskih uslova korišćenjem istog programa.

Uticaj predtretmana plodova kleke (vremena mlevenja i vremena bubrenja plodova) na prinos dobijen za 4 h primenom HD i MAHD ispitivan je pomoću višestrukog testa intervala - Dankanovog testa sa pouzdanošću od 95 %.

Kolmogorov-Smirnov test normalnosti je korišćen da proceni da li JEO prinos normalno distribuiran. Za statističku procenu korišćen je softver R-Project (open source, <http://cran.us.r-project.org>).

Srednje relativno procentno odstupanje (MRPD) i koeficijent determinacije R^2 su korišćeni za ocenjivanje kvaliteta modela:

$$MRPD = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|q_i - q_{m,i}|}{q_i} \quad (18)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (q_i - q_{m,i})^2}{\sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})^2} \quad (19)$$

gde je: \bar{q} - srednja vrednost eksperimentalnih podataka, q_i - vrednost dobijena eksperimentalnim putem i $q_{m,i}$ - vrednost određena korišćenjem matematičkog modela.

Akaikeov informacioni kriterijum (AIC) je korišćen za odabir najboljeg modela među sedam modela sa različitim brojem parametara koji su razvijeni na osnovu istog skupa podataka. Ovaj kriterijum ne daje informacije o kvalitetu modela u apsolutnom smislu. AIC je definisan na sledeći način:

$$AIC = -2 \cdot \log(L) + 2K \quad (20)$$

gde je L – maksimalna vrednost funkcije verodostojnosti, K – broj parametara modela.

Pošto se radi o malim setovima podataka, $n/K < 40$, preporučljivo je koristiti korigovani AIC broj:

$$AIC_c = AIC + \frac{2K(K+1)}{n-K-1} \quad (21)$$

gde je n - veličina seta podataka.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Sastav etarskog ulja plodova kleke dobijenog HD i MAHD

U tabelama 3, 4 i 5 je prikazan delimični sastav etarskog ulja plodova plave kleke kroz odabranih 21 komponenti koje su imale udeo veći od 0,5 % mas. u zavisnosti od načina pripreme i vremena mlevenja i načina zagrevanja u procesu hidrodestilacije. Ove odabrane komponente predstavljaju 95-96 % mas. etarskog ulja. U tabeli 3 prikazani su udeli odabranih lako isparljivih komponenata u etarskom ulju.

Ukupni maseni udeo lako isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom iz suvih plodova kleke u zavisnosti od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 69,25 %, 65,94 % i 66,31 %, respektivno. α -tujen, β -pinen i mircen imaju približno iste udele u etarskom ulju bez obzira na vreme mlevenja plodova, dok su vrednosti α -pinena i sabinena veće u etarskom ulju plodova koji su mleveni 1 min nego u etarskom ulju iz plodova koji su mleveni 2 i 3 min (slika 14a).

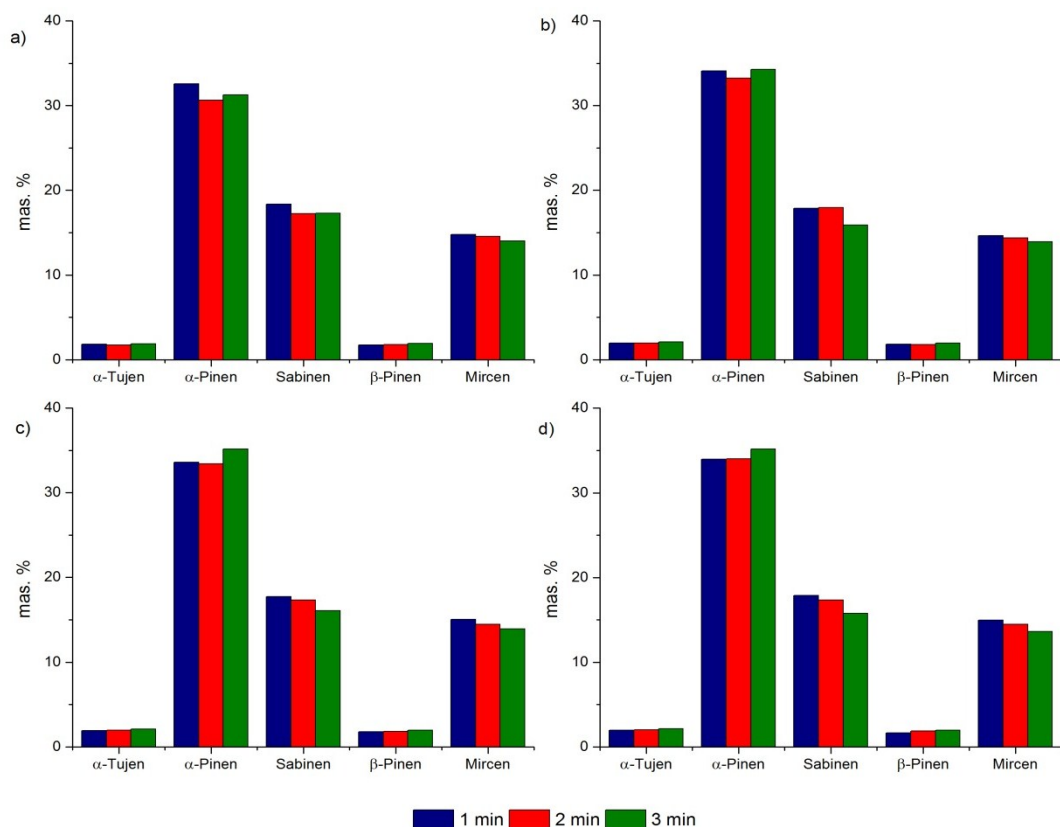
Pri mlevenju plodova koji su bubrili 24 h ukupni maseni udeli pri 1, 2 i 3 min mlevenja plodova su 70,38 %, 69,31 % i 68,08 %, respektivno. α -pinena najviše ima u etarskom ulju plodova koji su mleveni 3 min, dok sabinena ima više pri mlevenju od 1 i 2 min nego pri mlevenju plodova od 3 min. Ostale komponente su približnog udela, jedino mircen ima blagi pad pri povećanju vremena mlevenja plodova (slika 14b).

U etarskom ulju koje je dobijeno iz plodova koji su prethodno bubrili 48 h u destilovanoj vodi ukupni maseni udeli lako isparljivih komponenata pri mlevenju 1, 2 i 3 min su 70,11 %, 68,98 % i 69,24 %, respektivno. α -pinena ima najviše pri mlevenju od 3 min, dok mu je udeo približno isti pri mlevenju od 1 i 2 min, dok koncentracije sabinena i mircena opadaju sa povećanjem vremena mlevenja.

Ukupni maseni udeo lakše isparljivih komponenata u etarskom ulju koje je dobijeno preradom plodova koji su prethodno bili potopljeni 72 h zavisno od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 70,42 %, 69,80 % i 68,69 %, respektivno. Koncentracioni profili komponenata su nepromenjeni naspram koncentracionog profila etarskog ulja plodova koji su prethodno bili potopljeni 48 h u vodi.

Tabela 3 Sastav (mas. %) lako isparljivih komponenata u etarskom ulju

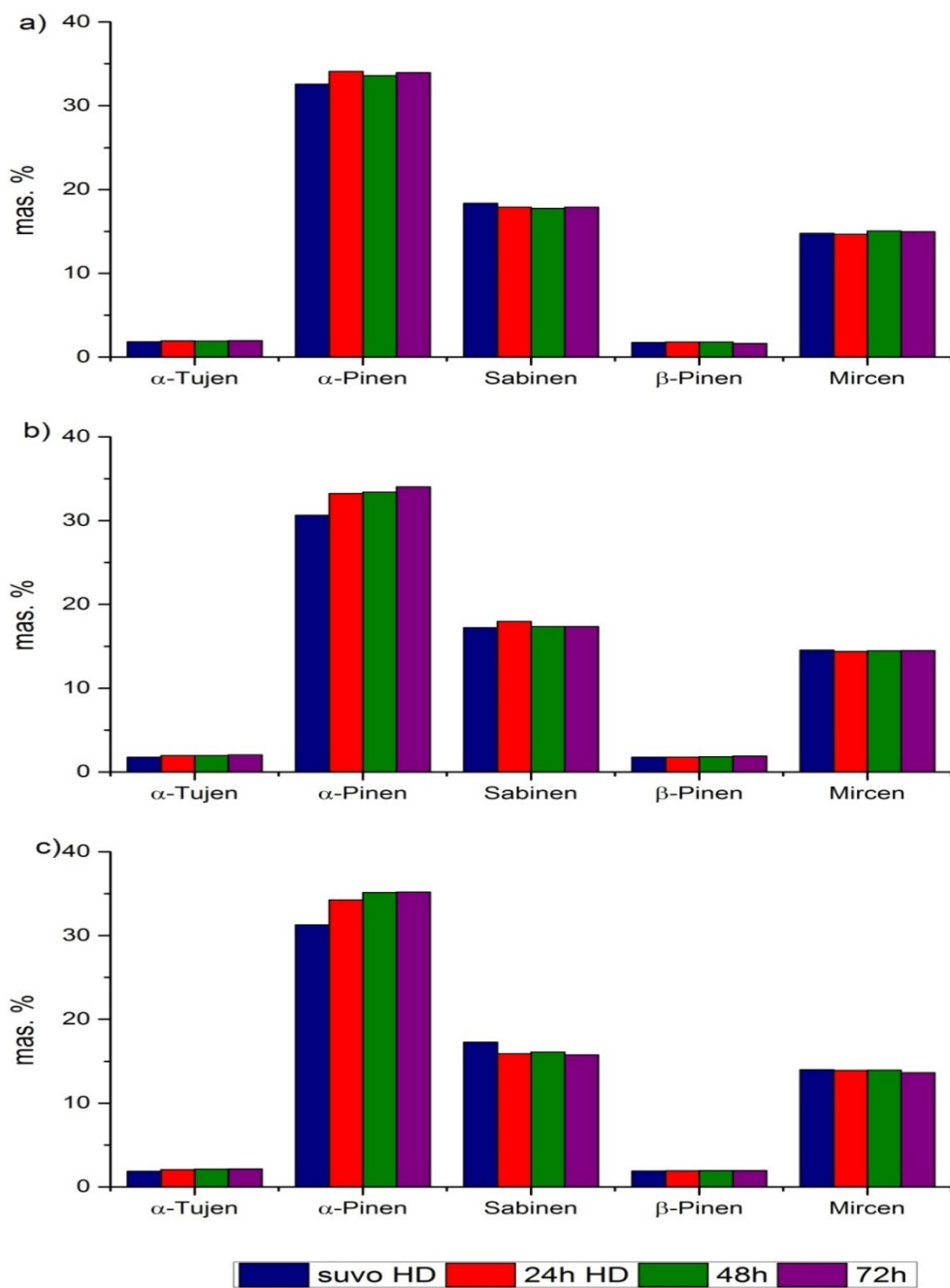
Tehnika		HD												MAHD	
Vreme bubrenja, h		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72	0	24
Vreme mlevenja, min		1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	1	1
1	α -Thujen	1,82	1,94	1,91	1,97	1,75	1,97	1,96	2,03	1,86	2,08	2,11	2,14	1,75	1,84
2	α -Pinen	32,58	34,09	33,61	33,97	30,65	33,24	33,4	34,03	31,28	34,25	35,15	35,19	31,79	32,58
3	Sabinen	18,35	17,88	17,75	17,88	17,22	17,96	17,35	17,35	17,29	15,89	16,09	15,76	18,72	19,05
4	β -Pinene	1,74	1,81	1,79	1,64	1,77	1,76	1,82	1,89	1,89	1,94	1,96	1,97	1,83	1,75
5	Mircen	14,76	14,65	15,05	14,96	14,54	14,38	14,46	14,49	13,99	13,92	13,94	13,62	14,21	14,39
Lako isparljive komponente		69,25	70,38	70,11	70,42	65,94	69,31	68,98	69,8	66,31	68,08	69,24	68,69	68,3	69,6



Slika 14 Uticaj vremena mlevenja na koncentraciju lako isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme bubrenja: a) suvi plodovi, b) bubrenje 24 h, c) bubrenje 48 h i d) bubrenje 72 h

Uočava se da udeo α -pinena u etarskom ulju ima rast sa povećanjem vremena bubrenja, dok ostale komponente imaju jednak udeo. Jedino sabinena ima nešto više pri mlevenju suvih plodova 3 min u odnosu na ulje koje je dobijeno prethodnim potapanjem plodova u vodu (slika 15).

α -pinena ima najviše pri mlevenju od 3 min i bubrenju plodova 72 h (35,19 %). Mircen i sabinen imaju blagi pad koncentracije sa povećanjem vremena mlevenja. Sabinen ima najveći prinos pri mlevenju 1 min suvih plodova (18,35 %), a najmanji pri mlevenju 3 min i bubrenju plodova 72 h (15,76 %). Mircen ima najveći prinos pri mlevenju 1 min prethodno bubreljih plodova u vodi 48 h (15,05 %), a najmanji pri mlevenju 3 min i bubrenju plodova 72 h (13,62 %). α -tujen i β -pinen imaju približno isti sastav za sva tri vremena mlevenja.

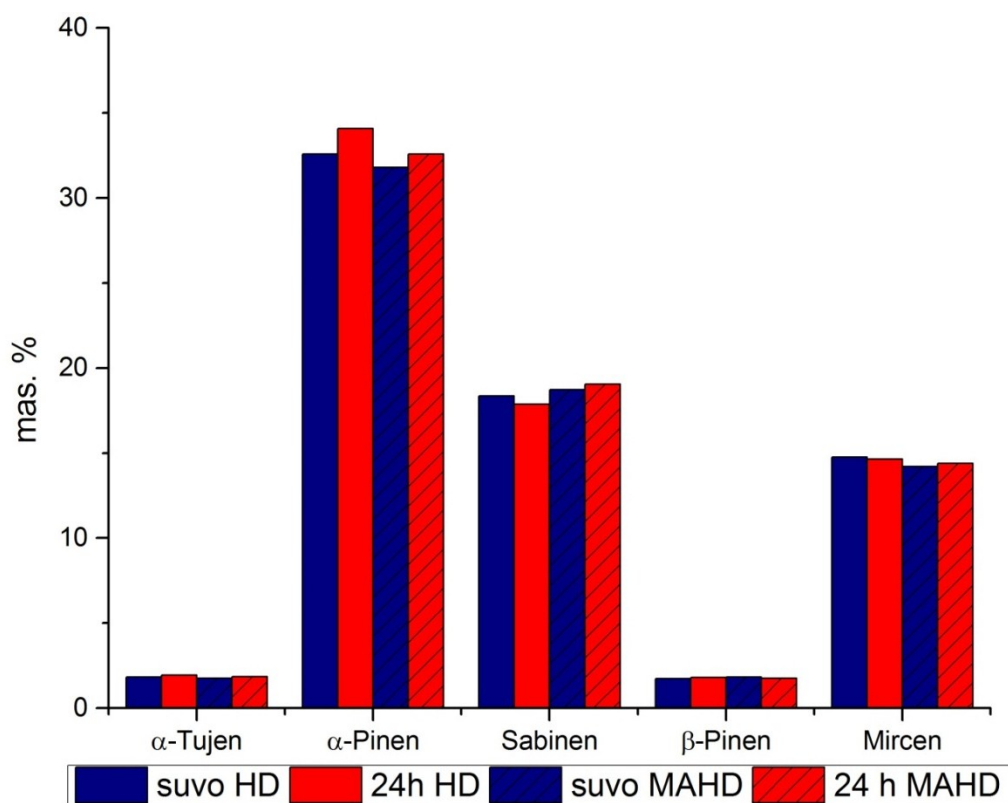


Slika 15 Uticaj vremena bubrenja na koncentraciju lako isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme mlevenja: a) 1 min, b) 2min i c) 3 min

α -pinena i mircena ima nešto više kod etarskog ulja dobijenog HD nego MAHD, dok je kod sabinena obrnut slučaj. α -tujen i β -pinen imaju približno istu zastupljenost u etarskom ulju bez obzira kojom tehnikom je izdvojeno ulje. Što se tiče ukupne zastupljenosti lakše isparljivih komponenata, kod HD i MAHD udeo je približno isti. Kod HD u zavisnosti od vremena bubrenja, suvi plodovi i plodovi koji su bubrili 24 h u

destilovanoj vodi, udeo je 69,25 % i 70,38 %, respektivno, a kod MAHD 68,3 % i 69,6 %, respektivno (slika 16).

Posmatrajući ukupni sadržaj lako isparljivih komponenata u etarskom ulju, dobijenom iz suvih plodova kleke i nabubrelih plodova, tabela 3, možemo reći da kod mlevenja 1 min i bubrenja, lako isparljivih komponenata ima približno 1 % mas. više nego u ulju dobijenom iz suvih plodova kleke. Pri mlevenju plodova 2, odnosno 3 min ima oko 3 % mas., odnosno 2,5 % mas., više lako isparljivih komponenata ako su plodovi prethodno bubrili. Ovo znači da bubrenje pozitivno utiče na kvalitet etarskog ulja dobijenog HD, a time i na njegovu cenu.



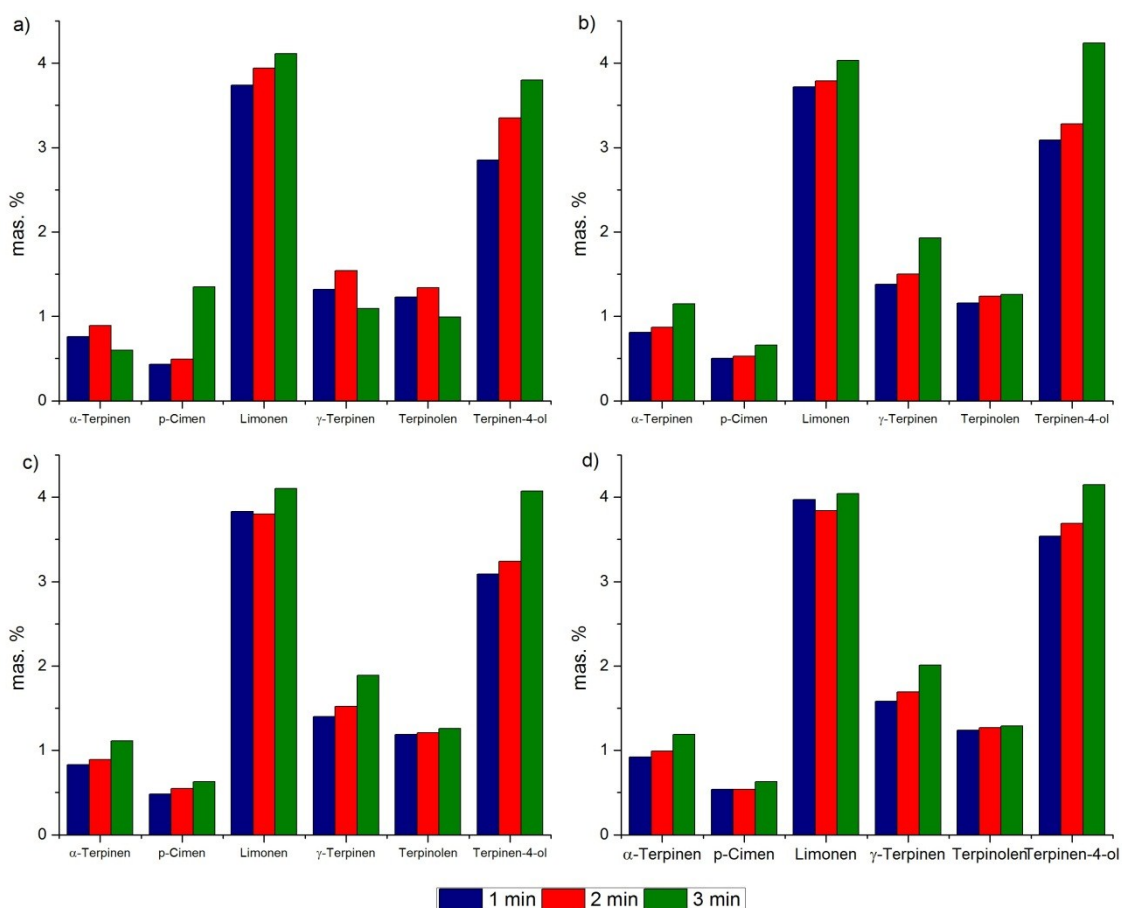
Slika 16 Uticaj tehnike izdvajnja etarskog ulja kleke na koncentraciju lako isparljivih komponenata ako su plodovi mleveni 1 min

Na osnovu tabele 4 uočava se da HD-om suvih plodova koncentracija srednje isparljivih komponenata u etarskom ulju ima blagi rast povećanjem vremena mlevenja 1, 2 i 3 min: 10,33 %; 11,55 % i 11,94 %, respektivno.

Tabela 4 Sastav (mas. %) srednje isparljivih komponenata u etarskom ulju

Tehnika		HD												MAHD	
Vreme bubrenja, h		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72	0	24
Vreme mlevenja, min		1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	1	1
6	α -Terpine	0,76	0,81	0,83	0,92	0,89	0,87	0,89	0,99	0,6	1,15	1,11	1,19	0,55	0,57
7	p-Cimen	0,43	0,5	0,48	0,54	0,49	0,53	0,55	0,54	1,35	0,66	0,63	0,63	0,65	0,55
8	Limonene	3,74	3,72	3,83	3,97	3,94	3,79	3,8	3,84	4,11	4,03	4,1	4,04	3,73	3,71
9	γ -Terpinen	1,32	1,38	1,4	1,58	1,54	1,5	1,52	1,69	1,09	1,93	1,89	2,01	1,02	1,06
10	Terpinolen	1,23	1,16	1,19	1,24	1,34	1,24	1,21	1,27	0,99	1,26	1,26	1,29	1,02	1,02
11	Terpinen-4-ol	2,85	3,09	3,09	3,54	3,35	3,28	3,24	3,69	3,8	4,24	4,07	4,15	2,75	2,73
Srednje isparljive komponente		10,33	10,66	10,83	11,78	11,55	11,21	11,21	12,03	11,94	13,27	13,07	13,32	9,71	9,64

Na osnovu slike 17 i tabele 4 može se zaključiti da *p*-cimen, limonen i terpen-4-ol imaju rast koncentracije sa povećanjem vremena mlevenja, dok α -terpinen, γ -terpinen i terpinolen pokazuju najveću koncentraciju u etarskom ulju je dobijenog iz plodova koji su mleveni 2 min, a povećanjem vremena mlevenja njihova koncentracija opada. Takođe, pri bubrenju plodova 24 h i 48 h koncentracija svih komponenata u etarskom ulju raste sa povećanjem vremena mlevenja. Kod plodova koji su prethodno bubrili 24 h u destilovanoj vodi ukupni udeo srednje isparljivih komponenata u zavisnosti od vremena mlevenja plodova je 10,66 %, 11,21 % i 13,27 %, respektivno. Ukupni udeo srednje isparljivih komponenata kod etarskog ulja dobijenog od plodova koji su bubrili 48 h u zavisnosti od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 10,83 %, 11,21 % i 13,07 %, respektivno. Kod etarskog ulja koje je dobijeno od plodova koji su bubrili 72 h srednje isparljive komponente imaju blagi rast sa povećanjem vremena mlevenja. Jedino limonen pokazuje najniži prinos pri mlevenju od 2 min. Ukupni udeo srednje isparljivih



Slika 17 Uticaj vremena mlevenja na koncentraciju srednje isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme bubrenja: a) suvi plodovi, b) bubrenje 24 h, c) bubrenje 48 h i d) bubrenje 72 h

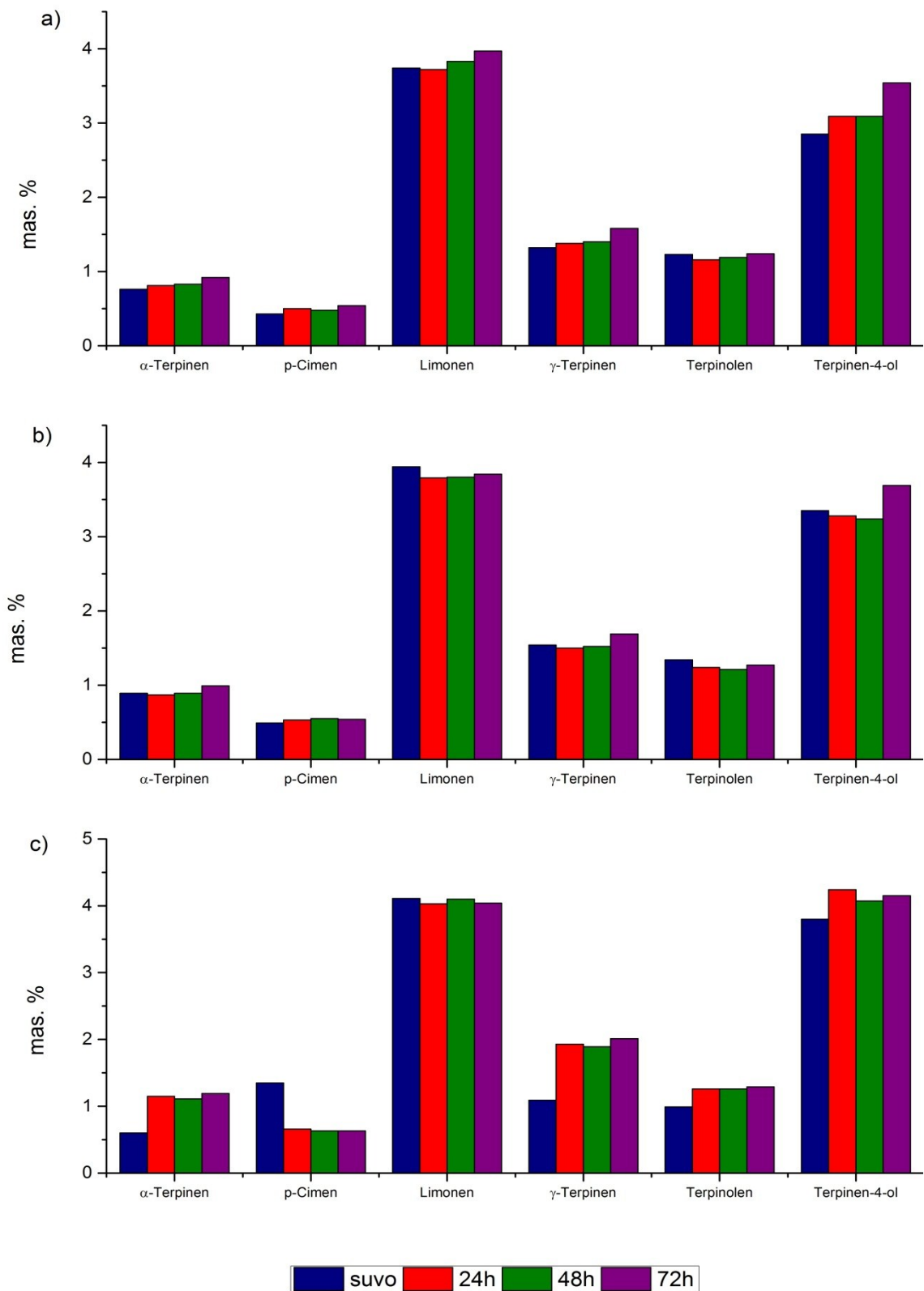
komponentata u etarskom ulju koje je dobijeno mlevenjem 1, 2 i 3 min iz plodova koji su bubrili 72 h je 11,78 %, 12,03 % i 13,32 %, respektivno.

Ukupni udeo srednje isparljivih komponentata u etarskom ulju raste sa povećanjem vremena bubrenja plodova kleke bez obzira na vreme njihovog mlevenja (tabela 4). Terpinen-4-ol ima veći prinos ako se plodovi pre destilacije potope u vodu što je slučaj i sa α -terpinenom. p -cimen ima približno istu koncentraciju, jedino pri mlevenju suvih plodova 3 min ima uočljivo veći udeo, što je kod terpinolena i γ -terpinena obrnut slučaj, u tom slučaju imaju najniži udeo. Limonen ima približno istu koncentraciju bez obzira na vreme bubrenja plodova (slika 18).

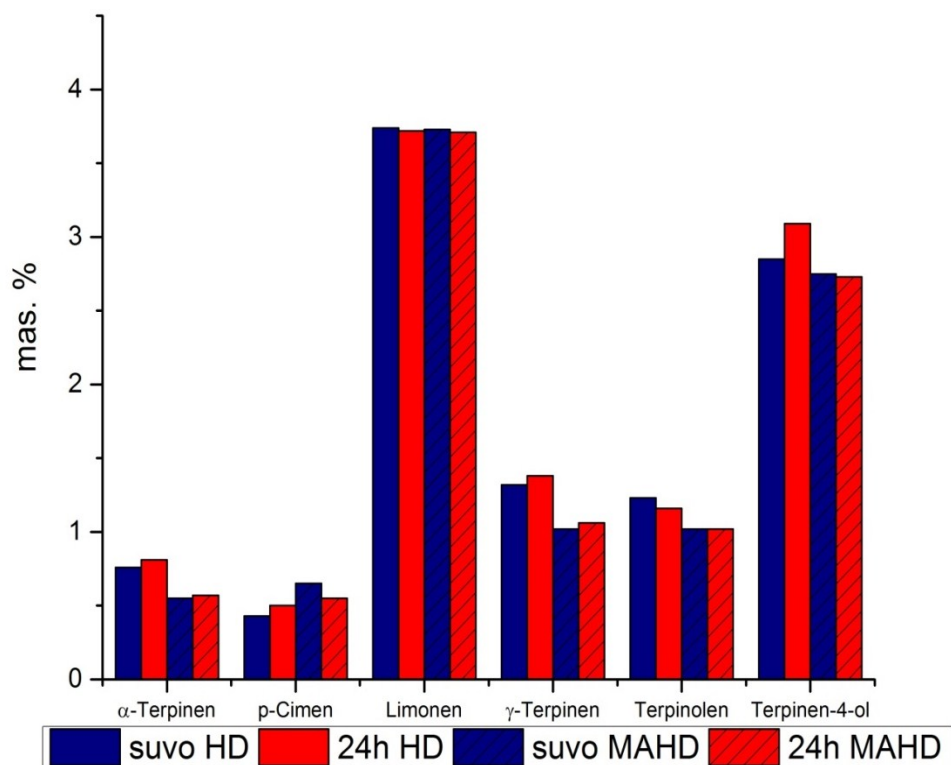
p -cimen ima najveći prinos pri suvom mlevenju plodova 3 min (1,35 %) a najniži pri suvom mlevenju plodova 1 min (0,43 %). Limonen najveći prinos ima pri suvom mlevenju plodova 3 min (4,11 %), a najniži pri mlevenju plodova 1 min prethodno potopljenih plodova 24 h (3,72 %). γ -terpinen najveći prinos ima pri mlevenju plodova 3 min, 72 h bubrenja plodova (2,01%), a najniži pri mlevenju suvih plodova 3 min (1,09 %). Terpinolen ima najveći prinos pri mlevenju suvih plodova 2 min (1,34 %), a najniži pri mlevenju suvih plodova 3 min (0,99 %). Terpinen-4-ol najveći prinos ima pri mlevenju 3 min prethodno potopljenih plodova 24h (4,24 %), a najmanji prinos pri mlevenju suvih plodova 1 min (2,84 %).

Kao što se vidi iz tabele 4, ulje dobijeno iz prethodno bubrelih plodova je bogatije i srednje isparljivim komponentama, od kojih terpinen-4-ol naročito utiče na povećanje kvaliteta etarskog ulja.

Na slici 19 može se uočiti da pri HD veći prinos imaju α -terpinen, γ -terpinen, terpinolen i terpinen-4-ol, p -cimen ima veći prinos kod etarskog ulja dobijenog MAHD, a limonen ima približno isti sastav bez obzira na tehniku izdvajanja etarskog ulja. Ukupni udeo srednje isparljivih komponentata etarskog ulja dobijenog HD korišćenjem suvih plodova i plodova koji su bubrili u vodi 24 h je 10,33 % i 10,66 %, respektivno i veći je nego kod etarskog ulja dobijenog MAHD (9,71 % i 9,64 %, respektivno)(tabela 4). Ulje dobijeno HD je boljeg kvaliteta od ulja dobijenog MAHD.



Slika 18 Uticaj vremena bubrenja na koncentraciju srednje isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme mlevenja: a) 1 min, b) 2min i c) 3 min

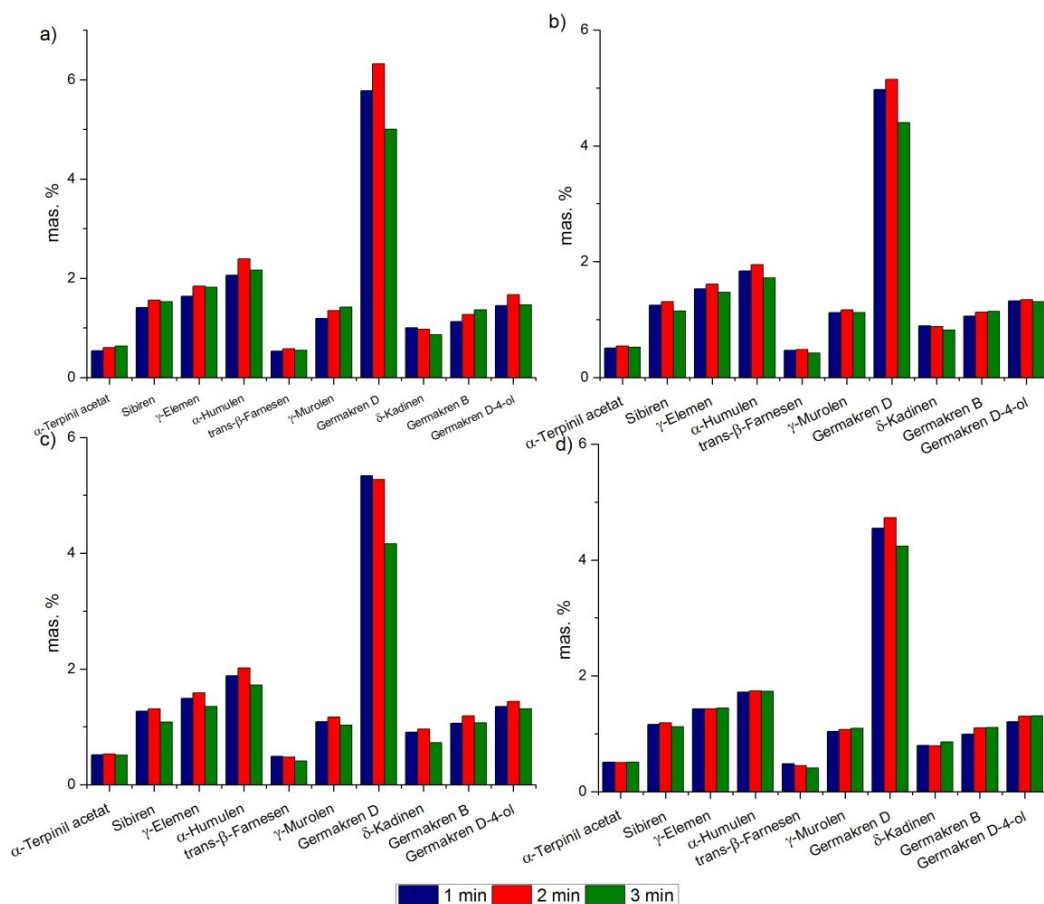


Slika 19 Uticaj tehnike izdvajanja etarskog ulja kleke na koncentraciju srednje isparljivih komponenata ako su plodovi mleveni 1 min

Ukupan udeo teško isparljivih komponenta u etarskom ulju dobijenom iz suvih plodova pri mlevenju 1, 2 i 3 min je 16,71 %, 18,55 % i 16,81 %, respektivno. Pri mlevenju plodova koji su bubrili u destilovanoj vodi 24 h u zavisnosti od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 14,95 %, 15,55 % i 14,09 %, respektivno. Uočava se najveća koncentracija kod etarskog ulja dobijenog mlevenjem plodova 2 min kod svih komponenta sem kod δ -kadinena i germakrena B. Germakren B ima najveću koncentraciju pri mlevenju od 3 min, dok δ -kadinen ima najveću koncentraciju pri mlevenju od 1 min (slika 20).

Tabela 5 Sastav (mas. %) teško isparljivih komponenata u etarskom ulju

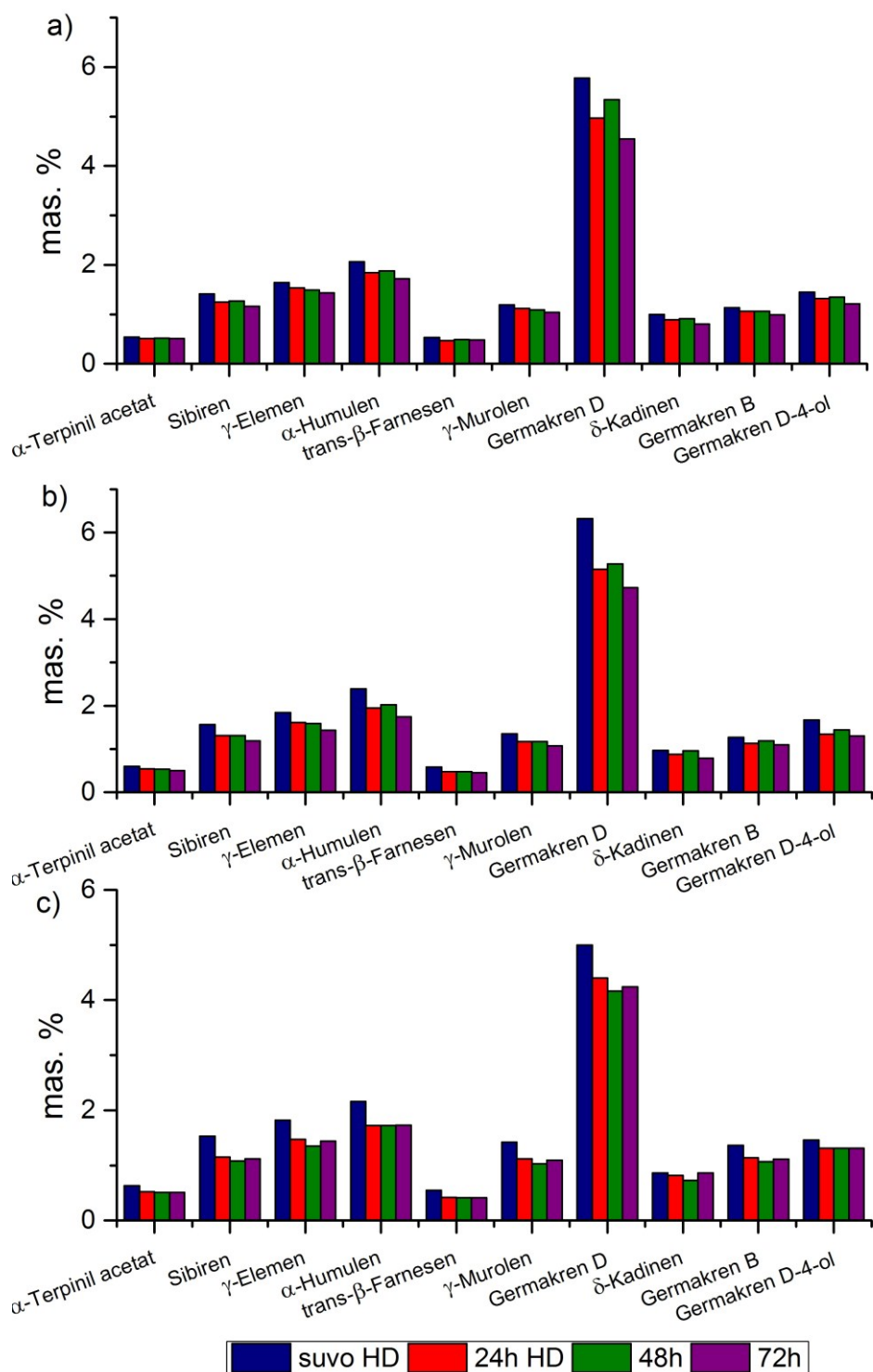
Tehnika		HD												MAHD	
Vreme bubrenja, h		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72	0	24
Vreme mlevenja, min		1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	1	1
12	α -Terpinil acetat	0,54	0,51	0,52	0,51	0,6	0,54	0,53	0,5	0,63	0,52	0,51	0,51	0,56	0,54
13	Sibiren	1,41	1,25	1,27	1,16	1,56	1,31	1,31	1,19	1,53	1,15	1,08	1,12	1,51	1,39
14	γ -Elemen	1,64	1,53	1,49	1,43	1,84	1,61	1,59	1,43	1,82	1,47	1,35	1,44	1,79	1,63
15	α -Humulen	2,06	1,84	1,88	1,72	2,39	1,95	2,02	1,74	2,16	1,72	1,72	1,73	2,21	2,04
16	trans- β - Farnesen	0,53	0,47	0,49	0,48	0,58	0,48	0,48	0,45	0,55	0,42	0,41	0,41	0,52	0,5
17	γ -Murolen	1,19	1,12	1,09	1,04	1,35	1,17	1,17	1,07	1,42	1,12	1,03	1,09	1,35	1,23
18	Germakren D	5,78	4,97	5,34	4,55	6,32	5,15	5,27	4,73	5	4,4	4,16	4,24	5,79	5,62
19	δ -Kadinen	1	0,89	0,91	0,8	0,97	0,88	0,96	0,79	0,86	0,82	0,73	0,86	1,04	0,96
20	Germakren B	1,13	1,06	1,06	0,99	1,27	1,13	1,19	1,1	1,36	1,14	1,07	1,11	1,21	1,11
21	Germakren D-4-ol	1,45	1,32	1,35	1,21	1,67	1,34	1,44	1,3	1,46	1,31	1,31	1,31	1,64	1,51
Teško isparljive komponente		16,71	14,95	15,39	13,89	18,55	15,55	15,96	14,3	16,81	14,09	13,37	13,82	17,61	16,54



Slika 20 Uticaj vremena mlevenja na koncentraciju teško isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme bubrenja: a) suvi plodovi, b) bubrenje 24 h, c) bubrenje 48 h i d) bubrenje 72 h

Udeo teško isparljivih komponenata pri mlevenju prethodno bubreljih plodova 48 h u destilovanoj vodi u zavisnosti od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 15,39 %, 15,96 % i 13,37 %, respektivno. Sve komponente imaju najveću koncentraciju pri mlevenju plodova 2 min, sem germakrena D koji ima najveću koncentraciju pri mlevenju plodova 1 min. δ -kadinen ima izjednačenu koncentraciju pri mlevenju plodova 1 i 2 min i germakrena B koji ima jednake koncentracije pri mlevenju plodova 2 i 3 min. Ukupni udeo teško isparljivih komponenata u etarskom ulju koje je dobijeno pri prethodnom bubrenju plodova 72 h u zavisnosti od vremena mlevenja 1, 2 i 3 min je 13,89 %, 14,3 % i 13,82 %. Sve komponente imaju najveću koncentraciju pri mlevenju plodova od 2 min. Poređenjem vrednosti ukupnih koncentracija teško isparljivih komponenata, tabela 5, uočavaju se najmanje vrednosti pri bubrenju 72 h, respektivno za mlevenje 1, 2 i 3

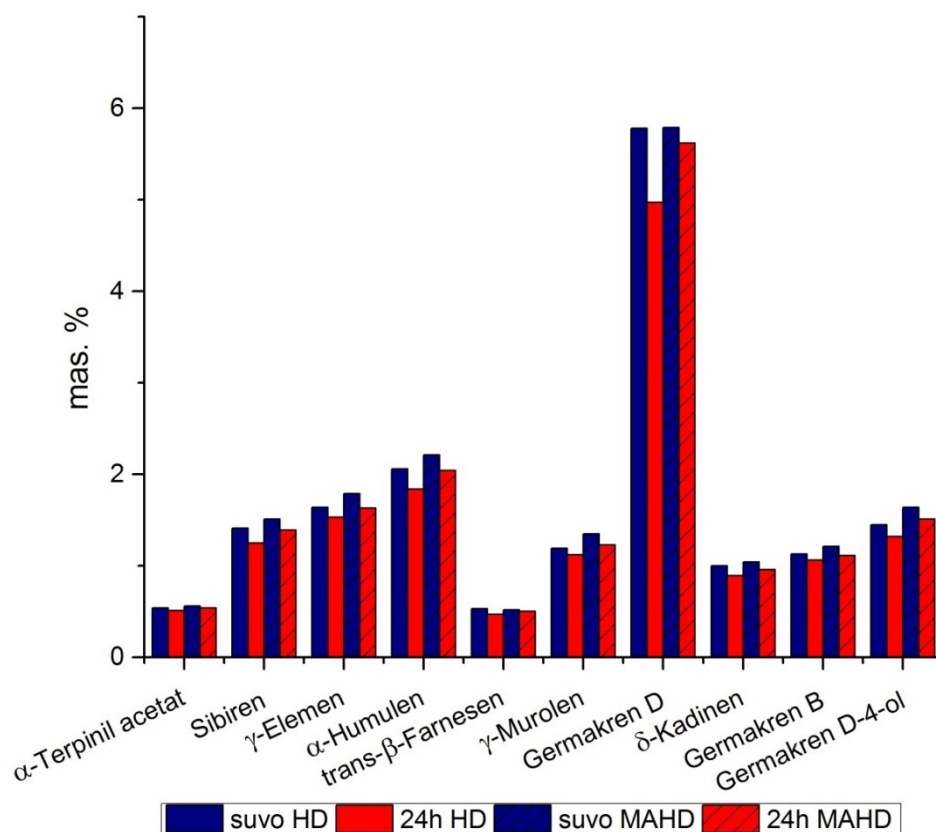
min 13,89 %, 14,3 % i 13,82 %, što potvrđuje zapažanja da bubrenje povećava kvalitet etarskog ulja, a time i njegovu cenu.



Slika 21 Uticaj vremena bubrenja na koncentraciju teško isparljivih komponenata u etarskom ulju dobijenom HD u odnosu na vreme mlevenja: a) 1 min, b) 2min i c) 3 min

Uticaj bubrenja na smanjenje ukupne koncentracije teško isparljivih komponenata najbolje se vidi poređenjem sastava etarskih ulja pri HD suvih i bubrelih plodova, najveća razlika je između ulja iz suvih plodova i prethodno bubrelih plodova 72 h (tabela 5).

Što se tiče primene tehnike izdvajanja etarskog ulja (slika 22), teško isparljive komponente imaju veći prinos u etarskom ulju koje je dobijeno MAHD i to suvim postupkom. Ukupna koncentracija teško isparljivih komponenata etarskog ulja dobijenog HD primenom suvih plodova ili plodova koji su bubrili u destilovanoj vodi 24 h je 16,71 % i 14,95 %, respektivno, i manji je nego kod etarskog ulja dobijenog MAHD (17,61 % i 16,54 %) (tabela 5).



Slika 22 Uticaj tehnike izdvajanja etarskog ulja kleke na prinos teško isparljivih komponenata ako su plodovi mleveni 1 min

Upoređujući HD sa SHDR u pogledu sastava ulja može se reći da primena kolone ima uticaja na povećanje sadržaja lako i srednje isparljivih komponenata bez obzira na način pripreme ploda (HD: lako isparljive 63,63 % i srednje isparljive 11,76 %; SHDR: lako isparljive 64,64 % i srednje isparljive 11,82 %). Primena SMAHDR je imala uticaj na povećanje količine lako isparljivih komponenata primenom suvih

plodova (MAHD: lako isparljive 60,88 % i srednje isparljive 11,68 %; SMAHDR: lako isparljive 61,11 % i srednje isparljive 11,34%), međutim, primenom plodova koji su bubrili situacija je obrnuta (MAHD: lako isparljive 66,39 % i srednje isparljive 11,51 %; SMAHDR: lako isparljive 62,82 % i srednje isparljive 12,2 %)

4.2. Frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke HD i MAHD

Frakcije etarsko ulja su dobijane iz mlevenih (1 min) suvih plodova i prethodno potopljenih plodova 24 h u destilovanoj vodi. Određen je njihov sastav koji je dat u prilogu I (tabele PI1, PI2, PI3 i PI4). Da bi bio sagledan raspored komponenata po frakcijama, posmatrane su grupe komponenata po isparljivosti: a) lako isparljive komponente: α -pinen, sabinen i mircen, b) srednje isparljive komponente: limonene, γ -terpinen i terpine-4-ol, c) teško isparljive komponente: γ -elemene, α -humulene, germakren D, δ -kadinen i germakren B. Na slikama 23 i 24 su prikazani njihovi koncentracioni profili po frakcijama etarskog ulja dobijenog HD. Jasno se uočava da je koncentracija lako isparljivih komponenata bez obzira na tretman plodova pre mlevenja najveća u prvim frakcijama, kao i da njihove koncentracije opadaju do kraja hidrodestilacije. Srednje isparljive komponente imaju skoro najmanju koncentraciju u prvoj frakciji. Koncentracija limonena raste do treće frakcije a zatim ima blagi pad do kraja hidrodestilacije. Koncentracije γ -terpinena i terpinen-4-ola postepeno rastu od početka do kraja destilacije. Teško isparljiva grupa komponenata je slabo zastupljena u frakcijama 1 i 2, dok se od treće frakcije uočava rast njihove koncentracije i najviše ih ima u poslednjoj frakciji.

Tabela 6 Masa suvih frakcija

Redni broj frakcije	1	2	3	4	5	6
Vreme izdvajanja frakcije min HD, suvo, 1 min	0-3 1,63	3-6 0,92	6-10 0,65	10-20 1,25	20-40 1,42	40-240 3,02
Vreme izdvajanja frakcije, min HD, nabubrela plodova, 24 h	0-3 2,59	3-5 1,83	5-7 1,00	7-10 1,31	10-22 1,65	22-240 2,45
Vreme izdvajanja frakcije min MAHD, suvi plodovi	0-6 1,14	6-9 1,13	9-11,5 0,52	11,5-16,5 0,42	16,5-32 1,17	32-240 1,94
Vreme izdvajanja frakcije min MAHD, nabubrela plodovi, 24 h	0-5,5 2,13	5,5-8 1,25	8-9,5 1,21	9,5-15 1,18	15-37 1,00	37-240 1,8

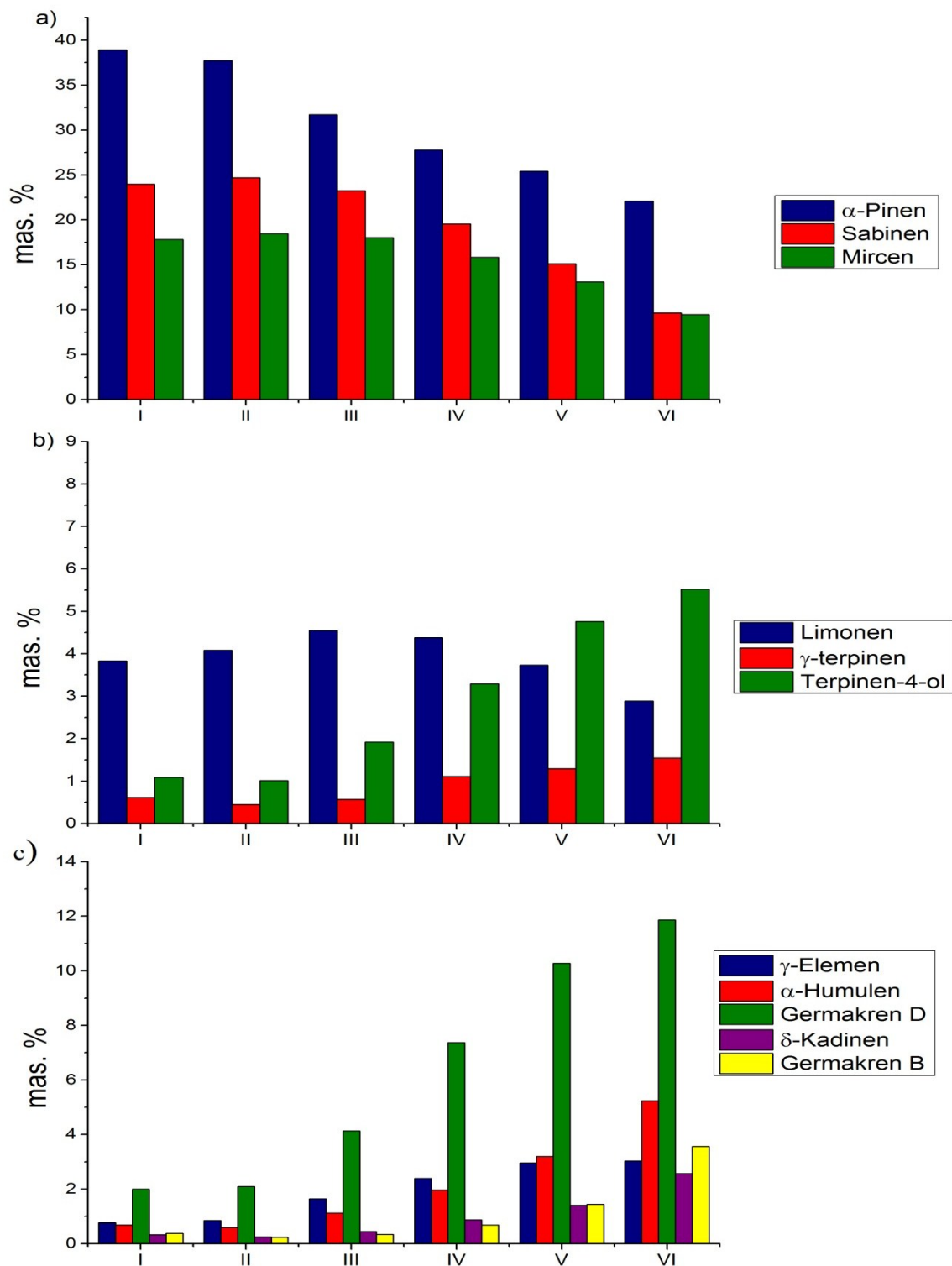
Na osnovu tabela PI1 i PI2 (Prilog I) i tabele 6, može se zaključiti: da se za prvih 20 min frakcionom HD-om izdvoji znatno veća količina pojedinih komponenata ako je prethodno plod kleke podvrgnut bubrenjem 24 h. Kod frakcija etarskog ulja nabubrelih plodova izdvoji se 86,41 % α -pinena, 91,01 % sabinena, 87,41 % mircena, 80,68 % limonena, 58,77 % γ -terpinena, 45,88 % terpinen-4-ola, 60,32 % γ -elemena, 44,66 % α humulena, 58,13 % germakrene D, 42,78 % δ -kadinena, 32,32 % germekrena B, dok se kod frakcija etarskog ulja dobijenog iz suvih plodova izdvoji 59,88 % α -pinena, 66,68 % sabinena, 62,16 % mircena, 56,79 % limonena, 32,83 % γ -terpinena, 25,61 % terpinen-4-ola, 31,32 % γ -elemena, 19,26 % α -humulena, 25,33 % germakrena D, 18,03 % δ -kadinena i 12,91 % germekrena B.

Mišljenje je da u periodu bubrenja dolazi do pucanja sudova etarskog ulja i njegovog razlivanja i difundovanja iz ploda u vodu, tako da je veća količina svih komponenata pri otpočinjanju HD već emulgovana u vodi.

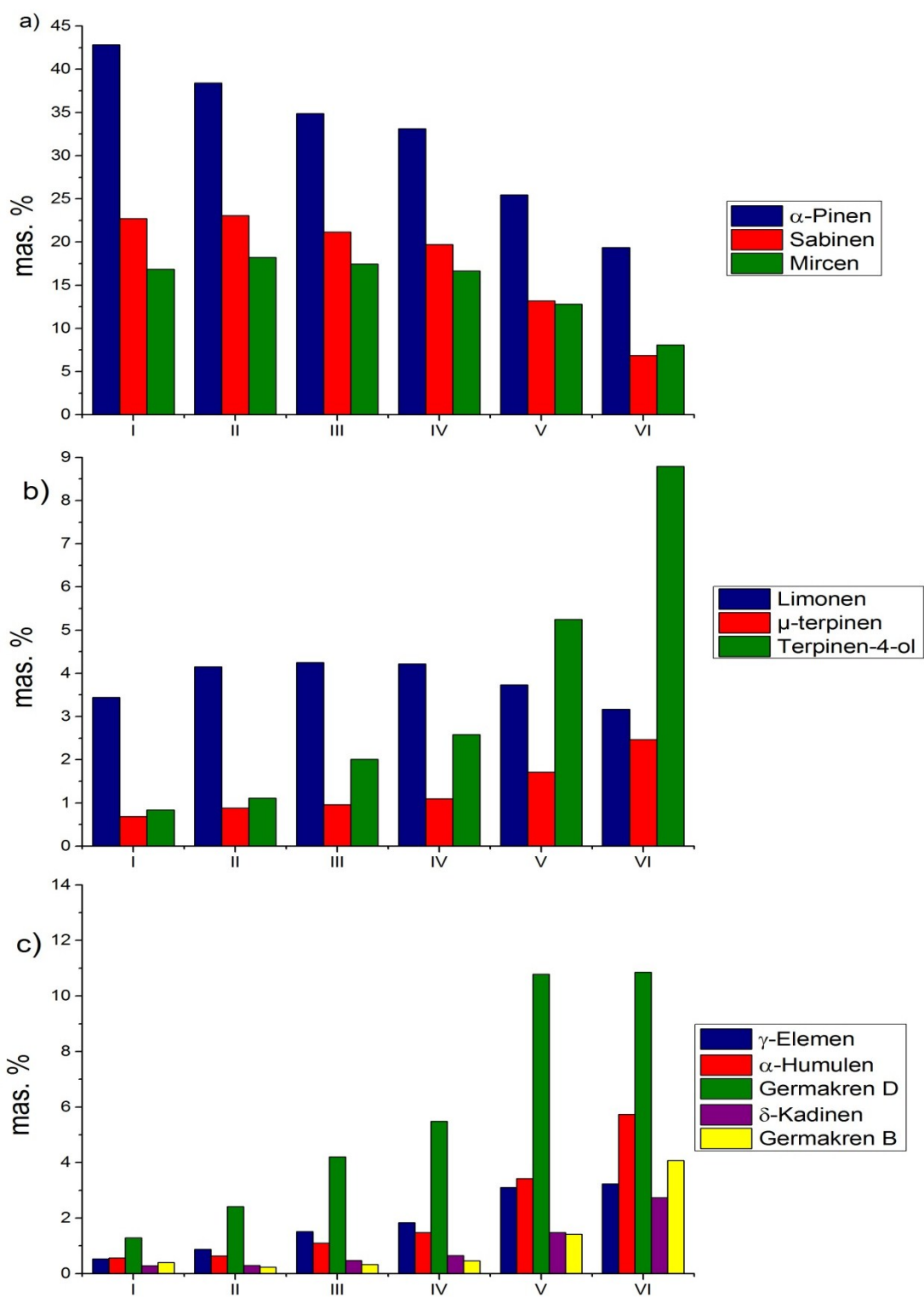
Na slikama 25 i 26 prikazani su koncentracioni profili frakcija etarskog ulja dobijenog MAHD. Koncentracioni profili su isti kao i kod primene HD. Takođe, može se uočiti da se primenom mikrotalasne hidrodestilacije prethodno bubrelih plodova kleke 24 h u destilovanoj vodi, za 15 min izdvoji približno isti procenat pojedinačnih komponenti, u odnosu na njihovu ukupnu zastupljenost u ulju, kao i kod primene MAHD korišćenjem suvih plodova posle 32 min. Za 15 min se kod frakcija etarskog ulja nabubrelih plodova izdvoji 79,74 % α -pinena, 84,65 % sabinena, 80,72 % mircena, 74,33 % limonena, 43,91 % γ -terpinena, 32,31 % terpinen-4-ola, 45,00 % γ -elemena, 28,32 % α -humulena, 41,93 % germakrene D, 30,48 % δ -kadinena i 16,25 % germekrena B, dok se kod frakcija etarskog ulja dobijenog iz suvih plodova za 32 min izdvoji 79,31 % α -pinena, 85,94 % sabinena, 81,22 % mircena, 76,13 % limonena, 48,29 % γ -terpinena, 48,28 % terpinen-4-ola, 58,11 % γ -elemena, 40,91 % α -humulena, 54,33 % germakrena D, 38,27 % δ -kadinena i 24,88 % germekrena B. Ovo znači da bubrenjem komponente etarskog ulja lakše difunduju iz unutrašnjosti ploda ka masi vode.

Upoređujući tehnike frakcionisanja etarskog ulja HD i MAHD, kod suvih plodova kleke se za 10 min izdvoji približno isti procentni udeo komponenata HD-om kao kod MAHD za 9 min. Ukoliko se koriste plodovi koji su prethodno bubrili 24 h

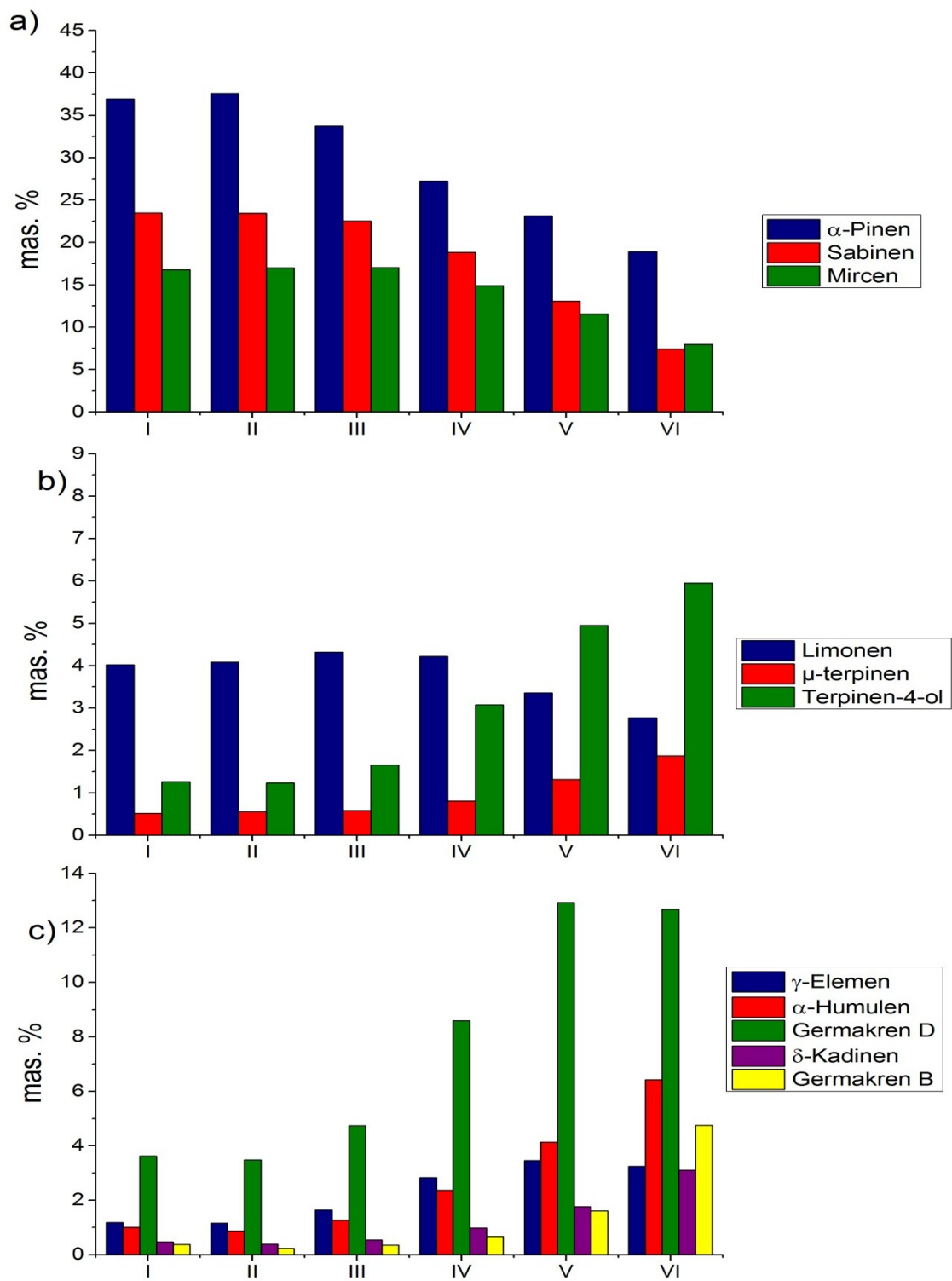
onda se primenom HD za 10 min postižu neznatno bolji rezultati nego primenom MAHD za 9,5 min.



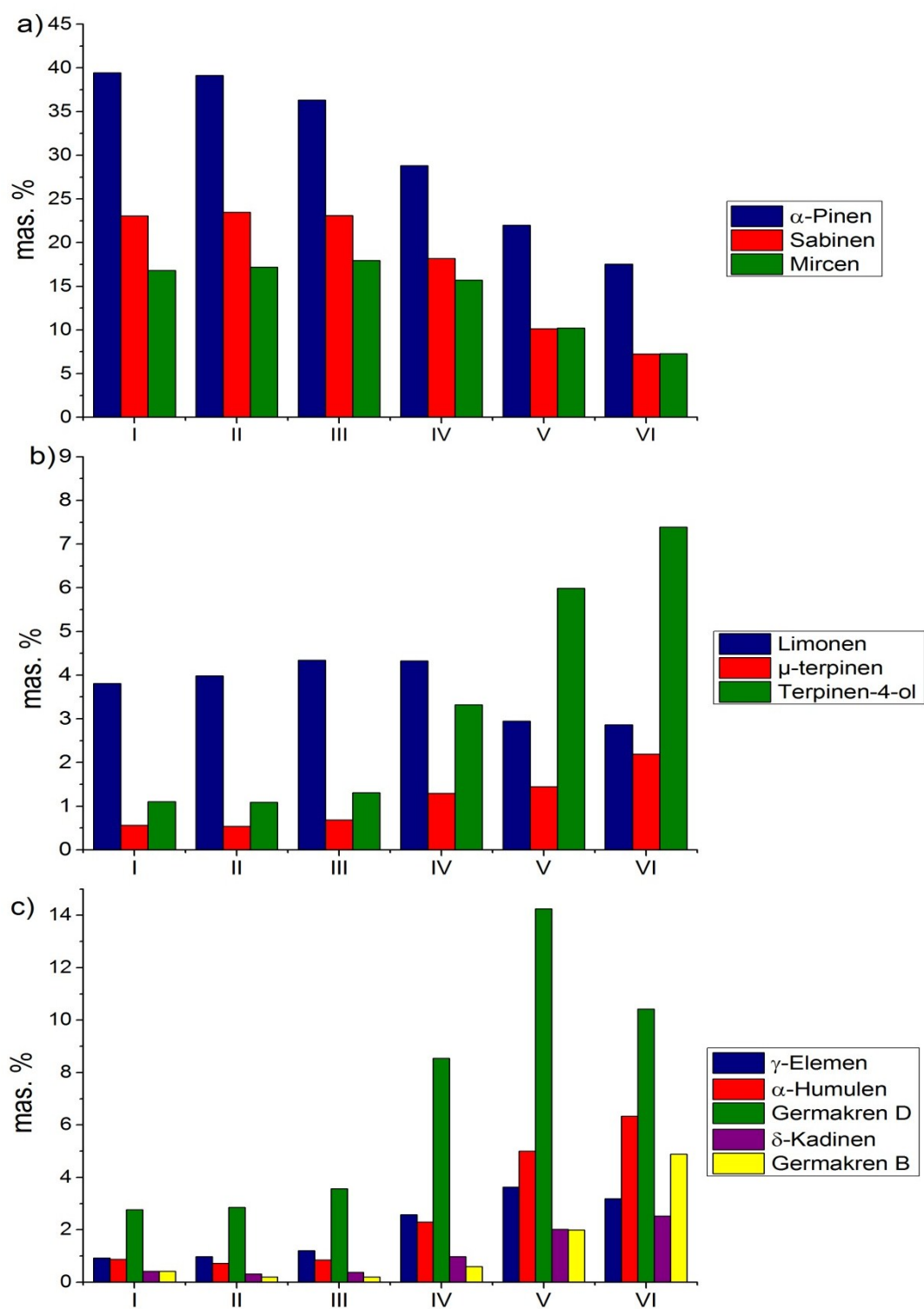
Slika 23 Raspodela komponenata po isparljivosti pri frakcionoj hidrodestilaciji (suvi plodovi)



Slika 24 Raspodela komponata po isparljivosti pri frakcionoj hidrodestilaciji (nabureli plodovi 24 h)



Slika 25 Raspodela komponenta po isparljivosti pri frakcionoj mikrotalasnoj hidrodestilaciji (suvi plodovi)



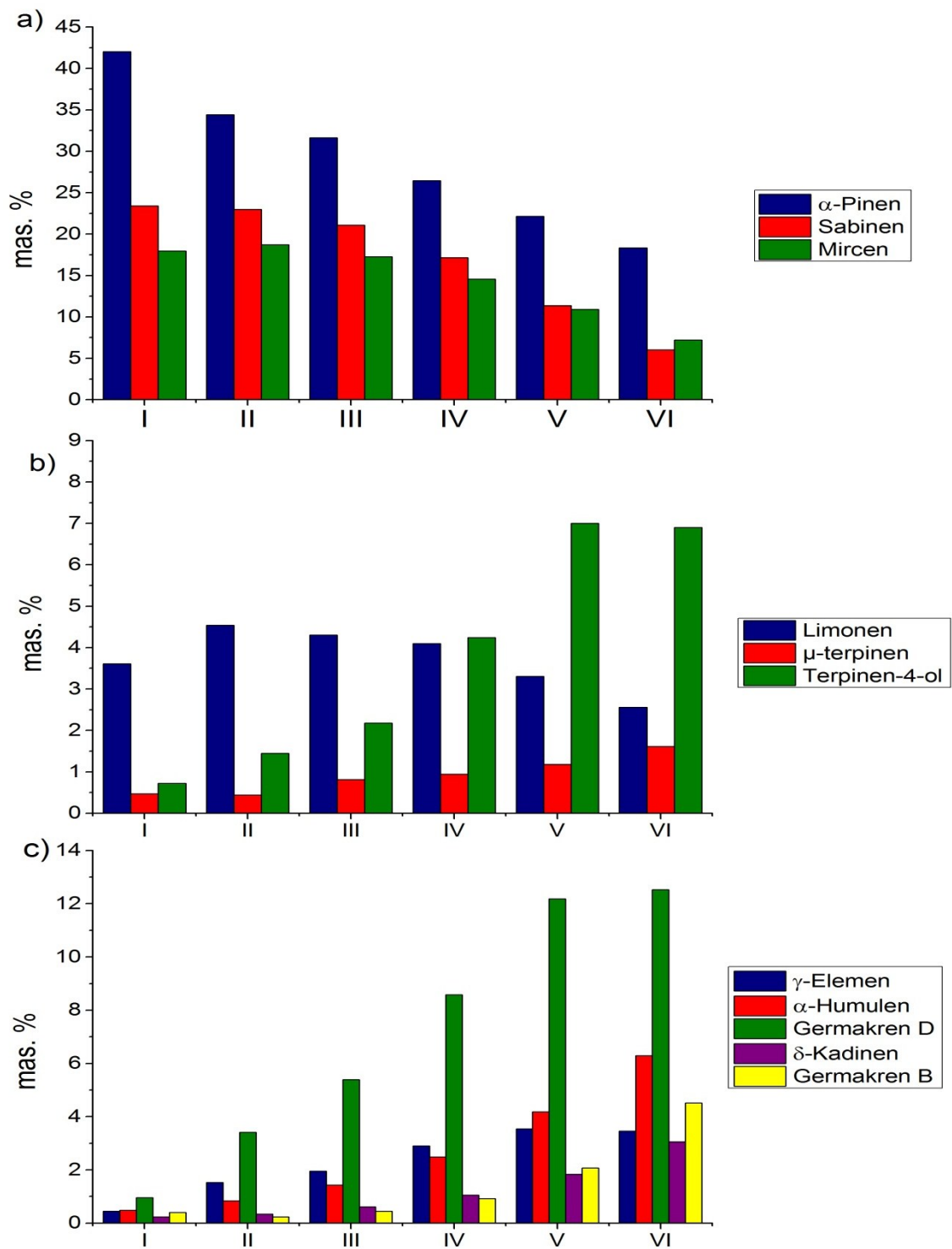
Slika 26 Raspodela komponenata po isparljivosti pri frakcionoj mikrotalasnoj hidrodestilaciji (nabubrelj plodovi 24 h)

4.3. Frakcionisanje etarskog ulja ploda kleke SHDR I SMAHDR

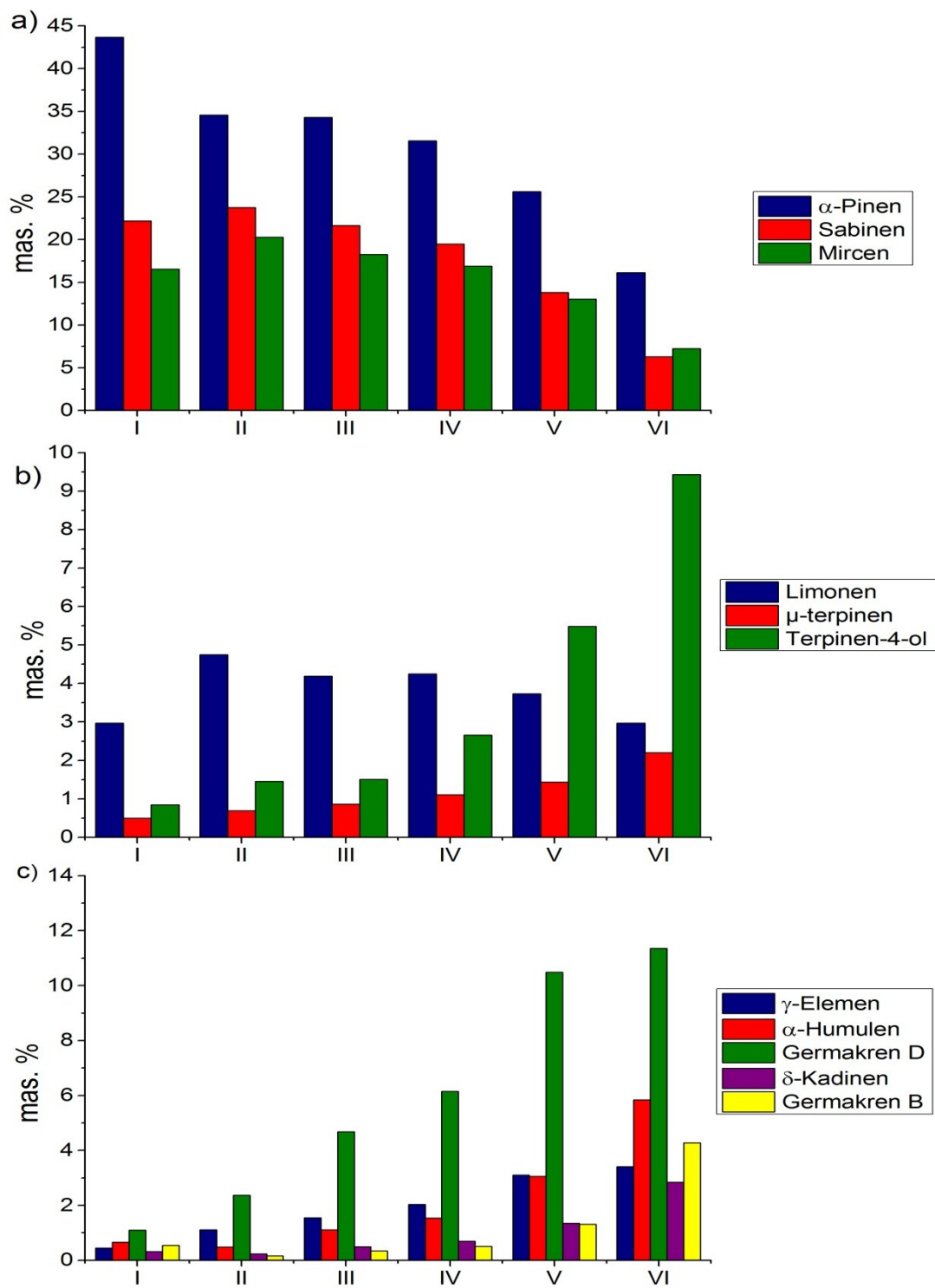
Na slikama 27 i 28 su prikazani koncentracioni profili po frakcijama etarskog ulja dobijenog SHDR. Jasno se uočava da je koncentracija lako isparljivih komponenata bez obzira na tretman plodova pre mlevenja najveća u prvim frkacijama, kao i da njihove koncentracije opadaju do kraja hidrodestilacije. Srednje isparljive komponente imaju skoro najmanju koncentraciju u prvoj frakciji. Koncentracija limonena je najveća u drugoj frakciji a zatim ima blagi pad do kraja izdvajanja frakcija. Koncentracije γ -terpinena i terpinen-4-ola postepeno rastu od početka do kraja destilacije. Teško isparljive komponente su slabo zastupljene u frakcijama 1 i 2, dok se od treće frakcije uočava rast njihove koncentracije i najviše ih ima u poslednjoj frakciji.

Na slikama 29 i 30 prikazani su koncentracioni profili frakcija etarskog ulja dobijenog SMAHDR. Bez obzira na pripremu biljnog materijala uočava se da su koncentracije lako isparljivih komponenata približno iste u prve četiri frakcije i da se u petoj i šestoj frakciji vidi pad njihovih koncentracija. Isti slučaj je i sa srednje isparljivim komponentama: imaju skoro jednake koncentracije u prve četiri frakcije da bi limonen imao pad koncentracije do kraja hidrodestilacije, a γ -terpinen i terpinen-4-ol rast. Kod teško isparljivih komponenata, osim γ -elemena, koga nešto manje ima u prvoj frakciji nego u sledeće tri, ostale komponente imaju jednak sastav u prve četiri frakcije, a zatim se njihove koncentracije povećavaju do kraja izdvajanja pete i šeste frakcije.

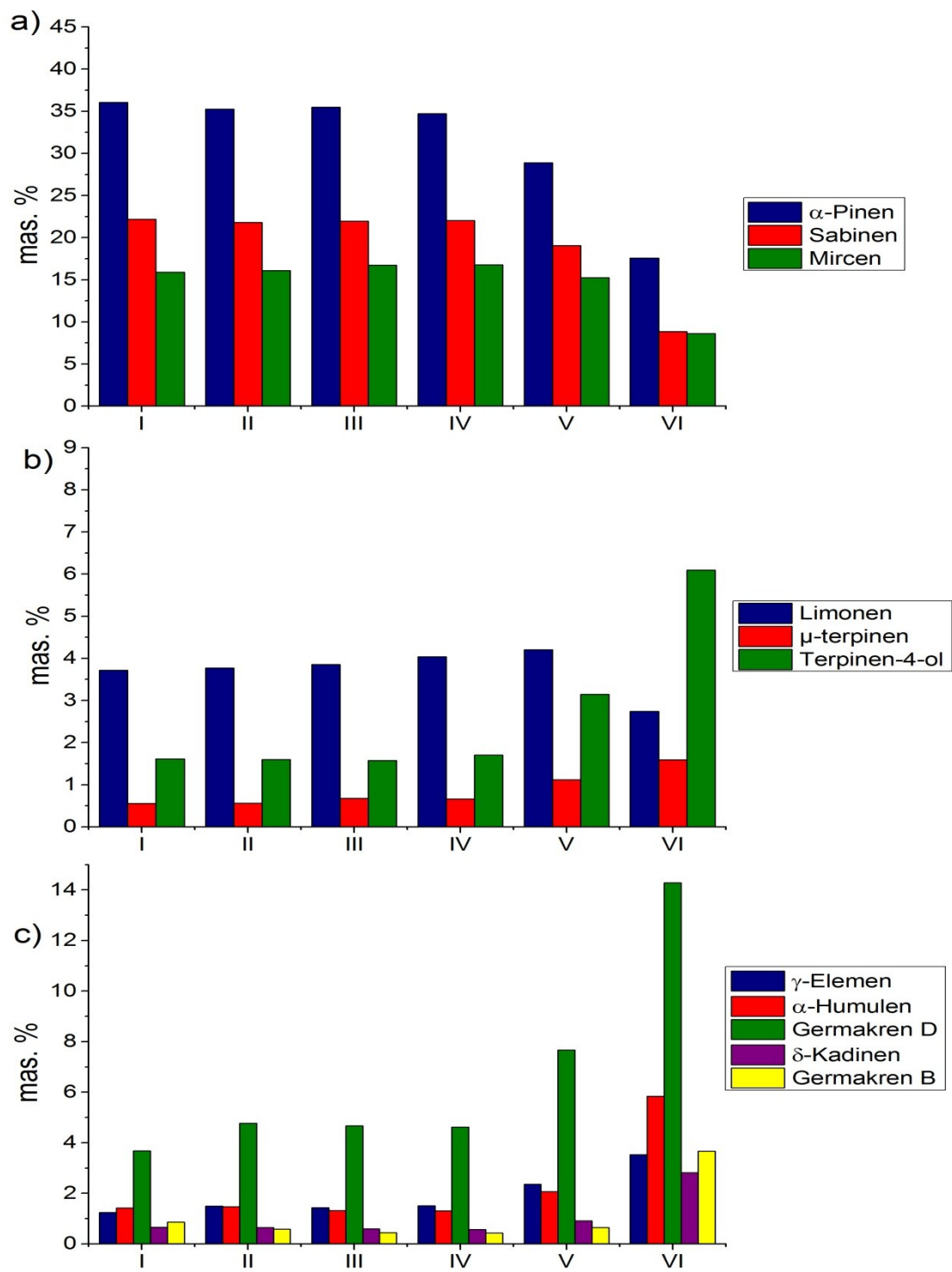
Na osnovu tabela PI3 i PI4 (Prilog I) i tabele 7, može se zaključiti da se za prvih 14 min istovremenom hidrodestilacijom i rektifikacijom izdvoji veća količina pojedinih komponenata iz suvih plodova nego iz plodova koji su bubrili 24 h za 10, 5 min. Za 14 min se kod frakcija etarskog ulja iz suvih plodova izdvoji 77,52 % α -pinena, 83,82 % sabinena, 79,81 % mircena, 74,29 % limonena, 50,37 % γ -terpinena, 37,07 % terpinen-4-ola, 48,44 % γ -elemena, 31,77 % α -humulena, 41,33 % germakren D, 29,87 % δ -kadinena i 21,84 % germekrena B, dok se kod frakcija etarskog ulja dobijenog iz nabubrelih plodova 24 h u destilovanoj vodi za 10,5 min izdvoji 67,43 % α -pinena, 73,16 % sabinena, 68,55 % mircena, 58,58 % limonena, 34,26 % γ -terpinena, 18,96 % terpinen-4-ola, 31,38 % γ -elemena, 18,72 % α -humulena, 27,77 % germakren D, 18,09 % δ -kadinena i 12,16 % germekrena B.



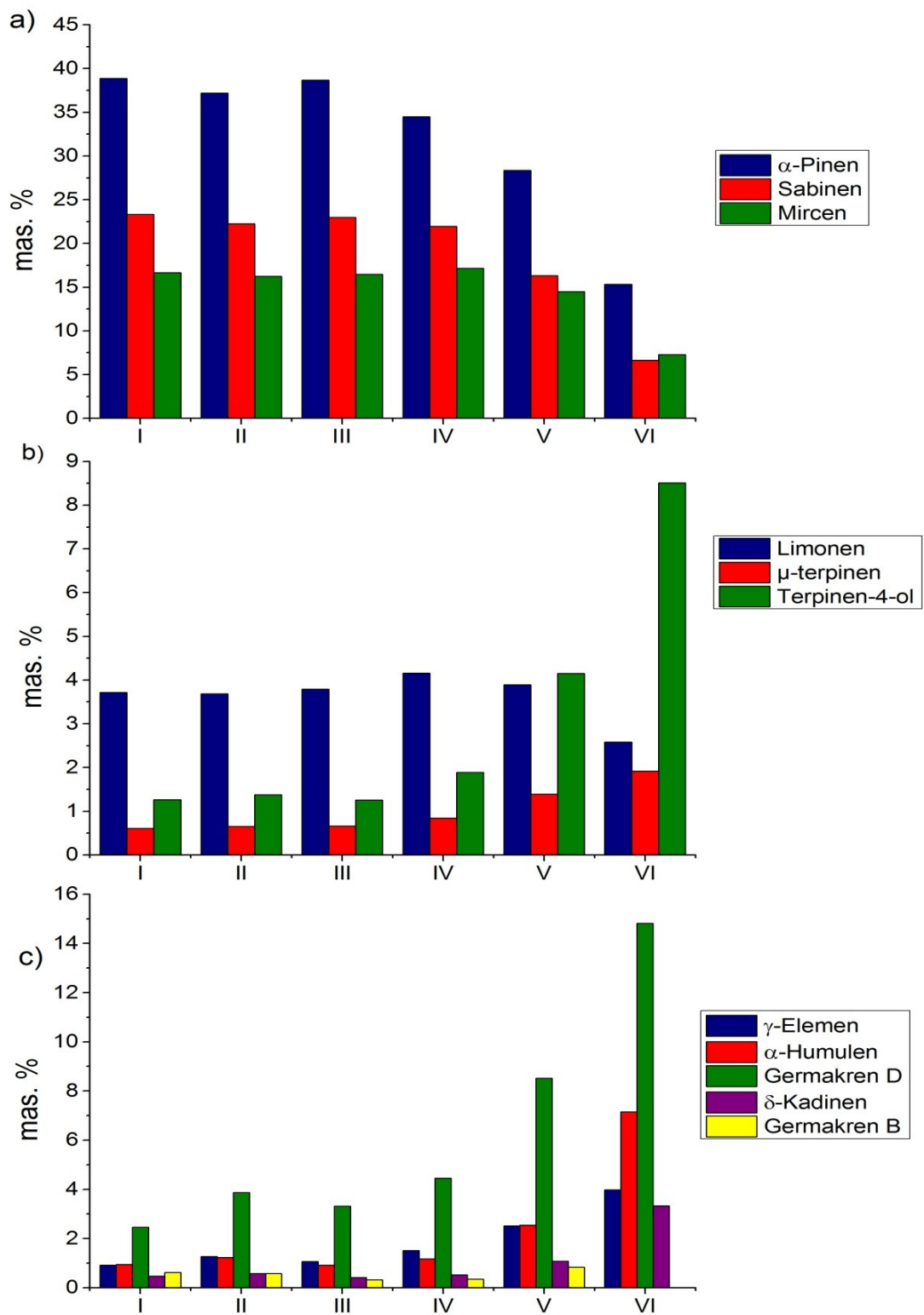
Slika 27 Raspodela komponenta po isparljivosti pri frakcionoj SHDR (suvi plodovi)



Slika 28 Raspodela komponenta po isparljivosti pri frakcionoj SHDR (nabubrelj plodovi 24 h)



Slika 29 Raspodela komponenta po isparljivosti pri frakcionoj SMAHDR (suvi plodovi)



Slika 30 Raspodela komponenta po isparljivosti pri frakcionoj SMAHDR (nabrekli plodovi 24 h)

Tabela 7 Masa suvih frakcija

Redni broj frakcije	1	2	3	4	5	6
Vreme izdvajanja frakcija	0-1	1-2,5	2,5-6	6-14	14-31,5	31,5-240
SHDR, suvi plodovi	1,68	1,59	1,43	1,31	1,29	1,69
Vreme izdvajanja frakcija	0-1	1- 2,5	2,5-5,5	5,5-10,5	10,5-25	25-240
SHDR, nabubreli plodovi, 24 h	0,92	0,91	1,12	1,11	1,28	2,31
Vreme izdvajanja frakcija	0-4	4-6,5	6,5-9	9-11, 5	11,5-16,5	16,5-240
SMAHDR, suvi plodovi	1,19	0,95	0,79	0,76	0,91	2,84
Vreme izdvajanja frakcija	0-2,5	2,5-5,5	5,5-8	8-10	10-21	21-240
SMAHDR, nabubreli plodovi, 24 h	1,78	1,08	1,05	1,09	1,05	1,16

Kod istovremene mikrotalasne hidrodestilacije i rektifikacije situacija je drugačija. Primenom plodva koji su prethodno bubrili 24 h se izdvoji veća količina pojedinih komponentata za kraće vreme nego primenom suvih plodova. Za 10 min se kod frakcija etarskog ulja nabubrelih plodova izdvoji 79,79 % α -pinena, 82,04 % sabinena, 77,87 % mircena, 72,97 % limonena, 55,29 % γ -terpinena, 33,32 % terpinen-4-ola, 44,34 % γ -elemena, 32,32 % α -humulena, 39,27 % germakren D, 33,14 % δ -kadinena i 73,39 % germekrena B, dok se kod frakcija etarskog ulja dobijenog iz suvih plodova za 11,5 min izdvoji 63,19 % α -pinena, 65,65 % sabinena, 61,07 % mircena, 54,87 % limonena, 28,75 % γ -terpinena, 22,89 % terpinen-4-ola, 29,89 % γ -elemena, 21,72 % α -humulena, 25,30 % germakren D, 20,73 % δ -kadinena i 17,04% germekrena B.

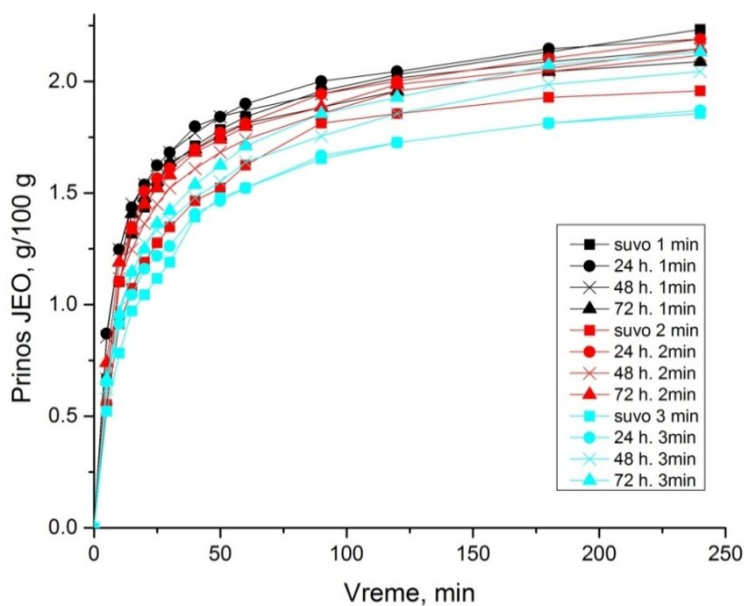
Upoređujući tehnike frakcionisanja etarskog ulja može se zaključiti da se za 14 min izdvoji nešto više procentualno komponentata primenom SHDR nego za 16,5 min SMAHDR. Ako se koriste plodovi koji su prethodno bubrili 24 h u destilovanoj vodi onda se primenom SMAHDR za 10 min postižu bolji rezultati nego primenom SHDR za 10,5 min.

Upoređujući frakcije ulja dobijene iz suvih plodova kleke klasičnom HD i SHDR može se zaključiti da je za 6 min izdvojeno procentualno više komponentata primenom kolone, dok se kod prethodno potopljenih plodova 24 h u destilovanoj vodi izdvaja za 5 min kod HD i 5,5 min kod SHDR približno isti procentan. Izdvajanjem ulja MAHD i SMAHDR bez obzira na prethodnu pripremu plodova primenom kolone se postiže bolji efekat odvajanja.

4.4. Kinetika hidrodestilacije

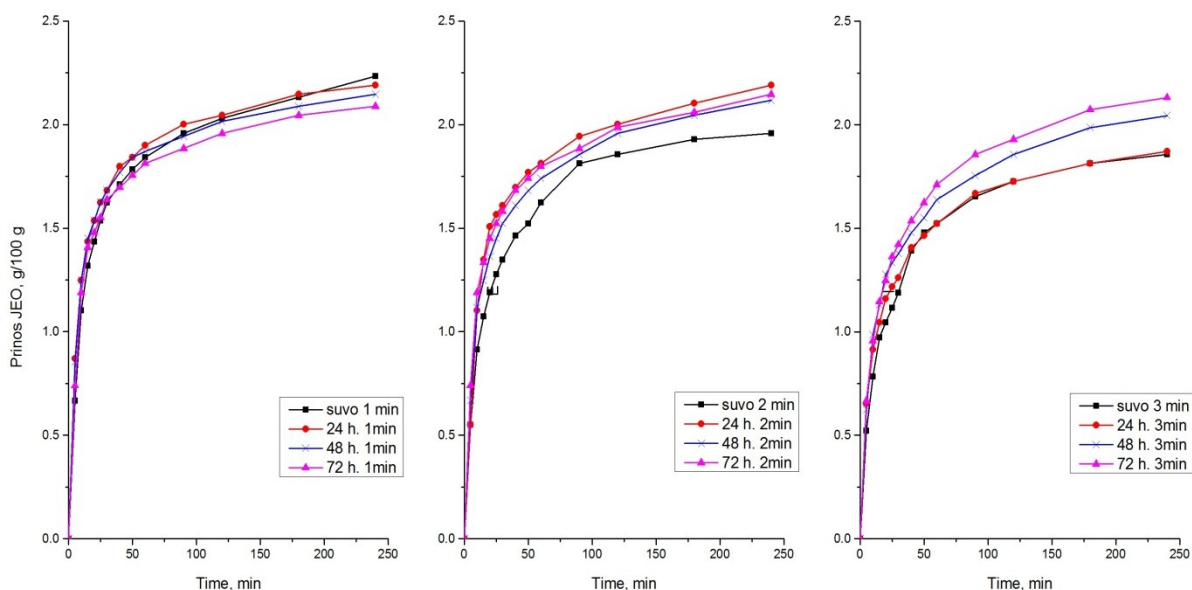
4.4.1. Mehanizam izdvajanja etarskog ulja ploda kleke

Slike 31, 32 i 33 pokazuju promenu prinosa etarskog ulja u toku hidrodestilacije kleke pri različitoj pripremi biljnog materijala, odnosno različitom vremenu i načinu mlevenja i različitom vremenu bubrenja plodova. Promena prinosa etarskog ulja je tipična za hidrodestilaciju etarskog ulja iz većine biljnih materijala. Oblik krive je potvrdio postojanje brze i spore destilacije etarskog ulja na početku i na kraju procesa (ispiranje i difuzija, respektivno). Početno brzo povećanje prinosa etarskog ulja dolazi zbog "ispiranja" etarskog ulja sa spoljne površine čestica. Drugi stupanj je „spora“ hidrodestilacija u kojoj se sporije izdvaja etarsko ulje i to je pripisano neometanoj i ometanoj difuziji. Ovaj mehanizam je povezan sa anatomijom bobica kleke. Plodovi kleke sadrže odvojene izdužene rezervoare etarskog ulja koji bivaju razoreni usitnjavanjem, čime se oslobađa deo ulja na površinu čestice biljnog materijala koje biva brzo uklonjeno sa spoljašnje površine čestice u početnom periodu hidrodestilacije. Istovremeno, etarsko ulje iz napuklih rezervoara difunduje bez ikakvog ograničenja prema spoljašnjoj površini čestice biljke (neometana difuzija), dok se etarsko ulje iz neoštećenih rezervoara difunduje kroz membrane i druge barijere prisutne u biljkama

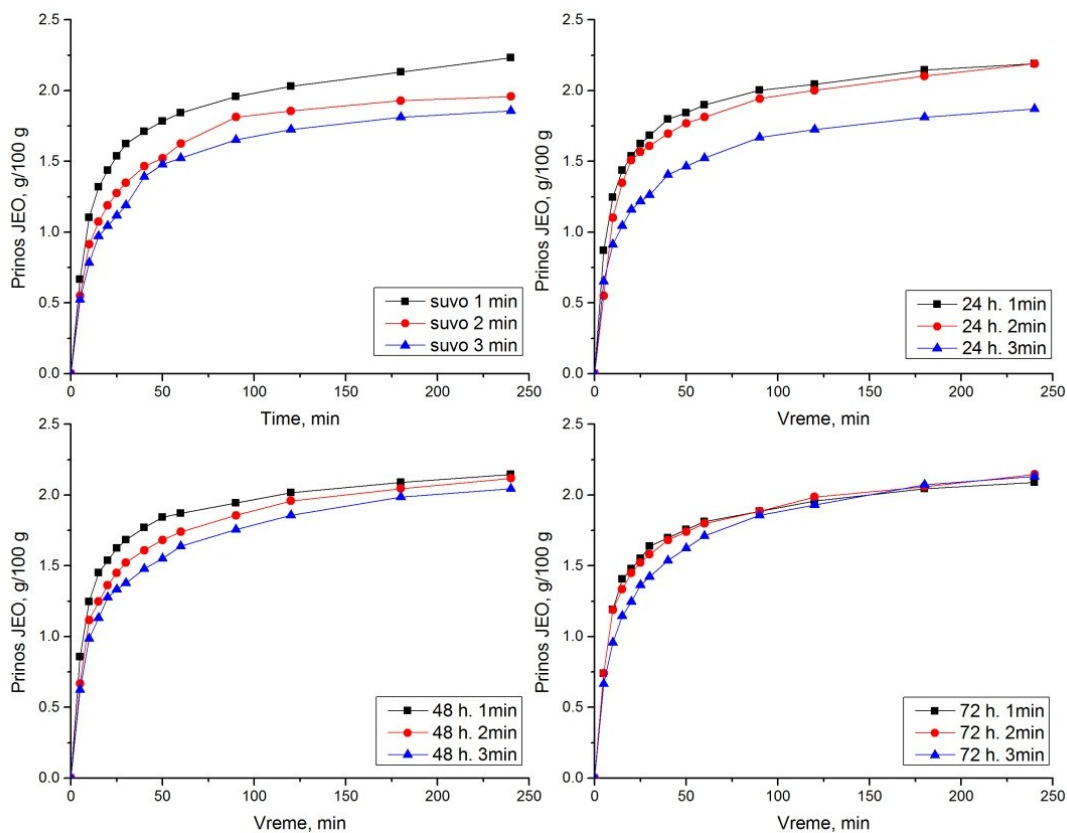


Slika 31 Promena prinosa etarskog ulja ploda kleke u toku HD za različita vremena mlevenja i bubrenja plodova

(ometana difuzija). Kao posledica ovog mehanizma, etarsko ulje se izdvajalo sve sporije napredovanjem destilacije.

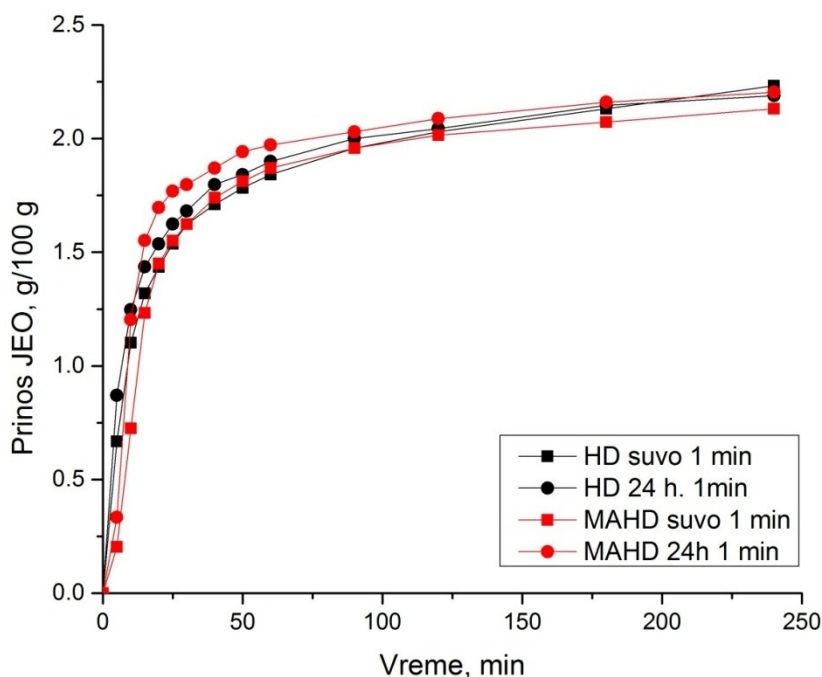


Slika 32 Promena prinosa etarskog ulja ploda kleke u toku HD pri različitim vremenima bubrenja plodova



Slika 33 Promena prinosa etarskog ulja ploda kleke u toku HD pri različitim vremenima mlevenja plodova

Oblik krivih promena prinosa etarskog ulja u toku HD i MAHD se međusobno razlikuju (slika 34). Dok su krive kod HD hiperbolične, krive kod MAHD su blago sigmoidne sa tačkom prelaska u fazi ispiranja. Sigmoidni oblik MAHD krivih već je primećen za MAHD etarskih ulja iz lišća lovor višnje (*Prunus laurocerasus*) (Karabegović, 2011). Ovaj fenomen se može pripisati određenim inercijalnim efektima uzrokovanim nejednakim zagrevanjem vodene suspenzije. Nepolarno etarsko ulje se indirektno zagrejava po sopstvenoj brzini, koja se razlikuje od brzine zagrevanja polarne vode. Ako je biljni materijal bubrio u vodi, ovaj efekat je manje primetan.



Slika 34 Promena prinosa etarskog ulja ploda kleke u toku HD i MAHD pri različitim vremenima bubrenja

4.4.2. Modelovanje kinetike izdvajanja etarskog ulja ploda kleke

Model je izveden pod pretpostavkom da se izdvajanje etarskog ulja iz biljnog materijala odvija kroz tri istovremena procesa. Ovaj pristup se zasniva na činjenici da je veliki deo etarskog ulja lociran na spoljnoj površini čestica biljnog materijala, dok je ostatak etarskog ulja ravnomerno raspoređen u unutrašnjosti čestice biljnog materijala. Etarsko ulje koje se nalazi na površini čestica biljke se izdvaja brzom destilacijom ("ispiranje"). Ovo je faza u kojoj se prinos JEO brzo povećava zbog brzog izdvajanja etarskog ulja sa površine biljnih čestica. Preostalo etarsko ulje se izdvaja kroz dve faze,

tj. dve difuzije. Prvi difuzioni proces nazvan "neometana difuzija", podrazumeva prenos etarskog ulja kroz rupturu organa bez ometanja membrana i drugih barijera prisutnih u biljnim česticama. Drugi difuzioni proces, nazvan "ometana difuzija" predstavlja prenos etarskog ulja kroz membrane neoštećenih organa. Ovi difuzioni procesi postaju značajni nakon završetka faze ispiranja, tj. u drugoj fazi hidrodestilacije, i mnogo su sporije od faze ispiranja, pri čemu je neometana difuzija brža od ometane difuzije. Svaki od ova tri mehanizma se dešava po sopstvenoj brzini, koja dostiže maksimalnu vrednost nakon određenog vremenskog perioda od početka procesa destilacije.

Nekoliko pretpostavki koje su već korišćene za modelovanje HD (Milojević i sar., 2008, 2013) i MAHD (Pavićević i sar., 2016), korišćene su za izvođenje kinetičkog modela:

1. biljne čestice su izotropne, jednake veličine, oblika i početnog sadržaja etarskog ulja;
2. etarsko ulje se smatra jednom pseudo-komponentom;
3. količina etarskog ulja koja se može izdvojiti odgovara količini etarskog ulja koje se destiluje sve dok sistem ne dođe u ravnotežu;
4. ukupna količina dobijenog JEO u bilo kom trenutku tokom destilacije jednaka je zbiru količina JEO dobijenog iz biljnih čestica (g/100g) putem ispiranja, neometane i ometane difuzije: q_w , q_{d1} i q_{d2} , respektivno:

$$q = q_w + q_{d1} + q_{d2} \quad (22)$$

5. brzine izdvajanja etarskog ulja ploda kleke u fazama ispiranja, neometane i ometane difuzije su eksponencijalne funkcije vremena, sledećeg oblika:

$$\frac{d}{dt} q_w = \alpha_w e^{-k_w |t - \tau_w|} \quad (23a)$$

$$\frac{d}{dt} q_{d1} = \alpha_{d1} e^{-k_{d1} |t - \tau_{d1}|} \quad (23b)$$

i

$$\frac{d}{dt}q_{d2} = \alpha_{d2}e^{-k_{d2}|t-\tau_{d2}|} \quad (23c)$$

gde su: k_w , k_{d1} i k_{d2} - konstante brzina za ispiranje, neometanu difuziju i ometenu difuziju, respektivno, dok su α_w , α_{d1} i α_{d2} - maksimalne brzine izdvajanja etarskog ulja u fazama ispiranja, neometane i ometane difuzije ostvarene u vremenskim trenucima $t = \tau_w$, $t = \tau_{d1}$ i $t = \tau_{d2}$, respektivno. Preliminarnim određivanjem parametara modela nelinearnom regresijom pokazuje se da je za HD parametar τ_w veoma mali i približno jednak 0, zbog čega je za HD usvojeno $\tau_w = 0$;

6. ne postoji otpor prenosu mase sa spoljašnje površine čestice biljnog materijala;
7. kohobaciona voda i etarsko ulje su potpuno nemešljivi;
8. količina etarskog ulja prikupljena u separatoru, podeljena sa količinom biljnog materijala, jednaka je prinosu etarskog ulja iz biljnog materijala u destilacionom sudu sa vremenskim kašnjenjem.

Iz jednačina (23a-c), sledi:

$$q_w = \begin{cases} \frac{\alpha_w}{k_w} \cdot e^{-k_w \tau_w} (e^{k_w t} - 1), t < \tau_w \\ \frac{\alpha_w}{k_w} \cdot [2 - e^{-k_w \tau_w} - e^{-k_w(t-\tau_w)}], t \geq \tau_w \end{cases} \quad (24a)$$

$$q_{d1} = \begin{cases} \frac{\alpha_{d1}}{k_{d1}} \cdot e^{-k_{d1} \tau_{d1}} (e^{k_{d1} t} - 1), t < \tau_{d1} \\ \frac{\alpha_{d1}}{k_{d1}} \cdot [2 - e^{-k_{d1} \tau_{d1}} - e^{-k_{d1}(t-\tau_{d1})}], t \geq \tau_{d1} \end{cases} \quad (24b)$$

i

$$q_{d2} = \begin{cases} \frac{\alpha_{d2}}{k_{d2}} \cdot e^{-k_{d2}\tau_{d2}} (e^{k_{d2}t} - 1), t < \tau_{d2} \\ \frac{\alpha_{d2}}{k_{d2}} \cdot [2 - e^{-k_{d2}\tau_{d2}} - e^{-k_{d2}(t-\tau_{d2})}], t \geq \tau_{d2} \end{cases} \quad (24c)$$

gde se ukupno JEO izdvojeno u procesima ispiranja, neometane i ometane difuzije: $q_{w,\infty}$, $q_{d1,\infty}$ i $q_{d2,\infty}$, respektivno, može izračunati kao:

$$q_{w,\infty} = \frac{\alpha_w}{k_w} (2 - e^{-k_w\tau_w}) \quad (25a)$$

$$q_{d1,\infty} = \frac{\alpha_{d1}}{k_{d1}} (2 - e^{-k_{d1}\tau_{d1}}) \quad (25b)$$

i

$$q_{d2,\infty} = \frac{\alpha_{d2}}{k_{d2}} (2 - e^{-k_{d2}\tau_{d2}}) \quad (25c)$$

Jednačine (22-25) definišu model I.

Pod pretpostavkom najvećih brzina sva tri istovremena procesa prenosa etarskog ulja (faza ispiranja, neometane i ometane difuzije) u trenutku $t = 0$, jednačine (23-24) postaju:

$$q_w = \frac{\alpha_w}{k_w} (1 - e^{-k_w t}) \quad (26a)$$

$$q_{d1} = \frac{\alpha_{d1}}{k_{d1}} (1 - e^{-k_{d1} t}) \quad (26b)$$

i

$$q_{d2} = \frac{\alpha_{d2}}{k_{d2}} (1 - e^{-k_{d2} t}) \quad (26c)$$

gde se ukupno JEO izdvojeno u procesima ispiranja, neometane difuzije i ometane difuzije: $q_{w,\infty}$, $q_{d1,\infty}$ i $q_{d2,\infty}$, respektivno, može izračunati kao:

$$q_{w,\infty} = \frac{\alpha_w}{k_w} \quad (27a)$$

$$q_{d1,\infty} = \frac{\alpha_{d1}}{k_{d1}} \quad (27b)$$

i

$$q_{d2,\infty} = \frac{\alpha_{d2}}{k_{d2}} \quad (27c)$$

Uvodeći oznake:

$$f_w = \frac{q_{w,\infty}}{q_\infty} \quad (28a)$$

$$f_{d1} = \frac{q_{d1,\infty}}{q_\infty} \quad (28b)$$

i

$$f_{d2} = \frac{q_{d2,\infty}}{q_\infty} \quad (28c)$$

pri čemu je:

$$f_w + f_{d1} + f_{d2} = 1 \quad (29)$$

jednačina 22, uvrštavajući jednačine (26a-c), postaje:

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - f_w \cdot e^{-k_w t} - f_{d1} \cdot e^{-k_{d1} t} - f_{d2} \cdot e^{-k_{d2} t} \quad (30a)$$

ili

$$q = q_\infty (1 - f_w \cdot e^{-k_w t} - f_{d1} \cdot e^{-k_{d1} t} - f_{d2} \cdot e^{-k_{d2} t}) \quad (30b)$$

Jednačine (26-30) definišu Model II.

Ako se ometana difuzija kod Modela II zanemari ($f_{d2} = 0$), jednačina (31a) se može pojednostaviti (Model III):

$$\frac{q}{q_\infty} = 1 - f_w \cdot e^{-k_w t} - (1 - f_w) \cdot e^{-k_{d1} t} \quad (31a)$$

ili

$$q = q_{\infty} \left[1 - f_w \cdot e^{-k_w t} - (1 - f_w) \cdot e^{-k_{d1} t} \right] \quad (31b)$$

Milojević i sar. (2013) su već razvili isti model za konvencionalnu HD. Takođe, Sovova i Aleksovski (2006) su izveli isti kinetički izraz iz fenomenološkog modela za HD etarskog ulja iz semena. Ovaj model je verifikovan za MAHD etarskog ulja iz plodova kleke (Pavićević i sar., 2016).

Jos dva jednostavnija modela, nazvana model IV i model V, mogu se izvesti iz jednačine (31) pod pretpostavkom trenutnog ispiranja praćenog difuzijom ($k_w \rightarrow \infty$) i difuzije bez ispiranja ($k_w \rightarrow \infty$ i $f = 0$), koji su opisani sledećim jednačinama:

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - (1 - f_w) \cdot e^{-k_{d1} t} \quad (32a)$$

ili

$$q = q_{\infty} \left[1 - (1 - f_w) \cdot e^{-k_{d1} t} \right] \quad (32b)$$

i

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - e^{-k_{d1} t} \quad (33a)$$

ili

$$q = q_{\infty} \left(1 - e^{-k_{d1} t} \right) \quad (33b)$$

Jednačina (32) je ista kao i kinetički izraz koji je razvio Milojević i sar. (2008) za konvencionalnu HD, gde je f_w koeficijent ispiranja, odnosno udeo etarskog ulja koji se može izdvojiti u fazi ispiranja, dok je k_{d1} koeficijent spore faze destilacije etarskog ulja. Model je potvrđen za ekstrakciju etarskog ulja HD-om (Milojević i sar., 2008; Pornpuniapat i sar., 2011; Stanisavljević i sar., 2010) i MAHD (Kapas i sar., 2011; Kusuma i Mahfud, 2017b).

Jednačina (33) zapravo se zasniva na pretpostavci kinetike pseudo prvog reda u odnosu na količinu etarskog ulja preostalog u biljnom materijalu. Ovaj model je verifikovan za kinetiku HD (Morin i sar., 1985) i MAHD (Kapas i sar., 2011).

Osim gore pomenutih kinetičkih modela, nekada se koristi model kinetike drugog reda za opisivanje kinetike procesa izdvajanja etarskog ulja (Model VI):

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_\infty - q)^2 \quad (34)$$

gde je k_2 - konstanta brzine. Nakon integracije i transformacije izvodi se sledeći izraz:

$$q = q_\infty \frac{t}{\frac{1}{q_\infty k_2} + t} \quad (35)$$

gde $1/q_\infty k_2$ odgovara trenutku vremena kada je $q = q_\infty/2$. Kada je $t \rightarrow \infty$, tada $q \rightarrow q_\infty$. Ovaj model je verifikovan za kinetiku MAHD (Kusuma i Mahfud, 2017a,c,d).

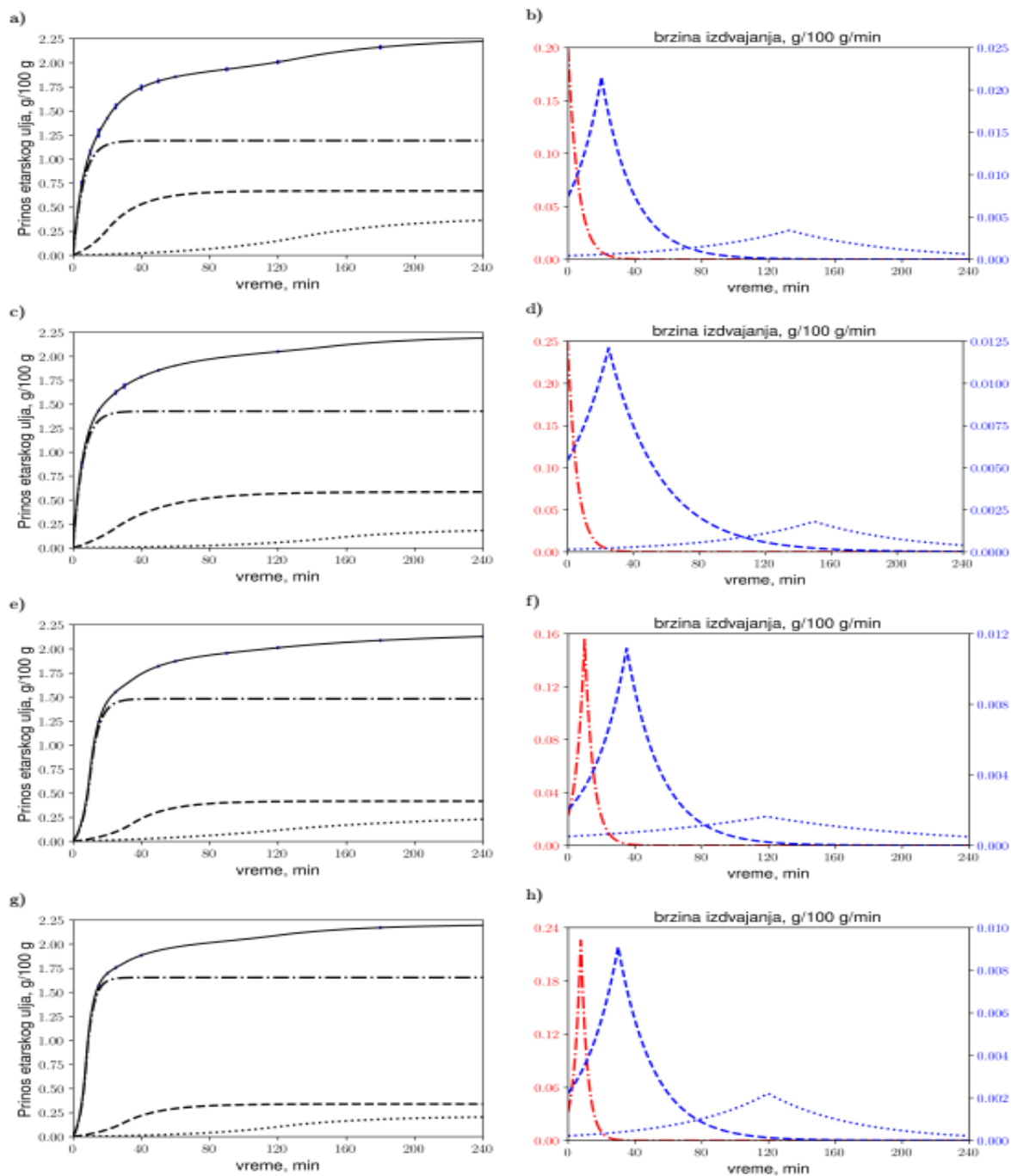
Slika 35 pokazuje doprinos tri mehanizma destilacije JEO prema ukupnom prinosu JEO, kao i varijacije brzine destilacije tokom HD i MAHD, dok su kinetički parametri prikazani u tabeli 8. U oba slučaja, sve faze su zastupljene. Ispiranje se dešava u početnoj fazi proces izdvajanja (do 40 min) gde prinos JEO dostiže svoj maksimum koji je za MAHD veći (suvo mlevenje: 1,48 g/100 g i mokro mlevenje: 1,65 g/100 g) nego za HD (suvo mlevenje: 1,91 g/100 g i mokro mlevenje: 1,43 g/100 g). Doprinos neometane difuzije je očigledno viši nego doprinos ometane difuzije. Neometana difuzija je zastupljenija u prvih 2-2,5 h destilacije za obe tehnike, dok ometana difuzija postaje važna u završnoj fazi destilacije. Što se tiče brzine ispiranja JEO, primećena je važna razlika između HD i MAHD. Naime, maksimalna brzina ispiranja kod HD je bila najviša pri $t = 0$, dok je maksimalna brzina ispiranja kod MAHD primećena na samom početku destilacije (manje od 10 min), što se pripisuje sigmoidnom obliku krive sa tačkom prelaska u fazi ispiranja. Neometana difuzija za obe destilacione tehnike pokazala je maksimalnu brzinu u ranoj fazi procesa (do oko 20-25 min i 30-35 min za HD i MAHD, respektivno). Kao što se može videti u tabeli 8, konstanta brzine se smanjuje po sledećem redosledu: $k_w > k_{d1} > k_{d2}$, što ukazuje na to da je ispiranje najbrže.

Međutim, konstantna brzina ometane difuzije je bila statistički beznačajna i stoga se ovaj mehanizam zanemaruje.

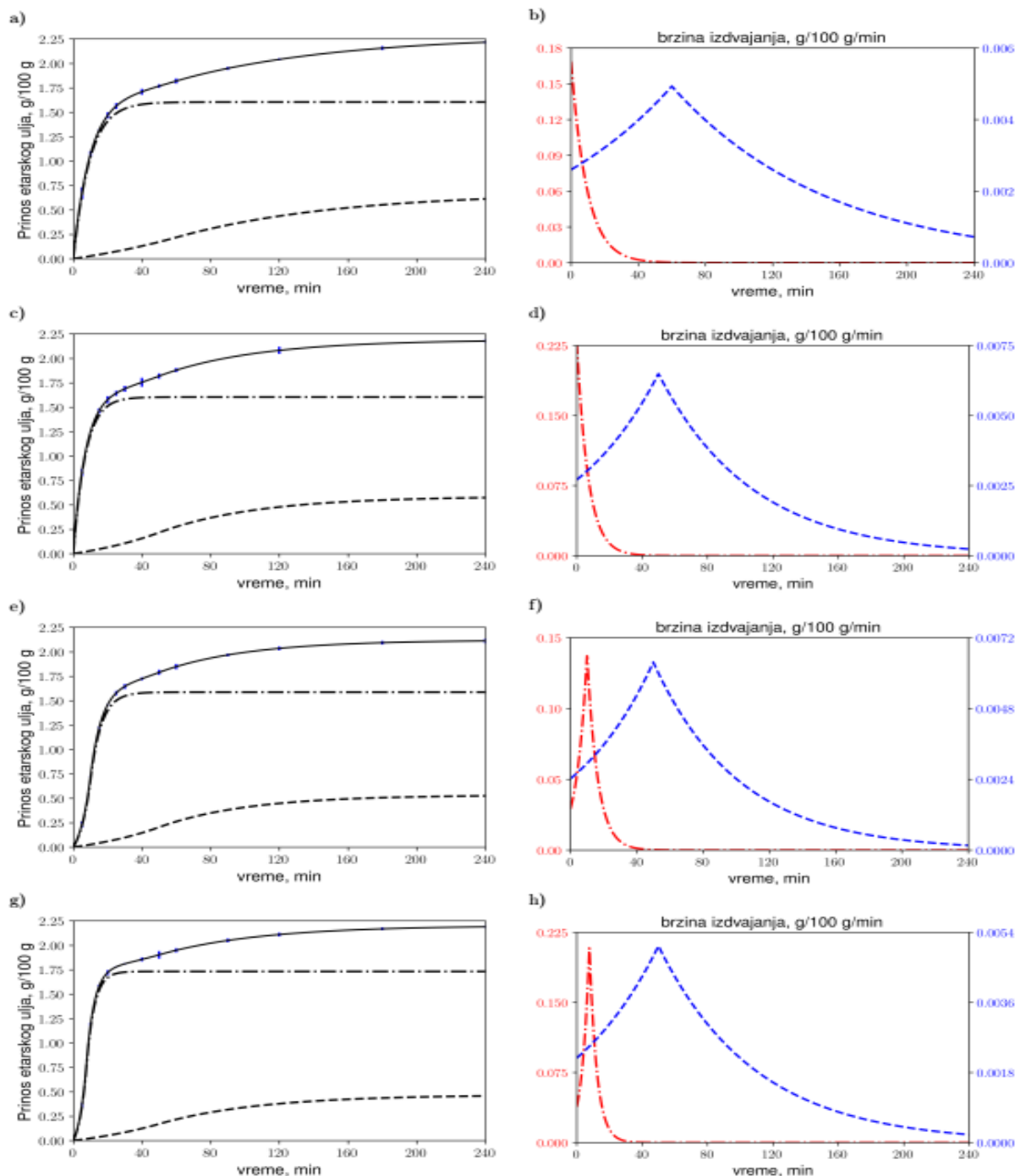
Pojednostavljenjem modela I, tj. pod pretpostavkom ispiranja praćenog jednom difuzijom (kombinacija neometane i ometane difuzije) dolazi se do modela Ia. Varijacije prinosa etarskog ulja kleke i brzine pojedinačnih faza u vremenu prikazane su na slici 36, pri čemu je primetno dobro slaganje modela i eksperimentalnih podataka. Svi kinetički parametri ovog modela, prikazano je u tabeli 8, statistički su značajni.

Dobro poklapanje modela II sa eksperimentalnim podacima se vidi na slici 37. U slučaju modela II, konstante brzine ispranja i difuzije su veće za HD nego za MAHD; bez obzira na predtretman plodova kleke. One imaju veće vrednosti kod primene nabubrelih plodova nego kod primene suvih plodova. Frakcija JEO u fazi ispiranja je veća kod MAHD nego kod HD i približno je ista kod primene suvih i nabubrelih plodova kleke. Logično je da je frakcija JEO dobijena u fazi difuzije veća kod HD. Vrednosti ova tri parametara su manje od onih koje su dobili Pavićević i sar. (2016) za MAHD primenom suvih plodova kleke i približno iste brzine destilacije. Ovo se može pripisati različitom poreklu plodova kleke i primenjenom hidromodulu od 1:3 (u ovom radu 1:4).

Vrednosti parametara modela i statistički kriterijumi koji su se koristili za procenu slaganja prilikom fitovanja modela (MRPD i R^2) su prikazani u tabeli 8. Na osnovu visokog R^2 ($> 0,94$) i prihvatljivog MRPD (< 25 %), svih sedam modela može se koristiti za modelovanje kinetike HD i MAHD u slučaju suvog i vlažnog mlevenja plodova kleke. Među ovih sedam modela, model Ia koji obuhvata ispiranje i kombinovanu difuziju, jednačine (19-22) sa $k_{d2} = 0$, se pokazao kao najbolji za HD, a posebno za MAHD etarskog ulja ploda kleke tretiranog na isti način, jer ima najveći koeficijent determinacije ($R^2 > 0,99$) i najmanje srednje relativno odstupanje MRPD (manje od 2,5 %). Drugi dobar model je model koji, takođe, uključuje istovremeno ispiranje, neometanu difuziju i ometanu difuziju i koji smatra da svaki proces ima svoj maksimum

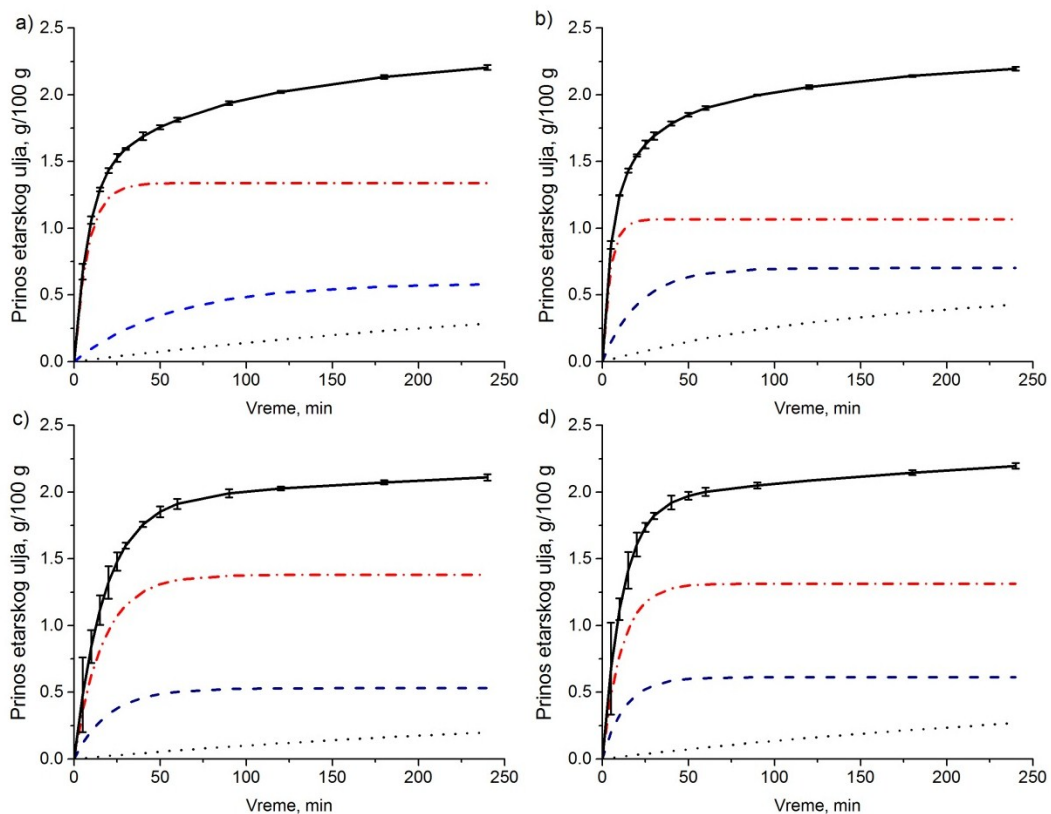


Slika 35 Model I: Doprinosi i brzine hidrodestilacije za tri procesa prenosa mase istovremeno sa napretkom izdvajanja JEO HD i MAHD, suvo mlevenje 1 min (HD - a i b; MAHD – e i f) i mokro mlevenje 1 min, prethodno bubrenje plodova 24 h (HD – c i d; MAHD – g i h) (faza ispiranja – crta tačka linija, neometana difuzija – isprekidana linija, ometana difuzija – tačkasta linija i ukupno izdvojeno ulje – puna linija)



Slika 36 Model Ia: Doprinosi i brzine hidrodestilacije za dva procesa prenosa mase istovremeno sa napretkom izdvajanja JEO HD i MAHD, suvo mlevenje 1 min (HD - a i b; MAHD – e i f) i mokro mlevenje 1 min, prethodno bubrenje plodova 24 h (HD – c i d; MAHD – g i h) (faza ispiranja – crta tačka linija, difuzija – isprekidana linija i ukupno izdvojeno ulje – puna linija)

u trenutku $t = 0$ (model II). Najgori u ovoj grupi modela je bio najjednostavniji eksponencijalni model (model V), dok je model drugog reda (model VI) dobar kao i dvoparametarski model (model IV). Dobra saglasnost između eksperimenta i modela III, IV, V i VI ilustrovana je na slikama u prilogu II. Dobro slaganje između eksperimenta i modela III i IV već je dokazan za izdvajanje JEO iz suvih plodova kleke HD (Milojević i sar.), i MAHD (Pavićević i sar., 2016). S obzirom na to da je model Ia zasnovan na potpunom fizičkom mehanizmu za izdvajanje JEO i ima najmanju MRPD (tabela 6), može se preporučiti za modelovanje kinetike izdvajanja JEO i kod HD i kod MAHD.



Slika 37 Model II: Doprinosi za tri procesa prenosa mase istovremeno sa napretkom izdvajanja JEO HD i MAHD, suvo mlevenje 1 min (HD - a; MAHD - c) i mokro mlevenje 1 min, prethodno bubrenje plodova 24 h (HD - b; MAHD - c) (faza ispiranja – crta tačka linija, neometana difuzija – isprekidana linija, ometana difuzija – tačkasta linija i ukupno izdvojeno ulje – puna linija)

Table 8 Vrednosti kinetičkih parametara modela^a

Model	Parameter	Metoda destilacije i mlevenja			
		HD		MAHD	
		Suvo mlevenje	Mokro mlevenje	Suvo mlevenje	Mokro mlevenje
Model I: ispiranje + neometana difuzija + ometana difuzija; jed. (22-25)	α_w , g/100g/min	0,199±0,02	0,253±0,008	0,156±0,005	0,228±0,006
	$\alpha_{d1} \cdot 10^2$, g/100g/min	2,15±0,87	1,21±0,18	1,12±0,12	0,91±0,11
	$\alpha_{d2} \cdot 10^3$, g/100g/min	3,42±1,43	1,80±0,69	1,64±0,59	2,21±0,66
	k_w , min ⁻¹	0,167±0,04	0,178±0,01	0,196±0,014	0,257±0,012
	$k_{d1} \cdot 10^2$, min ⁻¹	5,33±2,03	3,22±1,27	4,86±1,88	4,72±1,66
	$k_{d2} \cdot 10^2$, min ⁻¹	1,60±1,55 ^b	1,70±2,36 ^b	1,00±0,80 ^b	1,96±1,18 ^b
	τ_w	0	0	9,9±0,10	7,64±0,10
	τ_{d1}	20,0±6,10	25,0±5,36	35,1±4,31	30,0±3,44
	τ_{d2}	132,5±27,32	149,7±52,2	118,5±37,10	119,7±14,39
	$q_{w,\infty}$	1,19	1,43	1,48	1,65
	$q_{d1,\infty}$	0,67	0,58	0,42	0,34
	$q_{d2,\infty}$	0,40	0,20	0,29	0,21
	$(q_\infty)_{\text{cal}}$, g/100 g	2,26	2,21	2,18	2,21
	R^2	0,998	0,997	0,999	0,999
	MRPD, %	±2,1	±0,9	±0,7	±0,8
Model Ia: ispiranje + difuzija; jed. (22-25), $\tau_{d2} = 0$ i $k_{d2} = 0$	α_w , g/100g/min	0,169±0,005	0,228±0,008	0,138±0,006	0,210±0,008
	$\alpha_{d1} \cdot 10^2$, g/100g/min	4,93±0,61	6,49±0,72	6,37±0,80	5,05±0,54
	k_w , min ⁻¹	0,105±0,006	0,143±0,007	0,153±0,013	0,221±0,017
	$k_{d1} \cdot 10^2$, min ⁻¹	1,07±0,29	1,75±0,37	1,94±0,36	1,69±0,36
	τ_w	0	0	10,03±0,16	7,74±0,16
	τ_{d1}	60±17,42	50±9,35	50±9,2	50±9,33
	$q_{w,\infty}$	1,60	1,60	1,59	1,73
	$q_{d1,\infty}$	0,68	0,59	0,53	0,47
	$(q_\infty)_{\text{cal}}$, g/100 g	2,28	2,19	2,12	2,20
	R^2	0,998	0,997	0,999	0,999
	MRPD, %	±1,8	±1,5	±2,3	±1,6

Nastavak tabele 8

Model	Parameter	Metoda destilacije i mlevenja			
		HD		MAHD	
		Suvo mlevenje	Mokro mlevenje	Suvo mlevenje	Mokro mlevenje
Model II: Jed. (26-30)	k_w, min^{-1}	0,1235	0,2194	0,0600 ^b	0,0895 ^b
	k_{d1}, min^{-1}	0,0177 ^b	0,0469	0,0500 ^b	0,0772 ^b
	k_{d2}, min^{-1}	0,0027 ^b	0,0065 ^b	0,0030 ^b	0,0030 ^b
	f_w	0,530 ^b	0,462	0,600 ^b	0,536 ^b
	f_{d1}	0,233 ^b	0,304	0,231 ^b	0,250 ^b
	$q_\infty, \text{g}/100 \text{ g}$	2,526 ^b	2,309	2,300 ^b	2,452 ^b
	R^2	0,998	0,999	0,978	0,972
	$MRPD, \%$	$\pm 1,7$	$\pm 1,0$	$\pm 14,4$	$\pm 10,4$
Model III: jed.(31)	k_w, min^{-1}	0,118 \pm 0,006	0,175 \pm 0,009	0,059 \pm 0,011	0,0873 \pm 0,015
	$k_{d1} \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	1,05 \pm 0,17	1,73 \pm 0,15	0,5 \pm 2,82 ^b	0,85 \pm 2,21 ^b
	f_w	0,628 \pm 0,02	0,619 \pm 0,02	0,856 \pm 0,21	0,860 \pm 0,07
	$q_\infty, \text{g}/100 \text{ g}$	2,29 \pm 0,04	2,19 \pm 0,02	2,20 \pm 0,86	2,20 \pm 0,27
	R^2	0,998	0,999	0,978	0,972
	$MRPD, \%$	$\pm 1,8$	$\pm 1,2$	$\pm 14,6$	$\pm 10,7$
Model IV: jed.(32)	$k_{d1} \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	5,84 \pm 0,48	7,46 \pm 0,66	5,23 \pm 0,38	7,53 \pm 0,51
	f_w	0,061 \pm 0,03 ^b	0,068 \pm 0,04 ^b	0 ^b	0 ^b
	$q_\infty, \text{g}/100 \text{ g}$	2,02 \pm 0,04	2,00 \pm 0,03	2,04 \pm 0,04	2,08 \pm 0,04
	R^2	0,965	0,960	0,976	0,967
	$MRPD, \%$	$\pm 5,8$	$\pm 6,2$	$\pm 14,6$	$\pm 11,5$
Model V: jed. (33)	$k_{d1} \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	6,48 \pm 0,44	8,33 \pm 0,61	5,23 \pm 0,30	7,53 \pm 0,51
	$q_\infty, \text{g}/100 \text{ g}$	2,00 \pm 0,04	1,99 \pm 0,03	2,04 \pm 0,03	2,08 \pm 0,04
	R^2	0,961	0,956	0,976	0,967
	$MRPD, \%$	$\pm 6,8$	$\pm 7,0$	$\pm 14,6$	$\pm 11,5$
Model VI: jed. (35)	$k_{d1} \cdot 10^2, \text{L g}^{-1} \text{ min}^{-1}$	3,94 \pm 0,18	5,56 \pm 0,23	3,43 \pm 0,65	4,33 \pm 0,61
	$q_\infty, \text{g}/100 \text{ g}$	2,24 \pm 0,02	2,20 \pm 0,02	2,33 \pm 0,07	2,32 \pm 0,06
	R^2	0,994	0,995	0,944	0,954
	$MRPD, \%$	$\pm 2,7$	$\pm 2,0$	$\pm 23,2$	$\pm 13,5$

^aUslovi predtretmana: 1 min mlevenje i bubrenje 24 h, Hidromodul: 1:4, Brzina destilacije: oko 8,5 \pm 0,5 mL/min. ^b Statistički beznačajni parametri

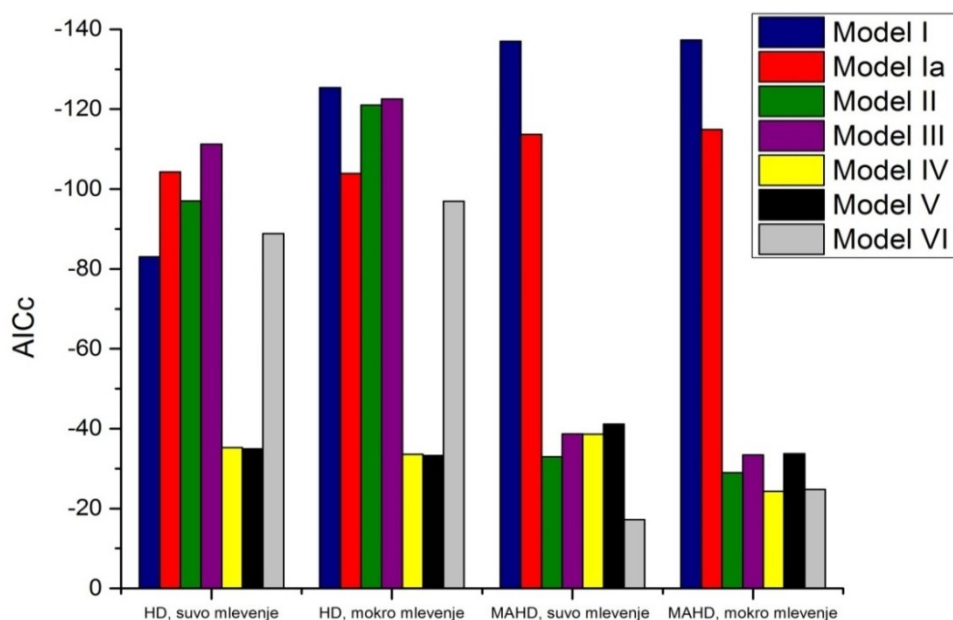
Za HD i MAHD konstante brzine ispiranja k_w i maksimalna brzina izdvajanja etarskog ulja α_w kod modela Ia su veće za samlevene nabubrele plodove kleke nego za samlevene suve plodove. Osim toga, vrednosti k_w su veće kod MAHD, bez obzira na

predtretman biljnog materijala, dok je vrednost α_w kod MAHD manja nego kod HD bez obzira na predtretman plodova kleke. Parametar τ_w kod MAHD je manji ako se plodovi kleke melju mokrim postupkom nego ako se samelju suvi plodovi i to se pripisuje manje приметnim neujednačenim zagrevanjem u slučaju mokrog mlevenja biljnog materijala.

Ravnotežni prinos JEO, izračunat od strane svih šest modela, sasvim dobro se slaže sa eksperimentalno dobijenim (MRPD manje od oko $\pm 8\%$), ali najbolje slaganje ima model Ia.

4.4.3. Upoređivanje razvijenih modela na bazi AICc

AIC i AICc su alati za upoređivanje modela sa različitim brojem parametara koji se razvijaju na osnovu istog skupa podataka i odabira najboljeg modela među testiranim setom modela. Kao što se može videti na slici 42, gde se upoređuju AICc-vrednosti za tri razvijena i četiri postojeća kinetička modela, modeli I i Ia su daleko najbolji za MAHD primenom i mokrih i suvih plodova kleke, dok su kod HD najbolji, bez obzira na predtretman plodova kleke, model Ia i III.



Slika 42 AICc vrednosti modela

4.4.4. Verifikacija modela

Model Ia je testiran sa eksperimentalnim podacima prinosa etarskog ulja koje je dobijeno MAHD iz semena komorača (Kapas i sar, 2011) i listova lovor višnje (Karabegović, 2011) (tabela 9). Visoke vrednost koeficijenta determinacije (R^2) i niske MRPD vrednosti dokaz su da model Ia uspešno opisuje kinetiku izdvajanja etarskog ulja mikrotalasnom hidrodestilacijom iz ova dva biljna materijala. Prema tome, model Ia može se preporučiti za opisivanje kinetike izdvajanja etarskog ulja iz biljnih materijala mikrotalasnom hidrodestilacijom.

Tabela 9 Verifikacija modela Ia za kinetiku izdvajanja etarskih ulja dobijenih MAHD iz različitih biljnih materijala

Parametri	Listovi lovor višnje (Karabegović, 2011)	Seme komorača (Kapas i sar., 2011)
α_w , g/100g/min	0,098±0,02	0,269±0,05
α_{d1} , g/100g/min	0,04±0,01	0,11±0,02
k_w , min ⁻¹	1,00±0,40	0,93±0,29
k_{d1} , min ⁻¹	0,43±0,08	0,51±0,17
τ_w	2,2±0,18	1,9±0,12
τ_{d1}	5,0±0,53	7,8±0,48
$q_{w,\infty}$	0,19	0,53
$q_{d1,\infty}$	0,18	0,43
$(q_\infty)_{\text{cal}}$, g/100 g	0,37	0,96
R^2	0,999	0,988
MRPD, %	3,45	6,04
AICc	-84,91	-97,72

Kao što se vidi u tabeli 10, kinetiku HD i MAHD etarskih ulja, ne samo plodova kleke (Pavićević i sar.2016), već i semena komarača (Kapas i sar, 2011), nadzemnih delova letnjeg i zimskog čubra (Rezvanpanah i sar., 2008) i osušenih nadzemnih delova

Tabela 10 Verifikacija modela II za kinetiku izdvajanja etarskog ulja dobijeno g HD i MAHD iz različitih biljnih materijala

Biljke	Istovremeno ispiranje, neometana i ometana difuzija								Literatura
	f_w	f_{d1}	f_{d2}	$k_w \times 10^3, \text{min}^{-1}$	$k_{d1} \times 10^3, \text{min}^{-1}$	$k_{d2} \times 10^3, \text{min}^{-1}$	MRPD, %	R^2	
Letnji čubar, nadzemni delovi									Rezvanpanah i sar., 2008
HD	0,522	0,146	0,332	283,4	126,1	12,5	0,9	0,999	
MAHD									
220 W ^a	0,353	0,338	0,309	84,1	21,3	21,2	4,2	0,986	
440 W	0,506	0,296	0,198	92,3	24,6	24,5	2,4	0,994	
660 W	0,317	0,358	0,325	80,0	30,3	30,2	1,9	0,995	
Zimski čubar, nadzemni delovi									
HD	0,509	0,118	0,373	250,2	122,1	13,0	0,9	0,999	
MAHD									
220 W	0,341	0,541	0,118	136,1	17,7	17,4	7,0	0,957	
440 W	0,377	0,481	0,142	183,0	26,7	26,1	4,4	0,924	
660 W	0,471	0,310	0,219	34,17	34,0	33,6	2,9	0,988	
Timijan, nadzemni delovi									Golmakani i Rezaei, 2008
HD	0,464	0,224	0,312	102,5	26,57	19,2	0,4	0,999	
MAHD	0,433	0,473	0,094	98,4	47,0	39,1	2,5	1	
Seme komorača, zdrobljeni									Kapas i sar. 2011
HD	0,500	0,270	0,230	167,6	141,3	141,7	20,4	0,990	
MAHD	0,615	0,169	0,216	171,1	169,3	170,9	15,1	0,993	
Plodovi kleke, mleveni									Pavićević i sar., 2016
HD									
3 mL/min ^b	0,442	0,284	0,274	115,6	12,1	12,2	1,4	0,998	
6 mL/min	0,609	0,168	0,224	86,8	11,6	10,7	1,2	0,999	
MAHD									
3 mL/min	0,412	0,421	0,167	240,9	24,4	23,8	1,1	0,997	
6 mL/min	0,318	0,545	0,137	373,1	23,3	23,6	1,0	0,999	
9 mL/min	0,347	0,616	0,037	1611,0	46,2	21,5	0,8	0,999	

timijana (Golmakani i Rezaei, 2008) uspešno opisuje model II, što je pokazano visokim vrednostima R^2 (blizu 1) i prihvatljivim vrednostima MRPD. Prema tome, predloženi mehanizam destilacije etarskog ulja može se smatrati opštim za HD i MAHD za bilo koji biljni materijal. Međutim, vrednosti kinetičkih parametara su se razlikovale kod različitih biljaka, verovatno zbog specifičnosti njihovih organa koji sadrže etarsko ulje, uslova destilacije itd. Takođe, vrednosti parametara modela II za MAHD suvih plodova kleke na osnovu podataka Pavićević i sar. (2016) (tabela 10) se razlikuju od onih dobijenih u ovom istraživanju (tabela 8) pri približno istoj brzini destilacije, što je verovatno zbog drugačijeg porekla plodova i hidromodula.

4.5. Uticaj predtretmana plodova kleke na prinos etarskog ulja

Uticaj predtretmana plodova kleke (vremena mlevenja i vremena bubrenja plodova) na prinos dobijen za 4 h primenom HD i MAHD ispitivan je pomoću višestrukog testa intervala - Dankanovog testa sa pouzdanošću od 95 %. Tabela 11 pokazuje kako vremena mlevenja i bubrenja utiču na prinos etarskog ulja ploda kleke. Sa povećanjem vremena mlevenja, prinos etarskog ulja ploda kleke se smanjuje bez obzira na vreme bubrenja plodova. Najbolji prinos $2,23 \pm 0,00$ g/100g je dobijen prilikom jednogminutnog mlevenja suvih plodova kleke. Na osnovu Dankanovog testa ovaj prinos je veći od svih ostalih prinosa dobijenih pomoću HD, izuzev dva koja su postignuta jednogminutnim i dvogminutnim mlevenjem prethodno nabubrelim plodovima 24 h u destilovanoj vodi ($2,19 \pm 0,01$ g/100 g i $2,14 \pm 0,01$ g/100 g) i jednog koji je dobijen pomoću MAHD jednogminutnim mlevenjem prethodno potopljenih plodova u destilovanoj vodi 24 h ($2,20 \pm 0,00$ g/100g).

Sourmaghi i sar. (2014) su došli do zaključka da je veći prinos ulja korijandera dobijen primenom HD nego primenom MAHD, Golmakani i Rezaei (2008) su objavili veći prinos etarskog ulja iz svežih nadzemnih delova majčine dušice primenom MAHD nego primenom HD, i to u kraćem vremenskom periodu. S druge strane, jednaki prinosi etarskog ulja primenom ove dve metode izdvajanja primećeni su iz semena komorača (Kapás i dr., 2011), listova ruzmarina (Karakaya i dr., 2014), nadzemnih delova zimskog i letnjeg čubra (Rezvanpanah i dr., 2008) i listova cimeta (Phutdhawong i dr., 2007).

Tabela 11 Uticaj predtretmana plodova kleke na prinos etarskog ulja kleke

Tehnika	Vreme mlevenja, min	Vreme bubrenja, h	Krajnju prinos JEO, ^a g/100 g	Standardna devijacija, g/100 g	Dankanov test
HD	1	0	2,23	0,00	a
		24	2,19	0,02	a, b, c
		48	2,14	0,05	b, c, d
		72	2,10	0,00	d, e
	2	0	1,95	0,03	f
		24	2,14	0,05	a, b, c
		48	2,13	0,00	c, d
		72	2,15	0,03	b, c, d
	3	0	1,85	0,07	g
		24	1,89	0,02	g
		48	2,04	0,05	e
		72	2,14	0,06	d, e
MAHD	1	0	2,14	0,02	b, c, d
		24	2,20	0,00	a, b

^a Srednja vrednost dva eksperimenta.

Za ispitivanje normalnosti skupa podataka koji opisuje JEO prinos iz tabele 11 i na prisustvo netipičnih vrednosti najpre je korišćen test Kolmogorov-Smirnova. Analizom skupa podataka za prag značajnosti 0,05 dobijeni rezultati (t -statistic = 0,243, $p = 0,0988$) pokazuju da su oni normalno distribuirani (slika PIII1a, Prilog III) i bez netipičnih vrednosti (slika PIII1b, Prilog III). Zatim, parametri jednačine (17) su određeni nelinearnom regresijom, a uticaj procesnih faktora i njihove interakcije su procenjene primenom ANOVA testa. Razvijeni regresioni modeli u smislu kodiranih i nekodiranih faktora su sledeći:

$$Y = 2,079 - 0,099 \cdot X_1 + 0,050 \cdot X_2 + 0,101 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (36a)$$

i

$$Y = 2,430 - 0,200 \cdot X_1 - 0,004 \cdot X_2 + 0,003 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (36b)$$

Za ovaj model ANOVA je pokazala da su svi uslovi bili statistički uticajni na prinos etarskog ulja kleke na nivou pouzdanosti od 95 %, kao što se može videti u tabeli 12. Prema njihovim F - i p -vrednostima (27,5 i $< 0,0001$, respektivno), razvijen 2FI

model je značajan. p -vrednost ($<0,0001$) modela 2FI pokazala je manje od 0,01 % šanse da je ta F -vrednost bila velika zbog uticaja spoljnih faktora u eksperiment. Imajući u vidu veću F -vrednost, vreme mlevenja (X_1) je imalo značajniji efekat na prinos etarskog ulja plodova kleke od vremena bubrenja (X_2). Pored toga, vreme mlevenja negativno je uticalo na prinos JEO-a, dok je vreme bubrenja imalo pozitivan efekat, što se može zaključiti iz koeficijenata linearne regresije ($b_1 < 0$ i $b_2 > 0$, respektivno) i može se videti u jednačini (36a). Povećanje vremena mlevenja rezultiralo je manjim prinosom JEO, što se može pripisati većem gubitku JEO tokom mlevenja zbog njegovog isparavanja kroz dugotrajno zagrevanje. Povećanje gubitka JEO tokom mlevenja sprečeno je uranjanjem plodova u vodu. Pozitivni efekat bubrenja može biti zbog efikasnije ruptur plodova kleke, što je povećalo dostupnost JEO i apsorpciju toplote vodom, što je sprečilo pregrevanje i JEO isparavanje tokom procesa mlevenja. Interesantno je naglasiti da je u jednačini (36a) $X_1 - X_2$ interakcija ($b_{12} > 0$) imala pozitivan i najveći efekat na JEO prinos.

Tabela 12 Rezultati ANOVA testa (tip III) za prinos JEO dobijen HD plodova kleke mlevenih i potapanih u destilovanu vodu različito vreme

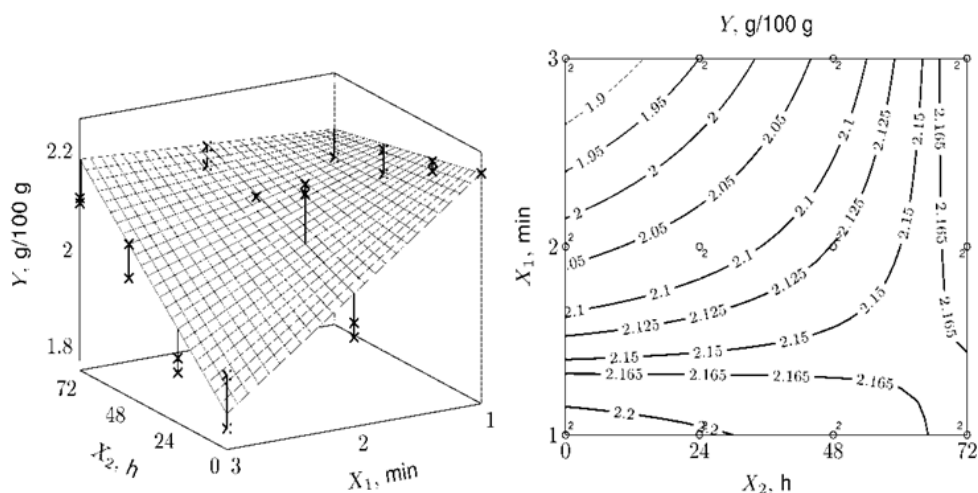
Faktor	Zbir kvadrata	df	Srednji kvadrat	F -vrednost	p -vrednost
Model	0,281	3	0,094	27,5	$< 0,0001$
X_1 (vreme mlevenja)	0,158	1	0,158	46,3	$< 0,0001$
X_2 (vreme bubrenja)	0,033	1	0,033	9,6	0,0006
$X_1 \cdot X_2$	0,090	1	0,090	26,5	$< 0,0001$
Ostatak	0,068	20	0,003		
Odstupanje od modela	0,056	8	0,007	7,1	0,0015
Čista greška	0,012	12	0,001		
Ukupna korekcija	0,349	23			

$R^2 = 0,805$, $R_{adj}^2 = 0,775$; $R_{pred}^2 = 0,745$ i $C.V. = 2,8$ %.

Nekoliko statističkih kriterijuma je analizirano da bi se procenilo koliko razvijeni model 2FI odgovara dobijenim podacima za prinos JEO. Vrednost koeficijenta

korelacije ($R = 0,897$) pokazao je veliku zavisnost između prinosa JEO i pretpretmana kleke kao dva faktora procesa. R^2 vrednost od 0,805 pokazuje prilično dobro poklapanje razvijenog modela 2FI. Vrednost R^2_{pred} (0,775) odgovara vrednosti R^2_{adj} (0,745), što ukazuje na dobro predviđanje JEO prinosa po razvijenom 2FI modelu, dok je *C.V.*-vrednost (2,8 %) pokazala dobru reproduktivnost modela. Međutim, značajan nedostatak prilagođavanja ($p = 0,0015 < 0,050$) je pokazao da disperzija eksperimentalnih rezultata ne zavisi od modela i u domenu je greške merenja. Ovaj značajni nedostatak pripisan je maloj varijansi repliciranih izvršenja, što se pokazalo srednjom relativnom greškom između replikata ($\pm 0,8$ %), i dovelo do male čiste greške. Štaviše, pošto je mala MRPD vrednost ($\pm 2,0$ % na osnovu 24 podataka, slika PIII1c, Prilog III) i drugi statistički kriterijumi koji su gore opisani, redukovani model 2FI okarakterisan je kao dobar (tabela 11) i usvojen je kao adekvatan za računanje i optimizaciju JEO prinosa.

Slika 43 prikazuje 3D površine sa konturnim linijama za prinos JEO postignut hidrodestilacijom u funkciji vremena mlevenja i vremena bubrenja plodova kleke i rezultat je jednačine 36b. Ove površine su pogodne za vizuelizaciju ne samo efekta dva faktora i njihovu interakciju na prinos JEO, već i optimalnih uslova procesa. Dvofaktorska interakcija omogućena uvrtnjem ravni je rezultat linearnog dela jednačine 36b. Površine su jasno pokazale da se prinos JEO povećava sa rastom vremena bubrenja i smanjenjem vremena mlevenja. Obe površine su pokazale najveći prinos etarskog ulja kleke korišćenjem biljnog materijala koji je mleven 1 min posle 24 h bubrenja u destilovanoj vodi.



Slika 43 Odgovarajuća površina i konturni dijagram odzivne površine za prinos JEO (Y) u funkciji vremena mlevenja (X_1) i vremena bubrenja (X_2) plodova kleke

Optimalni nivoi faktora procesa predtretmana su određeni sa ciljem postizanja maksimalnog JEO prinosa korišćenjem razvijenog 2FI modela (jed. 36b), unutar primenjenih eksperimentalnih opsega. Optimalni predtretman procesa, određen korišćenjem softvera, uključuje potapanje kleke i jednominutno mlevenje. Predviđeni najbolji prinos JEO je 2,22 g/100 g se složio sa eksperimentalno dobijenim JEO prinosom od 2,23 g/100 g plodova kleke.

4.6. Kinetika izdvajanja etarskog ulja iz ploda kleke metodama SHDR i SMAHDR

Prinos etarskog ulja iz suvih ploda kleke dobijenog SHDR je nešto manji nego prinos dobijen SMAHDR (1,97 g/100 g SHDR; 2,09 g/100 g SMAHDR). Primenom nabubrelih plodova prinos je veći kod SHDR (2,03 g/100 g SHDR; 1,69 g/100 g SMAHDR).

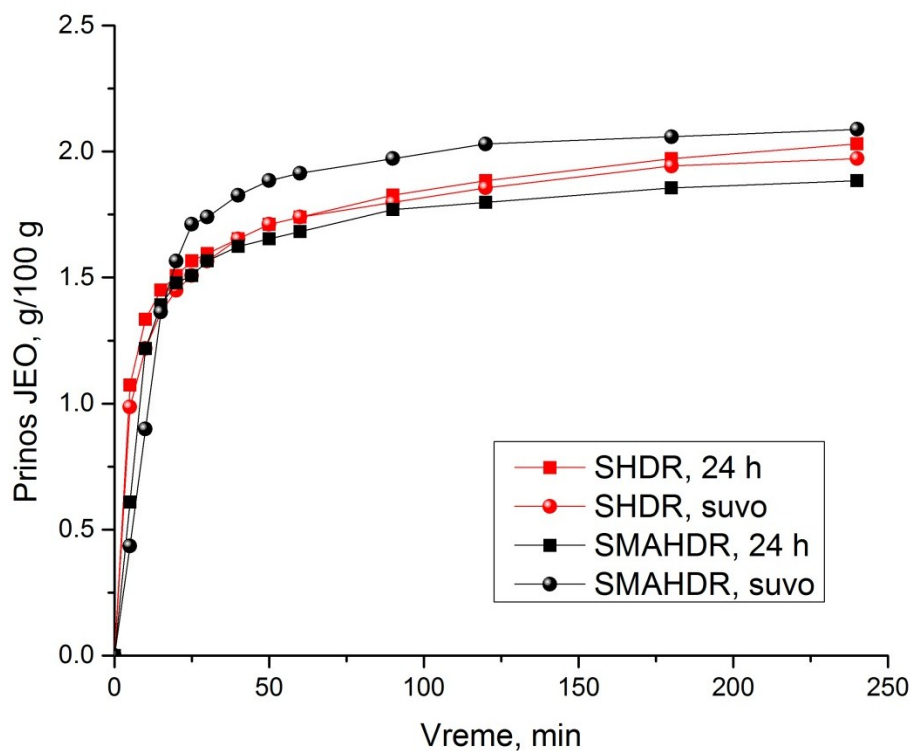
Kinetika SHDR i SMAHDR može se sagledati iz nekih parametra, kao što su: početak vremena akumulacije etarskog ulja, ukupno vreme ekstrakcije, trajanje ekstrakcije, prinos i stope akumulacije etarskog ulja, koji su dati u tabeli 13. Početak akumulacije etarskog ulja je vreme za koje su se prve kapi ulja pojavile od uključivanja aparature. Ukupno vreme ekstrakcije je vreme od uključivanja aparature do kraja

procesa, vreme ekstrakcije je vreme izdvajanja etarskog ulja, prinos je odnos dobijene mase etarskog ulja i mase suvih plodova kleke.

Tabela 13 Parametri izdvajanja

Parametri izdvajanja	SHDR suvi	SMHDR suvi	SHDR 24 h	SMAHDR 24 h
Početak vremena EO akumulacije (min)	30	6	28	9
Ukupno vreme ekstrakcije (min)	270	246	268	249
Vreme ekstrakcije (min)	240	240	240	240
Prinos (%)	1,97	2,09	2,03	1,69

U tabeli 13 i na osnovu slike 44 se jasno vidi da je SMHDR brža metoda od SHDR ako se koriste suvi plodovi kleke. Isti prinos koji se dobija SHDR za 270 min može se dobiti SMHDR za 96 min. Slika 44 pokazuje promenu prinosa etarskog ulja ploda kleke tokom ove dve tehnike.



Slika 44 Kinetika izdvajanja etarskog ulja SHDR i SMAHDR

Kod obe destilacione tehnike se vidi postojanje brze faze u početnom periodu, u kojem se prinos etarskog ulja brzo povećava zbog brzog izdvajanja etarskog ulja sa površine biljnih čestica. Sa napredovanjem destilacije, brzina izdvajanja etarskog ulja se smanjuje i to je spora faza hidrodestilacije uzorkovana difuzijom etarskog ulja kroz biljne čestice.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove doktorske disertacije eksperimentalno je ispitivano dobijanje etarskog ulja ploda kleke. Na osnovu ispitivanja mogu se izvesti zaključci koji se odnose na predtretman biljne sirovine (vreme mlevenja i vreme bubrenja), kinetiku i mehanizam hidrodestilacije i mikrotalasne hidrdestilacije, kao i na poređenje sastava etarskog ulja i sastava frakcija etarskog ulja ploda kleke dobijenog sa i bez primene kolone.

Prinos etarskog ulja kleke zavisi od vremena bubrenja i vremena mlevenja. Sa povećanjem vremena mlevenja, prinos etarskog ulja ploda kleke se smanjuje bez obzira na vreme bubrenja plodova. Povećanje vremena mlevenja rezultiralo je manjim prinosom JEO, što se može pripisati većem gubitku JEO tokom mlevenja zbog njegovog isparavanja usled zagrevanja. Povećanje gubitka JEO tokom mlevenja sprečeno je uranjanjem plodova u vodu. Prinos se povećava sa povećanjem vremena bubrenja. Najbolji prinosi etarskog ulja su postignuti pri hidrodestilaciji suve kleke mlevene 1 min i prethodno bubrelih plodova bez obzira na vreme mlevenja. Bubrenjem zadržavamo visoki prinos kao pri jednom minutnom mlevenju suve kleke, a dobijamo kvalitetniji etarsko ulje bogatije lakše i srednje isparljivim komponentama.

Rezultati GC-MS analize ukazuju da nisu pronađene razlike u kvalitativnom hemijskom sastavu etarskih ulja izdvojenih pomoću HD i MAHD. Međutim, način zagrevanja (HD ili MAHD) ima uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava, i to najmanji kod lako isparljivih komponentata, srednji kod teško isparljivih i najveći kod srednje isparljivih. Vreme bubrenja nema uticaj na kvantitativnu promenu hemijskog sastava primenom HD. Međutim primena MAHD ima razlike kod teško isparljivih i srednje isparljivih komponenti. Primena kolone u pogledu sastava ulja je rezultirala da se dobije ulje sa više lako i srednje isparljivim komponentama. Jedino ulje dobijeno iz nabubrelih plodova SMAHDR je imalo manje lako i srednje isparljivih komponentata nego ulje dobijeno MAHD.

Prednost MAHD u odnosu na HD je kraće vreme trajanja procesa, a nedostatak manji prinos i veći sadržaj teško isparljivih komponentata.

Promena prinosa etarskog ulja je tipična za hidrodestilaciju etarskog ulja iz većine biljnih materijala. Oblik krive je potvrdio postojanje “brze” i “spore” destilacije etarskog ulja na početku i na kraju procesa (ispiranje i difuzija, respektivno). Do početnog brzog povećanja prinosa etarskog ulja dolazi zbog “ispiranja” etarskog ulja sa spoljne površine čestica. Drugi stupanj je „spora“ hidrodestilacija u kojoj se sporije izdvaja etarsko ulje i to je pripisano neometanoj i ometanoj difuziji. Na osnovu ovog mehanizma, kinetika HD i MAHD je uspešno opisana matematičkim modelima koji pretpostavljaju da se etarsko ulje iz ploda kleke i različitih delova drugih biljaka izdvaja kroz tri istovremena procesa (ispiranje, neometana difuzija i ometana difuzija).

Na osnovu korigovanog Akaikeovog informacionog kriterijuma, novi razvijeni modeli (modeli I, Ia i II) su ocenjeni kao bolji od četiri postojeća kinetička modela. Modeli I i Ia su daleko najbolji za MAHD primenom i mokrih i suvih plodova kleke, dok su kod HD najbolji, bez obzira na predtretman plodova kleke, model Ia i III. S obzirom na to da je model Ia zasnovan na fizičkom mehanizmu ekstrakcije JEO i ima najveći koeficijent determinacije ($R^2 > 0,99$), nisku vrednost MRPD (manju od 2,5 %) i statistički značajne parametre, preporučeno je za modelovanje kinetike izdvajanja etarskog ulja kleke pomoću HD i posebno MAHD. Pored toga, ovaj model je verifikovan za izdvajanje etarskog ulja iz semena komorača i listova lovor višnje primenom MAHD, što ukazuje na njegovu opštu primenljivost za modelovanje kinetike destilacije etarskog ulja.

Sastav frakcija etarskog ulja ploda kleke tokom HD i MAHD ukazuje da su koncentracije lako isparljivih komponenata bez obzira na tretman plodova pre mlevenja najveće u prvim frakcijama, kao i da njihove koncentracije opadaju do kraja hidrodestilacije. Srednje isparljive komponente imaju najmanju koncentraciju u prvoj frakciji, koncentracija limonena raste do treće frakcije i zatim do kraja procesa pada, dok koncentracija γ -terpinena i terpinen-4-ola raste od početka do kraja procesa. Teško isparljiva grupa komponenata je slabo zastupljena u prvoj i drugoj frakciji, dok se od treće frakcije uočava rast njihove koncentracije i najviše ih ima u poslednjoj frakciji.

Prethodnim bubrenjem plodova se postižu bolji rezultati prilikom fracionisanja etarskog ulja HD i MAHD. Za prvih 20 min frakcionom HD izdvoji se znatno veća količina pojedinih komponenata ako je prethodno plod kleke podvrgnut bubrenju 24 h, dok se primenom MAHD za 15 min izdvoji približno isti procenat pojedinačnih

komponenti u odnosu na njihovu ukupnu zastupljenost u ulju, kao i kod primene mikrotalasne hidrodestilacije korišćenjem suvih plodova posle 32 min.

Upoređujući tehnike frakcionisanja etarskog ulja može se zaključiti da se za 10 min izdvoji približno isti procenat komponenata primenom HD kao i kod MAHD za 9 min. Ako se koriste plodovi koji su prethodno bubrili 24 h onda se primenom HD za 10 min postižu bolji rezultati nego primenom MAHD za 9,5 min.

Utvrđeno je da se upotrebom rektifikacione kolone ostvaruje manji prinos etarskog ulja ploda kleke nego HD i MAHD. Ovo je posledica zadržavanja etarskog ulja u rektifikacionoj koloni.

Koncentracioni profili komponenata isti su kod SHDR, kao i primenom HD i MAHD. Koncentracioni profili frakcija etarskog ulja dobijenog SMAHDR su drugačiji, bez obzira na pripremu biljnog materijala uočava se da su koncentracije lako isparljivih komponenata približno iste u prve četiri frakcije dok se kasnije uočava pad koncentracije u petoj i šestoj frakciji. Isti slučaj je i sa srednje isparljivim komponentama, imaju skoro jednake koncentracije u prve četiri frakcije da bi limonen imao pad koncentracije do kraja hidrodestilacije, a γ -terpinen i terpinen-4-ol rast. Slična situacija je i sa teško isparljivim komponentama, samo γ -elemena ima nešto manje u prvoj frakciji nego u sledeće tri. Ostale komponente imaju jednak sastav u prve četiri frakcije, a povećavaju se u petoj i šestoj frakciji.

Količina pojedinačnih komponenti se kod etarskog ulja dobijenog SHDR iz suvih plodova za 14 min izdvoji procentualno više nego kod etarskog ulja dobijenog iz plodova koji su prethodno bubrili 24 h u destilovanoj vodi za 10,5 min. Primenom SMAHDR kod etarskog ulja koje je dobijeno iz suvih plodova za 11,5 min se izdvoji procentualno manje pojedinačno gledano svih komponenti nego kod etarskog ulja koje je dobijeno iz plodova koji su prethodno bubrili 24 h u destilovanoj vodi za 10 min.

Upoređujući tehnike frakcionisanja etarskog ulja dobijenog iz suvih plodova kleke može se zaključiti da se za 14 min izdvoji količinski više komponenata primenom SHDR nego za 16,5 min SMAHDR. Ako se koriste plodovi koji su prethodno bubrili 24 h u destilovanoj vodi onda se primenom SMAHDR za 10 min postižu bolji rezultati nego primenom SHDR za 10,5 min.

Ako posmatramo frakcije ulja dobijene iz suvih plodova kleke, običnom HD i SHDR, može se zaključiti da je za 6 min izdvojeno količinski više komponenata

primenom kolone, dok se kod prethodno potopljenih plodova 24 h u destilovanoj vodi izdvaja za 5 min kod HD i 5,5 min kod SHDR približno isti procentan. Izdvajanjem ulja MAHD i SMAHDR bez obzira na prethodnu pripremu plodova primenom kolone se postiže bolji efekat odvajanja.

Na osnovu dobijenih rezultata frakcionisanja etarskog ulja može se zaključiti da ovakva raspodela ukazuje na mogućnost efikasne separacije komponenata iz pojedinih frakcija upotrebom rektifikacione kolone sa većim brojem podova. Predtretman plodova utiče na frakcionisanje etarskog ulja primenom HD i MAHD, bubrenje plodova je dalo bolje rezultate u pogledu prinosa jer je sprečilo pregrevanje i isparavanje etarskog ulja tokom procesa mlevenja iz biljnog materijala, ali i znatno kvalitetnije etarsko ulje, bogatije lako i srednje isparljivim, a siromašnije teško isparljivim komponentama. Takođe, za kraći vremenski period primenom MAHD za frakcionisanje etarskog ulja se dobije približno isti sastav nego primenom suvih plodova što je posledica svojstva mikrotalasnog zagrevanja. Primena kolone za frakcionisanje je imala pozitivan efekat na sastav prvih frakcija, u njima je koncentracija lako isparljivih komponenata znatno veća, a s obzirom na količinu tih frakcija najveći deo lako isparljivih komponenata iz ulja se izdvoji i u njima tako da je njihova upotreba za dobijanje čistih komponenata u koloni sa odgovarajućim brojem podova opravdana.

U prvim frakcijama dominiraju α -pinen, mircen i sabinen koji čine više od 80% mase frakcije što znači da ovako dobijene frakcije mogu imati veliku primenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji zbog svojih dejstava.

SKRAĆENICE I SPISAK SIMBOLA

JEO – etarsko ulje ploda kleke

HD – klasična hidrodestilacija

MAHD – mikrotalasna hidrodestilacija

SHDR – istovremena hidrodestilacija i rektifikacija

SMAHDR – istovremena mikrotalasna hidrodestilacija i rektifikacija

MRPD – srednje relativno procentualno odstupanje

RSM – metodologija odziva površine

GC/FID - gasna hromatografija sa plameno-jonizujućim detektorom

GC/MS - gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom

P_{atm} – atmosferski pritisak

$P_{H_2O}^{\circ}$ - napon pare vode

x_i - molski udeo i -te komponente u tečnoj fazi

P_i° - napon pare čiste i -te komponente

K_c – pseudokonstanta reakcije

D_a – koeficijent difuzije

X_t – koncentracija slobodnog rastvorka

X_f – koncentracija u graničnom sloju

L – debljina ravne ploče

D_{eff} – efektivni koeficijent difuzije

q - maseni udeo (prinos) izdvojenog etarskog ulja

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

k_1 – konstanta brzine

k_2 – konstanta brzine

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

Y - prinos etarskog ulja

b_0 – konstantan koeficijent regresije

b_1 i b_2 – linearni koeficijenti regresije

b_{12} - dvofaktorski interaktivni koeficijent regresije

X_1 - vreme mlevenja

X_2 - vreme bubrenja

t – vreme

\bar{q} - srednja vrednost eksperimentalnih podataka

q_i - vrednost dobijena eksperimentalnim putem

$q_{m,i}$ - vrednost određena korišćenjem matematičkog modela

AIC - Akaike-ov informacioni kriterijum

AICc-Korigovani Akaike-ov informacioni kriterijum

L – maksimalna vrednost funkcije verodostojnosti

K - broj parametara modela

n – veličina seta podataka

q_w – dobijeno etarsko ulje iz biljnog materijala u toku procesa ispiranja

q_{d1} – dobijeno etarsko ulje iz biljnog materijala u toku procesa neometane difuzije

q_{d2} – dobijeno etarsko ulje iz biljnog materijala u toku procesa ometane difuzije

k_w - konstanta brzine za ispiranje

k_{d1} - konstanta brzine za neometanu difuziju

k_{d2} - konstanta brzine za ometenu difuziju

α_w - maksimalna brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi ispiranja ostvarene u vremenskom trenutku $t = \tau_w$,

α_{d1} - maksimalna brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi neometane difuzije ostvarene u vremenskom trenutku $t = \tau_{d1}$

α_{d2} - maksimalna brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi ometane difuzije ostvarene u vremenskom trenutku $t = \tau_{d2}$

τ_w - vremenski trenutak u kojem je brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi ispiranja maksimalna

τ_{d1} - vremenski trenutak u kojem je brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi neometane difuzije maksimalna

τ_{d2} - vremenski trenutak u kojem je brzina izdvajanja etarskog ulja u fazi ometane difuzije maksimalna

f_w – frakcija etarskog ulja izdvojena putem ispiranja

f_{d1} – frakcija etarskog ulja izdvojena putem neometane difuzije

f_{d2} – frakcija etarskog ulja izdvojena putem ometane difuzije

R^2 - koeficijent determinacije

Literatura

Abbassy, M.A., Marei, G.I., Antifungal and chemical composition of essential oils of *J. communis* and *Thymus vulgaris* against two phytopathogenic fungi, *Journal of Applied Sciences Research* 9 (2013) 4584–4588.

Adams, P.R. *Juniperus of the World: The genus Juniperus*. 2nd edition, Trafford Publishing Co., Vancouver (2008).

Adams, RP, *Junipers of the World: The Genus Juniperus*. Victoria Press, Trafford (2004).

Allaf, T., Tomao, V., Ruiz, K., Bachari, K., Maataoui, M.E., Chemat, F., Deodorization by instant controlled pressure drop autovaporization of rosemary leaves prior to solvent extraction of antioxidants, *LWT - Food Science and Technology* 51 (2013) 111-119.

Allaf, K., Rezzoug, S.A., Cioffi, F., Contento, M.P., *Processus de Traitement Thermo-Mécanique par Détente Instantanée Contrôlée des Fruits, Jus et Peaux d'Agumes*. French patent no. 98/11105 (1998).

Allaf, T., Tomao, V., Ruiz, K., Chemat, F., Instant controlled pressure drop technology and ultrasound assisted extraction for sequential extraction of essential oil and antioxidants. *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (2013) 1239–1246.

Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., Koltas, S., Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine* 11 (2004) 657–661.

Amaral, F.J. *Juniperus* L. In: Tutin T.G. et al. (eds.), *Flora Europaea* 1, University Press, Cambridge (1993), 46-48.

Amaresh, A., Guha, P., Khan, S., Zari, S.R., Comparative study of microwave assisted hydro-distillation with conventional hydro-distillation for extraction of essential oil from *Piper betle* L. *Biosciences, Biotechnology Research Asia* 14 (2017) 401-407.

Amenaghawon, N.A., Okhueleigbe, K.E., Ogbeide, S.E., Okieimen, C.O., Modelling the kinetics of steam distillation of essential oils from lemon grass (*Cymbopogon* spp.), *International Journal of Applied Science and Engineering* 12 (2014) 107 – 115.

Ammar, A.H., Meniai, A.H., Zagrouba, F., Experimental study and modeling of essential oil extraction from plants by hydrodistillation, *Chemical Engineering and Technology* 37 (2014) 1235–1242.

Angiolillo, L., Del Nobile, M. A., & Conte, A., The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves, *Current Opinion in Food Science* 5 (2015) 93 – 98.

Anitescu, G., Doneanu, C., Radulescu, V., Isolation of coriander oil: comparison between steam distillation and supercritical CO₂ extraction, *Flavour and Fragrance Journal* 12 (1997) 173–176.

Anon. (2009) Juniper, available at: <http://www.drugs.com/npp/juniper.html> [pristupljeno 11.06.2018.].

Arizaga, B., De Leon, A., Burguen, N., Lopez, A., Paz, D., Martinez, N., Lorenzo, D., Dellacassa, E., Bussi, J., A clean process for the production of oxygenated limonene derivatives starting from orange oil, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82 (2007) 532-538.

Armaka, M., Papanikolaou, E., Sivropoulou, A., Arsenakis, M., Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of *Herpes simplex* virus type-1. *Antiviral Research* 43 (1999) 79–92.

Assami, K., Pingret, D., Chemat, S., Meklati, B.Y., Chemat, F., Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 62 (2012) 99–105.

Aumatell, M.R., Gin: production and sensory properties, *Alcoholic Beverages, Sensory Evaluation and Consumer Research*, in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition Woodhead Publishing, Pennsylvania (2012) 267–280

Babu, K.G.D., Kaul, V.K., Variations in quantitative and qualitative characteristics of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) oils distilled under vacuum and at NTP, *Industrial Crops and Products* 26 (2007) 241–251.

Bais, S., Gill, N.S., Rana, N., Shandil, S., A Phytopharmacological review on a medicinal plant: *Juniperus communis*, review article, Hindawi Publishing Corporation, *International Scholarly Research Notices* 2014 (2014) 6.

Bais S., Gill, S., Rana, N., Effect of *J. communis* extract on reserpine induced catalepsy,” *Inventi Rapid: Ethnopharmacology* 2014 (2014) 1–4.

Banerjee, S., Mukherjee, A., Chatterjee T.K., Evaluation of analgesic activities of methanolic extract of medicinal plant *Juniperus communis* Linn, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4 (2012) 547–550.

Banerjee, S., Singh Hchatterjee, T.K., Evaluation of anti-diabetic and anti-hyperlipidemic potential of methanolic extract of *Juniperus communis* (L.) in streptozotocinnicotinamide induced diabetic rats, *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 4 (2013) 10–17.

Banthorpe, D.V., Charlwood, B.V., Francis, M.J.O., The biosynthesis of monoterpenes. *Chemical Reviews* 72 (1972) 115-55.

Barjaktarević, B., Sovilj, M., Knez, Z., Chemical composition of *Juniperus communis* L. fruits supercritical CO₂ extracts: dependence on pressure and extraction time, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005) 2630-2636.

Baser, K.H.C, Buchbauer, G, Essential oils - science: technology and applications, CRC Press, Taylor & Francis Group, New York (2010).

Benetia, S.C., Rosseta, E., Corazzab, M.L., Frizzoc, C.D., Luccioa, M.D., Oliveira, J.V., Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation, Journal of Food Engineering 102 (2011) 348–354,

Benetia, S.C., Rosseta, E., Corazzab, M.L., Frizzoc, C.D., Luccioa, M.D., Oliveira, J.V., Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation, Journal of Food Engineering 102 (2011) 348–354.

Benyoussef, E.H., Hasni, S., Belabbes, R., Bessiere, J.M., Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre, Chemical Engineering Journal 85 (2002) 1–5.

Berka-Zougali, B., Hassani, A., Besombes, C., Allaf, K., Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology, Journal of Chromatography A 1217 (2010) 6134–6142.

Billot, M., Wells F.V., Perfumery Technology. John Wiley & Sons Inc., New York (1975)

Blumenthal, M, Busse, WR, Goldberg i sar., The complete German Commission E Monographs: therapeutic guide to herbal medicines, American Botanical Council, Austin, TX (1998).

Blumenthal, M, The ABC clinical guide to herbs. American Botanical Council, Austin, TX (2003).

Bogdanović, A., Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik (IV)-oksidom, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd (2016).

Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., Bessiere, J., Comparative study of the kinetics extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation, Récent. Prog. Génie Procédés 92 (2005).

Breitmaier, E., Bibliography, in Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany (2006) 1-9

Brud, W.S, Fractionation and production of isolates. In: Second unido workshop on the essential oil industry (Wesoin - 2), United Nations Industrial Development Organization (UNIDO), Filipini (1991) 45-78.

Bua-in, S., Paisooksantivatana, Y. Essential oil and antioxidant activity of Cassumunar ginger (Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) collected from various parts of Thailand, Kasetsart Journal (Natural Science) 43 (2009) 467 – 475.

- Burt, S., Essential oils: their antimicrobial properties and potential application in foods- A review. *International Journal of Food Microbiology* 94, (2004) 223-253
- Butkienė R., Nivinskienė O., Mockutė D., Chemical composition of unripe and ripe berry essential oils of *Juniperus communis* L. growing wild in Vilnius district, *Chemija* 15 (2004) 57-63.
- Cameron, M., McMaster, L.D., Britz, T.J., Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components, *Dairy Science and Technology* 89 (2009) 83–98.
- Cassel, E., Vargas, R.M.F., Martinez, N., Lorenzo, D., Dellacass, E., Steam distillation modeling for essential oil extraction process, *Industrial Crops and Products* 29 (2009) 171–176.
- Chan, C.-H., Yusoff, R., Ngoh, G.-C., Kung, F.W.-L., Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants, *Journal of Chromatography A* 37 (2011) 6213–6225.
- Chatzapoulou, P. , Katsiotis, S.T., Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from the *Juniperus communis* L. berries, *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 70 (1995) 247-253.
- Chatzapoulou, P., Katsiotis, S.T., Study of the essential oil from *Juniperus communis* 'berries' (cones) growing wild in Greece, *Planta Medica* 59 (1993), 554-556.
- Chatzopoulou P.S., Katsiotis S.T., Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *Juniperus communis* L. berries, *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 70 (1995) 247-253.
- Colak, E., New markers of oxidative damage to macromolecules, *Journal of Medical Biochemistry* 27 (2008) 1–16.
- Connolly, J.D., Hill. R.A., *Dictionmy of Terpenoids*. Chapman & Hall, New York, (1992).
- Cossuta, D., *Supercritical Fluid Extraction of Biologically Active Compounds From Herbs Applicable in Pharmaceuticals, Cosmetics and Dietary Products*, Ph.D. Thesis, Budapest University of technology and economics, Faculty of chemical technology and biotechnology, (2010).
- Damjanović, B.M., Komparativna ispitivanja uslova ekstrakcije biološki aktivnih materijala ploda kleke (*Juniperus communis* L.) u standardnim, natkritičnim i supkritičnim uslovima, magistarski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd (2000).
- Damjanović-Vratnica, B., Skala, D, Baras, J., Petrović-Đakov, D., A comparison Between the Oil, Hexane Extract and Supercritical Carbon Dioxide Extract of *Juniperus communis* L., *Journal of Essential oil Research* 15 (2003) 90-92.

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

Degenhardt, J., Kollner, T.G., Gershenzon, J., Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal biodiversity in plants, *Phytochemistry* 70 (2009) 1621-37.

Dong, X., Jiang, Z.-T., Jiang, S., Li, R., Composition comparison of essential oils extracted by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation from *Petroselinum crispum* grown in China, *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20 (2017) 368-374.

El-Ghorab, A.H., Shaaban, H. A., El-massry, K.F., Shibamoto, T., Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (2008) 5021–5025.

Essawi, T., Srour, M., Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology* 70 (2000) 343

European Pharmacopoeia, 2013. 8th edition, Council of Europe, Strasbourg, 1285-1286.

Fang, T., Goto, M., Sasaki, M., Hirose, T., Combination of supercritical CO₂ and vacuum distillation for the fractionation of Bergamot oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004) 5162-5167.

Fang, T., Goto, M., Sasaki, M., Hirose, T., Combination of supercritical CO₂ and vacuum distillation for the fractionation of Bergamot oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004) 5162-5167, 2004.

Farah, A., Afifi, A., Fechtal, M., Chhen, A., Satrani, B., Talbi, M., Chaouch, A., Fractional distillation effect on the chemical composition of Moroccan myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oils, *Flavour and Fragrance Journal* 21 (2006) 351-354.

Feraz, R., Cardozo, G, da Silva, T, Fontes, J, Prata, A, Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopiya frutescens*, *Food Chemistry* 141 (2013) 196-200.

Ferhat, M.A., Boukhatem, M.N., Hazzit, M., Meklati, B.Y., Chemat, F., Cold Pressing, Hydrodistillation and Microwave Dry Distillation of Citrus Essential Oil from Algeria: A Comparative Study, *Electronic Journal of Biology* S:1 (2016) 30-41.

Filip S., Ekstrakcija bosiljka (*Ocimum basilicum*, Lamiaceae) ugljendioksidom u superkritičnom stanju i modelovanje ekstrakcionog sistema, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad, (2014).

Stuart, G.R., Lopes, D., Oliveira, J.V., Deterpenation of Brazilian orange peel oil by vacuum distillation, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 78 (2001) 1041-1044.

Garcia, C., Talarico, L., Almeida, N., Colombres, S., Duschatzky, C., Damonte, B., Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina, *Phytotherapy Research* 17 (2003) 1073–1075.

Garcia, R., Alves, E.S.S., Santos, M.P., Aquije, G.M.F.V., Fernandes, A.A.R., Santos, R.B., Ventura, J.A., Fernandes, P.M.B., Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives, *Brazilian Journal of Microbiology* 39 (2008) 163-8.

Golmakani, M.T., Rezaei, K., Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* Boiss, *European Journal of Lipid Science and Technology* 110 (2008) 448-454.

Guenther, E., *The Essential Oil*. Volume IV. D. Van Nostrand, New York (1950).

Halliwell, B, Gutteridge, J., The antioxidants of human extracellular fluids, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 280 (1990) 1–8.

Shaaban, H.A.E., El-Ghorab, A.H., Takayuki S., Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review, *Journal of Essential Oil Research* 24 (2012) 203-212

Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V., Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology* 86 (1999) 985–990.

Hanci, S, Sahin, S, Yilmaz, L., Isolation of volatile oil from thyme (*Thymbra spicata*) by steam distillation, *Nahrung* 47 (2003). 252-255.

Heinecke, J.W., Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis, *Current Opinion in Lipidology* 8 (1997) 268–274.

Rassem, H.H.A., Nour, A.H., Yunus R.M., Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 10(2016) 117-127.

Ho, Y.S., Oumarou, H.A.H., Fauduet, H., Porte, C., Kinetics and model building of leaching of water-soluble compounds of *Tilia sapwood*, *Separation and Purification Technology* 45 (2005) 169-173.

Höferl, M., Stoilova, I., Schmidt, I. i sar., Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*J. communis* L.) Essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism, *Antioxidants* 3 (2014) 81–98.

<https://www.flickr.com/photos/rakche/5420824795/sizes/1> (pristup 20.06.2018.god.)

Huie, C.W., A review of modern sample preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 373 (2002) 1299–1303.

Ishnava, K., Chauhan, J., Barad, M., Anticariogenic and phytochemical evaluation of *Eucalyptus globulus*, *Saudi Journal of Biological Sciences* 20 (2013) 69-74.

Ivanović, J., Kinetika i optimizacija procesa izolacije biljnih ekstrakata sa antibakterijskim dejstvom, Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, (2011).

Jain, S.K., Superoxide dismutase overexpression and cellular oxidative damage in diabetes. A commentary overexpression of mitochondrial superoxide dismutase in mice protects the retina from diabetes, *Free Radical Biology and Medicine* 41 (2006) 1187–1190.

Jeena, K., Liju, V., Kuttan, R., Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 57 (2013) 51-62.

Jovanović, B. Rod *Juniperus L.* In: Sarić M (ed.) *Flora Srbije 1*, Srpska Akademija nauka i umetnosti, Beograd (1992) 158-164.

Kapás, Á., András, C.D., Dobre, T.Gh., Vass, E., Székely, G., Stroescu, M., Lányi, S., Ábrahám, B., The kinetic of essential oil separation from fennel by microwave assisted hydrodistillation (MWHD), *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin Series B* 73 (2011) 113-20.

Karabegović, I.T., The kinetics of microwave-assisted extraction and characterization of bioactive components from cherry laurel (*Prunus laurocerasus L.*), *Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet, Leskovac*, (2011).

Karakaya, S., El, S.N., Karagozlu, N., Sahin, S., Sumnu, G., Bayramoglu, B., Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from rosemary, *The Journal of Food Science and Technology* 51 (2014) 1056-1065.

Katiyar, R., Modeling and simulation Of *Mentha arvensis L.* essential oil extraction by water - steam distillation process, *International Research Journal of Engineering and Technology* 4 (2017) 2793-2798.

Kirchner, J.G., Miller, J.M., *Producteon of terpeneless essential oils*, (1955) 432.

Kozioł, A., Stryjewska, A., Librowski, T., Sałat, K., Gaweł, M., Moniczewski, A., & Lochyński, S., An overview of the pharmacological properties and potential applications of natural monoterpenes, *Mini reviews in medicinal chemistry* 14 (2014) 1156-68.

Kristiawan, M., Sobolik, V., Allaf, K., Isolation of Indonesian cananga oil using multi cycle pressure drop process, *Journal of Chromatography A* 1192 (2008) 306–318.

Kusuma, H.S., Mahfud M., Microwave-assisted hydrodistillation for extraction of essential oil from patchouli (*Pogostemon cablin*) leaves, *Period. Polytech.-Chem.* 61 (2017b) 82-92.

Kusuma, H.S., Mahfud, M., Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method, Alexandria Engineering Journal (2017d) in press <https://doi.org/10.1016/j.aej.2017.02.007>

Kusuma, H.S., Mahfud, M., Microwave hydrodistillation for extraction of essential oil from *Pogostemon cablin* Benth: analysis and modeling of extraction kinetics, Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 4 (2017a) 46–54.

Kusuma, H.S., Mahfud, M., The extraction of essential oils from patchouli leaves (*Pogostemon cablin* Benth) using a microwave air-hydrodistillation method as a new green technique, RSC Advances 7 (2017c) 1336-1347.

Lakušić, R. Ekologija biljaka. IGKRO “Svjetlost”- OOUR zavod za udžbenike, Sarajevo, (1980).

Lang, Q.Y., Wai, C.M., Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review, Talanta 53 (2001)771–782.

Leadbeater, N.E., Organic synthesis using microwave heating. reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering. comprehensive organic synthesis II 2nd ed. 9 (2014) 234 – 286.

Lee, H.C., Cheng, S.S., Chang, S.T., Antifungal property of the essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum* leaf against tree pathogenic fungi, Journal of the Science of Food and Agriculture 85 (2005) 2047

Lekovite biljke SR Srbije, Posebno izdanje, knjiga DXCVIII, Srpska akademija nauka i umetnosti, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd, 1989.

Leonelli, C., Maso, T.J., Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 49 (2010) 885–900.

Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S., Vian, M.A., Chemat, F., Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry, TrAC Trends in Analytical Chemistry 47 (2013) 1-11.

Lim, T.K., Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Vol. 1, Fruits. Dordrecht; Heidelberg; London, New York, NY: Springer (2012).

Lopes, D., Raga, A.C., Stuart, G.R., Oliveira, J.V., Influence of vacuum distillation parameters on the chemical composition of a five-fold sweet orange oil (*Citrus sinensis* Osbeck), Journal of Essential Oil Research 15 (2003) 408–411.

Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F., Solvent free microwave extraction of *Elettaria cardamomum* L.: a multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil, Journal of Food Engineering 79 (2007) 1079–1086.

Lukić, P., Farmakogenozija, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet u Beogradu, Beograd, 1979.

Manvi, Garg G.P., Screening and evaluation of pharmacognostic, phytochemical and hepatoprotective activity of *J. communis* L. Stems, International Journal of Pharma and Bio Sciences, 1 (2010)1-11.

Marongiu, B., Porcedda, S., Piras, A., Sanna, G., Murreddu, M., Loddo, R., Extraction of *Juniperus communis* L. ssp. Nana Willd essential oil by supercritical carbon dioxide, Flavour and Fragrance Journal 21 (2006) 148-154.

Mc Donnell, E. , Hulin-Bertaud, S. , Sheehan, E.M. , Delahunty, C.M., Development and learning process of a sensory vocabulary for the odor evaluation of selected distilled beverages using descriptive analysis, Journal of sensory studies 16 (2001) 425 – 445.

Meizane, S., Kadi, H., Kinetics and thermodynamics of oil extraction from olive cake, Journal of the American Oil Chemist's Society 85 (2008) 391-396.

Mellouk, H., Naji, G., Allaf, K., Etude de l'extraction des huiles essentielles de baies de Genievre par Détente Instantanée Contrôlée DIC comparée à l'entraînement à la vapeur. In: Proceedings de 16es Rencontres Scientifiques et Technologiques des Industries Alimentaires (Agoral), Nantes, France (2004) 265–269.

Mijin, D.Ž., Petrović, S.D., Primena mikrotalasne tehnike u organskoj hemiji i organskoj hemijskoj tehnologiji, Zbornik radova Tehnološkog fakulteta, Leskovac 14 (2005) 11-23.

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

Milojević, S.Ž., Stojanović, T.D., Palić, R., Lazić, M.L., Veljković, V.B., Kinetic of distillation of essential oil from comn-iinuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries, Biochemical Engineering Journal 39 (2008) 547-53.

Misharina, T.A., Samusenko, A.L., Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures, Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiiia 44 (2008) 482–486.

Misharina, T.A., Terenina, M.B., Krikunova, N.I., Antioxidant properties of essential oils. model systems, Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiiia 45 (2009) 710–716.

Modnicki, D., Łabędzka, J., Estimation of the total phenolic compounds in juniper sprouts (*Juniperus communis*, Cupressaceae) from different places at the kujawsko-pomorskie province, Herba Polonica 55 (2009) 127-132.

Mohammadhosseini, M., Essential oils extracted using microwave-assisted hydrodistillation from aerial parts of eleven Artemisia species: chemical compositions and diversities in different geographical regions of Iran, Records of Natural Products 11 (2017) 114-129.

Moon, J.-K., Shibamoto T., Antioxidant assays for plant and food components, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (2009) 1655–1666.

Moreira, P., Smith, M.A., Zhu, X., Honda, K., Lee, H.-G., Aliev, G., Perry, G., Since oxidative damage is a key phenomenon in Alzheimer's disease, treatment with antioxidants seems to be a promising approach for slowing disease progression. Oxidative damage and Alzheimer's disease: Are antioxidant therapies useful?, *News Persp, Drag* 18 (2005) 13.

Morin, P., Gunther, C., Peyron, L., Richard H., Etude des phénomènes physicochimiques intervenant lors du procédé d'hydrodillation, *Bulletin de la Société Chimique de France* 5 (1985) 921-930.

Naves, Y.R., *Technologie et Chimie des Parfums Naturels*. Masson, Paris, (1974).

Neis, U., Intensification of biological and chemical processes by ultrasound, In: *Ultrasound in Environmental Engineering*, U. Neis (ed.), TU Hamburg-Harburg Reports on Sanitary Engineering 35 (2002)

Orav, A., Kailas, T., Müürisepp, M., Chemical investigation of the essential oil from berries and needles of common juniper (*Juniperus communis* L.) growing wild in Estonia, *Natural Product Research* 24 (2010) 1789-1799

Ornano, L., Venditti, A., Ballero, M., Sanna, C., Quassinti, Chemopreventive and antioxidant activity of the chamazulene-rich essential oil obtained from *Artemisia arborescens* L. growing on the Isle of La Maddalena, Sardinia, Italy, *Chemistry and Biodiversity* 10 (2013) 1464-74.

Park, K., Nam, D., Hun, H., Le, S., Jang, H., β -Caryophyllene oxide inhibits growth and induces apoptosis through the suppression of PI3K/AKT/mTOR/S6K1 pathways and ROS-mediated MAPKs activation, *Cancer Letters* 312 (2011) 178-88.

Pavicević, V., Bezotpadna tehnologija prerade ploda kleke (*Juniperus communis* L.), *Doktorska disertacija*, Univerzitet u Beogradu, Beograd (2016).

Pavićević, V.P., Marković, M.S., Milojević, S.Ž., Ristić, M.S., Povrenović, D.S., Veljković, V.B., Microwave-assisted hydrodistillation of juniper berry essential oil: kinetic modeling and chemical composition, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 91 (2016) 883–891.

Paz-Elizur, T., Sevilya, Z., Leitner-Dagan, Y., Elinger, D., Roisman L.C., Livneh, Z., DNA repair of oxidative DNA damage in human carcinogenesis: Potential application for cancer risk assessment and prevention, *Cancer Letters* 266 (2008) 60–72.

Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z., Blažević, N., Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae), *Acta Pharmaceutica* 55 (2005) 417–422.

Perini, J.F., Silvestre, W.P., Agostini, F., Toss, D., Pauletti, G.F., Fractioning of orange (*Citrus sinensis* L.) essential oil using vacuum fractional distillation, *Separation Science and Technology*, 52 (2017) 1397-140.

Petrović, S., Ivanović, J., Milovanović, S., Žižović, I., Comparative analyses of diffusion coefficients for different extraction processes from thyme, *Journal of the Serbian Chemical Society* 77 (2012) 799–813

Petrović, S.S., Uticaj različitih tehnika ekstrakcije i destilacije na hemijski sastav etarskog ulja i ekstrakata iz biljnih vrsta roda *Thymus* L., Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet, Leskovac (2014).

Preedy, V.R., Reilly, M.E., Mantle, D., Peters T.J., Oxidative damage in liver disease, *Journal-International Federation Of Clinical Chemistry* 10 (1998) 16–20.

Rabesiaka, L.R., Havet, J., Porte, C., Fauduet, H., Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L. – Analysis determination, kinetic reaction and model building, *Separation and Purification Technology* 54 (2007) 253-261.

Radosavljević, D.B., Ilić, S.S, Milojević, S.Ž., Bojović, Ž.C., Marković, M.S., Modelovanje kinetike hidrodestilacije etarskog ulja ploda kleke (*Juniperus communis* L.) nelinearnom regresijom, *Hemijska Industrija* 71 (2017) 371–382.

Rajković, M.B., Sredović, I.D., Milojković, S.R., Tošković, D.V., Stanojević, D.D., Primena mikrotalasne tehnike za razaranje uzoraka krompira u cilju određivanja teških metala atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom, *Journal of Engineering and Processing Management* 3 (2011) 43-58.

Ramawat, K.G., Merillon, J.M. (eds.), *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes Regular Monoterpenes and Sesquiterpenes (Essential Oils)*, R. Chizzola, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2013).

Rana, M., Bhatt, T.D., Upadhyay, S., A Short Review on the Study of Essential Oils, *Journal of Plant Research* 15, (2017) 66-72.

Ravindran, P.N., Beverages, T.G., Divakaran, M., Other herbs and spices: achiote to Szechuan pepper; K. V. Peter, *Handbook of herbs and spices*, Second edition, A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition Woodhead Publishing, Pennsylvania 2 (2012).

Rezazi, S., Hanini, S., Si-Moussa, C., Abdelmalek, S., Kinetic Modeling and Parameters Identification Based on Metaheuristic Optimization Techniques for Extraction Process of *Marrubium vulgare* L. Essential Oil, *Journal of Agricultural Science and Technology* 19 (2017) 307-322

Rezzoug, S.A., Boutekdjiret, C., Allaf, K., Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology, *Journal of Food Engineering* 71 (2005) 9–17.

Riera, E., Golas, Y., Blanco, A., Gallego, J.A., Blasco, M., Mulet, A., Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound, *Ultrasonics Sonochemistry* 11 (2004) 241–244.

Roberto, D, Micucci, P, Sebastian, T., Graciela, F., Anesini, C., Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: Relation to H₂O₂ modulation and cell proliferation, *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 106 (2010) 38–44

Ruberto, G., Baratta, M.T., Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems, *Food Chemistry* 69 (2000) 167–174.

Sahraoui, N., Vian, M.A., Bornard, I., Boutekedjiret, C., Chemat, F., Improved microwave steam distillation apparatus for isolation of essential oils. Comparison with conventional steam distillation, *Journal of Chromatography A* 1210 (2008) 229–233.

Salomé-Abarca, L.F., Soto-Hernández, R.M., Cruz-Huerta, N., González-Hernández, V.A., Chemical composition of scented extracts obtained from *Calendula officinalis* by three extraction methods, *Botanical Sciences* 93 (2015) 633–638

Sati, S. C., Joshi, S., Antibacterial potential of leaf extracts of *Juniperus communis* L. from Kumaun Himalaya, *African Journal of Microbiology Research*, 4 (2010) 1291–1294.

Schmid-Scheonbein, G.W., Analysis of inflammation, *Annual Review of Biomedical Engineering* 8 (2006) 93–151.

Serebryanaya F.K., Shinkarenko A.S., Morphological and anatomical study of shoots of *Juniperus communis* L. from Cupressaceae family, *Фармация и фармакология*. 8 (2015) 8- 10.

Shah, S., Sharma, A., Gupta, N., Extraction of oil from *Jatropha curcas* (L) seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction, *Bioresource Technology* 96 (2005) 21–123.

Sharma, A., Gupta, N., Ultrasonic pre-irradiation effect upon aqueous enzymatic oil extraction from almond and apricot seeds, *Ultrasonics Sonochemistry* 13 (2006) 529–534.

Silva, R.P.F.F., Rocha-Santos, T.A.P, Duarte, A., Supercritical fluid extraction of bioactive compounds, *Trends in Analytical Chemistry* 76 (2016) 40–51.

Silvestre, W.P., Agostini F., Muniz L.A.R., Pauletti G. F., Fractionating of green mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) essential oil by vacuumfractional distillation, *Journal of Food Engineering* 178 (2016) 90–94.

Skala, D., Žižović, I., Gavrančić, S., Primena natkritične ekstrakcije u prehambenoj industriji, *Hemijska Industrija* 56 (2002)19-28.

Skala, D., Žižović, I., Petrović, S., Etarska ulja-destilacija, ekstrakcija, izbor tehnologije i kvaliteta, *Hemijska Industrija* 53 (1999) 123-139.

Sourmaghi, M.H.S., Kiaee, G., Golfakhrabadi, F., Jamalifar, H., Khanavi, M., Comparison of essential oil composition and antimicrobial activity of *Coriandrum sativum* L. extracted by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation, *Journal of Food Science and Technology* 52 (2014) 2452–2457.

Sovilj, M., Spasojevic, M., Proizvodnja i primena etarskih ulja iz domaćeg lekovitog bilja, *Nacionalno društvo za procesnu tehniku i energetiku u poljoprivredi* 5 (2001) 34-38

Stanisavljević, I., Ultrazvučna ekstrakcija ulja iz semena duvana (*Nicotiana tabacum* L.) tipa Otlja, *Magistarski rad, Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet Leskovac*, (2006).

Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martinez, J.R., Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography, *Journal of Chromatography A* 1025 (2004) 105–113

Stratakos, A.C., Koidis, A., Methods for Extracting Essential Oils. in: *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, Preedy V.R. (Ed.), Academic Press, London (2016) 35-38.

Stuart, G.R., Lopes, D., Oliveira, J.V., Deterpenation of Brazilian orange peel oil by vacuum distillation, *Journal of the American Oil Chemists Society* 78 (2001) 1041-1044.

Stüker, C.Z., Costa, I.M., Placeres, A., Gallucci, S., Kato, V., Uso de destilação fracionada (DF) para obtenção de produtos diferenciados em perfumaria a partir de óleos essenciais de cítricos. *Annals In: Reunião da Sociedade Brasileira de Química*, 34.

Svoboda, K.P., Svoboda, T.G., Syred, A.D., *Secretory structures of aromatic and medicinal plants a review and an atlas of micrographs*, Microscopix Publications, Middle Travelly, Beguildy, Knighton, UK (2000)

Šilić, Č. Atlas drveća i grmlja, IP "Svjetlost", Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Sarajevo - Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd (1990).

Tisserand, R., Young, R., *Essential Oil Safety, A Guide for Health Care Professionals*, Second edition, Churchill Livingstone, Elsevier Ltd, England (2014).

Tomaino, A., Cimino, F. Zimbalatti, V., Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils, *Food Chemistry* 89 (2005) 549–554.

Tomišik, A., Sušenje i ekstrakcija lista sremuša (*Allium ursinum* L.) u cilju dobijanja funkcionalnih proizvoda sa bioaktivnim potencijalom, *Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad*, (2018).

Tongnuanchan, P., Benjakul, S., *Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation*, *Journal of Food Science* 79 (2014) 1231-49.

Tsochatzidis, N.A., Guiraud, P., Wilhelm, A.M., Delmas, H., Determination of velocity, size and concentration of ultrasonic cavitation bubbles by the phase-Doppler technique, *Chemical Engineering Science* 56 (2001) 1831-1840.

Tucakov, J., Lečenje biljem, Izdavačko preduzeće Rad, Beograd, (1973) 391.

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 (1995) 61–76.

Uhm, J. T., Yoon, W. B., Effects of high-pressure process on kinetics of leaching oil from soybean powder using hexane in batch systems, *Journal of Food Science* 76 (2011) 444-449.

Vega, G.R.; Cervantes, M.A.S.; Alvarado, M.A.G., Fractionation of vanilla oleoresin by supercritical CO₂ technology, *The Journal of Supercritical Fluids* 108 (2016) 79–88.

Vidaković, M., Franjić, J., Golosjemenjače, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (2004).

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D., Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—a review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9 (2008) 161–169.

Vinatoru, M., Toma, M. and Mason, T.J. 1999. Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents, In *Advances in Sonochemistry*, JAI Press, U.K. 5 (1999) 209–248.

Vogler, B.K., Ernst, E., Aloe vera: A systematic review of its clinical effectiveness, *British Journal of General Practice* 49 (1999) 823–828.

Moore, W., Fizička hemija, IV izdanje, prevod sa engleskog, Naučna knjiga, Beograd, (1975)

Ward, L.K. *Juniperus communis* L. Plantlife International, (2007).

Wei, A, Shibamoto, T., Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (2010) 7218–7225.

Wei, A, Shibamoto, T., Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (2007) 1737–1742.

Zhang, H.-F., Yang, X.-H., Wang, Y., Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: current status and future application, *Trends Food Sci. Technol.* 22 (2011) 672–688.

Zwenger, S., Basu, C., Plant terpenoids: applications and future potentials, *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 3 (2008) 1-7.

Živanović, S.T., Razvoj tržišta i kanali marketinga lekovitog i aromatičnog bilja u Srbiji, *Lekovite Sirovine* 30 (2010) 65-84.

Prilog I

Tabela PI1 Sastav frakcija izdvojenih iz suvih plodova HD i MAHD, mleveni 1 min

	HD						MAHD					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m
Tricyclene	0,08	0,08	0,07	0,06	0,05	0,05	0,08	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04
a-Thujene	2,17	2,10	1,77	1,60	1,52	1,49	2,00	2,03	1,85	1,51	1,35	1,41
a-Pinene	38,91	37,74	31,71	27,80	25,41	22,11	36,95	37,59	33,75	27,26	23,13	18,91
Camphene	0,31	0,34	0,22	0,21	0,24	0,15	0,31	0,36	0,34	0,20	0,17	0,12
Sabinene	23,97	24,68	23,27	19,54	15,14	9,65	23,47	23,45	22,52	18,84	13,09	7,44
b-Pinene	1,81	1,80	1,94	1,83	1,66	1,41	1,79	1,83	1,83	1,71	1,54	1,26
Myrcene	17,81	18,48	18,04	15,83	13,12	9,46	16,76	17,00	17,03	14,89	11,56	7,98
a-Phellandrene	0,04	0,02	0,03	0,05	0,07	0,12	0,03	0,03	0,03	0,03	0,07	0,15
d ³ -Carene	0,11	0,12	0,12	0,11	0,10	0,08	0,13	0,12	0,12	0,11	0,09	0,08
a-Terpinene	0,32	0,22	0,26	0,56	0,70	0,90	0,25	0,28	0,28	0,38	0,72	1,07
p-Cymene	0,59	0,88	1,25	1,11	0,96	0,72	0,57	0,62	0,86	1,09	0,70	0,80
Limonene	3,83	4,08	4,55	4,38	3,73	2,89	4,02	4,08	4,32	4,22	3,36	2,77
g-Terpinene	0,62	0,45	0,57	1,11	1,29	1,54	0,51	0,55	0,58	0,81	1,32	1,88
cis-Sabinene hydrate	0,10	0,11	0,15	0,11	0,07	0,04	0,19	0,14	0,16	0,18	0,10	0,03
Terpinolene	0,85	0,73	0,90	1,27	1,22	1,11	0,84	0,84	0,88	1,03	1,13	1,16
trans-Sabinene hydrate	0,14	0,19	0,27	0,28	0,26	0,18	0,22	0,18	0,23	0,32	0,25	0,15
a-Campholenal	0,05	0,05	0,09	0,15	0,21	0,20	0,06	0,07	0,08	0,15	0,22	0,21
trans-Verbenol	0,04	0,04	0,06	0,11	0,12	0,12	0,07	0,07	0,08	0,13	0,16	0,19
Pinocarvone	0,06	0,08	0,13	0,20	0,28	0,29	0,09	0,09	0,12	0,22	0,33	0,40
Borneol	0,03	0,10	0,13	0,15	0,14	0,08	0,09	0,08	0,12	0,19	0,19	0,09

Terpinen-4-ol	1,09	1,01	1,92	3,29	4,76	5,52	1,26	1,23	1,66	3,08	4,95	5,95
a-Terpineol	0,03	0,06	0,11	0,13	0,13	0,21	0,04	0,04	0,08	0,15	0,17	0,29
Myrtenal	0,07	0,05	0,12	0,22	0,32	0,54	0,07	0,07	0,11	0,21	0,36	0,65
Bornyl acetate	0,01	0,02	0,03	0,06	0,06	0,04	0,07	0,02	0,04	0,06	0,06	0,04
Myrtenyl acetate	0,10	0,11	0,22	0,32	0,41	0,36	0,14	0,14	0,20	0,33	0,41	0,33
d-Elemene	0,02		0,04	0,09	0,13	0,17	0,05	0,04	0,06	0,10	0,18	0,19
a-Cubebene	0,32	0,38	0,71	0,89	0,97	0,90	0,44	0,44	0,63	1,02	1,00	0,88
b-Elemene	0,13	0,16	0,30	0,40	0,45	0,44	0,19	0,19	0,27	0,46	0,49	0,33
Sibirene	0,03	0,03	0,07	0,12	0,17	0,20	0,05	0,05	0,08	0,13	0,21	0,22
g-Elemene	0,77	0,85	1,64	2,39	2,96	3,03	1,18	1,16	1,64	2,83	3,46	3,25
a-Humulene	0,69	0,59	1,12	1,97	3,20	5,24	1,01	0,87	1,27	2,37	4,13	6,42
trans-b-Farnesene	0,22	0,26	0,52	0,80	1,02	1,10	0,35	0,34	0,50	0,94	1,18	1,11
g-Muurolene	0,52	0,56	1,06	1,60	2,17	2,57	0,80	0,77	1,09	1,92	2,63	2,86
Germacrene D	2,00	2,10	4,14	7,37	10,27	11,86	3,62	3,48	4,74	8,59	12,93	12,68
b-Selinene	0,10	0,10	0,16	0,22	0,31	0,55	0,13	0,13	0,17	0,26	0,38	0,65
d-Cadinene	0,33	0,25	0,45	0,87	1,41	2,57	0,47	0,39	0,54	0,98	1,76	3,10
Selina-3,7(11)-diene	0,14	0,11	0,20	0,33	0,57	1,16	0,17	0,14	0,22	0,40	0,75	1,54
Germacrene B	0,38	0,23	0,34	0,68	1,44	3,57	0,38	0,24	0,35	0,67	1,61	4,75
Germacrene D-4-ol	0,45	0,39	0,71	1,23	2,08	3,68	0,67	0,58	0,82	1,61	2,75	4,55
Spathulenol	0,13	0,11	0,15	0,15	0,20	0,76	0,12	0,00	0,00	0,00	0,27	1,28
Caryophyllene oxide	0,08	0,07	0,12	0,13	0,19	0,51	0,10	0,07	0,11	0,20	0,31	0,98
epi-a-Cadinol	0,28	0,16	0,23	0,20	0,26	1,20	0,16	0,07	0,11	0,22	0,23	1,82
a-Cadinol	0,29	0,12	0,09	0,10	0,21	1,26	0,14	0,05	0,06	0,12	0,26	0,00

Tabela PI2 Sastav frakcija izdvojenih iz nabubrelih plodova (24 h) HD i MAHD, mleveni 1 min

	HD						MAHD					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m
Tricyclene	0,10	0,08	0,08	0,07	0,05	0,04	0,09	0,09	0,08	0,06	0,05	0,04
a-Thujene	2,37	2,12	1,95	1,84	1,49	1,61	2,12	2,12	1,97	1,59	1,27	1,46
a-Pinene	42,85	38,42	34,88	33,13	25,47	19,36	39,45	39,15	36,34	28,81	22,01	17,55
Camphene	0,37	0,35	0,32	0,31	0,18	0,15	0,32	0,37	0,36	0,21	0,14	0,13
Sabinene	22,72	23,05	21,16	19,72	13,21	6,85	23,07	23,47	23,11	18,19	10,14	7,25
b-Pinene	1,86	1,90	1,87	1,86	1,64	1,39	1,90	1,83	1,84	1,81	1,37	1,26
Myrcene	16,87	18,22	17,47	16,66	12,82	8,08	16,81	17,21	17,95	15,72	10,22	7,27
a-Phellandrene	0,04	0,04	0,04	0,05	0,09	0,22	0,03	0,03	0,03	0,05	0,08	0,18
d ³ -Carene	0,11	0,12	0,11	0,11	0,09	0,07	0,13	0,13	0,14	0,13	0,09	0,07
a-Terpinene	0,40	0,48	0,48	0,56	0,94	1,49	0,28	0,27	0,35	0,67	0,78	1,26
p-Cymene	0,43	0,58	0,84	0,85	0,77	0,92	0,48	0,59	0,65	0,78	0,69	0,94
Limonene	3,44	4,15	4,25	4,22	3,73	3,17	3,81	3,98	4,34	4,33	2,95	2,86
g-Terpinene	0,68	0,89	0,96	1,09	1,71	2,46	0,56	0,54	0,69	1,30	1,44	2,19
cis-Sabinene hydrate	0,06	0,08	0,11	0,10	0,07	0,04	0,13	0,12	0,13	0,14	0,07	0,05
Terpinolene	0,76	1,04	1,11	1,16	1,36	1,45	0,83	0,83	0,98	1,31	1,08	1,29
trans-Sabinene hydrate	0,08	0,13	0,20	0,20	0,24	0,24	0,15	0,16	0,18	0,26	0,25	0,18
a-Campholenal	0,02	0,06	0,09	0,12	0,22	0,29	0,05	0,05	0,06	0,15	0,25	0,24
trans-Verbenol		0,05	0,06	0,07	0,13	0,17	0,06	0,06	0,06	0,13	0,17	0,22
Pinocarvone	0,04	0,07	0,12	0,16	0,29	0,40	0,07	0,08	0,09	0,22	0,39	0,48
Borneol		0,04	0,09	0,10	0,12	0,08	0,05	0,07	0,08	0,17	0,20	0,10
Terpinen-4-ol	0,84	1,11	2,01	2,58	5,25	8,79	1,10	1,09	1,31	3,32	5,99	7,39
a-Terpineol			0,06	0,07	0,15	0,30		0,03	0,04	0,11	0,24	0,38

Myrtenal	0,05	0,04	0,13	0,16	0,37	0,87	0,06	0,06	0,06	0,21	0,49	0,84
Bornyl acetate		0,02	0,03	0,03	0,02	0,06	0,06	0,05	0,08	0,05	0,06	0,06
Myrtenyl acetate	0,06	0,11	0,19	0,22	0,36	0,47	0,11	0,12	0,14	0,29	0,42	0,40
d-Elemene		0,03	0,05	0,07	0,15	0,18	0,04	0,03	0,04	0,11	0,20	0,25
a-Cubebene	0,21	0,37	0,61	0,69	1,01	1,04	0,35	0,39	0,48	0,90	1,07	0,99
b-Elemene	0,09	0,16	0,26	0,30	0,48	0,41	0,15	0,16	0,20	0,41	0,51	0,50
Sibirene	0,36	0,03	0,06	0,08	0,17	0,21	0,04	0,04	0,05	0,13	0,24	0,20
g-Elemene	0,53	0,88	1,52	1,84	3,10	3,23	0,92	0,98	1,20	2,57	3,63	3,19
a-Humulene	0,57	0,64	1,10	1,48	3,42	5,73	0,87	0,72	0,85	2,29	5,00	6,34
trans-b-Farnesene	0,14	0,26	0,47	0,59	1,08	1,18	0,26	0,28	0,36	0,03	1,28	1,04
g-Muurolene	0,38	0,57	0,96	1,20	2,21	2,70	0,64	0,64	0,77	0,87	2,81	2,76
Germacrene D	1,29	2,42	4,20	5,48	10,78	10,86	2,77	2,85	3,56	8,54	14,25	10,43
b-Selinene	0,09	0,10	0,14	0,17	0,31	0,61	0,12	0,11	0,13	0,24	0,41	0,68
d-Cadinene	0,28	0,29	0,47	0,65	1,48	2,74	0,41	0,32	0,38	0,97	2,01	2,53
Selina-3,7(11)-diene	0,13	0,10	0,17	0,23	0,57	0,19	0,17	0,12	0,13	0,37	0,88	1,51
Germacrene B	0,40	0,24	0,33	0,46	1,42	4,07	0,42	0,20	0,20	0,60	1,99	4,89
Germacrene D-4-ol	0,39	0,43	0,70	0,94	2,24	3,97	0,59	0,49	0,57	1,46	3,39	4,12
Spathulenol	0,17	0,06	0,08	0,10	0,17	0,93	0,00	0,00	0	0,13	0,31	1,62
Caryophyllene oxide	0,09	0,01	0,07	0,08	0,18	0,67	0,10	0,05	0	0,14	0,39	1,12
epi-a-Cadinol	0,34	0,15	0,14	0,13	0,26	0,29	0,21	0,07	0	0,12	0,37	0,35
a-Cadinol	0,38	0,12	0,07	0,06	0,21	2,00	0,22	0,05	0	0,09	0,43	3,38

Tabela PI3 Sastav frakcija izdvojenih iz suvih plodova SHDR i SMAHDR, mleveni 1 min

	SHDR						SMAHDR					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m
Tricyclene	0,09	0,07	0,06	0,05	0,04	0,04	0,08	0,08	0,08	0,07	0,06	0,04
a-Thujene	2,27	1,83	1,72	1,48	1,32	1,39	1,92	1,90	1,92	1,90	1,57	1,09
a-Pinene	42,03	34,40	31,65	26,47	22,13	18,32	36,06	35,24	35,49	34,73	28,88	17,57
Camphene	0,31	0,25	0,23	0,20	0,16	0,12	0,25	0,25	0,25	0,26	0,21	0,12
Sabinene	23,41	22,99	21,06	17,15	11,35	6,01	22,20	21,80	21,96	22,03	19,06	8,85
b-Pinene	2,11	1,86	1,86	1,76	1,54	1,21	1,82	1,81	1,80	1,82	1,76	1,26
Myrcene	17,96	18,73	17,27	14,57	10,92	7,20	15,90	16,10	16,73	16,79	15,24	8,63
a-Phellandrene	0,03	0,02	0,04	0,04	0,07	0,12	0,03	0,03	0,03	0,03	0,05	0,09
d ³ -Carene	0,11	0,12	0,12	0,11	0,08	0,07	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,08
a-Terpinene	0,26	0,20	0,41	0,49	0,66	0,97	0,28	0,29	0,36	0,35	0,59	0,86
p-Cymene	0,64	1,08	0,90	1,23	1,05	0,91	0,55	0,60	0,53	0,72	0,78	0,55
Limonene	3,61	4,54	4,30	4,10	3,31	2,56	3,72	3,77	3,86	4,04	4,21	2,74
g-Terpinene	0,47	0,44	0,81	0,95	1,18	1,62	0,56	0,56	0,68	0,66	1,12	1,59
cis-Sabinene hydrate	0,08	0,13	0,12	0,14	0,10	0,05	0,14	0,14	0,13	0,13	0,15	0,05
Terpinolene	0,62	0,80	1,06	1,10	1,08	1,04	0,84	0,83	0,93	0,90	1,23	1,12
trans-Sabinene hydrate	0,14	0,25	0,27	0,38	0,37	0,21	0,18	0,20	0,19	0,21	0,28	0,21
a-Campholenal	0,05	0,08	0,11	0,21	0,32	0,27	0,08	0,08	0,08	0,09	0,15	0,26
trans-Verbenol		0,05	0,09	0,13	0,15	0,12	0,08	0,08	0,09	0,08	0,15	0,19
Pinocarvone	0,07	0,11	0,15	0,30	0,47	0,38	0,11	0,12	0,12	0,14	0,24	0,41
Borneol	0,06	0,12	0,13	0,21	0,23	0,12	0,08	0,10	0,09	0,12	0,20	0,19
Terpinen-4-ol	0,72	1,45	2,18	4,24	7,00	6,90	1,62	1,60	1,58	1,71	3,15	6,09
a-Terpineol	0,04	0,11	0,10	0,19	0,40	0,54	0,09	0,08	0,06	0,08	0,14	0,42

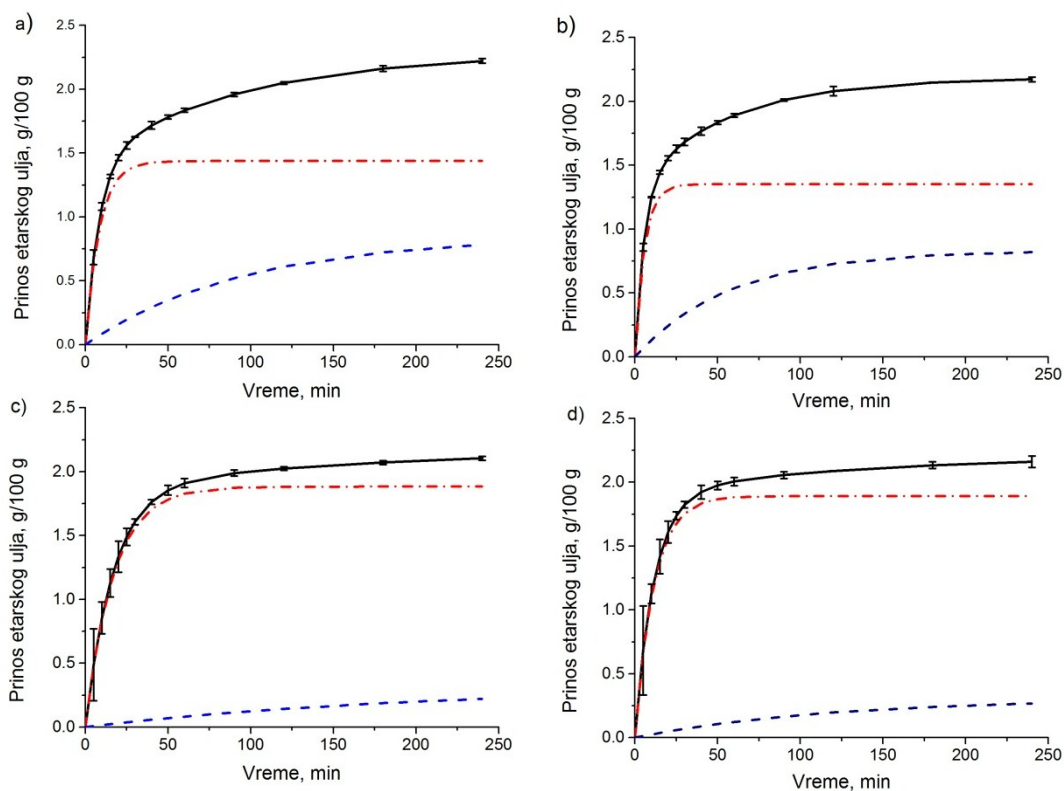
Myrtenal	0,04	0,09	0,14	0,29	0,61	0,85	0,16	0,14	0,13	0,13	0,23	0,67
Bornyl acetate	0,00	0,02	0,04	0,05	0,06	0,04	0,01	0,02	0,02	0,02	0,06	0,06
Myrtenyl acetate	0,07	0,20	0,24	0,39	0,48	0,39	0,15	0,17	0,16	0,18	0,30	0,40
d-Elemene		0,03	0,06	0,10	0,16	0,21	0,05	0,06	0,06	0,06	0,09	0,29
a-Cubebene	0,19	0,70	0,77	1,04	1,09	0,97	0,45	0,52	0,52	0,58	0,86	1,00
b-Elemene	0,08	0,29	0,34	0,47	0,53	0,50	0,20	0,23	0,22	0,25	0,38	0,49
Sibirene		0,06	0,09	0,14	0,21	0,22	0,06	0,08	0,07	0,07	0,12	0,24
g-Elemene	0,45	1,53	1,95	2,91	3,54	3,46	1,25	1,49	1,43	1,51	2,36	3,52
a-Humulene	0,48	0,84	1,44	2,49	4,18	6,30	1,41	1,47	1,32	1,31	2,07	5,84
trans-b-Farnesene	0,12	0,47	0,63	0,99	1,19	1,17	0,37	0,48	0,46	0,48	0,79	1,22
g-Muurolene	0,33	0,93	1,26	1,98	2,67	2,99	0,89	1,04	0,98	1,02	1,60	2,93
Germacrene D	0,96	3,41	5,39	8,58	12,18	12,53	3,67	4,77	4,68	4,62	7,67	14,28
b-Selinene	0,08	0,13	0,17	0,27	0,40	0,69	0,16	0,17	0,15	0,16	0,22	0,59
d-Cadinene	0,24	0,35	0,61	1,06	1,83	3,06	0,66	0,65	0,60	0,57	0,91	2,82
Selina-3,7(11)-diene	0,13	0,15	0,24	0,44	0,77	1,43	0,28	0,25	0,21	0,22	0,33	1,26
Germacrene B	0,40	0,23	0,44	0,93	2,07	4,52	0,86	0,58	0,45	0,43	0,65	3,66
Germacrene D-4-ol	0,40	0,54	0,93	1,63	2,82	4,48	1,06	1,07	0,88	0,86	1,40	4,17
Spathulenol	0,17	0,12	0,16	0,21	0,30	1,06	0,36	0,19	0,13	0,12	0,15	0,84
Caryophyllene oxide	0,10	0,10	0,13	0,16	0,28	0,72	0,20	0,15	0,11	0,11	0,15	0,71
epi-a-Cadinol	0,30	0,16	0,20	0,26	0,37	1,90	0,43	0,33	0,17	0,17	0,18	1,05
a-Cadinol	0,38		0,11	0,15	0,31	2,06	0,64	0,38	0,20	0,16	0,16	1,53

Tabela PI4 Sastav frakcija izdvojeni iz nabubreljih plodova (24 h) SHDR i SMAHDR, mleveni 1 min

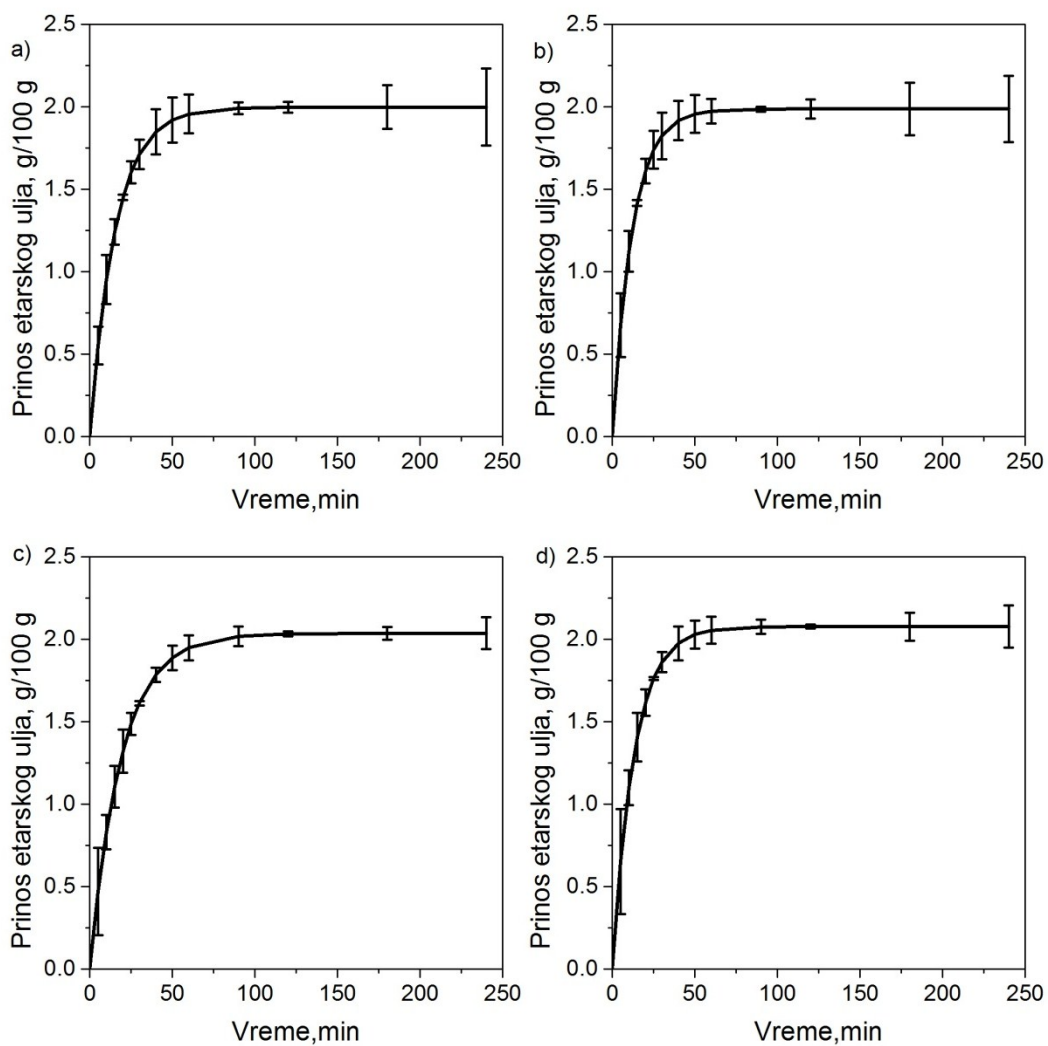
	SHDR						SMAHDR					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m	%m/m
Tricyclene	0,08	0,08	0,08	0,07	0,06	0,03	0,10	0,08	0,08	0,07	0,05	0,04
a-Thujene	2,09	2,02	2,09	1,90	1,58	1,01	2,37	2,12	1,95	1,84	1,49	1,61
a-Pinene	38,88	37,21	38,67	34,51	28,34	15,31	42,85	38,42	34,88	33,13	25,47	19,36
Camphene	0,28	0,26	0,29	0,27	0,24	0,10	0,37	0,35	0,32	0,31	0,18	0,15
Sabinene	23,33	22,25	23,00	21,95	16,34	6,66	22,72	23,05	21,16	19,72	13,21	6,85
b-Pinene	1,76	1,78	1,78	1,76	1,77	1,10	1,86	1,90	1,87	1,86	1,64	1,39
Myrcene	16,65	16,23	16,48	17,16	14,47	7,27	16,87	18,22	17,47	16,66	12,82	8,08
a-Phellandrene	0,03	0,03	0,03	0,04	0,06	0,12	0,04	0,04	0,04	0,05	0,09	0,22
d ³ -Carene	0,12	0,12	0,13	0,13	0,12	0,07	0,11	0,12	0,11	0,11	0,09	0,07
a-Terpinene	0,30	0,34	0,36	0,45	0,76	1,03	0,40	0,48	0,48	0,56	0,94	1,49
p-Cymene	0,46	0,46	0,52	0,73	0,75	0,74	0,43	0,58	0,84	0,85	0,77	0,92
Limonene	3,71	3,69	3,79	4,16	3,89	2,58	3,44	4,15	4,25	4,22	3,73	3,17
g-Terpinene	0,61	0,65	0,66	0,84	1,40	1,92	0,68	0,89	0,96	1,09	1,71	2,46
cis-Sabinene hydrate	0,11	0,11	0,10	0,13	0,12	0,05	0,06	0,08	0,11	0,10	0,07	0,04
Terpinolene	0,86	0,88	0,87	1,02	1,24	1,19	0,76	1,04	1,11	1,16	1,36	1,45
trans-Sabinene hydrate	0,13	0,15	0,14	0,21	0,27	0,23	0,08	0,13	0,20	0,20	0,24	0,24
a-Campholenal	0,06	0,07	0,06	0,09	0,19	0,34	0,02	0,06	0,09	0,12	0,22	0,29
trans-Verbenol	0,07	0,08	0,07	0,09	0,14	0,22		0,05	0,06	0,07	0,13	0,17
Pinocarvone	0,08	0,09	0,09	0,14	0,31	0,53	0,04	0,07	0,12	0,16	0,29	0,40
Borneol	0,06	0,07	0,07	0,13	0,22	0,20		0,04	0,09	0,10	0,12	0,08
Terpinen-4-ol	1,26	1,38	1,26	1,89	4,15	8,51	0,84	1,11	2,01	2,58	5,25	8,79
a-Terpineol	0,04	0,04	0,03	0,06	0,17	0,63			0,06	0,07	0,15	0,30

Myrtenal	0,08	0,08	0,07	0,12	0,29	0,97	0,05	0,04	0,13	0,16	0,37	0,87
Bornyl acetate	0,01	0,02	0,01	0,02	0,04	0,06		0,02	0,03	0,03	0,02	0,06
Myrtenyl acetate	0,11	0,14	0,12	0,18	0,31	0,48	0,06	0,11	0,19	0,22	0,36	0,47
d-Elemene	0,03	0,05	0,04	0,05	0,11	0,35		0,03	0,05	0,07	0,15	0,18
a-Cubebene	0,35	0,47	0,41	0,61	0,86	1,24	0,21	0,37	0,61	0,69	1,01	1,04
b-Elemene	0,15	0,20	0,17	0,25	0,39	0,60	0,09	0,16	0,26	0,30	0,48	0,41
Sibirene	0,04	0,06	0,05	0,07	0,14	0,26	0,36	0,03	0,06	0,08	0,17	0,21
g-Elemene	0,92	1,27	1,07	1,51	2,52	3,97	0,53	0,88	1,52	1,84	3,10	3,23
a-Humulene	0,94	1,22	0,91	1,18	2,55	7,15	0,57	0,64	1,10	1,48	3,42	5,73
trans-b-Farnesene	0,27	0,40	0,33	0,48	0,82	1,41	0,14	0,26	0,47	0,59	1,08	1,18
g-Muurolene	0,65	0,87	0,72	0,99	1,78	3,35	0,38	0,57	0,96	1,20	2,21	2,70
Germacrene D	2,47	3,87	3,32	4,45	8,52	14,82	1,29	2,42	4,20	5,48	10,78	10,86
b-Selinene	0,12	0,15	0,12	0,15	0,27	0,73	0,09	0,10	0,14	0,17	0,31	0,61
d-Cadinene	0,47	0,58	0,41	0,53	1,08	3,33	0,28	0,29	0,47	0,65	1,48	2,74
Selina-3,7(11)-diene	0,21	0,23	0,16	0,20	0,44	1,61	0,13	0,10	0,17	0,23	0,57	0,19
Germacrene B	0,62	0,58	0,32	0,34	0,84	0,00	0,40	0,24	0,33	0,46	1,42	4,07
Germacrene D-4-ol	0,71	0,90	0,63	0,78	1,72	4,98	0,39	0,43	0,70	0,94	2,24	3,97
Spathulenol	0,27	0,19	0,10	0,00	0,17	1,77	0,17	0,06	0,08	0,10	0,17	0,93
Caryophyllene oxide	0,14	0,14	0,08	0,09	0,18	1,12	0,09	0,01	0,07	0,08	0,18	0,67
epi-a-Cadinol	0,43	0,28	0,16	0,14	0,19	1,96	0,34	0,15	0,14	0,13	0,26	0,29
a-Cadinol	0,04	0,32	0,20	0,14	0,19	0,00	0,38	0,12	0,07	0,06	0,21	2,00

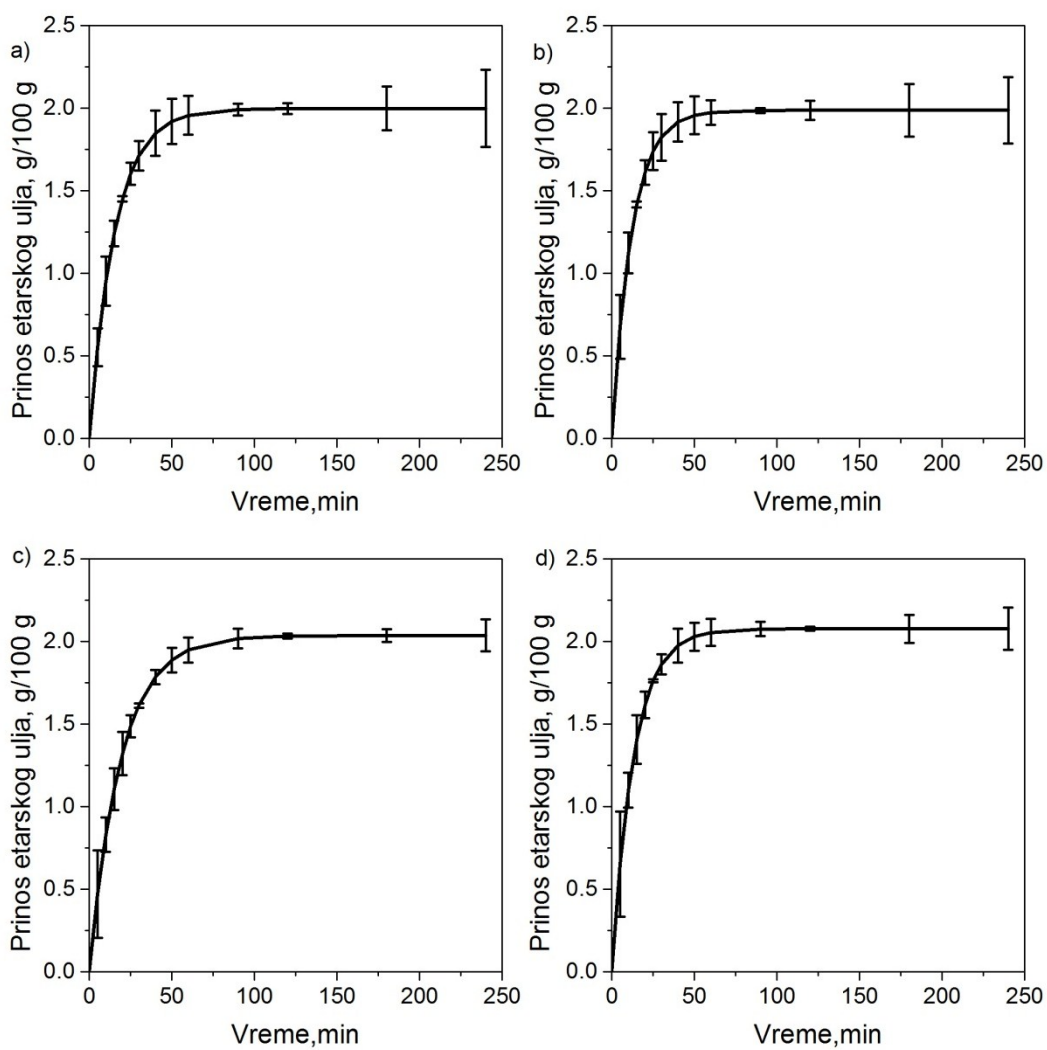
Prilog II



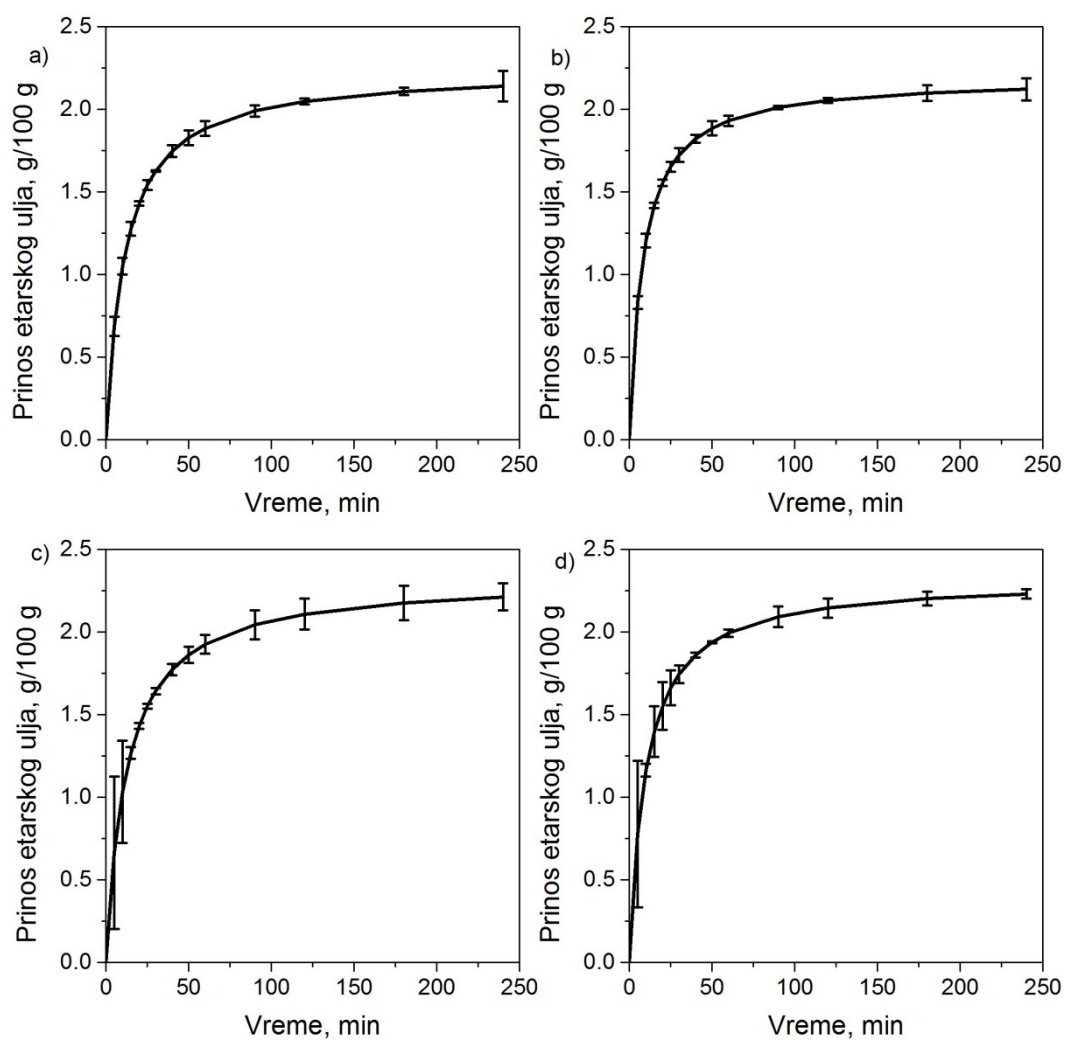
Slika PIII Model III: Doprinosi za dva procesa prenosa mase istovremeno sa napretkom izdvajanja JEO HD i MAHD, suvo mlevenje 1 min (HD - a; MAHD - c) i mokro mlevenje 1 min, prethodno bubrenje plodova 24 h (HD - b; MAHD - d) (Faza ispiranja - crta tačka linija, neometana difuzija - isprekidana linija i ukupno izdvojeno ulje - puna linija)



Slika PII2 Upoređivanje Modela IV sa eksperimentalnim podacima za HD (a i b) i MAHD (c i d) etarskog ulja ploda kleke suvo mlevenog 1 min (a i c) i mokro mlevenog 1min, 24 h bubrenja (b i d)

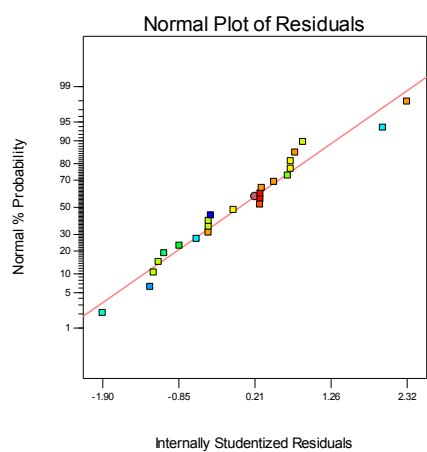


Slika PII3 Upoređivanje Modela V sa eksperimentalnim podacima za HD (a i b) i MAHD (c i d) etarskog ulja ploda kleke suvo mlevenog 1 min (a i c) i mokro mlevenog 1 min, 24 h bubrenje (b i d)

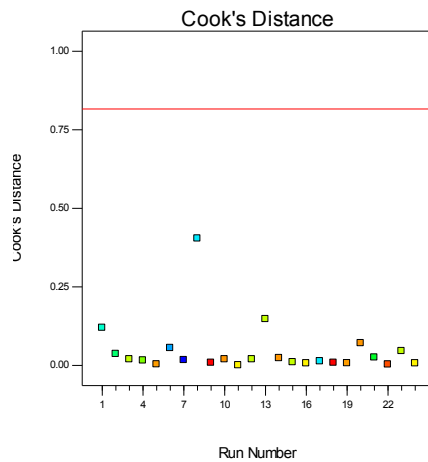


Slika PII4 Upoređivanje Modela VI sa eksperimentalnim podacima za HD (a i b) i MAHD (c i d) etarskog ulja ploda kleke suvo mlevenog 1 min (a i c) i mokro mlevenog 1 min, 24 h bubrenja (b i d)

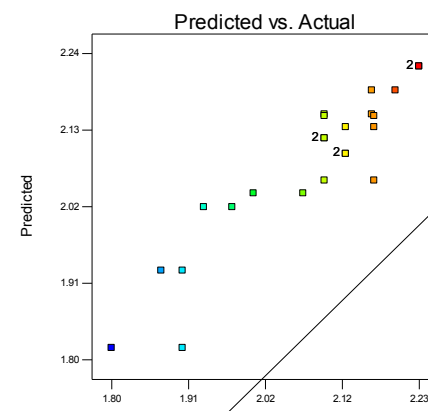
Prilog III



a)



b)



c)

Slika PIII1 Normalni grafikon reziduala (a), Kukovo rastojanje (b) poređenje regresionog modela sa eksperimentom (c) za 2FI model

Biografija autora

Miljana Marković je rođena 12.03.1986. godine u Beogradu. Osnovne akademske studije, kao i Diplomске akademske studije je završila na Fakultetu tehničkih nauka u Kosovskoj Mitrovici Univerziteta u Prištini, smer Inženjerstvo zaštite životne sredine, sa prosečnom ocenom 7,42 odnosno 8,90, respektivno. Doktorske akademske studije je upisala 2011. godine na studijskom programu Hemijsko inženjerstvo Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i ispite položila sa prosečnom ocenom 9,17. Od marta 2012. je angažovana kao asistent na Fakultetu tehničkih nauka u Kosovskoj Mitrovici, Univerzitet u Prištini.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора _____ Miljana Marković _____

Број индекса _____ 4001/2011 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ФРАКЦИОНА ХИДРОДЕСТИЛАЦИЈА И РЕКТИФИКАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА
ПЛОДА КЛЕКЕ (*JUNIPERUS COMMUNIS L.*)

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Миљана Марковић

Број индекса 4001/2011

Студијски програм хемијско инжењерство

Наслов рада Фракциона хидродестилација и ректификација етарског уља плода
клеке (*Juniperus communis* L.)

Ментор проф. др Невенка Бошковић Враголовић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ФРАКЦИОНА ХИДРОДЕСТИЛАЦИЈА И РЕКТИФИКАЦИЈА ЕТАРСКОГ УЉА
ПЛОДА КЛЕКЕ (*JUNIPERUS COMMUNIS L.*)

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____
