

# Ekstrakcija fenolnih spojeva iz komine masline

---

Đuran, Luka

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:327429>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Luka Đuran

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Luka Đuran

EKSTRAKCIJA FENOLNIH SPOJEVA IZ KOMINE  
MASLINE

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Jasna Prlić Kardum, prof. dr. sc.

Članovi ispitnog povjerenstva:

Jasna Prlić Kardum, prof. dr. sc.

Aleksandra Sander, prof. dr. sc.

Dragana Mutavdžić Pavlović, izv. prof. dr. sc.

Zagreb, rujan 2017.

*Zahvaljujem se mentorici prof.dr.sc. Jasni Prlić Kardum na savjetima i pomoći pri izradi završnog rada. Zahvaljujem se i ostalim djelatnicima Zavoda za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo, a posebno asistentici Anamariji Mitar, mag.ing.cheming., na njenom strpljenju i vječitom optimizmu. Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na silnoj podršci.*

## SAŽETAK

Diljem Mediterana provode se procesi obrade maslina uslijed kojih nastaje komina masline koja predstavlja čvrsti otpad. Ona sadrži vrijedne bioaktivne komponente koje nalaze primjenu u brojnim industrijama kao što su prehrambena, farmaceutska i kozmetička. Međutim, u komini masline također nalazimo veću koncentraciju lipida, organskih kiselina i fenolnih spojeva koji tijekom vremena svojim fitotoksičnim djelovanjem negativno utječu na okoliš.

Kao što su pokazala prethodna istraživanja, komina masline bogata je snažnim antioksidansima upravo zbog visokog sadržaja fenolnih spojeva. Pokazano je da fenolni spojevi pozitivno utječu na ljudsko zdravlje zahvaljujući njihovoj sposobnosti vezanja slobodnih radikala u organizmu.

Kao potencijalno rješenje poboljšanja učinkovitosti ekstrakcije nameću se niskotemperaturna eutektička otapala.

Nova, dizajnirana eutektička otapala pokazala su veću učinkovitost u ekstrakciji biaktivnih komponenata u odnosu na konvencionalna otapala ili vodu, dok istodobno zadovoljavaju načela „zelene kemije“ primjenom netoksičnih, nehlapljivih, sigurnih i obnovljivih otapala.

U ovom radu ispitana je mogućnost poboljšanja učinkovitosti ekstrakcije fenolnih spojeva iz komine masline koristeći prirodna eutektička otapala.

Prikazani su rezultati ekstrakcije fenolnih spojeva iz komine masline, definiran je najučinkovitiji način miješanja i određeno je optimalno vrijeme trajanja ekstrakcije.

**Ključne riječi:** ekstrakcija, fenolni spojevi, komina masline, prirodna eutektička otapala

## **ABSTRACT**

Olive processing being done across the Mediterranean region results in generating olive cake which is a solid waste. It contains valuable bioactive components used in various industries, such as food, pharmaceutical and cosmetic industry. However, the olive cake also contains high concentrations of lipids, organic acids and phenolic compounds which impact the environment over time because of their phytotoxicity.

As previous studies have shown, olive cake contains powerful antioxidants due to its high phenolic content. Research shows that phenolic compounds have positive effects on human health as a result of their ability to capture free radicals in the organism.

Low-temperature deep eutectic solvents (DES) application is imposed as one of potential solutions for improving the efficiency of extraction.

New, designed eutectic solvents have shown greater efficiency in extracting bioactive components compared to conventional solvents or water, while upholding the principles of green chemistry of using non-toxic, non-volatile, safe and renewable solvents.

In this study the improvement of efficiency of the extraction process of phenolic compounds from olive cake using natural eutectic solvent has been investigated. This study shows results of phenols extraction process from olive cake, the most effective stirring and optimal extraction time.

**Key words:** deep eutectic solvents, extraction, olive cake, phenolic compounds

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. Ekstrakcija .....	2
2.1.1. Izluživanje .....	3
2.1.2. Miješanje tijekom provođenja ekstrakcije .....	4
2.2. Maslina .....	7
2.2.1. Proizvodnja maslinovog ulja .....	7
2.3. Fenoli .....	8
2.3.1. Svojstva fenolnih spojeva .....	9
2.3.2. Fenolni spojevi u sastavu maslina .....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	13
3.1. Komina masline .....	13
3.1.1. Priprema komine masline .....	13
3.1.2. Raspodjela veličina čestica komine .....	14
3.2. Prirodna eutektička otapala .....	15
3.2.1. Sinteza i karakterizacija prirodnih eutektičkih otapala .....	15
3.3. Ekstrakcija .....	17
3.3.1. Načini provedbe ekstrakcije .....	17
3.3.2. Optimizacija vremena miješanja, temperature i broja okretaja miješala .....	19
3.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola .....	20
4. REZULTATI .....	22
4.1. Raspodjela veličina čestica komine masline .....	22
4.2. Utjecaj vremena na proces ekstrakcije .....	22
4.3. Utjecaj vrste miješala na proces ekstrakcije .....	24
4.4. Utjecaj udjela komine na proces ekstrakcije .....	25
4.5. Utjecaj temperature na proces ekstrakcije .....	25
4.6. Utjecaj veličine čestica komine masline na proces ekstrakcije .....	26
4.7. Soxhlet ekstrakcija .....	26
4.8. Ekstrakcija oduljene komine .....	27
4.9. Utjecaj visine oblaka na proces ekstrakcije .....	27

5. RASPRAVA.....	28
6. ZAKLJUČAK .....	32
7. POPIS SIMBOLA .....	33
8. LITERATURA.....	35



## 1. UVOD

Od raznolikih biljnih vrsta prisutnih na Mediteranskom području kao jedna od najznačajnijih pokazala se upravo maslina. Bogata je raznim bioaktivnim komponentama koje pridonose ljudskom zdravlju što je razlog sve većem interesu za proučavanje njenih plodova.

Kao rezultat analize maslinovog ulja ustanovljeno je da sadrži mnogobrojne fenolne spojeve koji daju doprinos zdravstvenom učinku ulja.

Fenolni spojevi su antioksidansi koji imaju odlična protukancerogena i protuupalna svojstva pa zbog toga imaju bitnu ulogu u prevenciji raznih bolesti.

Tijekom obrade maslina u svrhu proizvodnje maslinovog ulja nastaje otpad koji dijelimo u tri skupine: lišće, otpadna voda i komina masline.

Dokazano je da najveći broj fenolnih spojeva zaostaje u tom otpadu, a da ih vrlo malo prelazi u maslinovo ulje. Upravo zato se nastali otpad koristi za izdvajanje fenolnih spojeva, znajući da se njihova mnogobrojna pozitivna svojstva mogu koristiti u kozmetičkoj, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

Odlaganje navedenog otpada u okoliš može biti uzrok brojnim ekološkim problemima. Stoga se traže rješenja obrade komine masline u nadi da se smanji njezin štetan učinak na okoliš. Iz otpadne vode već se izdvajaju fenolni spojevi kako bi se ona mogla uz što manje rizika za onečišćenje vratiti u okoliš.

U posljednje vrijeme, prateći odgovornost čovjeka prema okolišu, došlo je do razvoja proizvodnje koja prati načela „zelene kemije“. Veliki napredak vidljiv je u proizvodnji „zelenih otapala“ koja pokazuju niz ekonomskih i ekoloških svojstava kao što su biorazgradivost, nehlapljivost i netoksičnost.

Ovdje se moraju spomenuti prirodna eutektička otapala, koja ne samo da su pokazala učinkovitost u brojnim procesima, već su eliminirala potrebu za pročišćavanjem konačnog proizvoda zbog čega su našle ulogu u prehrambenoj industriji. Njihova učinkovitost očituje se u tome što su se pokazala boljim i ekonomičnijim od konvencionalnih otapala u procesima izdvajanja bioaktivnih komponenti iz bioloških materijala.

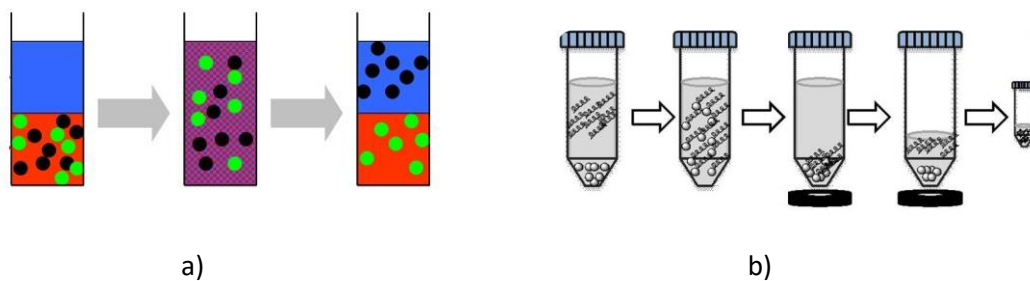
## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Ekstrakcija

Ekstrakcija je ravnotežni separacijski proces u kojem se iz čvrste ili kapljevite smjese pomoću sekundarnog otapala izdvaja jedna ili više komponenata.

Osnovna podjela metoda provedbe ekstrakcije je:

- ekstrakcija kapljevito-kapljevito
- ekstrakcija kruto-kapljevito



Slika 1. Shema principa ekstrakcije kapljevito-kapljevito (a) i kruto-kapljevito (b)

U ekstrakciji kapljevito-kapljevito pomoću sekundarnog otapala izdvaja se ključna komponenta iz primarnog otapala. U ekstrakciji kruto-kapljevito ključna komponenta pomoću otapala izdvaja se direktno iz krute faze. Takav proces naziva se i izluživanje.

Da bi odabrano sekundarno otapalo bilo prikladno za izvedbu procesa, ono mora zadovoljiti određene kriterije:

- velika selektivnost
- dobra topljivost ključne komponente
- mala viskoznost
- niski tlak para
- toplinska i kemijska stabilnost
- jednostavna regeneracija
- dostupnost i ekološka prihvatljivost [1]

Procesi ekstrakcije bitan su dio brojnih industrija. U farmaceutskoj industriji koriste se za izdvajanje aktivnih komponenata iz ljekovitog bilja, u prehrambenoj industriji koriste se za izdvajanje aktivnih komponenata poput peptida i nukleinskih kiselina, a u kemijskoj industriji za dobivanje organskih boja i izdvajanje metala iz ruda.

Usprkos širokoj upotrebi konvencionalnih otapala (toluen, heksan) njihova upotreba može imati štetne posljedice za okoliš i ljudski organizam. Stoga se sve više istražuje primjena nekonvencionalnih otapala poput ionskih kapljevina i eutektičkih otapala.

### **2.1.1. Izluživanje**

U procesu izluživanja ključna komponenta izdvaja se iz krutog uzorka pomoću selektivnog otapala.

#### *Perkolacija i maceracija*

Izluživanje se najčešće izvodi kao perkolacija ili maceracija. Perkolacija je proces u kojem otapalo kontinuirano prolazi kroz nepokretan sloj krutine, dok se prilikom maceracije krutina potpuno potapa u otapalo i primjenjuje se miješanje sve dok se ekstrakcija ne završi [2].

#### *Soxhlet ekstrakcija*

Osim navedenih procesa koristi se i Soxhlet ekstrakcija. Provodi se tako da prvo dolazi do zagrijavanja otapala u tikvici, njegovog isparavanja i kondenzacije nakon čega otapalo prolazi kroz homogenizirani kruti uzorak te se zajedno s ekstraktom vraća u tikvicu. Ova metoda je dugotrajna, ali omogućava potpuno uklanjanje ključne komponente iz krute tvari [3].

Postoji niz koraka u mehanizmu izluživanja ključne komponente iz krute tvari pomoću otapala:

- ulazak otapala u krutu tvar
- otapanje ključne komponente
- transport otapala s otopljenom tvari na površinu krute tvari
- transport otopine sa površine krute tvari u masu otopine
- razdvajanje ekstrakta i krutog ostatka uzorka
- uklanjanje otapala iz ekstrakta

Prilikom dovođenja otapala u kontakt sa krutom tvari na njenoj površini stvara se sloj zasićene otopine koji predstavlja granični sloj. Ključna komponenta kontinuirano difundira u otapalo zbog koncentracijskog gradijenta koji se stvara između graničnog sloja i otapala. Što je veći taj koncentracijski gradijent i manja debljina graničnog (difuzijskog) sloja, to će veća biti brzina ekstrakcije [4].

Nakon što je ekstrakcija dovršena, otapalo se može regenerirati pri čemu se odvajaju od ključne komponente i moguće ga je ponovno upotrijebiti [5].

Osim odabira prikladnog otapala, na uspješnost i brzinu ekstrakcije može se utjecati povišenjem temperature, prikladnom veličinom čestica krutog materijala te optimiranjem miješanja pri čemu se osiguravaju povoljni hidrodinamički uvjeti.

Povišenje temperature smanjuje viskoznost i gustoću otapala te povećava topljivost krutine, što sve doprinosi povećanju brzine prijenosa tvari.

Veličina čestica, kao i specifična površina njihovih pora, imaju značaj utjecaj na brzinu procesa ekstrakcije. Usitnjavanjem čestica osigurava se veća kontaktna površina sa otapalom te se smanjuje debljina graničnog sloja, što pogoduje procesu prijenosa tvari [4].

### **2.1.2. Miješanje tijekom provođenja ekstrakcije**

Da bi se osigurali što pogodniji uvjeti za prijenos tvari i topline te spriječila sedimentacija prilikom ekstrakcije odvija se miješanje. Rezultat dobrog miješanja je postizanje homogene suspenzije [6].

Uz primjenu klasičnih oblika miješanja poput mehaničkog i magnetskog, nove tehnologije omogućuju primjenu ultrazvuka ili kombinacije mikrovalnog i ultrazvučnog zračenja prilikom provedbe ekstrakcije.

Korištenje ultrazvuka znatno poboljšava prodiranje otapala u kruti materijal zbog proizvedenog kavitacijskog djelovanja na stanične stijenke. Prilikom pucanja staničnih stijenki dolazi do izravnog kontakta sadržaja stanice s otapalom, pri čemu se poboljšava prijenos tvari i povećava brzina i djelotvornost ekstrakcije. Na ovakav način moguće je provesti ekstrakciju pri nižim temperaturama, ali smanjuje se i potrebna količina otapala. Djelovanjem mikrovalova postiže se volumetrijsko zagrijavanje (istovremeno zagrijavanje cjelokupnog volumena) pa se u kombinaciji s djelovanjem ultrazvuka osigurava veća djelotvornost ekstrakcije [7].

Da bi se osigurao potpuni kontakt površine čestica sa otapalom i tako poboljšao prijenos tvari, miješanjem se nastoji ostvariti stanje potpune suspenzije. Potpuna suspenzija (eng. *just suspended*) definira se uz Zwieteringov uvjet prema kojemu suspendirane čestice nisu u kontaktu sa dnom posude duže od 1-2 sekunde [6].

Potpuna suspenzija ostvaruje se pri minimalnoj brzini miješanja (minimalni broj okretaja miješala  $N_{js}$ ), a ona se određuje koristeći Zwieteringovu empirijsku korelaciju koja glasi [8]:

$$N_{js} = S \nu^{0.1} \left[ \frac{g_c(\rho_s - \rho_l)}{\rho_l} \right]^{0.45} X^{0.13} d_p^{0.2} d^{-0.85} \quad (1)$$

Pri određenoj brzini miješanja suspendirane čestice podignute su do određene razine koju nazivamo visina oblaka. Ispod te razine u otapalu se nalazi velika većina čestica krutine, dok iznad nje nalazimo tek mali broj sitnijih čestica krutine.

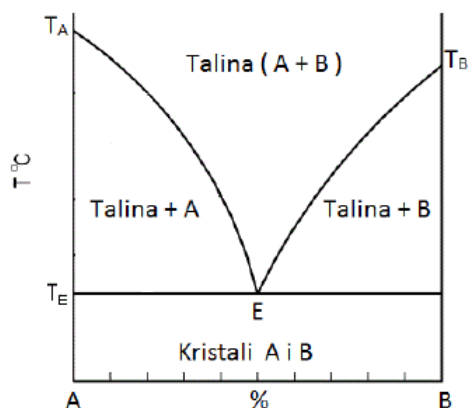
Koristeći prijašnja istraživanja o visini oblaka, Bittorf i Kresta (2002) razvili su model kojim se uspješno računa visina oblaka prilikom korištenja aksijalnih miješala:

$$CH = \frac{N}{N_{js}} \left[ 0.84 - 1.05 \frac{s}{H} + 0.7 \frac{\left(\frac{d}{H}\right)^2}{1 - \left(\frac{D}{H}\right)^2} \right] \quad (2)$$

Ovakav model predvidio je da će se veća visina oblaka ostvariti ako se u sustavu sa malim omjerom dimenzija  $D/H$  koristi miješalo sa većim omjerom  $d/H$ .

### 2.1.3. Eutektička otapala

Eutektički sustav definira se kao smjesa dviju ili više komponenata u kapljevitom ili krutom stanju koja će u određenom omjeru imati talište niže od tališta pojedinačne komponente smjese. Takve smjese karakterizira eutektička točka.



Slika 2. Fazni dijagram eutektičkog sustava

Eutektičko otapalo (eng. *Deep Eutectic Solvent* – *DES*) je smjesa koju karakterizira točka tališta za oko 200 °C niža od tališta pojedinačnih komponenti.

Svako eutičko otapalo ima tri komponente: kation , anion i kompleksirajući agent.

Osnovna podjela eutektičkih otapala je prema tome:

1. metalna sol i organska sol (npr.  $\text{ZnCl}_2$  + kolin klorid)
2. hidrat metalne soli i organska sol (npr.  $\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + kolin klorid)
3. donor vodikove veze i organska sol (npr. urea + kolin klorid)

Upravo je posljednja grupa dobila sve veći značaj u današnje vrijeme s obzirom da se ekstrakti dobiveni uz takva otapala mogu izravno koristiti u prehrambenoj industriji bez pročišćavanja. Nazivaju se nisko-temperaturna prirodna eutektička otapala (eng. *Natural Deep Eutectic Solvents* - *NADES*), a sastoje se od prirodno dostupnih komponenata kao što su aminokiseline, organske soli i šećeri. U prehrambenoj industriji sve više zamjenjuju ionska kapljevine koje mogu biti otrovne.

Bitno svojstvo eutektičkih otapala je njihova biorazgradivost, jer prilikom njihovih ispuštanja u okoliš postoji minimalni toksični učinak. Eutektička otapala odličan su izbor otapala za mnoštvo organskih spojeva. Imaju veliku kemijsku, elektrokemijsku i toplinsku stabilnost. Stabilna su i nisu hlapljiva pri atmosferskim uvjetima, iako u pravilu imaju veću viskoznost od konvencionalnih otapala [9].

Karakteristike otapala kao što su pH, polarnost , a posebice viskoznost značajno utječu na djelotvornost procesa ekstrakcije.

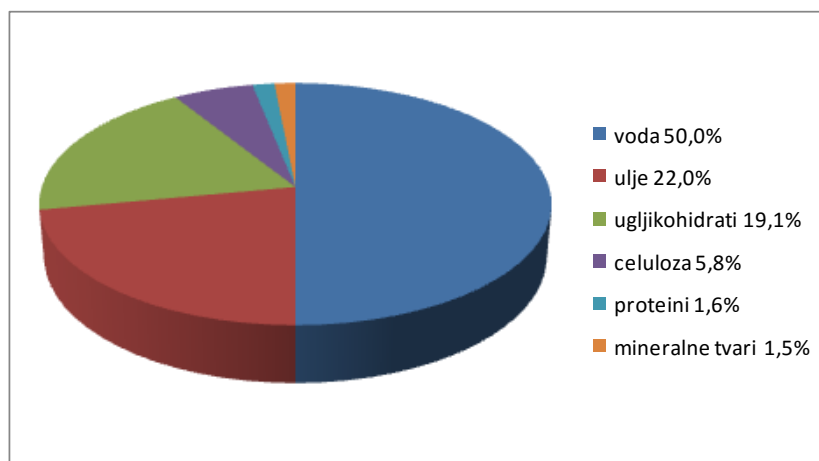
Posebno dobrima su se pokazali za procese ekstrakcije fenolnih spojeva, što se ostvaruje upravo zbog jakih interakcija tih spojeva sa molekulama otapala [10].

Obzirom da postoji niz kombinacija komponenata koje se koriste pri sintezi ovih otapala, kao i njihovog molarnog odnosa moguće je pripremiti otapalo sa željenim svojstvima.

Takva sinteza je jednostavna jer pritom dolazi samo do povezivanja komponenata vodikovom vezom bez kemijske reakcije, što znači da kao nusprodukt sinteze ne dobivamo otpad [9].

## 2.2. Maslina

Maslina je zimzelena biljka nepravilnog i razgranatog stabla koja se odlikuje dugim životnim vijekom, čak preko tisuću godina. Njezini ovalni plodovi tamnozeleno do crne boje sadrže maslinovo ulje koje se koristi u brojim industrijama. Svaki plod sastoji se od koštice, mesa i kožice, a na slici 3. prikazan je prosječan sastav ploda [11, 12].



Slika 3. Sastav masline

### 2.2.1. Proizvodnja maslinovog ulja

Proizvodnja maslinovog ulja proces je koji obuhvaća nekoliko faza. Prvo se odvija prozračivanje, gdje se plod odvaja od lišća i grančica te se pere vodom zbog otklanjanja nečistoća. Zatim dolazi do drobljenja i usitnjavanja ploda da bi se kapljice ulja oslobodile iz stanica. Nakon toga provodi se miješanje kako bi se dobiveno ulje povezalo u veće kapljice. Na kraju se provodi ekstrakcija ulja korištenjem preša ili centrifuge.

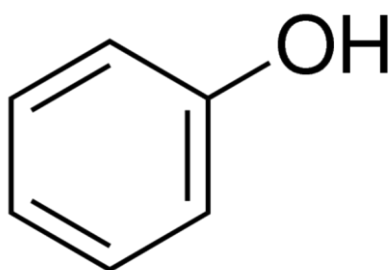
Nakon što se preradilo ulje, ono se čuva u prozračnom prostoru u spremniku od nehrđajućeg čelika koji je priključen na plinski spremnik s dušikom koji onemogućava kontakt ulja s kisikom. Spremnik se održava na konstantnoj temperaturi [13].

Kao rezultat proizvodnje maslinovog ulja dobiva se 50% vode, 30% komine masline i 20% maslinovog ulja. Zbrinjavanje nastalog otpada nakon prerade maslinovog ulja može predstavljati ekološki problem. Međutim, ovi nusprodukti mogu se iskoristiti za druge namjene pa se tako komina masline upotrebljava kao oblik prirodnog organskog gnojiva ili goriva u tehnološkim procesima. Moguće ju je koristiti i kao dodatak stočnoj hrani [14].

Budući da je udio fenolnih spojeva koji se izdvajaju iz ploda masline u ulje vrlo mali, u novije vrijeme istražuju se mogućnosti njihove separacije iz otpada i njihovoj primjeni u zdravstvene svrhe.

### 2.3. Fenoli

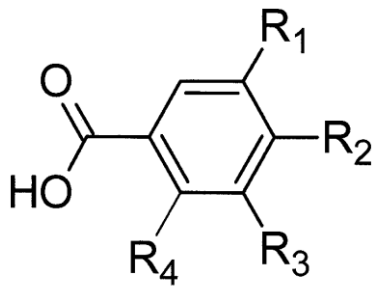
Fenolni spojevi su aromatski spojevi koji sadrže jednu ili više hidroksilnih (-OH) skupina vezanih direktno na aromatski prsten. Fenol predstavlja najjednostavniji primjer takvog spoja.



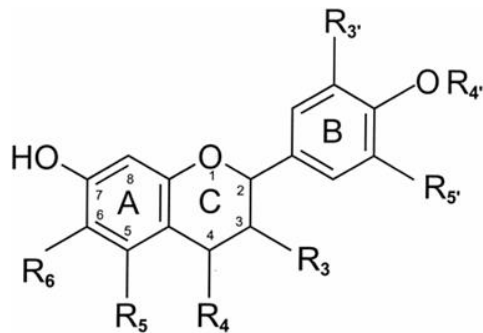
Slika 4. Struktura fenola

Osnovna podjela fenolnih spojeva je ona na fenolne kiseline i flavonoide. Fenolne kiseline sastoje se od fenolnog prstena i karboksilne kiseline, dok flavononoidi pokazuju veliku raznolikost u svojim strukturama.



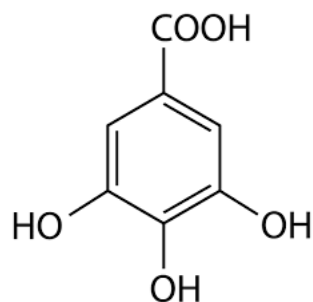


Slika 5. Opća struktura fenolnih kiselina



Slika 6. Opća struktura flavonoida

Važan predstavnik fenolnih kiselina je galna kiselina koja se koristi kao standard za određivanje ukupnih fenolnih spojeva u brojnim prehrambenim proizvodima pomoću Folin-Ciocalteu metode.

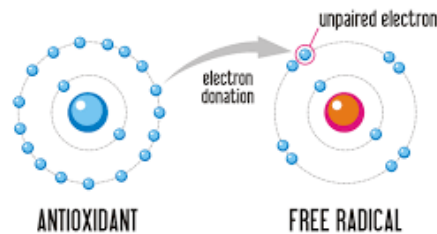


Slika 7. Struktura galne kiseline

### 2.3.1. Svojstva fenolnih spojeva

Fenolni spojevi nalaze se u kapljevitom ili krutom stanju. Slabo su topljivi u vodi, a odlikuje ih visoko vrelište i nisko talište. Zbog učinka aromatskog prstena u svojoj strukturi pokazuju svojstvo kiselosti te u jako lužnatoj okolini daju soli koje nazivamo fenolati. Fenolni spojevi imaju dobra antioksidativna svojstva, što znači da su protonsko-elektronskim izmjenama

sposobni neutralizirati reaktivne slobodne radikale u ljudskom tijelu. Usporavaju raspad hrane i ulja tako što sprječavaju reakcije radikala s alkenima prisutnima u namirnicama [15].



Slika 8. Mehanizam antioksidativnog djelovanja

Uvrštavanje antioksidativnih spojeva u prehranu čovjeka dovodi do poboljšanja u prevenciji artritisa, ateroskleroze i karcinoma. Primjenjuju se i u kozmetičkoj industriji jer je pokazano da imaju pozitivan učinak na usporavanje procesa starenja stanica u ljudskom organizmu [16].

Osim njihove primjene za dobivanje pozitivnih medicinskih učinaka, koriste se i kao sirovine u proizvodnji spojeva kao što su fenol formaldehid, anilin, salicilna kiselina i cikloheksanon [17].

Polifenolni spojevi u biljkama služe im kao zaštita od štetnog UV zračenja i djeluju antiobiotski. U namirnicama pak pojačavaju svojstva mirisa, okusa, oštine, ali i oksidativne stabilnosti [18].

Nažalost, uz velik broj korisnih svojstava fenolnih spojeva, pokazalo se da imaju i svojstvo fitotoksičnosti.

S obzirom na raznu primjenu fenolnih spojeva u brojnim industrijama, oni su očekivano prisutni i u otpadnim vodama koje se moraju ispustiti u okoliš nakon provedbe procesa.

Stoga je u upotrebi mnoštvo separacijskih metoda kojima se oni izdvajaju iz otpadnih voda [19].

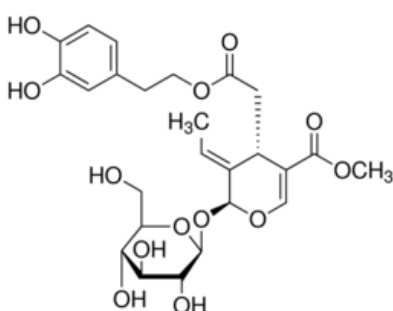
Industrijski otpad u obliku komine masline potrebno je zbrinuti i upotrijebiti u druge svrhe, jer je sukladno Zakonu o održivom gospodarenju otpadom NN 94/2013 zabranjeno njegovo odlaganje u okoliš [20].

### 2.3.2. Fenolni spojevi u sastavu maslina

U maslinama nalazimo brojne fenolne spojeve kao što su oleuropein, tirozol, hidroksitirozol, vanilinska kiselina i brojni drugi [14].

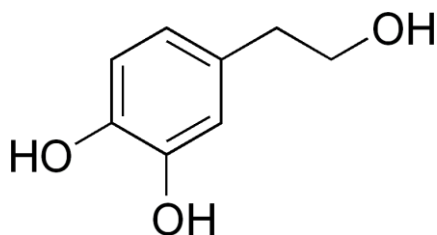
Veliki doprinos zdravlju čovjeka daje oleuropein koji dokazano potiče aktivnost hormona štitnjače u tijelu i pomaži pri gubitku masnog tkiva tako da onemogućuje nakupljanje plaka na površini krvnih žila, što može dovesti do ateroskleroze.

Uz to djeluje antibakterijski i potiče rad imunološkog sustava [21, 22].

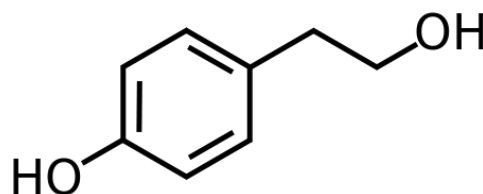


Slika 9. Struktura oleuropeina

Hidroksitirozol (HTS) i tirozol (TS) također imaju mnoštvo medicinskih učinaka. Oni dokazano djeluju protuupalno tako da snižavaju razinu C-reaktivnog proteina (CRP) u krvi. Kod ljudi koji redovito koriste maslinovo ulje u prehrani primjećen je viši udio osteokalcina, proteina koji služi jačanju kostiju, što se istraživanjima pripisalo upravo djelovanju hidroksitirozola i tirozola.



Slika 10. Struktura hidroksitirozola



Slika 11. Struktura tirozola

Polifenolni spojevi su ti kojima pripisujemo veliku zdravstvenu vrijednost maslinovog ulja, no u procesu prerade maslina tek 2% prelazi u maslinovo ulje, dok 98% zaostaje u otpadnoj vodi i komini masline [23].

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Komina masline

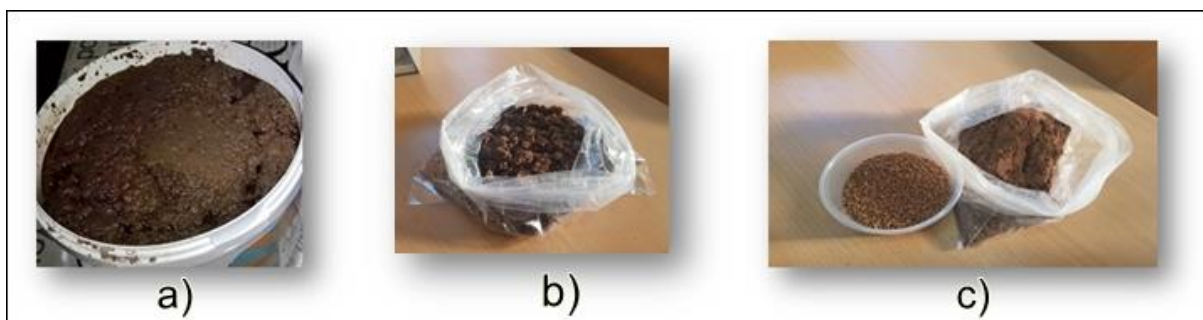
##### 3.1.1. Priprema komine masline

Komina masline korištena u ovom radu potječe iz Istarske regije, točnije iz vodeće prehrambene kompanije Agrolaguna d.d. u Poreču. Dopremljena komina najprije je zamrznuta kako bi se spriječila degradacija vrijednih spojeva uključujući i fenole, tako da je kao prvi korak uslijedilo odmrzavanje i sušenje manje količine iste. Sušenje se provodilo u laboratorijskom sušioniku na temperaturama od 60 °C i 100 °C. Mjerenjem raspodjele veličine pora tako osušenih čestica, utvrđeno je kako čestice komine sušene na 60 °C imaju veću specifičnu površinu pora te je zbog toga i preostala komina korištena u eksperimentu sušena na temperaturi od 60 °C za sva daljnja ispitivanja.

Tablica 1. Karakterizacija komine masline

Temperatura sušenja	Specifična površina pora (BET), m <sup>2</sup> /g	Raspodjela veličina pora, nm
60 °C	1,0647	< 200
100 °C	0,9170	< 200

Sušenjem je uklonjena preostala voda u komini koja je iznosila 45% od ukupne mase uzorka. Nakon sušenja uzorak je usitnjen električnim mlinom u vremenu od 1-2 minute te prosijan sitom promjerom očica 800 μm čime su u većoj mjeri uklonjene koštice iz uzorka. Na slici 12. prikazana su tri koraka u pripremi komine.



Slika 12. Priprema komine za eksperiment: a) vlažna odmrznuta komina, b) komina nakon sušenja, c) prosijana komina i odvojene koštice

Usitnjena komina prosijana je i sitom promjera očica 355  $\mu\text{m}$  (manja frakcija) kako bi se dobile sitnije čestice te time postigli bolji hidrodinamički uvjeti pri procesu ekstrakcije. Kao i za veću frakciju, određena je raspodjela veličina čestica te specifična površina pora manje frakcije.

Tablica 2. Karakterizacija različitih frakcija komine masline

Frakcija	Srednja veličina čestica, $\mu\text{m}$	Specifična površina pora (BET), $\text{m}^2/\text{g}$	Raspodjela veličina pora, nm
Veća frakcija	261,18	1,0647	< 200
Manja frakcija	79,94	1,8298	< 50

Kako bi odredili optimalan broj okretaja miješala pomoću Zwieteringove empirijske korelacije bilo je potrebno odrediti gustoću suhe, prosijane komine. Srednja gustoća komine sušene na 60  $^{\circ}\text{C}$  i prosijane sitom određena je na temelju uzorka od oko 50 g pomoću plinskog piknometra prikazanog na slici 13. te iznosi 1.2982  $\text{g}/\text{cm}^3$ .

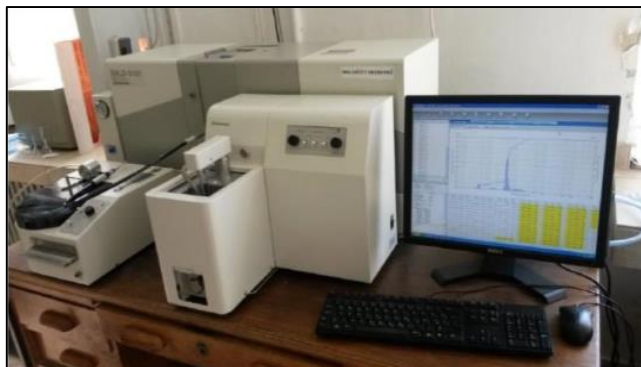


Slika 13. Micromeritics Accupyc 1330

### 3.1.2. Raspodjela veličina čestica komine

Raspodjela veličina čestica određena je metodom laserske difrakcije primjenom uređaja prikazanog na slici 14. čije je mjerno područje 0,4 do 3000  $\mu\text{m}$ . Raspodjele veličina čestica

uzorka komine izmjerene su tri puta pa je rezultat izražen kao srednja vrijednost, odnosno srednji promjer čestica komine.



Slika 14. Uređaj laserske difrakcije SALD-3101 (*Shimadzu, Japan*)

### 3.2. Prirodna eutektička otapala

#### 3.2.1. Sinteza i karakterizacija prirodnih eutektičkih otapala

U ovom radu korištena su dva prirodna eutektička otapala *Ma-Fru-Gly* (maltoza-fruktoza-glicerol) i *Ma-Glu-Gly* (maltoza-glukoza-glicerol), a za njihovu sintezu korištene su kemikalije navedene u tablici 3.

Tablica 3. Kemikalije korištene za sintezu prirodnih eutektičkih otapala

Kemikalija	$\rho$ , gcm <sup>-3</sup>	$M$ , gmol <sup>-1</sup>	$T_v$ , °C	$T_t$ , °C	Čistoća, %	Proizvođač
Glicerol	1,260	92,10	290,0	-	99,0	<i>BDH Prolabo</i>
Jabučna kiselina (maltoza)	1,609	194,09	-	130,0	99,0	<i>Acros Organics</i>
D - glukoza	1,540	180,16	-	146,0	99,0	<i>BDH Prolabo</i>
D - fruktoza	1,690	180,16	-	103,0	99,0	<i>Lachner</i>

Tablica 4. Svojstva prirodnih eutektičkih otapala pri 25 °C

DES	Maseni udio vode, %	Oznaka	$\eta$ , mPas	$\rho$ , gcm <sup>-3</sup>	$n_D$	$\kappa$ , $\mu\text{Scm}^{-1}$	pH
Ma-Fru-Gly	30	DES 1	0,0361	1,295	1,4426	366	0,916
Ma-Glu-Gly	30	DES 2	0,0447	1,287	1,4428	280	0,990

Prirodna eutektička otapala sintetizirana su u određenom molarnom udjelu, kao što je prikazano u tablici 3. Netom prije sinteze, komponente su sušene u vakuum sušioniku (*Savant SPD131DDA Speed Vac Concentrator, Thermo scientific, USA*) pri temperaturi od 60 °C tijekom 24 h. Dvije ili više komponenti u određenom molarnom udjelu i 30 mas% vode dodaju se u tikvicu s okruglim dnom. Sinteza se provodila pri temperaturi od 60 °C na magnetskoj miješalici u trajanju od oko 2 sata, odnosno do pojave bistre i homogene kapljevine. Prirodna eutektička otapala sintetizirana su s određenim postotkom vode (tablica 4.) kako bi se smanjila viskoznost otapala, a samim time poboljšalo miješanje kod primjene u procesu ekstrakcije. Sintetiziranim eutektičkim otapalima eksperimentalno su određena glavna fizikalno-kemijska svojstva: viskoznost, gustoća, indeks loma, električna vodljivost i pH vrijednost pri sobnoj temperaturi pomoću odgovarajućih uređaja navedenih u tablici 5.

Tablica 5. Popis uređaja korištenih za određivanje fizikalnih svojstava

Fizikalno svojstvo	Uređaj	Točnost uređaja
Viskoznost	<i>Brookfield reometar DV – III ULTRA</i>	±1,0%.
Gustoća	Areometar	±0,001 g cm <sup>-3</sup>
Indeks loma	Refraktometar, Optech Abbe Model RMI	±0,0001
Električna vodljivost	WTW InoLab pH/Cond 740 elektroda: WTW Tetracon 325	±0,0002 V
pH vrijednost	WTW InoLab pH/Cond 740 elektroda: SenTix 81	±0,004 pH



### 3.3. Ekstrakcija

Provedena je ekstrakcija fenolnih spojeva iz maslinove komine s prirodnim eutektičkim otapalima, te ekstrakcija sa etanolom kao konvencionalnim otapalom.. U cilju poboljšanja provedbe procesa ekstrakcije ispitani su utjecaji različitih miješala, povišenje temperature provedbe ekstrakcije, primjena različitih otapala, različit odnos suhe tvari i otapala te je na kraju proveden i eksperiment sa kominom oduljenom prije samog procesa ekstrakcije. Također, izračunat je i optimalan broj okretaja miješala te visina oblaka suspenzije. Uzorak od 1 g komine miješao se s 20 mL otapala (DES 1, DES 2 i etanol).

#### 3.3.1. Načini provedbe ekstrakcije

Različitim načinima provedbe ekstrakcije ispitan je utjecaj na ekstrakciju fenola iz komine. Ekstrakcije su se provele primjenom mehaničkog miješala, magnetskog miješala, ultrazvučne sonde i ultrazvučne kupelji te mikrovalno-ultrazvučnim miješanjem.



Slika 15.

Magnetsko miješalo

*Tehnica Rotamix 609 MM*



Slika 16.

Mehaničko miješalo

*Eurostar Ika Labortechnik*



Slika 17.

Mikrovalno-ultrazvučni reaktor

*Lab Kits MW-ER-01*



Slika 18. Ultrazvučna kupelj



Slika 19. Ultrazvučna sonda *Bandelin sonoplus HD 3200*

Na slici 15. prikazano je magnetsko miješalo snage 15 W korišteno za ekstrakciju fenola pri intenzitetu 600-650 okretaja/min.

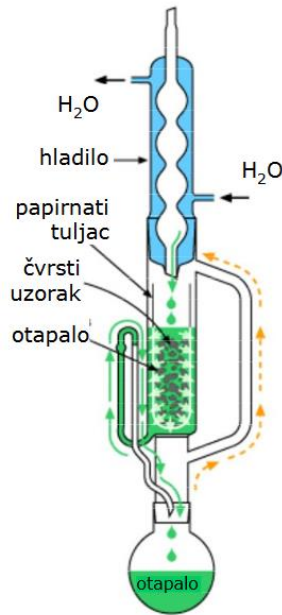
Na slici 16. prikazano je korišteno mehaničko miješalo koje ima mogućnost rada 50-2000 okretaja/min, a korišten je intenzitet miješanja od 650-700 okretaja/min.

Ekstrakcija je provedena i primjenom mikrovalno-ultrazvučnog reaktora (slika 17.) proizvođača na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu. Parametri mikrovalno-ultrazvučnog reaktora uključuju postavljanje energije mikrovalova između 10 i 800 W, podešavanje temperature zagrijavanja uzorka do 120 °C ( $\pm 1$  °C), kao i postavljanje vremena trajanja reakcije, dok su snaga ultrazvuka (50 W), kao i mikrovalna (2450 MHz) i ultrazvučna (40 KHz) frekvencija konstante. Uređaj je tijekom mjerenja korišten pri snazi od 200 W i frekvenciji od 40 kHz. Ekstrakcija se provela u vremenu od 10 minuta, a temperatura uzorka na kraju ekstrakcije iznosila je 60 °C.

Ultrazvučna kupelj (slika 18.), maksimalne snage 220 W, također je korištena kao jedan od načina provedbe ekstrakcije, a temperatura uzorka za najdulje vrijeme trajanja ekstrakcije 4 h je iznosila 42 °C.

Ultrazvučna sonda (slika 19.) korištena je pri amplitudi od 20% kao jedan od načina provedbe ekstrakcije. Za vrijeme ekstrakcije ultrazvučnom sondom uzorak se cijelo vrijeme hladio te temperatura uzorka nije bila veća od 60 °C.

Provedene su Soxhlet ekstrakcije sa konvencionalnim otapalima heksanom i etanolom (slika 20.). Prva ekstrakcija provedena samo sa etanolom trajala je 11,5 h. Druga Soxhlet ekstrakcija trajala je ukupno 6 sati, a provedena je najprije sa heksanom kako bi se komina oduljila te je postupak ekstrakcije nastavljen sa etanolom.



Slika 20. Shema aparature za Soxhlet ekstrakciju

### 3.3.2. Optimizacija vremena miješanja, temperature i broja okretaja miješala

Radi određivanja vremena postizanja stacionarnih uvjeta provedeni su preliminarni eksperimenti za različite vrste miješanja. Praćena je promjena dobivenih koncentracija sa vremenom nakon ekstrakcije. Također je ispitan i utjecaj temperatura na učinkovitost ekstrakcije. Određene su koncentracije fenola pri temperaturama od 20, 40 i 60 °C.

Optimalan broj okretaja miješala za postizanje stanja potpune suspenzija (eng. *just suspended*) Zwieteringovom jednadžbom (1) iznosio je 135 o/min. Uz to, Bittorf - Krestovom jednadžbom (2) izračunat je broj okretaja miješala potreban za postizanje visine oblaka od 50%, 70% i 90%.

Tablica 6. Izračunati broj okretaja miješala za postizanje određene visine oblaka

Visina oblaka, %	Broj okretaja miješala, o/min
50	445
70	620
90	800

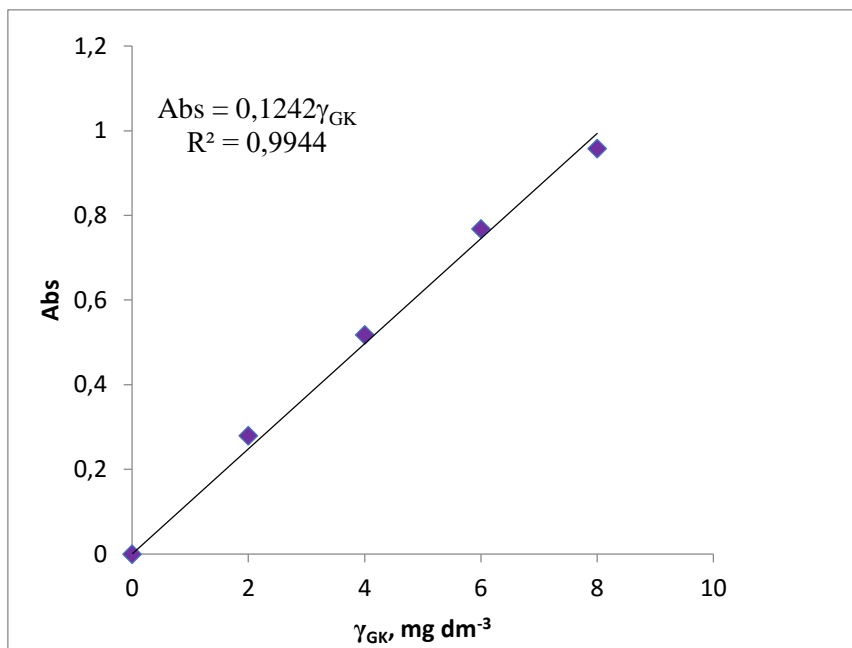
### 3.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Koncentracija ukupnih fenola određena je spektrofotometrijski standardnom Folin – Ciocalteu (FC) metodom na UV/Vis spektrofotometru proizvođača *Shimadzu UV 1280* (slika 21). Mjerenjem apsorpcije uzoraka pri maksimalnoj valnoj duljini od 756 nm (maksimum apsorpcije) kvantitativno je određena preostala koncentracija ukupnih fenola koja je izražena preko ekvivalentne koncentracije galne kiseline. U odmjerne tikvice od 10 mL pipetirano je 400  $\mu$ L *Folin-Ciocalteu* reagensa i 60  $\mu$ L filtriranog uzorka te su tikvice stavljene na tamno mjesto tijekom 8 min. U tikvice je nakon 8 minuta dodano 4 mL (7 mas. %) otopine natrijeva karbonata nakon čega je otopina razrijeđena destiliranom vodom do oznake. Tako pripremljene otopine postepeno poprime karakteristično plavo obojenje. Sve pripremljene tikvice termostatirane su još sat vremena na temperaturi od 40 °C.

Nakon termostatiranja na spektrofotometru se mjerio intenzitet apsorpcije koji je direktno proporcionalan količini ukupnih fenola u uzorku. Koncentracija ukupnih fenola u reakcijskoj smjesi izražena preko ekvivalentne koncentracije galne kiseline određena je iz baždarnog dijagrama (slika 22.).



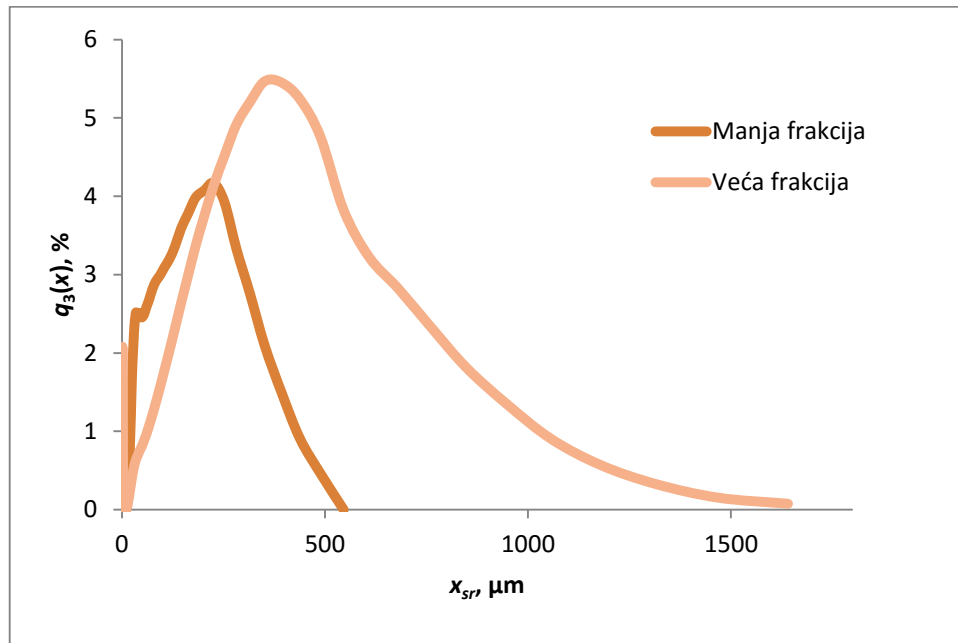
Slika 21. UV VIS spektrofotometar, *Shimadzu UV-1280*



Slika 22. Baždarni dijagram za određivanje koncentracije ukupnih fenola

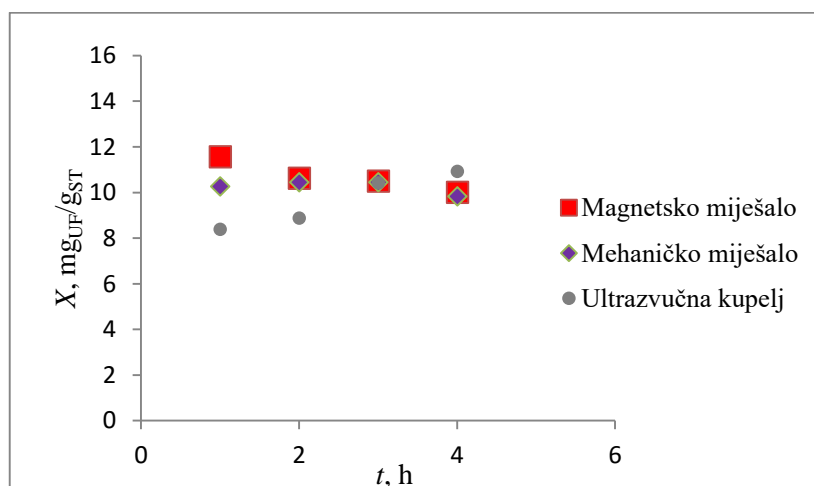
## 4. REZULTATI

### 4.1. Raspodjela veličina čestica komine masline

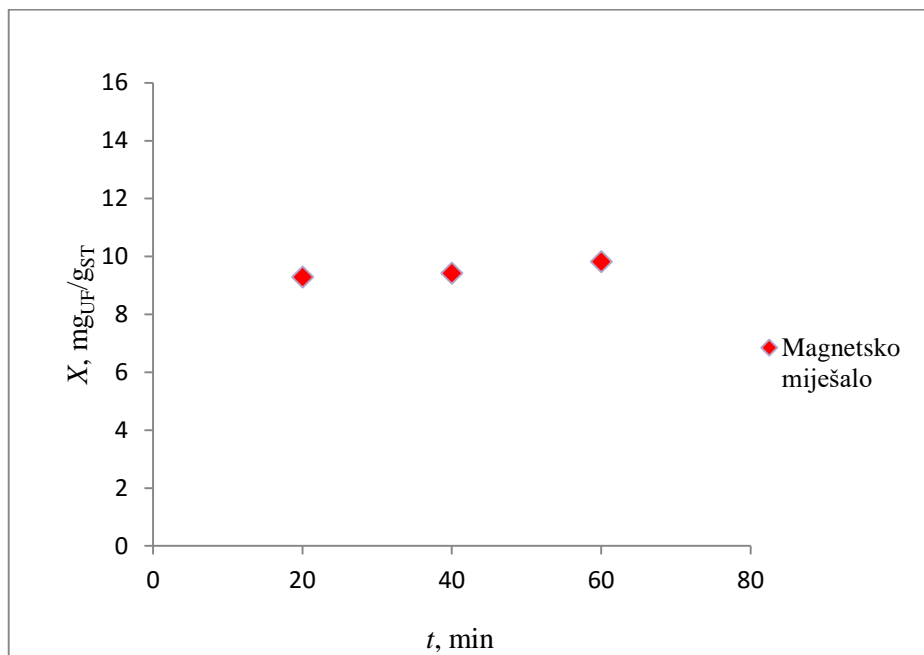


Slika 23. Raspodjela veličina čestica manje i veće frakcije komine masline

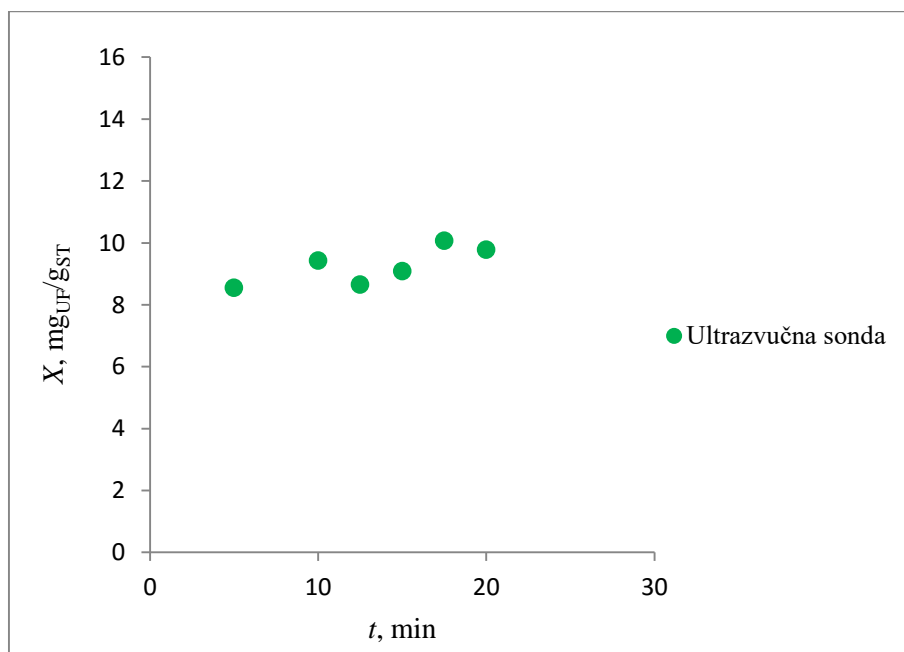
### 4.2. Utjecaj vremena na proces ekstrakcije



Slika 24. Određivanje optimalnog vremena ekstrakcije za magnetsko miješalo, mehaničko miješalo i ultrazvučnu kupelj

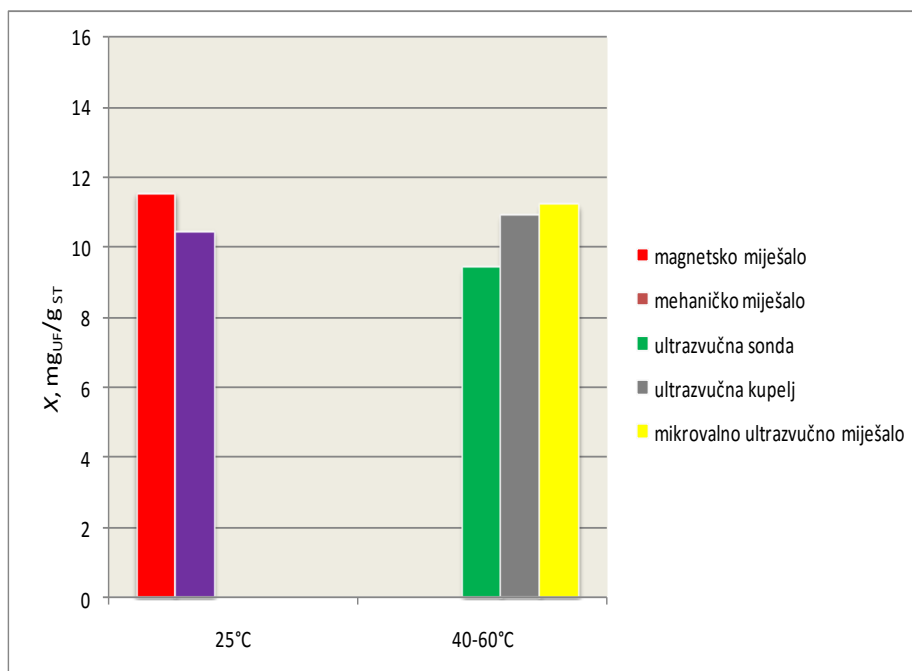


Slika 25. Određivanje optimalnog vremena ekstrakcije za magnetsko miješalo

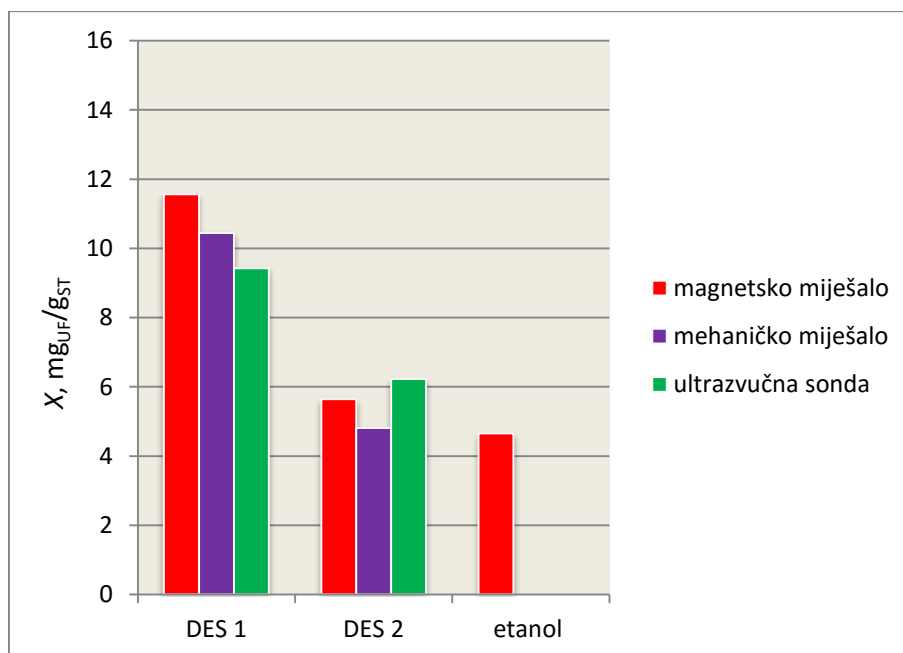


Slika 26. Određivanje optimalnog vremena ekstrakcije za ultrazvučnu sondu

### 4.3. Utjecaj vrste miješala na proces ekstrakcije



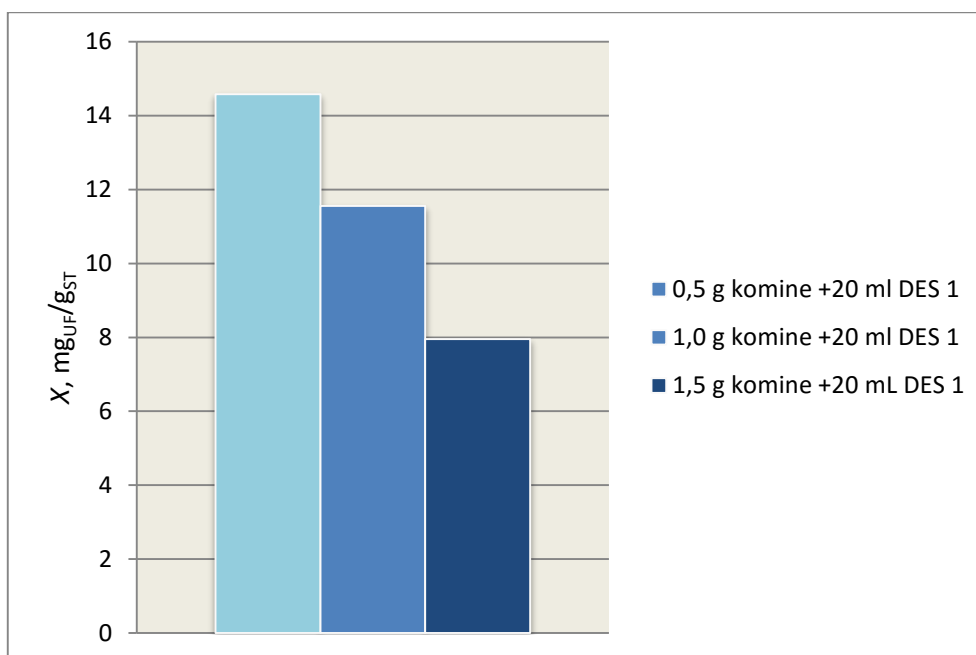
Slika 27. Usporedba ekstrakcije za DES 1 za različite vrste miješala



Slika 28. Usporedba ekstrakcije za DES 1, DES 2 i etanol za različite vrste miješala

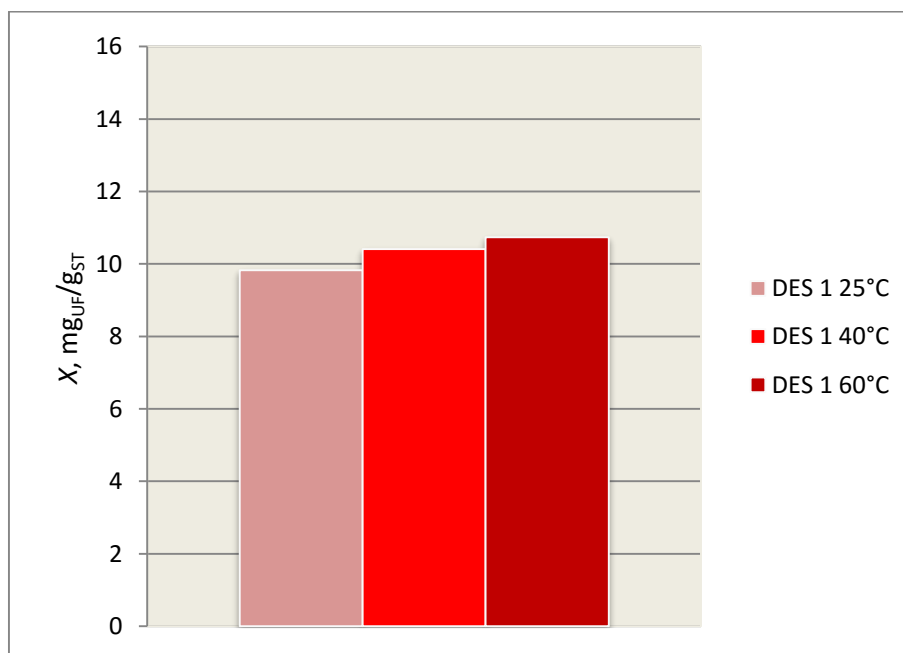


#### 4.4. Utjecaj udjela komine na proces ekstrakcije



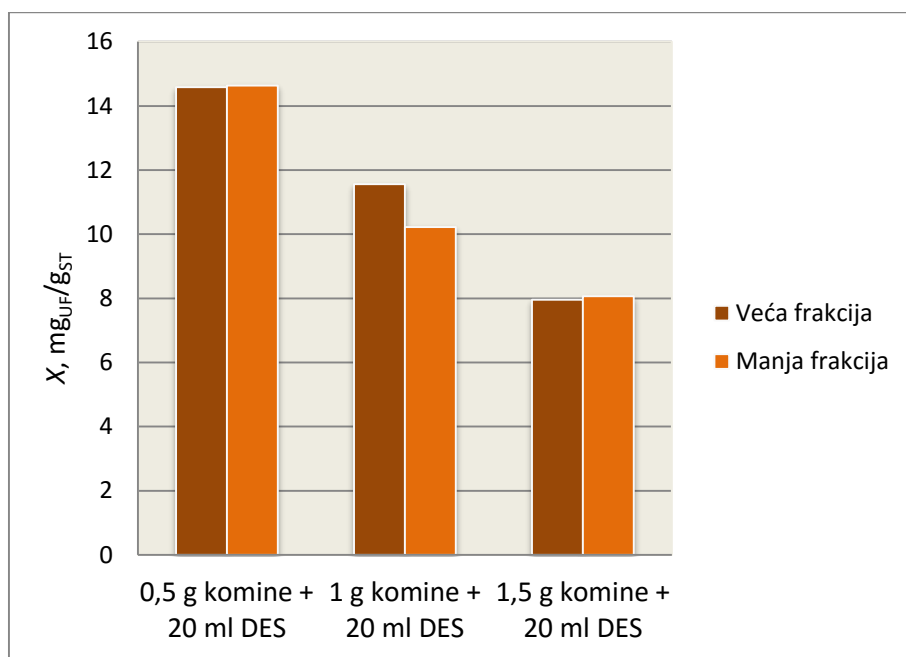
Slika 29. Usporedba ekstrakcije za DES 1 magnetskim miješalom pri 25°C za različite udjele komine

#### 4.5. Utjecaj temperature na proces ekstrakcije



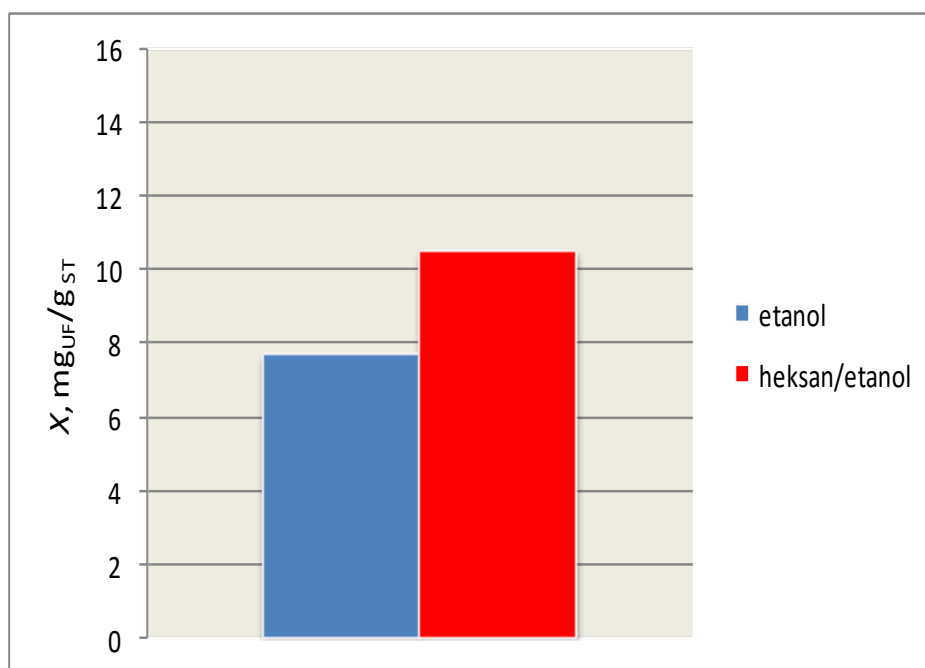
Slika 30. Usporedba ekstrakcije za DES 1 magnetskim miješalom pri različitim temperaturama

#### 4.6. Utjecaj veličine čestica komine masline na proces ekstrakcije



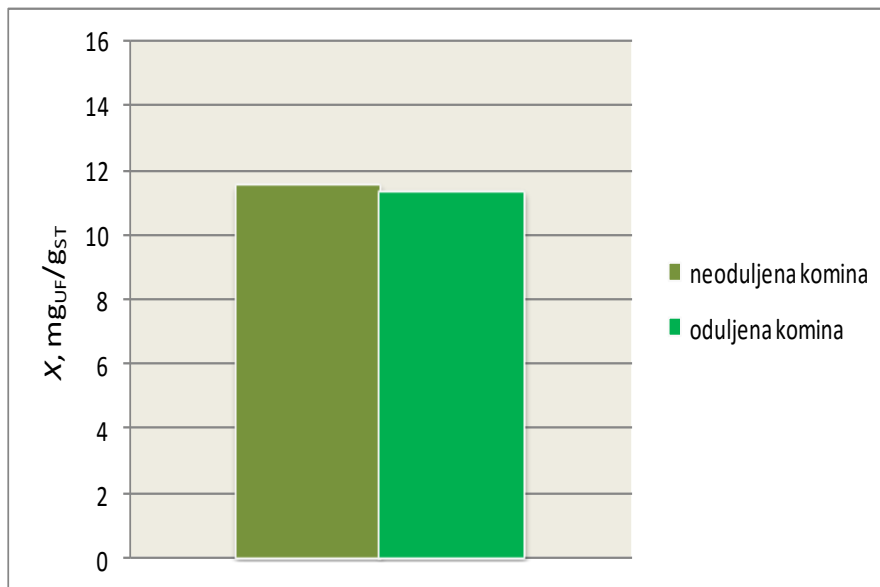
Slika 31. Usporedba ekstrakcije različitih frakcija i udjela komine sa DES-om 1

#### 4.7. Soxhlet ekstrakcija



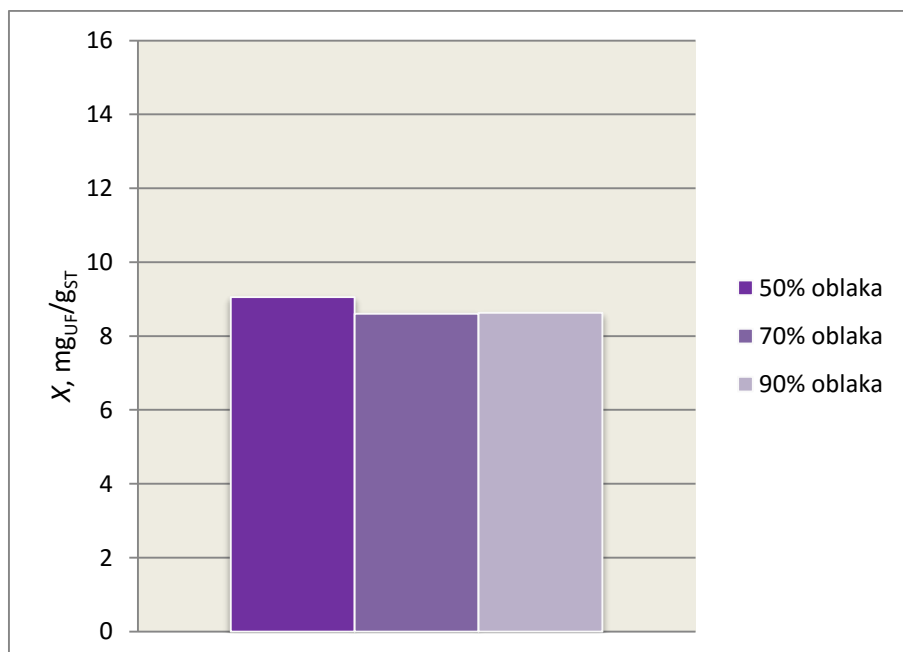
Slika 32. Soxhlet ekstrakcija sa konvencionalnim otapalima

#### 4.8. Ekstrakcija oduljene komine



Slika 33. Usporedba ekstrakcije magnetskim miješalom DES-om 1 za neoduljenu i oduljenu kominu

#### 4.9. Utjecaj visine oblaka na proces ekstrakcije



Slika 34. Usporedba ekstrakcije mehaničkim miješalom DES-om 1 za različite visine oblaka

## 5. RASPRAVA

Fenolni spojevi zaostali u otpadu predstavljaju prijatnu okolišu, a posljednjih godina privlače pažnju znanstvenika zbog svog antioksidacijskog djelovanja i sposobnosti hvatanja slobodnih radikala te općenito pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje. Kako bi se fenolni spojevi izdvojili iz komine masline, provedena je ekstrakcija odabranim prirodnim eutektičkim otapalom koje zadovoljava uvjete „zelene kemije“. Ispitani su utjecaji različitih procesnih uvjeta na djelotvornost procesa izluživanja.

Prvi korak u provedbi ekstrakcije čvrsto kapljevito je priprema komine. Komina je osušena u atmosferskom sušioniku pri 60 °C. Sušenje je provedeno na nižoj temperaturi (<105 °C) budući da su rezultati određivanja raspodjele veličine pora i specifične površine pora pokazali da sušenje na višim temperaturama dovodi do skupljanja pora i smanjenja specifične površine komine (tablica 1.). Posljedica toga je smanjenje kontaktne površine između komine i kapljevine što u konačnici dovodi do smanjenja djelotvornosti procesa. Sušenjem na 60 °C uklonjeno je 45% vode. Nakon sušenja, komina je usitnjena u električnom mlinu te su zaostale koštice izdvojene prosijavanjem kroz sito promjera očice 800 µm. Prosijavanjem komine kroz sito promjera očica 355 µm dobivena je manja frakcija komine masline čijom se analizom ustanovilo da ima veću specifičnu površinu pora od frakcije prosijane sitom promjera očice 800 µm (tablica 2.). Na slici 23. prikazana je dobivena raspodjela veličina usitnjenih čestica komine masline gdje je vidljivo da se srednja veličina čestica veće frakcije kreće oko 350 µm, a manje frakcije oko 226 µm.

Za uspješnu provedbu ekstrakcije, osim pripreme krutine, potrebno je karakterizirati i odabrano otapalo. U tablici 4. prikazana su određena fizikalna svojstva eutektičkih otapala. pH vrijednost dobivenih otapala je vrlo niska (<1). Očito je da jake vodikove veze između HBD i HBA uz prisustvo vode imaju snažan utjecaj na kiselost prirodnih eutektičkih otapala. Nadalje, mogu se uočiti velika viskoznost i gustoća za oba ispitana eutektička otapala. Velika viskoznost može biti ograničavajući čimbenik pri provedbi ekstrakcije zbog otežanog miješanja i posljedično niže učinkovitosti procesa. Upravo zbog izrazito velike viskoznosti prirodnih eutektičkih otapala pripremljenih sa šećerom, u otapala je dodano 30 mas% vode.

Kako bi se ekstrakcija provela pri optimalnim uvjetima, određeno je minimalno potrebno vrijeme za postizanje stacionarnih uvjeta za sve metode miješanja (slike 24.-26.). Ustanovljeno je da način miješanja značajno utječe na optimalno vrijeme miješanja. Najkraće

vrijeme potrebno da se dobije maksimalna koncentracija ukupnih fenola postignuto je ultrazvučnim miješanjem sa uronjenom sondom. Ovaj način miješanja vrlo je intenzivan, a zbog djelovanja ultrazvuka u viskoznom i gustom mediju dolazi do značajnog zagrijavanja medija. Zbog toga je suspenziju bilo potrebno hladiti tijekom provedbe ekstrakcije, pri čemu maksimalna temperatura tada nije prelazila 60 °C. Na slici 24. maksimalna koncentracija ukupnih fenola kod miješanja magnetskim miješalom postiže se u prvih sat vremena, a nakon toga dolazi do laganog smanjivanja koncentracije. Kako je prva koncentracija fenola pri određivanju optimalnog vremena miješanja određena nakon jednog sata, napravljeni su dodatni eksperimenti kako bi se odredio utjecaj unutar prvog sata (slika 25.). Budući da se tijekom 60 minuta dobivene koncentracije povećavaju, može se zaključiti da je optimalno vrijeme miješanja magnetskim miješalom postignuto oko 60-te minute. Primjenom mehaničkog miješala optimalno vrijeme postignuto je nakon 3 sata miješanja. Koncentracija fenola u otapalu pri ekstrakciji pomoću ultrazvučne kupelji pokazuje stalni porast što je rezultat povišenja temperature zbog djelovanja ultrazvučnih valova. Najveća koncentracija kod ekstrakcije u ultrazvučnoj kupelji postiže se nakon 4 sata, što dovodi u pitanje ekonomičnost ovakvog načina provedbe ekstrakcije. Može se ustanoviti da metoda miješanja značajno utječe na trajanje procesa.

Na slici 27. uspoređene se koncentracije ukupnih fenola za različite metode miješanja. Miješanje magnetskim miješalom rezultiralo je najvišom koncentracijom ukupnih fenola, unatoč povišenju temperature koje se događa djelovanjem ultrazvučnih ili mikrovalnih valova. Naime, kako su u sustavu prisutne čvrste čestice, jedino se magnetskim miješalom u potpunosti osigurava podizanje čestica sa dna što povećava kontaktnu površinu i bolju ekstrakciju fenola iz komine. Najviša koncentracija ukupnih fenola dobivena na višim temperaturama je nakon ekstrakcije u mikrovalno - ultrazvučnom reaktoru nakon samo 10 minuta. Istovremeno zagrijavanje cijelog volumena zbog djelovanja mikrovalova te pojava kavitacije prouzrokovana ultrazvučnim valovima pozitivno djeluje na proces ekstrakcije.

Na slici 28. prikazana je usporedba koncentracije ukupnih fenola upotrebom različitih otapala. Bolje izdvajanje fenola dobiva se ekstrakcijom s odabranim eutektičkim otapalima. Visoki stupanj ekstrakcije fenola može se pripisati jakim interakcijama između molekula DES-a i fenolnih spojeva. Bolja separacijska svojstva prema fenolnim spojevima postižu se primjenom eutektičkog otapala DES 1. Učinkovitost ekstrakcije aktivnih komponenti iz biljnog materijala uz pomoć prirodnog eutektičkog otapala ovisi o njegovim fizikalno-kemijskim svojstvima kao što su viskoznost, polarnost i pH vrijednost. Naime, iako sličnog kemijskog sastava, gustoće i

kiselosti, korištena otapala imaju različitu viskoznost (DES 1 ima nižu viskoznost) koja ima značajan utjecaj na miješanje i učinkovitost ekstrakcije pa se tome pripisuje bolja separacija u ovom slučaju.

Do većih razlika u koncentraciji dolazi povećanjem količine otapala kao što je prikazano na slici 29. Postignuto poboljšanje između najmanje i najveće koncentracije iznosi 83 %. Ovakav rezultat može se pripisati samom potencijalu otapala da izdvoji fenole. Ekstrakcija prestaje kad otapalo iskoristi svoj potencijal. Na slici 29. vidljivo je da se povećanjem količine otapala dobije veća koncentracija ekstrahiranih fenolnih spojeva.

Povišenjem temperature smanjuju se gustoća i viskoznost kapljevina što dovodi do bolje ekstrakcije, kako je vidljivo na slici 30. Nadalje, povišenje temperature ne daje značajno poboljšanje u postupku te se može zaključiti da nije ekonomski isplativo.

Na slici 31. prikazani su rezultati ekstrakcije s većom i manjom frakcijom komine masline sa različitim udjelima otapala. Vrijednosti ukupne dobivene koncentracije fenola malo su manje za sitniju frakciju ili približno iste u usporedbi sa većom frakcijom. Iz toga možemo zaključiti da je eutektičko otapalo uspjelo, s obzirom na svoj potencijal, izvući ukupnu količinu fenolnih spojeva te da kominu nije potrebno dodatno usitnjavati.

Provedbom soxhlet ekstrakcije sa konvencionalnim otapalima primijećeno je povećanje koncentracije fenola pri ekstrakciji koja se odvijala prvo sa heksanom pa zatim s etanolom. Ekstrakcijom sa heksanom prvo je oduljena komina i izdvojen dio fenola nakon čega je nastavljena ekstrakcija sa etanolom, što je rezultiralo velikom koncentracijom fenolnih spojeva nakon 6 h. Provedbom soxhlet ekstrakcije samo s etanolom u trajanju 11,5 h dobivena je značajno manja koncentracija fenolnih spojeva, što je vidljivo na slici 32. Na temelju toga, može se zaključiti da uljna faza, prisutna oko čestica komine, predstavlja problem za prijenos tvari jer stvara barijeru između površine čestica i samog otapala. Usporedbom rezultata dobivenih nakon ekstrakcije s magnetskim miješalom oduljene i neoduljene komine vidljivo je da nije došlo do poboljšanja separacije (slika 33.). Može se zaključiti da se postizanjem povoljnih hidrodinamičkih uvjeta smanjuje utjecaj uljne faze uz granicu faza.

Na slici 34. prikazane su koncentracije dobivene ekstrakcijom provedenom s različitim brojem okretaja miješala. Prilikom povećanja broja okretaja miješala povećavala se visina oblaka suspenzije, no nije došlo do povećanja koncentracije ekstrahiranih fenola. Razlog tome pripisuje se činjenici da je u izračunu korištena Zwieteringova empirijska korelacija (2)

pouzdana u području manjeg masenog odnosa komine i DES-a nego što je on bio u našoj ekstrakciji. Zaključujemo da je potrebno koristiti veću količinu otapala da bi se postigla željena visina oblaka, što bi imalo pozitivan utjecaj na ekstrakciju.

Većina rezultata ukazuje na probleme pri miješanju ovakvih suspenzija (velika viskoznost korištenih eutektičkih otapala i velika gustoća komine) te bi se nastavak istraživanja trebao usmjeriti na poboljšanje hidrodinamičkih uvjeta u suspenziji.

## 6. ZAKLJUČAK

Priprema komine masline za ekstrakciju vrlo je važan korak za učinkovitu provedbu procesa ekstrakcije fenolnih spojeva iz komine masline. Komina masline sušena na 60 °C, usitnjena električnim mlinom (1-2 min) te prosijana sitom promjera očica 800 µm pokazala se najboljom u radu.

Pokazano je da se primjenom magnetskog miješala pri sobnoj temperaturi postiže najveća koncentracija ekstrahiranih fenolnih spojeva, dok pri temperaturama od 40-60 °C najbolje rezultate daje mikrovalno - ultrazvučni reaktor.

Primjenom sintetiziranih prirodnih eutektičkih otapala (DES 1 i DES 2) pokazana je bolja sposobnost izdvajanja fenolnih spojeva iz komine masline u odnosu na komercijalna otapala kao što su etanol ili heksan. Od dva primjenjena, bolju učinkovitost pokazalo je prirodno eutektičko otapalo *Ma-Fru-Gly* (DES 1).



## 7. POPIS SIMBOLA

### *Simboli*

$n_D$	indeks loma, -
$X$	maseni odnos, -
$pH$	mjera kiselosti, -
$M$	molarna masa, $\text{g mol}^{-1}$
$T$	temperatura, $^{\circ}\text{C}$
$t$	vrijeme, h
$D$	promjer posude, m
$d$	promjer mješala, m
$h$	razina kapljevine, m
$s$	udaljenost lopatica mješala od dna posude, m
$N$	broj okretaja mješala, o/min
$N_{js}$	broj okretaja mješala potreban za postizanje stanja <i>just suspended</i> , o/min
$S$	bezdimenzijska veličina, funkcija tipa mješala
$g_c$	gravitacijska konstanta, $9,81 \text{ ms}^{-2}$
$d_p$	srednji promjer čestica, m
$x_{sr}$	srednja veličina intervala, $\mu\text{m}$

### *Grčka slova*

$\nu$	kinematička viskoznost, $\text{m}^2/\text{s}$
$\kappa$	električna vodljivost, S
$\rho$	gustoća, $\text{g cm}^{-3}$
$\eta$	kinematička viskoznost, mPas
$\gamma$	masena koncentracija, $\text{g cm}^{-3}$

### ***Indeksi***

ST	suha tvar
UF	ukupni fenoli
T	talište
s	krutina ( <i>eng. solid</i> )
l	kapljevina ( <i>eng. liquid</i> )
p	čestica ( <i>eng. particle</i> )

### ***Skraćenice***

Abs	apsorbancija
DES	prirodno eutektičko otapalo ( <i>eng. deep eutectic solvent</i> )
CH	visina oblaka suspenzije ( <i>eng. cloud height</i> )
GK	galna kiselina
HBA	akceptor vodikove veze
HBD	donor vodikove veze

## 8. LITERATURA

1. Sander, A., Jedinične operacije u ekoinženjerstvu (1. dio); Toplinski separacijski procesi (interna skripta), Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2011.
2. Tzia, C., Liadakis, G., Extraction Optimisation in Food Engineering, Marcel Dekker, Inc., New York, 2003.
3. Drljača, D., Mrđa, M., Ultrazvučna ekstrakcija epikatehina i procijanidina B2 iz čokolade, Rad za Rektorovu nagradu, Sveučilište u Zagrebu, 2009.
4. Jakšetić, A., Optimiranje procesa kruto-tekuće ekstrakcije fenolnih tvari iz ječma metodom odzivnih površina, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2015.
5. Šibalić, D., Utjecaj uvjeta kruto-tekuće ekstrakcije na ekstraktibilnost šećera iz kukuruzne silaže, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016.
6. Matijašić, G., Jedinične operacije u ekoinženjerstvu (2.dio); Mehaničke operacije (interna skripta), Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
7. Martinez-Guerra, E., Gude, V. G., Synergistic effect of simultaneous microwave and ultrasound irradiations on transesterification of waste vegetable oil, Fuel, **137** (2014) 100–108
8. Paul, E. L., Atiemo – Obeng, V. A., Kresta, S. M., Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice, USA, 2004.
9. Cvjetko Bubalo, M., Panić, M., Radošević, K., Radojčić Redovniković, I., Metode pripreme eutektičkih otapala, Stručni rad, Sveučilište u Zagrebu, 2016.
10. Faggian, M., Sut, S., Perissutti, B., Baldan, V., Grabnar, I., Dall'Acqua, S., Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) as a tool for bioavailability improvement: pharmacokinetics of rutin dissolved in proline/glycine after oral administration in rats: possible application in nutraceuticals, Molecules, Switzerland, 2016.
11. <https://www.coolinarika.com/namirnica/masline/> (pristup 11. rujna 2017.)
12. Generalić Mekinić, I., Grga, M., Skripta za vježbe iz kolegija Prerada maslina, Sveučilište u Splitu, 2015.
13. <http://www.maslinovo.hr/procitaj/proizvodnja-maslinovog-ulja-meljjava-ekstrakcija-i-bistrenje/36/> (pristup 12. rujna 2017.)

14. Alu'datt, M. H., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M. N., Al-Tawaha, A. R., Rababah, T., Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake, *Food Chem.*, **123** (2010) 117-122
15. Hart, H., Hadad, C.M., Craine, L.E., Hart, D.J., *Organic Chemistry: A Short Course*, Brooks/Cole, USA, 2012.
16. Alu'datt, M. H., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M. N., Alsaad, A., Rababeh, T., Optimisation and characterisation of various extraction conditions of phenolic compounds and antioxidant activity in olive seeds, *Nat. Prod. Res.*, **25** (2011) 876-889
17. Kušić, H., *Tehnološki procesi organske industrije, predavanje*, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
18. Berend, S., Grabarić, Z., *Određivanje polifenola u namirnicama metodom ubrizgavanja u protok*, Stručni rad, Sveučilište u Zagrebu, 2008.
19. <http://gospodarenjeotpadom.hr/toksicni-ucinci-otpadne-vode-od-prerade-maslina/> (pristup 15. rujna 2017.)
20. Zakon o održivom gospodarenju otpadom, Narodne novine 94/2013., 2013.
21. <http://sportska-prehrana.com/wp/?p=1238> (pristup 11. rujna 2017.)
22. <http://www.rpasd.hr/index.php/zdravlje/item/238-zdravstvena-vrijednost-maslina2015.04> (pristup 12. rujna 2017.)
23. <http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/maslinovo-ulje> (pristup 12. rujna 2017.)

## ŽIVOTOPIS

Luka Đuran [REDACTED] je i pohađao Osnovnu školu Luka. Nakon toga upisuje Gimnaziju Sesvete koju završava 2015. godine. Iste godine upisuje preddiplomski studij Kemijskog inženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Na trećoj godini studija stručnu praksu obavlja u Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“.