

Ekstrakcija polifenola eutektičkim otapalima u mikrosustavima

Pezić, Valeria

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:419271>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valeria Pezić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valeria Pezić

EKSTRAKCIJA POLIFENOLA EUTEKTIČKIM OTAPALIMA U
MIKROSUSTAVIMA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Bruno Zelić

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Bruno Zelić

dr. sc. Anita Šalić

prof. dr. sc. Aleksandra Sander

Zagreb, rujan 2020.

SAŽETAK

Proces ekstrakcije ima široku primjenu u brojnim industrijama današnjice. Konvencionalna otapala koja se obično koriste u procesu ekstrakcije imaju negativne i dugotrajne učinke na okoliš i zdravlje. U svrhu unaprjeđenja ekološki prihvatljivih otapala, konvencionalna su otapala zamjenu pronašla u novoj generaciji otapala, eutektskim otapalima, koja su zbog značajno pogodnijih svojstava postala predmet istraživanja i prakse posljednjih godina.

Polifenolni spojevi su mikronutrijenti koji se nalaze u brojnim biljnim namirnicama. Ekstrakcija polifenolnih spojeva privukla je veliku pažnju mnogih istraživača zbog njihova antioksidativnog, antibakterijskog i antimutagenog djelovanja.

Primjena mikrosustava u industriji postala je značajna zbog brojnih prednosti koje ova vrsta opreme nudi. Ono što ekstrakciji u mikroekstraktorima daje prednost u odnosu na ekstrakciju u klasičnim (makro- i mezo-) ekstraktorima jesu: poboljšani prijenos tvari i topline, bolja kontrola kinetike procesa, manje nusproizvoda i nečistoća, poboljšana radna sigurnost i veća energetska učinkovitost. Mikrosustavi zbog svojih brojnih prednosti predstavljaju obećavajući razvojni pravac u ekstrakcijskim procesima.

Ključne riječi: ekstrakcija, eutektska otapala, polifenolni spojevi, mikroekstraktori

ABSTRACT

The extraction process is widely used in many industries today. Conventional solvents commonly used in the extraction have negative and long – lasting effects on the environment and health. In order to improve environmentally friendly solvents, conventional solvents have found a replacement in a new generation of solvents, eutectic solvents, which have become the subject of research and practice in recent years due to their suitable properties.

Polyphenolic compounds are micronutrients found in a number of plants. The extraction of polyphenolic compounds has attracted attention from many researchers due to their antioxidant, antibacterial and antimutagenic effects.

The application of microsystems in industry has become significant due to the many advantages that this type of reactor offers. What gives extraction in microextractors an advantage over extraction in conventional extractors are: greatly improved mass and heat transport, better control of reaction kinetics, less side effects and impurities, improved operational safety and higher energy efficiency. Microextractors, due to their numerous suitable properties, represent a promising direction in development of extraction processes.

Key words : extraction, eutectic solvents, polyphenolic compounds, microextractors

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. EKSTRAKCIJA	2
2.1. Stupnjevi procesa ekstrakcije.....	2
2.2. Ekstrakcija kapljevina – kapljevina.....	2
2.3. Difuzija u kapljevinama.....	2
2.4. Ekstrakcija krutina – kapljevina.....	3
2.5. Difuzija krutina – kapljevina.....	3
2.6. Izbor otapala.....	4
2.7. Primjena ekstrakcije.....	5
3. POLIFENOLNI SPOJEVI	7
3.1. Fenolne kiseline.....	7
3.2. Flavonoidi.....	8
3.3. Lignani.....	8
3.4. Izvori polifenola.....	9
4. ZELENA OTAPALA	10
4.1. Definicija DES-ova.....	10
4.2. Priprava eutektičkih otapala (DES).....	10
4.3. Fizikalno – kemijska svojstva DES-ova.....	11
4.3.1. Ledište.....	11
4.3.2. Gustoća.....	12
4.3.3. Viskoznost.....	12
4.4. Primjena DES-ova u ekstrakciji.....	12
4.5. Industrijska primjena ekstrakcije DES-ovima.....	13
5. MIKROTEHNOLOGIJA I MIKROSUSTAVI	14
5.1. Mikroekstrakcija i mikroekstraktori.....	14
5.2. Prednosti mikroekstraktora.....	14
5.3. Izrada i materijali za izradu mikroekstraktora.....	16
5.4. Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME).....	17
5.5. Mikroekstrakcija u kapljevitoj fazi (LPME).....	18
5.6. Primjeri mikroekstrakcije polifenola.....	19
6. ZAKLJUČAK	21
7. LITERATURA	22

Životopis

1. UVOD

Posljednjih godina raste trend nekontrolirane primjene štetnih tvari u raznim industrijama, poput kemijske, prehrambene, farmaceutske i biotehnoške industrije. Kao posljedica toga javljaju se negativni učinci na ljudsko zdravlje i okoliš što predstavlja globalni problem današnjice. Primjena hlapljivih organskih otapala čini gotovo 2/3 ukupnih industrijskih emisija, stoga je razvojem zelene kemije znanstvena zajednica pronašla zamjenu za toksična, zapaljiva i ekološki neprihvatljiva otapala u novim, netoksičnim, ekološki i ekonomski prihvatljivim eutektskim otapalima. [1]

Polifenoli su jedna od najvećih i najrasprostranjenijih skupina sekundarnih metabolita u biljnom svijetu, a dobivamo ih iz raznih biljaka i njihovih prerađevina. Djeluju kao jaki antioksidansi, a služe u prevenciji problema s probavom, neurodegenerativnih i kardiovaskularnih bolesti. [2]

Prije upotrebe polifenola u specifičnim primjenama, kao što su prehrambena ili farmaceutska industrija, potrebno ih je izdvojiti iz prirodnih matrica, analizirati, a potom karakterizirati. Izdvajanje polifenola iz matrica je proces koji se naziva ekstrakcija. Ekstrakcija je osnovna tehnika izoliranja željenog spoja iz smjese pomoću selektivnog otapala, pri čemu otapalo ne smije biti topljivo u smjesi. Raspon različitih vrsta ekstrakcijskih sustava danas je vjerojatno veći nego za bilo koji drugi sustav za prijenos tvari. [3]

Reakcije u mikrosustavima postale su temelj današnje industrije, a time je veliki značaj dobila i provedba ekstrakcije u mikrosustavima – mikroekstraktorima. Konvencionalne metode ekstrakcije ne mogu se primijeniti za sve sustave, stoga se ekstrakcija mnogih sustava provodi u mikroekstraktorima gdje se ona može realizirati. Mikroekstraktori nude brojne prednosti u odnosu na konvencionalne ekstraktore. Brža kinetika procesa u mikroekstraktorima značajno smanjuje vrijeme za određivanje kinetičkih parametara i razvoj procesa. Također, mikroekstraktori su odličan alat za brzo testiranje različitih sustava, što rezultira smanjenjem vremena i novca za provođenje eksperimenata. Nadalje, precizna kontrola uvjeta reakcije i obnovljivost predstavljaju najvažnije aspekte mikroekstraktora, dok je važna prednost mikroekstraktora uočljiva i u području smanjenja opasnog otpada.

Ovaj rad prikazuje primjenu mikrosustava za provedbu ekstrakcije s naglaskom na ekstrakciju polifenolnih spojeva ekološki prihvatljivim eutektskim otapalima.

2. EKSTRAKCIJA

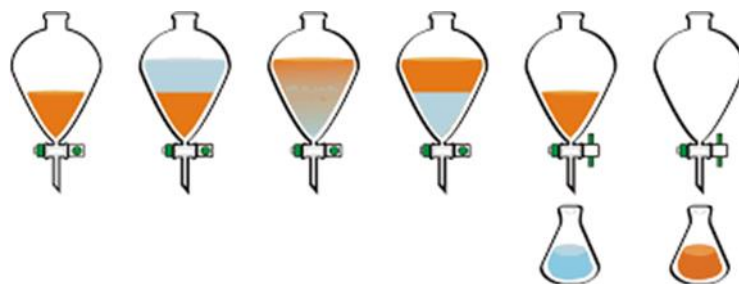
Ekstrakcija je separacijski proces koji se temelji na raspodjeli otopljene komponente između pojne smjese i selektivnog otapala koji se međusobno ne miješaju. [4] Pojna smjesa je smjesa koja sadrži komponentu koju je potrebno izdvojiti i ona predstavlja jednu fazu, dok drugu fazu predstavlja selektivno otapalo. Prijenos tvari u procesu ekstrakcije odvija se prelaskom otopljenje komponente iz pojne smjese u selektivno otapalo. [5]

2.1. Stupnjevi procesa ekstrakcije

Proces ekstrakcije obuhvaća nekoliko koraka, a prvi među njima je dovođenje selektivnog otapala u bliski kontakt s pojnom smjesom, pri čemu ključna komponenta prelazi iz pojne smjese u selektivno otapalo. [5,6] Pojna smjesa, ovisno o prirodi procesa, može biti kapljevina ili čvrsta smjesa tvari. Nadalje se faze, pod utjecajem gravitacijske ili centrifugalne sile, razdvajaju. Posljednji korak uključuje regeneraciju selektivnog otapala te dobivanje aktivne tvari u izvornom obliku. Pravilan odabir selektivnog otapala omogućuje laku provedbu posljednjeg koraka procesa ekstrakcije. [2]

2.2. Ekstrakcija kapljevina – kapljevina

Ekstrakcija kapljevina – kapljevina zasnovana je na različitoj topljivosti ključne komponente u dva nemješljiva otapala. Povećanjem razlike u topljivosti, povećava se i koeficijent razdjeljenja (K), a time i učinkovitost procesa ekstrakcije. Ekstrakcija kapljevina – kapljevina pojednostavljeno je prikazana na slici 1., a obuhvaća dovođenje u kontakt otopine uzorka sa selektivnim otapalom, miješanje dobivene smjese do uspostave ravnoteže između dviju faza, te na kraju razdvajanje faza.

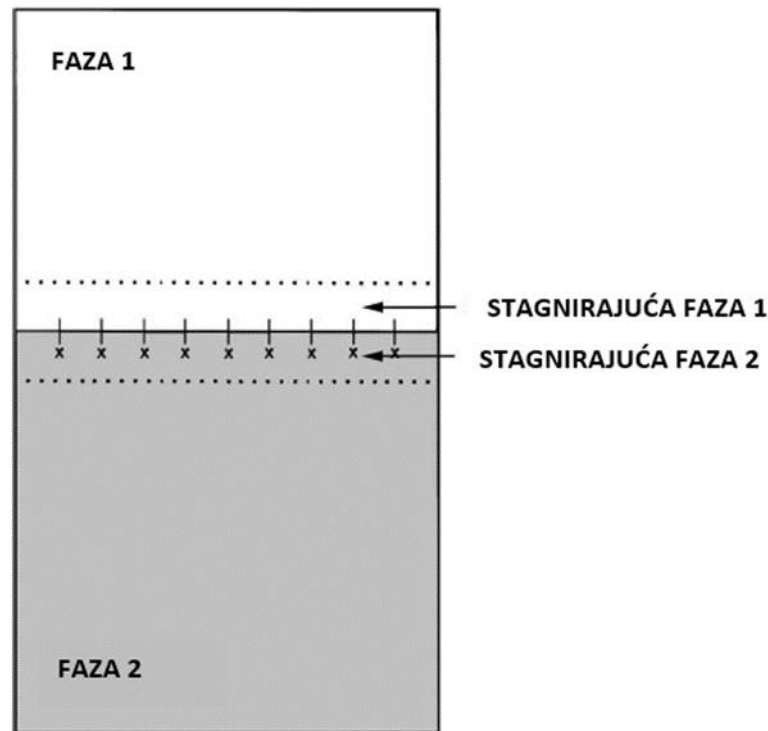


Slika 1. Pojednostavljeni shematski prikaz ekstrakcije kapljevina - kapljevina

2.3. Difuzija u kapljevinama

U kapljevitim sustavima difuzija je ovisna o viskoznosti, a posljedično tome i o temperaturi. Miješanje ili turbulencije na graničnoj površini faza mogu povećati brzinu difuzije kroz

graničnu površinu, uz ograničenje stupnja miješanja. Dakle, umjerenim miješanjem može se smanjiti debljina ustajalih i nepomičnih filmova. Molekule koje difundiraju kroz granicu faza kapljevina – kapljevina sadrže dio s afinitetom prema fazi 2, i dio s afinitetom prema fazi 1. (slika 2.) Kako se fazna disperzija povećava, relativna brzina dviju faza opada, sve dok se ne postigne granični slučaj emulzije, u kojoj relativna brzina postane jednaka nuli.



Slika 2. Shematski prikaz difuzije na granici faza u ekstrakciji kapljevina-kapljevina [7]

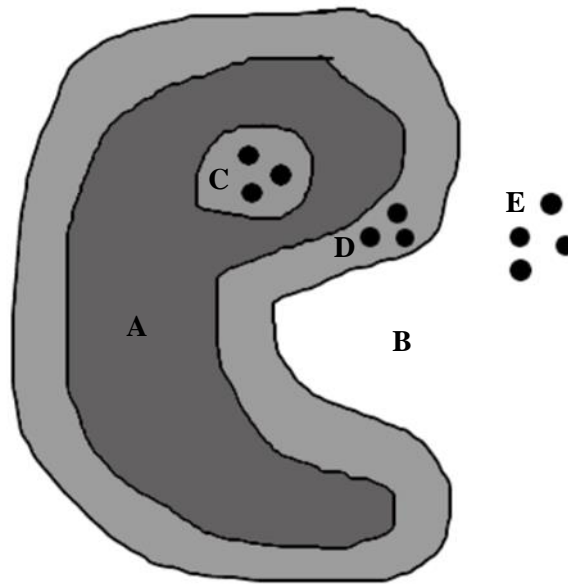
2.4. Ekstrakcija krutina – kapljevina

Ekstrakcija krutina – kapljevina zasnovana je na ekstrahiranju ključne komponente iz krutog uzorka. Kako bi ekstrakcija bila uspješna, ključna komponenta mora savladati interakcije između same komponente i krutog uzorka, a potom zajedno s otapalom difundirati kroz poroznu strukturu krutine.

2.5. Difuzija krutina – kapljevina

Na difuziju kroz pore krutog uzorka utječu geometrija i tortuoznost strukture pora, primjerice duljina difuzijske staze. Na početku procesa ekstrakcije na površini porozne krutine postoji koncentracijski gradijent uslijed čega započinje difuzija čestica ključne komponentne kroz poroznu krutinu. Difuzija kroz krutinu je brz proces (slika 3). Difuzijom čestica ključne

komponente kroz poroznu krutinu uspostavlja se ravnoteža koncentracije ključne komponente unutar krutine, a brzina difuzije eksponencijalno opada.



Slika 3. Shematski prikaz difuzije na granici kruto – kapljevito. A – porozna krutina, B – selektivno otapalo, C – čestice ključne komponente unutar krutog uzorka, D – čestice ključne komponente u ravnoteži s vanjskim filmom otapala, E – čestice ključne komponente otopljene u selektivnom otapalu

2.6. Izbor otapala

Kao što je već navedeno, pravilan izbor otapala važan je čimbenik za uspješno provođenje procesa ekstrakcije. Neka od svojstava koja se promatraju pri izboru selektivnog otapala su :

- Selektivnost – iz smjese se izdvaja isključivo aktivna tvar. [7] Kako bi ekstrakcija bila moguća, selektivnost mora biti veća od 1. [5]
- Kapacitet – što je kapacitet otapala veći, potrebna je manja količina selektivnog otapala.
- Viskoznost – mala viskoznost smanjuje otpor prijenosu tvari. Viskoznost se povećava porastom temperature.
- Miješanje – slabo miješanje dovodi do stvaranja prevelikih kapi, a kod preintenzivnog miješanja moguće je stvaranje emulzije stoga je potrebno odrediti optimalan intenzitet miješanja.
- Koeficijent raspodjele – omjer koncentracije aktivne tvari u dvije faze. Za proces ekstrakcije povoljan je veliki koeficijent raspodjele.

- Topljivost – obično je povezana s razlikama polarnosti dviju faza. [7]
- Regeneracija – uključuje preradu otpadnog otapala u svrhu dobivanja sirovine za daljnju uporabu. Odabiru se postupci obrade koji u minimalnoj mjeri štete okolišu. [8]
- Gustoća – razdvajanju dviju faza pogoduje veća razlika u gustoćama istih.
- Površinska napetost – mala površinska napetost omogućuje lakši prijenos tvari kroz granicu faza. Velika površinska napetost osigurava uvjete za koalescenciju kapljica.
- Toksičnost – otapalo ne smije biti toksično ako se koristi u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.
- Reaktivnost – otapalo u pravilu mora biti nereaktivno te nekorozivno i kemijski stabilno.
- Otapalo mora biti dostupno, cijena mu mora biti pristupačna, a izvori iz kojih se otapalo dobiva održivi. [7]

2.7. Primjena ekstrakcije

Ekstrakcija kapljevine – kapljevine intenzivno se koristi u farmaceutskoj industriji. Klasičan primjer farmaceutske primjene procesa ekstrakcije je pročišćavanje penicilina. Stupanjem penicilinske kiseline u kontakt sa selektivnim otapalom, butil – acetatom, podešava se pH vrijednost na 2-2,5 zbog održavanja stabilnosti penicilina i postizanja povoljnog koeficijenta razdvajanja. Miješanjem ekstraktne faze s 2%-tnom otopinom kalijevog fosfata pri pH 6, nastaje kalijev penicilin koji se potom izolira postupkom filtracije. Na taj se način pročišćava penicilin za farmaceutsku uporabu. Butil – acetat je otapalo niskog vrelišta koje se nakon procesa ekstrakcije može regenerirati destilacijom, što je bitna stavka kod odabira otapala. [9]

Naftna industrija čini jedno od najvećih područja primjene ekstrakcije kapljevine – kapljevine, a usmjerena je na postupak rafiniranja nafte selektivnim otapalom. Kao što je poznato, naftu čini složena smjesa različitih ugljikovodika. Ekstrakcija sirove nafte provodi se u svrhu obogaćivanja nafte, pri čemu se postupkom dobiva ekstraktna faza bogata aromatskim ugljikovodicima, i rafinatna faza bogata alifatskim ugljikovodicima. Rezultat je poboljšana kvaliteta nafte koja se dalje koristi u razne svrhe. [9]

Široka primjena procesa ekstrakcije pronalazi se i u prehrambenoj industriji. Na primjer, ekstrakcija šećera iz šećerne repe u prisustvu vode kao selektivnog otapala rezultira šećerom visoke koncentracije (>15%) i bez nečistoća. Nadalje, superkritični ugljikov dioksid selektivno otapa kofein iz zrna kave. Kao rezultat nastaje kava bez kofeina, a izolirani se kofein može

iskoristiti za drugu namjenu. U tablici 1. navedeni su neki od primjera procesa ekstrakcije u prehrambenoj industriji. [10]

Tablica 1. Primjeri ekstrakcije u prehrambenoj industriji

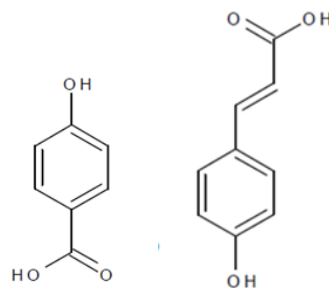
Otapalo	Pojna smjesa	Produkt
Voda	Jabuka (kaša)	Sok od jabuke
Kisela voda	Kolagen	Želatin
Vodena otopina etanola	Zrna vanilije	Aroma vanilije

3. POLIFENOLNI SPOJEVI

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka, koji u svojoj strukturi sadrže aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina. Tijekom posljednjeg desetljeća, istraživači i proizvođači hrane pokazuju sve veći interes za polifenole. Glavni razlog ovog interesa su antioksidativna svojstva polifenola. Osim što iskazuju pozitivne učinke u prehrambenoj industriji, pojavljuju se dokazi o njihovoj ulozi u prevenciji degenerativnih bolesti poput raka i kardiovaskularnih bolesti. Zdravstveni učinci polifenola ovise o konzumiranoj količini i njihovoj bioraspoloživosti koja se uvelike razlikuje između različitih polifenola, a najzastupljeniji polifenoli u našoj prehrani nisu nužno oni koji imaju najbolji profil bioraspoloživosti. Temeljito znanje o bioraspoloživosti stotina prehrambenih polifenola omogućuje identifikaciju onih koji imaju najbolji zaštitni utjecaj na zdravlje. Osim toga, polifenoli čine aktivne tvari koje se nalaze u mnogim ljekovitim biljkama i moduliraju aktivnost širokog raspona enzima. [11]

3.1. Fenolne kiseline

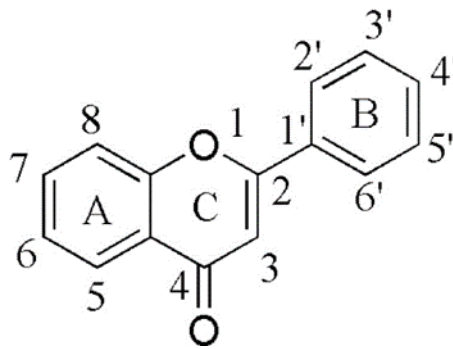
Fenolne kiseline su naziv dobile prema svojoj strukturi koju čini fenol s jednom karboksilnom skupinom. Razlikuju se dvije skupine fenolnih kiselina: derivati benzojeve kiseline i derivati cimetine kiseline (slika 4). Sadržaj hidroksibenzojeve kiseline u jestivim biljkama općenito je vrlo nizak, s izuzetkom dijela crvenog voća i luka. Budući da se te hidroksibenzojeve kiseline nalaze u samo nekoliko biljaka, nisu detaljno proučavane i trenutno se ne smatraju interesantnima za prehrambenu industriju. Hidroksicimetine kiseline češće su od hidroksibenzojevih kiselina i sastoje se uglavnom od p-kumarinske, kofeinske, ferulinske i sinapične kiseline. Te se kiseline rijetko nalaze u slobodnom obliku, osim u prerađenoj hrani koja je podvrgnuta zamrzavanju, sterilizaciji ili fermentaciji. Hidroksicimetine kiseline nalaze se u svim dijelovima voća, a najzastupljenija fenolna kiselina koja predstavlja između 75% i 100% ukupnog sadržaja hidroksicimetine kiseline u većini voća je kafeinska kiselina. [13]



Slika 4. Fenolne kiseline: a) hidroksibenzojeva kiselina b) cimeta kiselina

3.2. Flavonoidi

Flavonoidi spadaju u skupinu biljnih sekundarnih metabolita polifenolne strukture. Nalaze se u raznom voću, povrću, žitaricama, cvijeću, korijenju, stabljikama, čajevima i vinu. Posjeduju povoljne biokemijske i antioksidativne učinke povezane s raznim bolestima poput raka, Alzheimerove bolesti, ateroskleroze itd. Također, nezamjenjiva su komponenta u raznim prehrambenim i farmaceutskim proizvodima te dodacima hrani. Važnu ulogu imaju i u rastu i razvoju biljaka. Sintetiziraju se na pojedinim mjestima u biljkama i odgovorni su za miris i boju cvjetova koji privlače oprašivače. Osim toga, imaju ulogu u otpornosti na sušu i u toleranciji na smrzavanje bilja. [14]



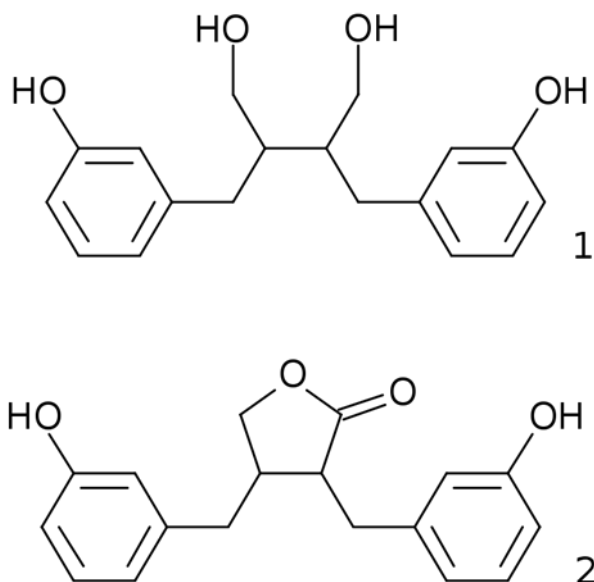
Slika 5. Osnovna struktura flavonoida

Flavonoidi se mogu podijeliti u podskupine ovisno o tome na kojem je ugljikovom atomu C prstena vezan B prsten te o stupnju nezasićenosti i oksidacije C prstena (slika 5). Flavonoidi u kojima je B prsten povezan u položaju 3 prstena C, nazivaju se izoflavoni. Oni u kojima je B prsten povezan u položaju 4, nazivaju se neoflavonoidi, dok se oni u kojima je B prsten povezan u položaju 2 mogu dalje podijeliti u nekoliko podskupina na temelju strukturnih značajki C prstena. Te podskupine su: flavoni, flavonoli, flavanoni, flavanonoli, flavanoli, antocijanini i halkoni. [14]

3.3. Lignani

Lignani su biološki aktivni sekundarni metaboliti nastali oksidativnom dimerizacijom dviju fenilpropanoidnih jedinica. [13] Lignani se svrstavaju u dvije skupine: klasični lignani i neolignani. Klasični se lignani sastoje od 6 podvrsta, dok se neolignani sastoje od 15 podvrsta. Do danas su lignani pronađeni u korijenima, stabljikama, korama, lišću, sjemenkama i plodovima mnogih biljaka. Njihova antivirusna, antifungalna i antimikrobna svojstva ukazuju na njihovu ulogu u zaštiti biljaka od patogena i štetočina. [15] Neki se lignani, primjerice

sekoisolarikirezinol diglukozid (SDG) i matairezinol uz pomoć crijevne mikroflore metaboliziraju u enterodiol (ED) i enterolakton (EL) koji imaju jaka antioksidativna svojstva (slika 6). Najbogatiji izvor lignana su uljne sjemenke (laneno sjeme) koje imaju zaštitne učinke protiv raka dojke, debelog crijeva, prostate i štitnjače. [16]



Slika 6. Struktura enterodiola (1) i eneterolaktona (2)

3.4. Izvori polifenola

Pšenica je važan poljoprivredni produkt i primarni prehrambeni sastojak širom svijeta jer sadrži važne nutritivne komponente bogate antioksidansima. Sve više dokaza upućuje na to da konzumiranje pšeničnih proizvoda nosi pozitivne zdravstvene učinke, uključujući smanjeni rizik od srčanih bolesti i određenih vrsta karcinoma. Ti se pozitivni učinci pripisuju bioaktivnim spojevima u zrnju pšenice, poput neprobavljivih ugljikohidrata i fitokemikalija. Osim pšenice, glavni izvori polifenolnih spojeva su i razni začini poput klinčića, đumbira i cimeta. Također, namirnice s visokim sadržajem polifenolnih spojeva su bobičasto voće, poput borovnica, trešnja, jagoda, malina, ali i orašasti plodovi, primjerice bademi, kesteni i orasi. Razna pića također su bogat izvor polifenola, a kao najznačajnija izdvajaju se vino te zeleni i crni čaj. Pored toga, sporedni proizvodi dobiveni poljoprivrednom i agroindustrijskom proizvodnjom obećavajući su izvor bioaktivnih spojeva. Primjerice, pivska komina (engl. *Brewer's Spent Grain – BSG*)“ glavni je sporedni proizvod u pivarskoj industriji. Primjena joj je ograničena na prehranu životinja, ali se u posljednje vrijeme zbog visokog sadržaja proteina i vlakana, razmatra i kao mogući dodatak u ljudskoj prehrani. [17]

4. ZELENA OTAPALA

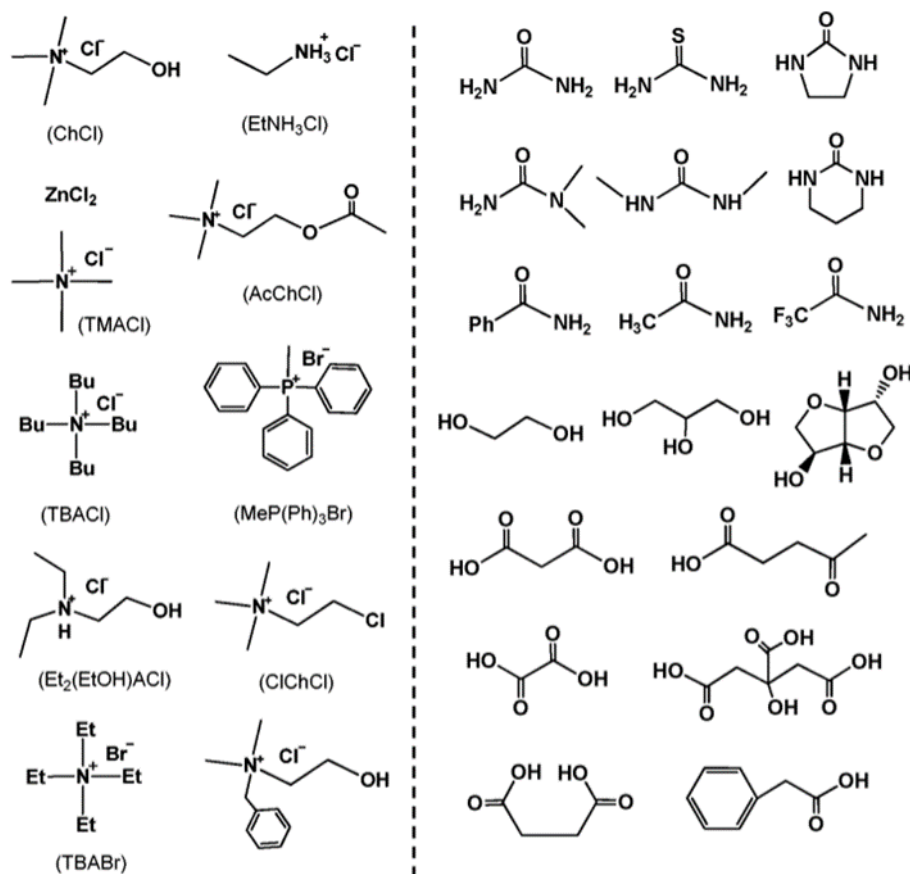
Razvojem zelene kemije u posljednje se vrijeme velika pažnja pridaje istraživanju nove generacije otapala, tzv. zelenih otapala. Ono što tu generaciju otapala čini drugačijom od konvencionalnih otapala jesu određeni kriteriji koji ona moraju ispunjavati, a to su primjerice dostupnost, netoksičnost, biorazgradivost, mogućnost regeneracije, nezapaljivost i pristupačnost. [18]

4.1. Eutektička otapala

Eutektička otapala (engl. *Deep Eutectic Solvents*, DES) su ekološki prihvatljiva otapala koja se sastoje od dvije ili tri komponente u krutom ili tekućem stanju. Ove komponente u pravilu su jeftine, biorazgradive i mogu se regenerirati te kao ključnu karakteristiku imaju sposobnost međusobnog privlačenja vodikovim vezama pri čemu dolazi do nastajanja eutektičke smjese. Eutektičku smjesu karakterizira talište niže od tališta svake pojedine komponente u smjesi. [13] DES-ovi su obično u kapljevitom agregatnom stanju pri temperaturama nižim od 150 °C. Pokazuju slična fizikalno-kemijska svojstva kao i tradicionalno korištene ionske kapljevine, ali su istovremeno mnogo jeftiniji i ekološki prihvatljiviji. Zahvaljujući tim prednostima, mnoga područja istraživanja usmjerena su upravo na razvoj njihove primjene.

4.2. Priprava DES-ova

DES-ovi se dobivaju miješanjem kvarterne soli s metalnim solima ili donorima vodikove veze (engl. *Hydrogen Bond Donor* – HDB). HDB imaju sposobnost formiranja kompleksa s halogenidnim ionom kvarterne soli. [13] Pravilnim kombiniranjem različitih kvarternih soli s odgovarajućim donorima vodikove veze (slika 8), mogu se prirediti DES-ovi željenih fizikalno – kemijskih svojstava. [18]

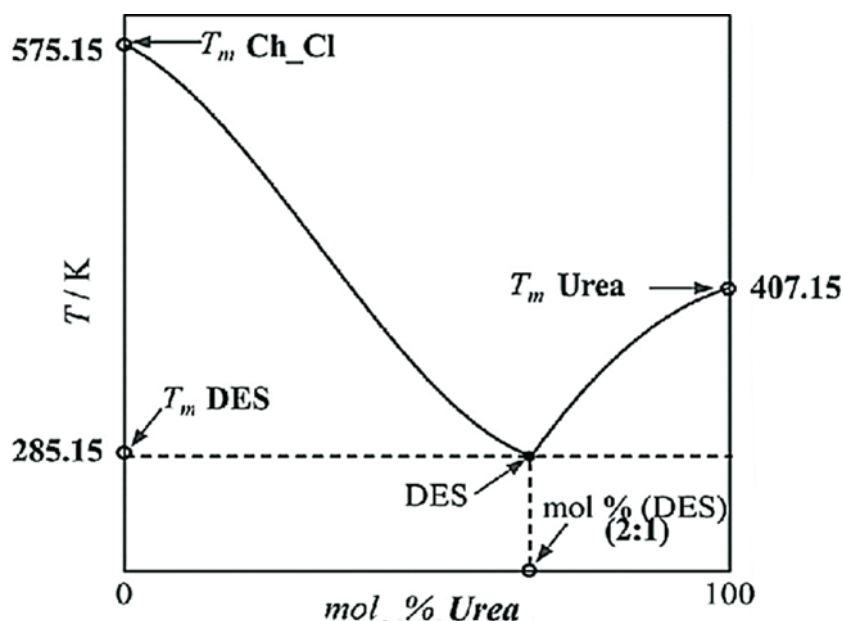


Slika 8. Strukture tipičnih kvarternih soli (lijevo) i donora vodikove veze – HDB (desno) koji se koriste u sintezi DES-ova

4.3. Fizikalno – kemijska svojstva DES-ova

4.3.1. Ledište

DES-ovi imaju temperaturu ledišta nižu od temperatura ledišta komponenti koje ih čine. Na primjer, kada se ChCl (kvarterni amonijeva sol) i urea (HDB) pomiješaju u molarnom omjeru 1: 2, točka ledišta nastalog eutektičkog otapala je 12 °C, što je znatno niže od točke ledišta ChCl i uree (ledište ChCl je 302 °C, a uree 134 °C). Značajna depresija točke ledišta proizlazi iz interakcije između halogenidnog aniona i donora vodikove veze što je u ovom slučaju urea. [19]



Slika 7. Fazni dijagram smjese kolin – klorida i uree u molarnom omjeru 1:2 [20]

4.3.2. Gustoća

Gustoća je jedno od najvažnijih fizikalnih svojstava otapala. Većina DES-ova ima veću gustoću od vode i od čistih HDB-ova, a kreće se u rasponu od $1,041$ do $1,63 \text{ g cm}^{-3}$ [7] Molarni udio kvartarna sol/HDB ima značaj utjecaj na gustoću DES-a koja se uglavnom određuje gravimetrijski. [18]

4.3.3. Viskoznost

Većina DES-ova ima relativno visoku viskoznost ($> 0,1 \text{ Pa}\cdot\text{s}$) na sobnoj temperaturi koja se često pripisuje vodikovim vezama koje povezuju pojedine komponente, što rezultira ograničenjima pri prijenosu tvari tijekom postupka ekstrakcije. Povećana viskoznost se može objasniti i tzv. teorijom šupljina. Ova teorija pretpostavlja da je viskoznost povezana sa slobodnim prostorom i vjerojatnošću pronalaska šupljina odgovarajućih dimenzija potrebnih kako bi se molekule/ioni otapala mogli slobodno kretati. Uz navedeno, na viskoznost mogu utjecati i elektrostatske privlačne sile, van der Waalsove interakcije, kao i sama kemijska priroda komponenata te temperatura. [18]

4.4. Primjena DES-ova u ekstrakciji

Organska otapala, poput metanola, etanola, acetona i heksana široko se upotrebljavaju u ekstrakcijama koje se provode u različitim industrijskim granama. Iako ta konvencionalna otapala imaju svoje prednosti, poput dostupnosti, niske cijene i lake hlapljivosti, velike količine ostataka koji proizlaze iz njihove uporabe zabrinjavajući su čimbenik zbog njihovog negativnog

utjecaja na okoliš. Kao posljedica toga, sve veći značaj pridaje se razvitku „zelene ekstrakcije“ tj. primjene DES-ova kao ekološki prihvatljivih otapala. [19] Neka od svojstava zbog kojih njihova primjena dobiva sve veći značaj su: jednostavna i jeftina priprema, biorazgradivost, zanemariva hlapljivost na sobnoj temperaturi, nemiješanje s vodom i nezapaljivost. Osim toga, DES-ovi djeluju kao efikasna otapala za potpuno otapanje i ekstrakciju širokog spektra nepolarnih i polarnih spojeva, a upotrijebljeni prekursori koji se koriste u njihovoj proizvodnji su većinom obnovljivi, netoksični i prirodni spojevi. [21]

4.5. Primjena DES-ova u industriji

Ranije je navedeno da ekstrakcija ima veliki značaj u naftnoj industriji, stoga znanstvenici širom svijeta zbog povoljnih svojstava DES-ova, istražuju njihovu prikladnost za uporabu u procesima prerade nafte. Ekstrakcija aromatskih ugljikovodika iz nafte predstavlja veliki izazov jer aromatski ugljikovodici tvore azeotropne smjese s alifatskim ugljikovocima. Uloga DES-ova u procesu dearomatizacije pokazala se učinkovitim. Gonzales i sur. [22] proučavali su uklanjanje benzena iz heksana pomoću DES-ova na bazi kolin – klorida. Pokazalo se da DES-ovi imaju puno veću selektivnost od komercijalno korištenih otapala, primjerice sulfolana. Također, DES nije otkriven u heksanskoj fazi, što znači da tijekom postupka ekstrakcije nije došlo do gubitka otapala. Nadalje, Abbott i sur. [22] u svome su radu ispitali primjenjivost DES-ova u uklanjanju glicerola iz biodizela. Glicerol kao sporedni produkt povećava viskoznost goriva, što može rezultirati oštećenjima dizelskih motora. Uporaba DES-a na bazi kolin – klorida rezultirala je uspješnim uklanjanjem glicerola s učinkovitošću do 99%. Navedeni primjeri ukazuju na važnost DES-ova u naftnoj industriji jer pružaju obećavajući način prerade nafte na učinkovit i ekološki prihvatljiv način. Važna primjena DES-ova razvijena je i na području analize hrane, odnosno prehrambene industrije. Istraživanje ekstrakcije polifenola korištenjem DES-ova, proveli su Garcia i sur. [21] u svom radu. Cilj rada bilo je ispitati učinkovitost ekstrakcije polifenolnih spojeva, oleaceina i oleokantala, iz maslinovog ulja uporabom DES-ova i usporediti rezultate s konvencionalno korištenim otapalom 80% metanol:voda (v/v) na sobnoj temperaturi. Primjena DES-ova na bazi kolin – klorida, CHCl_3 /ksilitol i CHCl_3 /1,2-propandiol, rezultirala je porastom prinosa ekstrakcije za 20-33%, odnosno 67,9-68,3% u odnosu na konvencionalnu ekstrakciju. Rezultati sugeriraju da DES nudi učinkovitu, sigurnu, održivu i ekonomičnu alternativu metanolu za ekstrakciju bioaktivnih spojeva. Navedena ispitivanja ukazuju na DES-ove kao obećavajuća otapala u ekstrakciji, zbog čega njihova primjena u prehrambenoj, ali u drugim industrijama poput farmaceutske industrije ili industrije papira dobiva sve veći značaj. [5]

5. MIKROTEHNOLOGIJA I MIKROSUSTAVI

Mikrotehnologija je rezultat tehnološkog razvoja povezanog sa znanstvenim istraživanjima provedenim u zadnja dva desetljeća. Svoju je primjenu, osim u tehnici, pronašla i u mnogim granama znanosti. [23] Tako je primjerice provedba ekstrakcije u mikrosustavima rezultirala povećanjem interesa za minijaturizacijom u kemijskoj proizvodnji. Naime, upotreba mikroekstraktora osigurava bolju kontrolu i selektivnost te veću sigurnost ekstrakcije, uz istovremeno niže troškove ulaganja u opremu, minimalnu količinu otpadnih otapala i ispunjavanje promjenjivih proizvodnih zahtjeva. [24]

5.1. Mikroekstrakcija i mikroekstraktori

Mikroekstrakcija je razvijena zbog nedostataka konvencionalnih tehnika procesa ekstrakcije (npr. ekstrakcija kapljevine – kapljevine) koje su često komplicirane, dugotrajne, iziskuju velike količine uzorka i organskih otapala koji zagađuju okoliš, opasne su po zdravlje, a prate ih i dodatni operativni troškovi za zbrinjavanje otpada. [25] Mikroekstraktori predstavljaju novu vrstu inovativne opreme za primjenu u području kemije, ali i šire. Izraz „mikroekstraktor“ izvorno se odnosi se male cjevne ekstraktore unutar kojih se odvija ekstrakcija. [26] Karakteristične dimenzije unutarnjih struktura mikroekstraktora obično se kreću u rasponu od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetra. [24] Mali volumen mikroekstraktora u kombinaciji s visokim brzinama prijenosa tvari i topline omogućuje provođenje ekstrakcije u ekstremnijim uvjetima s većim prinosima nego što se to obično može postići s uobičajenim makroekstraktorima. Također, prijenos ekstrakcije u veće mjerilo znatno je pojednostavljeno uporabom mikroekstraktora zbog kraćeg vremena potrebnog za prijenos iz laboratorijskog u industrijsko mjerilo, te zbog smanjenih troškova projektiranja. [27]

5.2. Prednosti mikroekstraktora

Mikroekstraktori imaju brojne pogodne karakteristike, a neke od glavnih prednosti mikroekstraktora u odnosu na konvencionalne ekstraktore su:

a) Smanjenje veličine

Smanjenje veličine zatvorenog sustava povećava gradijent određenog procesnog parametra. To se prije svega odnosi na procesne parametre kao što su temperatura i koncentracija koji su najvažniji za provođenje procesa ekstrakcije. Zbog smanjene veličine sustava, povećava se brzina prijenosa tvari i topline po jedinici površine mikrosustava.

b) Povećanje omjera površina – volumen

Zbog smanjene veličine mikrokanala, omjer površina i volumen znatno se povećava. Specifična površina kanala mikroekstraktora je do 50 puta veća od površine standardnih mezo- i makroekstraktora. Pored već spomenute prednosti u brzini prijenosa tvari i topline, povećanje površine uređaja općenito rezultira intenziviranjem procesa koji se provodi u mikroekstraktoru.

c) Režim protoka u mikrokanalima

Još jedna od prednosti mikroekstraktora je specifična hidrodinamika protoka. Protok u mikrokanalima je obično laminaran, usmjeren i vrlo simetričan. Uz to, višefazni sustavi često se spontano razdvajaju protjecanjem kroz mikrokanal što u konačnici rezultira dobrim razdvajanjem faza.

d) Povećanje broja strukturnih jedinica

Tipična značajka mikrosustava je njihovo uvećanje koje se temelji na višestrukome serijskom i paralelnom povezivanju osnovne jedinice (slika 9). Za razliku od klasičnih industrijskih ekstraktora, povećanje produktivnosti mikrosustava ostvaruje se upravo povećanjem broja jedinica, a ne njihove veličine. Umjesto povećanja veličine mikrosustava, uvećanje procesa se ostvaruje povećanjem broja osnovnih jedinica uz stvaranje serijske ili paralelne mreže pojedinačnih mikrosustava. Prednost ovakvog načina uvećanja procesa je prije svega posljedica toga što je sve ono što se odvija i vrijedi na jednoj strukturnoj jedinici primjenjivo i na bilo kojoj razini uvećanja. [12]



Slika 9. Pojednostavljeni prikaz uvećanja mikrosustava (engl. *scale out*)

e) Svestranost proizvodnje

Primjena velikog broja jedinica omogućuje jednostavno mijenjanje količine proizvoda uključivanjem ili isključivanjem nekih jedinica iz sustava. Posljedica toga je mogućnost primjene mikroekstraktora za različite ekstrakcije uz jednostavne preinake. Mikroekstraktori se na taj način mogu koristiti u širokom rasponu radnih uvjeta.

f) Sigurnost mikroekstraktora

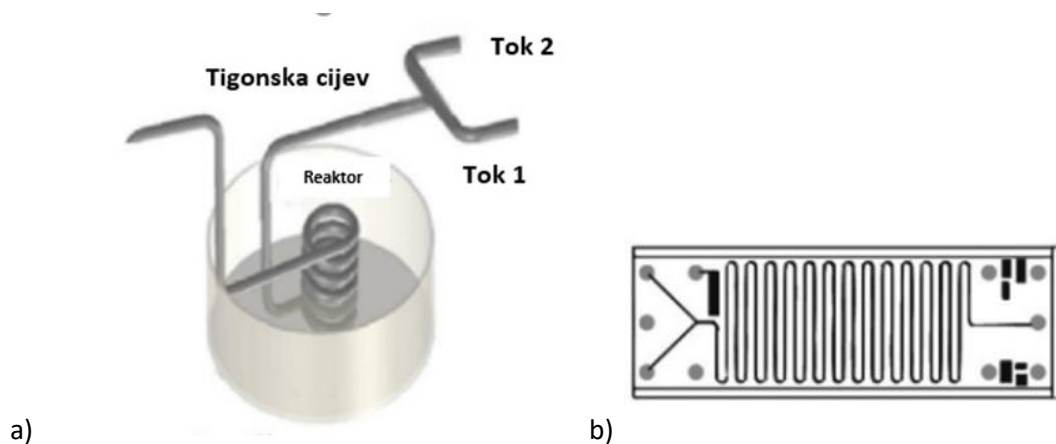
Primjenom mikroekstraktora omogućena je jednostavna kontrola procesnih parametara (temperatura, tlak, trajanje procesa) zbog malog volumena sustava. Procesi ekstrakcije koji se odvijaju pri visokim temperaturama ili uz primjenu opasnih kemikalija odvijaju se sigurnije. S obzirom da se mikroekstraktori mogu lako optimizirati i pomno nadzirati njihova primjena rezultirat će većim prinosima u odnosu na ekstrakciju koja se odvija u konvencionalnim ekstraktorima. Stoga, primjena mikrosustava omogućuje učinkovitiju, a time i bržu provedbu procesa ekstrakcije. [12]

g) Ekološka prihvatljivost

Mala količina otapala i uzorka te s tim povezana mala količina produkta i otpadnog otapala te sporednih produkata glavni su razlozi ekološke prihvatljivosti ekstrakcije u mikrosustavima. Uz to, zbog velikog omjera površine i volumena mikrokanala, prijenos tvari i topline je vrlo učinkovit, što dovodi do male potrošnje energije. Navedene karakteristike čine mikroekstraktore ekološki prihvatljivim sustavima. [28]

5.3. Izrada i materijali za izradu mikroekstraktora

Mikroekstraktori mogu biti konstruirani kao mikrokapilare ili čipovi (slika 10). Mikrokapilarni ekstraktori izrađeni su iz odgovarajućih cijevi željene duljine i materijala, te se uglavnom koriste za postizanje visokih učinkovitosti u ekstrakcijskim procesima. Takvi mikroekstraktori odlikuju se dobrom kontrolom prijenosa tvari i topline. Mikroekstraktori mogu biti konstruirani i kao čipovi koji sadrže niz minijaturnih kanala povezanih u određenoj geometriji, a sve kako bi se lakše provodio i pratio proces ekstrakcije. [29]

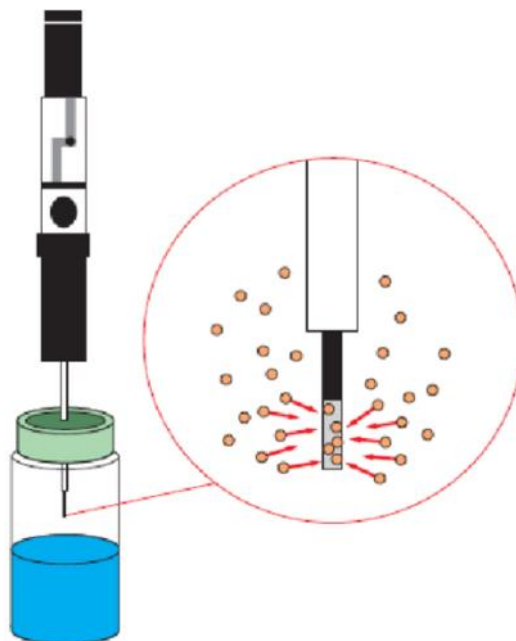


Slika 10. Shematski prikaz kapilarnog mikrosustava (a) i mikro-čip sustava (b)

Za proizvodnju mikroekstraktora koriste se brojni materijali poput metala, polimera, silicija, nehrđajućeg čelika, stakla i keramike. Odabir materijala za izradu mikroekstraktora ovisi o različitim čimbenicima, uključujući radne uvjete (tlak i temperaturu), fizikalna svojstva smjese (pH, viskoznost, broj faza), troškove, mogućnost masovne proizvodnje i lakoću izrade. Silicij je široko dostupan, relativno jeftin i vrlo dobro karakteriziran te je samim tim jedan od najčešće korištenih materijala u izradi mikroekstraktora. Kao potencijalni materijal za izradu mikroekstraktora veliku pažnju privlače i različite vrste polimera. Polimerne mikroekstraktore karakterizira nekoliko prednosti uključujući prilagodljiva svojstva, nisku cijenu i jednostavnost izrade. PDMS (polidimetilsiloksan) je jedan od najčešće korištenih elastomera u proizvodnji mikroekstraktora jer se PDMS mikročipovi mogu proizvesti jednostavnim procesima lijevanja na mikrorazini uz male investicijske troškove. Stakleni mikroekstraktori, s druge strane, nude prednost vizualizacije napretka procesa, kao i rad pri visokim radnim tlakovima ($\leq 4 \cdot 10^7$ Pa). [29]

5.4. Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi

Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME) je jeftina, brza, ekonomična i jednostavna tehnika ekstrakcije s primjenom u raznim područjima poput forenzike i toksikologije, u analizi ekoloških i bioloških matrica kao i u analizi prehrambenih proizvoda (slika 11). [28] Cilj SPME-a nikada nije iscrpna ekstrakcija, već praktičnost i brzina procesa. [29] To je razlog znatno pojednostavljene geometrije SPME sustava koja može biti izvedena na različite načine, uključujući vlaknastu prevlaku, stijenke posude, membrane, miješalice i kapilare. U SPME čiji dizajn uključuje vlaknastu prevlaku, mala količina ekstrakcijske faze (vlakno) raspršene na čvrstom nosaču nalazi se u kontaktu s uzorkom matrice unaprijed definirano vrijeme. Ako je vrijeme dovoljno dugo, uspostavlja se koncentracijska ravnoteža između uzorka matrice i ekstrakcijske faze. Postizanjem ravnotežnih uvjeta, daljnje provođenje ekstrakcije ne vodi i daljnjoj akumulaciji analita. Kako bi provedba SPME metode bila uspješna, potreban je prikladan odabir vlakna (u uporabi je 30ak vrsta) kao i optimalnih uvjeta rada. [30] Najčešće upotrebljivane vlaknaste prevlake u SPME su: 100 μ m polidimetil siloksan (PDMS), 65 μ m divinilbenzen (DVB)/PDMS, 75- μ m Carboxen/PDMS i 85 μ m poliakrilat (PA). [31]



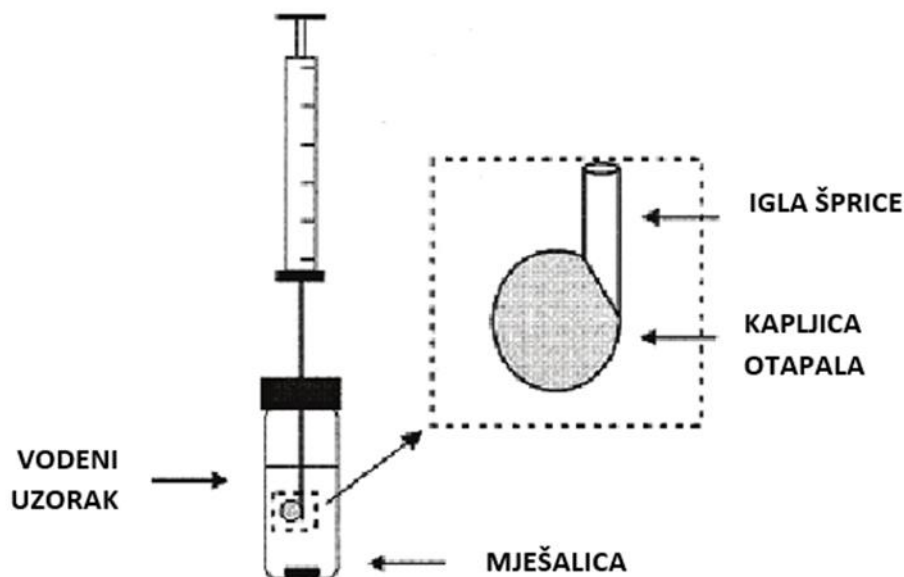
Slika 11. Shema ručne provedbe procesa mikroekstrakcije u čvrstoj fazi

5.5. Mikroekstrakcija u kapljevitoj fazi

Mikroekstrakcija u kapljevitoj fazi (LPME) se može definirati kao minijaturizacija ekstrakcije kapljevina – kapljevina (LLE) u kojoj je volumen ekstrakcijske faze jednak ili manji od 100 μL . [32] LPME se može podijeliti u 3 kategorije:

- a) jednostruka mikroekstrakcija – SDME
- b) disperzivna mikroekstrakcija kapljevina – kapljevina – DLLME
- c) mikroekstrakcija pomoću šupljih vlakana – HF-LPME

SDME je najčešće upotrebljavana tehnika LPME jer je vrlo jednostavna i ne zahtijeva poseban uređaj ili instrument. Sastoji se od viseće kapi otapala koja može visiti iznad kapljevitoz uzorka ili biti potpuno uronjena u isti. Kao i svaka druga tehnika ekstrakcije, proces se upravlja koeficijentom razdvajanja između dvije faze, kapljevite faze kapi (ekstrakcijsko otapalo) i kapljevite faze koja sadrži analit (uzorak). Upotrijebljeno otapalo za ekstrakciju mora imati vrlo slabu topljivost u kapljevitoj fazi uzorka i vrlo nisku hlapivost. [33]



Slika 12. Shematski prikaz mikroekstrakcije u kapljevitoj fazi – SDME tehnika

5.6. Primjeri mikroekstrakcije polifenola

U svom su radu Šalić i sur. [34] istraživali ekstrakciju polifenola iz bijelog vina. Ekstrakcija je provedena pomoću vodenog dvofaznog sustava i to u makro- i mikroekstraktoru kako bi se ispitala primjenjivost mikrokanala za ekstrakciju polifenola. Za ispitivanje je korišten mikroekstraktorski sustav s dva mikročipa, prvi opremljen mikromikserima za miješanje faza i drugi, cjevni, za razdvajanje faza. Na temelju ekstrahiranih volumena dobivene su vrijednosti koeficijenta razdjeljenja, 12,97 za makro- i 12,80 za mikroekstraktor, te vrijednosti ekstrakcijske učinkovitosti, 95,33% za makro- i 95,52% za mikroekstraktor. Vrijeme zadržavanja u makroekstraktoru iznosilo je 10min, dok je u mikroekstraktoru ono iznosilo 10,42s. Iz prikazanih je rezultata vidljivo da je provedba ekstrakcije polifenola iz bijelog vina u mikroekstraktoru postigla gotovo jednak koeficijent razdjeljenja i učinkovitost unutar 60 puta kraćeg vremena zadržavanja, što ukazuje na veliki potencijal mikroekstraktora za učinkovitu i brzu ekstrakciju. Primjenu mikroekstrakcije polifenola u svome su radu istražili i Garcia i sur. [35], s naglaskom na mikroekstrakciju korištenjem DES-a te usporedbu dobivenih rezultata s konvencionalnom ekstrakcijom s metanolom kao selektivnim otapalom. Za mikroekstrakciju lignana (sezamina, sezamolina i sezamola) iz sezamovog ulja zasnovanu na DES-u sastavljenog od kolin – klorida i *p*-krezola (1:2) bio je potreban uzorak ulja od 0,2 g i volumen DES-a od 400 μ L, dok je za ekstrakciju kapljevina – kaljevina iskorišteno 24mL metanola i 5,0 g uzorka sezamovog ulja. Rezultati su pokazali gotovo jednak sadržaj ekstrahiranih lignana u obje

metode ekstrakcije. Istraživanje je ukazalo na glavne prednosti mikroekstrakcije uporabom DES-ova, njenu učinkovitost i ekološku prihvatljivost, što ovakvu ekstrakciju obećavajućom tehnikom u analizi složenih uzoraka hrane.

6. ZAKLJUČAK

Kao novo istraživačko polje, eutektička otapala su pridobila značajnu istraživačku pažnju znanstvenika na širokom području. U ovom radu ukratko su predstavljena eutektička otapala i prikazani razlozi zbog kojih su ova otapala industrijski perspektivnija od konvencionalnih otapala. Naime, eutektička otapala imaju ista povoljna svojstva kao i konvencionalna otapala, a istovremeno ih odlikuje nizak trošak te mogućnost da se komponente od kojih se sastoje mogu odabrati na način da su eutektička otapala biorazgrađiva i netoksična, što ih čini povoljnim za upotrebu u industriji.

Prehrambena industrija često koristi sintetičke antioksidanse u svrhu inhibiranja neželjenih reakcija oksidacije. Međutim, sigurnost ovih aditiva dovedena je u pitanje studijama koje su sugerirale njihove moguće mutagene i kancerogene učinke, potičući potragu za izvorima prirodnih antioksidanata. Ovaj rad istaknuo mogućnost primjene polifenolnih ekstrakata dobivenih iz biljnih proizvoda u mnogim industrijama.

Primjena mikroekstraktora nudi brojne prednosti u odnosu na tradicionalno korištene ekstraktore: mikrokanalna struktura omogućuje učinkovit prijenos tvari i topline, precizno upravljanje vremenom zadržavanja i minimiziranje smetnji. Mikroekstraktori, uzimajući u obzir sve njihove karakteristike, mogu uspješno nadomjestiti nedostatke konvencionalnih metoda ekstrakcije stoga su njihova uporaba i daljnje istraživanje njihovog potencijala od posebnog interesa današnje znanosti i industrije.

7. LITERATURA

1. M. Cvjetko Bubalo, K. Radošević, I. Radojčić Redovniković, J. Halambek, J. Vorkapić-Furač, V. Gaurina Srček, Ionske kapljevine – razvoj i izazovi industrijske primjene, *Kem. Ind.* 63 (2014) 163-171.
2. L. F. Călinoiu, D. C. Vodnar, Whole grains and phenolic acids: A Review on bioactivity, health benefits and bioavailability, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6265897/> (pristupljeno 3. 8. 2020.)
3. J. Chen, Y. Li, X. Wang, W. Liu, Application of deep eutectic solvents in food analysis: A Review, *Molecules* 24 (2019) 4594
4. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Hrvatska enciklopedija, <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=17468> (pristupljeno 25. 6. 2020.)
5. A. Sander, Toplinski separacijski procesi (interna skripta), Jedinične operacije u ekoinženjerstvu I dio , Zagreb, 2011, str. 200.
6. N. Malekinušić, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2016, <https://repozitorij.fkit.unizg.hr/islandora/object/fkit%3A362> (pristupljeno 25. 8. 2020.)
7. D. E. Raynie, Extraction, The Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH, USA, 2000, str. 118-125.
8. PREMIFAB – Regeneracija otpadnih otapala, <https://premifab.hr/usluge/regeneracija-otpadnih-otapala/> (pristupljeno 27. 6. 2020.)
9. V. S. Kislik, Solvent Extraction, Classical and Novel Approaches, Elsevier, Amsterdam, 2012, str. 276-278.
10. P. J. Lyoid, J. Van Wyk, Introduction to extraction in food processing, u N. Lebovka, E. Vorobiev, F. Chemat, Enhancing Extraction Processes in the Food Industry, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2012, str. 1-24.
11. P. Clark, Polyphenolics: Food Sources, Biochemistry, Health Benefits, Nova Science Publishers, New York, 2017, str. 2-3.
12. A. McMillan, G. Velvé-Casquillas, Microreactors & microfluidics in chemistry: a Review, <https://www.elflow.com/microfluidic-reviews/general-microfluidics/microreactors-and-microfluidics-in-chemistry-a-review/> (pristupljeno 27. 7. 2020.)
13. C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, L. Jimenez, Polyphenols: food sources and bioavailability, *Am. J. Clin. Nutr.* 79 (2004) 727-747.

14. A. N. Panche, A. D. Diwan, S. R. Chandra, Flavonoids: an overview, *J. Nutr. Sci.* 5 (2016) e47
15. J. Y. Pan, S. L. Chen, M. H. Yang, J. Wu, J. Sinkkonen, K. Zoud, An update on lignans, natural products and synthesis, *Nat. Prod. Rep.* 26 (2009) 1221-1352.
16. S. M. Nemes, V. Orsat, Microwave-assisted extraction of secoisolariciresinol diglucoside – method development, *Food Bioprocess Technol.* 4 (2011) 1219-1227.
17. F. Santi Stefanelloa, C. Obem dos Santosa, V. Caetano Bochia, A. P. Burin Frueta, M. Bromenberg Soquettaa, A. C. Dörrb, J. L. Nörnberga, Analysis of polyphenols in brewer's spent grain and its comparison with corn silage and cereal brans commonly used for animal nutrition, *Food Chem.* 239 (2018) 385-401.
18. B. Tang, H. Zhang, K. H. Row, Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples, *J. Sep. Sci.* 38 (2015) 1053-1064.
19. Q. Zhang, K. De Oliveira Vigier, S. Royer, F. Jerome, Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 7108-7146.
20. F. Soltanmohammadi, A. Jouyban, A. Shayanfar, New aspects of deep eutectic solvents: extraction, pharmaceutical applications, as catalyst and gas capture, *Chem. Pap.* (2020). <https://link.springer.com/article/10.1007/s11696-020-01316-w>
21. A. García, E. Rodríguez-Juan, G. Rodríguez-Gutiérrez, J. J. Rios, J. Fernández-Bolaños, Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs), *Food Chem.* 197 (2016) 554-561.
22. S. E. E. Warrag, C. J. Peters, M. C. Kroon, Deep eutectic solvents for highly efficient separations in oil and gas industries, *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 5 (2017) 55-60.
23. E. S. Borovinskaya, L. Mammitzsch, V. M. Uvarov, F. Schael, W. Reschetilowski, Experimental investigation and modeling approach of the phenylacetonitrile alkylation process in a microreactor, *Chem. Eng. Technol.* 32 (2009) 919-925.
24. W. Ehrfeld, V. Hessel, H. Löwe, *Microreactors - New Technology for Modern Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000 str. 1-35.
25. A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, Liquid-phase microextraction, *TrAC, Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 1-14.
26. K. F. Jensen, Silicon-based microreactors, u Y. Wang, J. D. Holladay, *Microreactor Technology and Process Intensification*, American Chemical Society, Washington, DC, 2005, str. 1-22.
27. A. Šalić, A. Tušek, Ž. Kurtanjek, B. Zelić, Mikroreaktori, *Kem. Ind.* 59 (2010) 227-248.

28. A. Šalić, B. Zelić, Synergy of microtechnology and biotechnology: Microreactors as an effective tool for biotransformation processes, *Food Technol. Biotechnol.* 56 (2018) 464-479.
29. P. L. Suryawanshi, S. P. Gumfekar, B. A. Bhanvase, S. H. Sonawane, M. S. Pimplapur, A review on microreactors: Reactor fabrication, design, and cutting-edge applications, *Chem. Eng. Sci.* 189 (2018) 431-448.
30. R. Đurović, Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME) u određivanju ostataka pesticida u uzorcima zemljišta, *Pestic. Fitomed.* 26 (2011) 177-184.
31. S. Balasubramanian, S. Panigrahi, Solid-phase microextraction (SPME), Techniques for quality characterization of food products, *Food Bioprocess Technol.* 4 (2011) 1-26.
32. E. Fernández, L. Vidal, 4 Liquid-phase microextraction techniques, u F. P. Pereira, *Miniaturization in Sample Preparation*, DeGruyter, Varšava, 2014, str. 191-252.
33. C. Nerin, Basic principles and applications of liquid phase microextraction techniques, *Sci. Chromatogr.* 8 (2016) 137-142.
34. A. Šalić, A. Tušek, D. Fabek, I. Rukavina, B. Zelić, Aqueous two-phase extraction of polyphenols using a microchannel system – process optimization and intensification, *Food Technol. Biotechnol.* 49 (2011) 495-501.
35. W. Liua, K. Zhanga, G. Yanga, J. Yu, A highly efficient microextraction technique based on deep eutectic solvent formed by choline chloride and p-cresol for simultaneous determination of lignans in sesame oils, *Food Chem.* 281 (2019) 140-146.

