

Primjena eutektičkih otapala u ekstrakciji prirodnih produkata

Malekinušić, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:149:021582>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikolina Malekinušić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikolina Malekinušić

PRIMJENA EUTEKTIČKIH OTAPALA U EKSTRAKCIJI
PRIRODNIH PRODUKATA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Aleksandra Sander

Članovi ispitne komisije:

prof. dr. sc. Aleksandra Sander

izv. prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Zagreb, srpanj 2016.

*Ovaj rad je izrađen na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu,
Zavod za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo, akademske godine 2015./2016.*

Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Aleksandri Sander na uloženom vremenu, trudu i strpljenju pri izvedbi i izradi ovog rada. Također, veliko hvala na razumijevanju te stručnim savjetima i pomoći.

Zahvaljujem Dariu Dabiću, mag.chem, na pomoći pri radu na UV/VIS spektrofotometru.

Veliko hvala mojoj obitelji i dečku Šimunu na moralnoj podršci i razumijevanju kroz čitavo vrijeme studiranja, a najveće hvala mami Ani na uloženoj žrtvi i potpori kroz moj cijeli život.

PRIMJENA EUTEKTIČKIH OTAPALA U EKSTRAKCIJI PRIRODNIH PRODUKATA

Sažetak rada:

Ovaj pregled ističe neka od jedinstvenih svojstava eutektičkih otapala te primjene istih u ekstrakciji prirodnih produkata. Ona su, kao novi tip ekološki prihvatljivih otapala, privukla povećanu pažnju u kemiji u svrhu ekstrakcije i odvajanja ciljanih spojeva iz različitih uzoraka.

Rad daje sažeti pristup primjene eutektičkih otapala u svrhu ekstrakcije kafeina iz kave, hesperidina i limonena iz naranče te miricetina i amentoflavona iz Japanskog čempresa. Eutektička otapala korištena u eksperimentu su kolin klorid-etilen glikol i kolin klorid glicerol. Analiza uzoraka na UV/VIS i FTIR uređajima dokazala je uspješnost ekstrakcije pomoću navedenih otapala.

Ključne riječi:

Eutektička otapala, ekstrakcija, prirodni produkti, UV/VIS, FTIR

Summary:

This review highlights some of the unique properties of eutectic solvents and their application in the extraction of natural products. They are, as a new type of environmentally friendly solvents, attracted increased attention in chemistry for the purpose of extraction and separation of target compounds from different samples.

The work provides a concise approach to the application of eutectic solvents for the purpose of extraction of caffeine from coffee, hesperidin and limonene from orange and myricetin and amentoflavone from Japanese cypress. Eutectic solvents used in the experiment are choline chloride-ethylene glycol and choline chloride glycerol. Analysis of the samples on UV / VIS and FTIR devices proved successful extraction using these solvents.

Keywords:

Eutectic solvent, extraction, natural products, UV/VIS, FTIR

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. EUTEKTIČKA OTAPALA	3
2.1.1. Fizikalno - kemijska svojstva eutektičkih otapala.....	5
2.1.1.1. Talište	5
2.1.1.2. Viskoznost i vodljivost.....	6
2.1.1.3. Gustoća.....	7
2.1.1.4. Ledište	8
2.2. ESTRAKCIJA	9
2.2.1. Izbor otapala	9
2.2.2. Ekstrakcija čvrsto-kapljevito.....	10
2.2.3. Postupak ekstrakcije	11
2.2.4. Primjena eutektičkih otapala kao medija za ekstrakciju	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. SVRHA RADA	14
3.2. PRIPREMA EUTEKTIČKIH OTAPALA.....	14
3.2.1. Kolin klorid – etilen glikol	14
3.2.2. Kolin klorid – glicerol	14
3.3. ISPITNI UZORCI	15
3.3.1. Naranča.....	15
3.3.1.1. Hesperidin	15
3.3.1.2. Limonen	16
3.3.2. Japanski čempres.....	17
3.3.2.1. Miricetin	17
3.3.2.2. Amentoflavon.....	18
3.3.3. Kava	19
3.3.3.1. Kafein	19
3.4. PRIPRAVA UZORAKA.....	20
3.5. EKSTRAKCIJA	20
3.6. SEPARACIJA EKSTRAHIRANIH TVARI	21
3.7. KARAKTERIZACIJA UZORAKA	21
3.7.1. Određivanje početnog sadržaja vlage.....	21
3.7.2. FTIR analiza	22

3.7.3. UV/VIS analiza	23
3.7.4. Mikroskopska analiza.....	23
4. REZULTATI	24
4.1. REZULTATI DOBIVENI UV/VIS ANALIZOM	24
4.1.1. Uzorci s kolin klorid - etilen glikolom	24
4.1.1.1. Naranča.....	24
4.1.1.2. Čempres.....	26
4.1.1.3. Kava	27
4.1.2. Uzorci s kolin klorid - glicerolom	28
4.1.2.1. Naranča.....	28
4.1.2.2. Čempres.....	29
4.1.2.3. Kava	31
4.2. REZULTATI DOBIVENI FTIR ANALIZOM.....	32
4.3. SEPARACIJA EKSTRAHIRANIH KOMPONENTI	34
5. RASPRAVA	36
6. ZAKLJUČAK.....	38
7. POPIS OZNAKA.....	39
8. LITERATURA	40
9. ŽIVOTOPIS.....	41

1. UVOD

U kemiji, izbor pravog otapala je esencijalan, budući da predstavlja oko 80% ukupne količine kemikalija koje se upotrebljavaju u procesu. Otapala moraju zadovoljavati brojne uvjete po pitanju zdravlja i sigurnosti, toksičnosti te problema vezanih uz gospodarenje otpadom. Slijedeći načela zelene kemije, većina organskih otapala ne ispunjavaju uvjete za njihovu primjenu u zelenim tehnologijama, budući da oni imaju inherentnu toksičnost i visoku isparljivost. Slika 1. grafički ilustrira da se uporaba otapala mora minimizirati i optimizirati kako bi se poboljšala reakcija s minimalnim ekološkim i operativnim problemima. Drugim riječima, potrebno je postići sporazum o njegovoj učinkovitosti u kemijsko inženjerskim procesima uz minimiziranje potrošnje energije te izbjegavanje štetnog utjecaja na okoliš, zdravlje i sigurnost. [1]



Slika 1. Ciljevi koje otapalo treba postići

S razvojem zelene kemije, mnogi istraživači više su se usredotočili na otkrivanje i primjenu ekološki prihvatljivih otapala. Ionske kapljevine (ILS), kao klasa zelenih otapala, privukle su veliku pozornost zbog njihovih posebnih fizičkih i kemijskih svojstava. Osim toga, ILS se može reciklirati zbog niskog tlaka para i visoke točke vrenja, čime su otapala potencijalno učinkovitija i ekološki prihvatljivija. Međutim, ograničenja ionskih kapljevina, kao što su toksičnost, slaba biorazgradivost i visoke cijene, predstavljala su ključnu negativnu stranu njihove primjene. Kao rješenje za prevladavanje tih ograničenja, pojavila su se eutektička otapala (DES).

Eutektička otapala su eutektične smjese koje se sastoje od kvaternih soli s donorom vodikove veze (HBD) te imaju nižu točku taljenja nego bilo koji od pojedinačnih sastojaka. Kao takva, postala su nova vrsta zelenih otapala. Većina eutektičkih otapala su jednostavna za pripremu, jeftina i biorazgradiva, tako da se njihov broj povećava. Od nastanka DES-a, njegova pozitivna svojstva privukla su mnogo pažnje. Eutektička otapala se, kao ekološki prihvatljiva otapala, naširoko primjenjuju za ekstrakciju ili odvajanje ciljanih spojeva iz kapljevih ili čvrstih smjesa. [2]

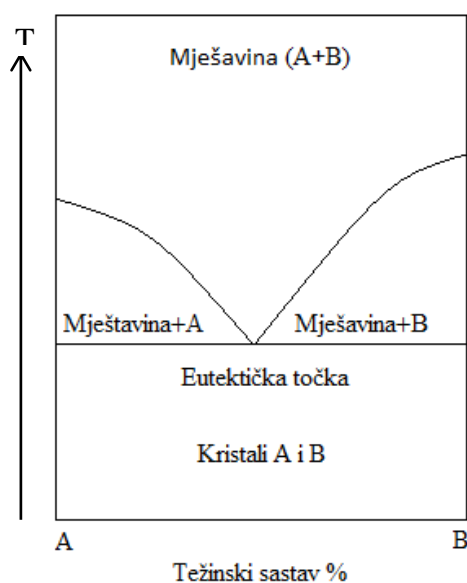
U okviru ovog završnog rada, raspravljat će se o primjenama DES-a kao otapala za ekstrakciju. Eutektička otapala našla su primjenu u različitim separacijskim procesima kao što su procesi uklanjanja glicerola iz biodizela, razdvajanja azeotropnih smjesa itd.

Ovim radom, pokušat će se dokazati njihova učinkovitost u ekstrakciji prirodnih sastojaka i flavonoida iz uzoraka naranče, čempresa i kave.

2. OPĆI DIO

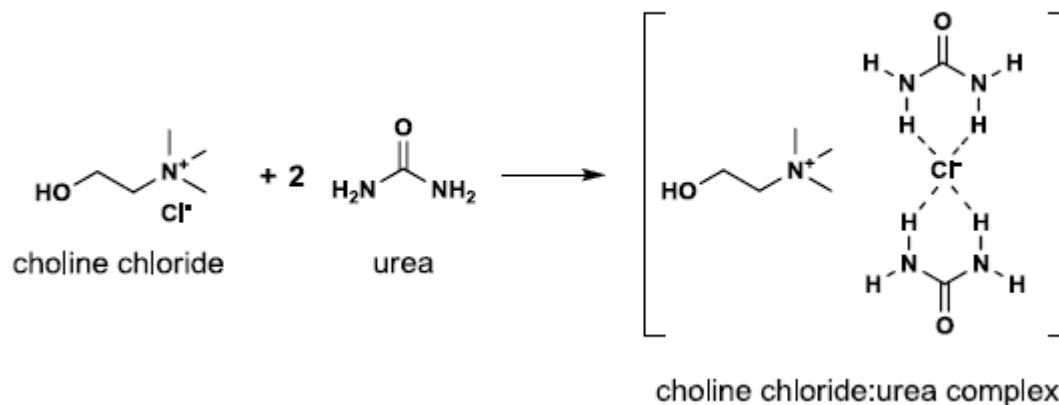
2.1. EUTEKTIČKA OTAPALA

Općenito, eutektički sustav je mješavina kemijskih spojeva ili elemenata koji pokazuje da se jedan kemijski sastav skrutne na nižoj temperaturi od bilo kojeg drugog sastava. Kao što je prikazano na slici 2., eutektična točka odgovara sjecištu temperature i sastava eutektika. [1]



Slika 2. Primjer faznog dijagrama binarne smjese

Eutektičko otapalo (DES) obično nastaje miješanjem kvaterne amonijeve soli (akceptor vodikove veze - HBA), (u nekim slučajevima zamijenjene s kvaternom fosfonijevom soli), s donatorom vodikove veze (HBD). Prvu definiciju eutektičnih otapala dao je Abbott kao smjesu kolin klorida (ChCl) i uree. Kad se te dvije komponente s visokim točkama tališta (302 °C za ChCl i 133 °C za ureu) miješaju u definiranom molarnom omjeru, postiže se eutektična točka što rezultira kapljevitim DES-om pri sobnoj temperaturi s talištem od 12 °C. Velika depresija tališta proizlazi iz interakcije među komponentama, preciznije između atoma vodika iz uree i iona klorida (Slika 3). [3]



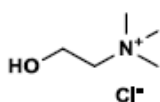
Slika 3. Predložena kompleksacija koja se javlja kada se formira ChCl:urea DES (molarnog omjera 1:2) [3]

Jedna od glavnih karakteristika ovih novih otapala je mogućnost da jednostavnim mijenjanjem jedne ili obje komponente, nastaje veliki broj eutektičnih mješavina s različitim svojstvima. Iako je kolin klorid (ChCl) najčešće korištena kvaterna amonijeva sol zbog svoje niske cijene i biorazgradivosti, mnogi drugi halidi pokazali su se prikladni za pripremu eutektičkih otapala.

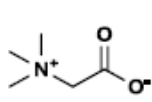
Dakle, s obzirom na opću formulu $[R_1R_2R_3R_4N^+] X^-$, zamjenom alkilne skupine i/ili aniona, široka paleta kvaternih amonijevih soli može postati potencijalna komponenta DES-a. Za tzv. donatora vodikove veze (HBD) može se koristiti nekoliko spojeva kao što su amini, amidi, alkoholi, karboksilne kiseline, šećeri i polioli (Slika 4). Eutektička otapala su uglavnom jeftina s obzirom na relativno jeftine komponente i njihovu pripremu, koja je jednostavna te zahtijeva samo miješanje dvije komponente pri blagom zagrijavanju. Tijekom pripreme DES-a ne stvara se otpad i nije potrebno daljnje pročišćavanje. Važan problem tijekom posljednjih desetljeća predstavlja utjecaj otapala na okoliš što za eutektička otapala nije slučaj jer imaju nizak tlak para i visoko vrelište te je većina njihovih komponenti biorazgradiva i netoksična. Međutim, valja napomenuti da su se toksikološka istraživanja za eutektička otapala tek počela provoditi te je stoga potrebno više eksprimenata u tom pravcu. [3]

Otapalo je definirano svojim svojstvima poput vodljivosti, polariteta, viskoznosti, gustoće, površinske napetosti, indeksa loma i kemijske inertnosti. U sljedećim potpoglavljima bit će objašnjeno nekoliko važnih svojstava DES-a. [3]

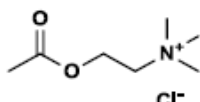
Halide salts



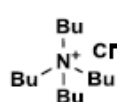
ChCl



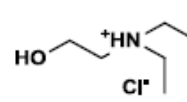
betaine



AcChCl

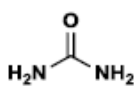


TBACl

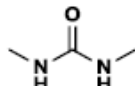


Et₂(EtOH)ACl

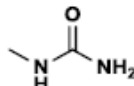
HBDs



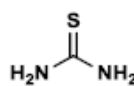
urea



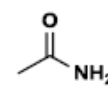
1,3-dimethylurea



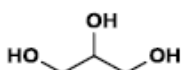
methylurea



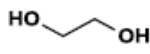
thiourea



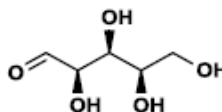
acetamide



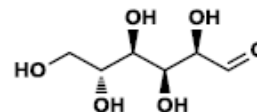
glycerol



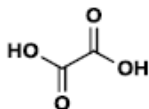
ethylene glycol



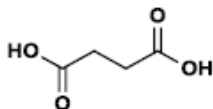
D-xylose



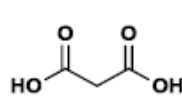
D-glucose



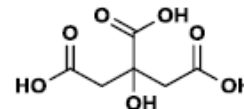
oxalic acid



succinic acid



malonic acid



citric acid

Slika 4. Strukture najčešćih kvaternih amonijevih soli i donora vodikove veze (HBD) koji se koriste u pripravi eutektičih otapala [3]

2.1.1. Fizikalno - kemijska svojstva eutektičkih otapala

Fizikalno - kemijska svojstva eutektičkih otapala obično se pripisuju fleksibilnoj sposobnosti njihovog pripravljanja. Stoga, svojstva kao talište, ledište, vodljivost, gustoća i viskoznost, mogu biti dizajnirana u skladu sa strukturom DES-a. Osim toga, neka jedinstvena svojstva, kao što su biorazgradivost, toksičnost i toplinska stabilnost, također su privukla značajnu pozornost od strane znanstvenika. [2]

2.1.1.1. Talište

Kao što je već spomenuto, ako se kvaterna sol pomiješa u odgovarajućem molarnom omjeru s HBD-om, dolazi do znatne depresije tališta (u usporedbi s pojedinačnim komponentama). Svi poznati DES-ovi imaju tališta ispod 150 °C, a većina njih su čak i

kapljevine na temperaturama manjim ili jednakim 50 °C, što ih čini svakako atraktivnim za mnoge primjene (na primjer u biokatalizi se često koriste niske temperature kako bi se izbjegla enzimska denaturacija). Oba dijela, kvaterna sol i HBD, imaju utjecaj na konačno talište smjese. Štoviše, stvarni molarni omjer halidne soli prema HBD-u, kako bi se postigla što veća depresija tališta je specifična za svaki DES. U cilju rasvjetljivanja ove pojave, Abbott i sur. su predložili da talište DES-a može ovisiti o rešetki energije koja opisuje interakciju aniona i HBD-a i o tome kako se mijenja entropija kada se stvara otopina. [3]

2.1.1.2. Viskoznost i vodljivost

Viskoznost opisuje unutarnje trenje gibajućeg fluida ili drugim riječima, otpor tvari tečenju. Većina poznatih DES-ova pokazuje visoke vrijednosti viskoznosti, često veće od 100 cP (Tablica 1.) (za usporedbu, viskoznost vode iznosi 0.89 cP na sobnoj temperaturi). [3]

Tablica 1. Viskoznost i vodljivost nekih DES-ova na određenim temperaturama [3]

Organska sol	HBD	Sol:HBD Molarni omjer	Viskoznost (cP) (T)	Vodljivost (mS·cm ⁻¹) (T)
ChCl	Urea	1:2	750 (25°C)	0.20 (40°C)
ChCl	Etilen glikol	1:2	37 (25°C)	7.61 (20°C)
ChCl	Glicerol	1:2	359 (25°C)	1.05 (20°C)
EtNH ₃ Cl	CF ₃ CONH ₂	1:1.5	256 (40°C)	0.39 (40°C)
EtNH ₃ Cl	Acetamid	1:1.5	64 (40°C)	0.69 (40°C)
EtNH ₃ Cl	Urea	1:1.5	128 (40°C)	0.35 (40°C)
AcChCl	Urea	1:2	2214 (40°C)	0.02 (40°C)

Glavni razlog za ove visoke vrijednosti može biti povezan s jakom vodikovom vezom formiranom među komponentama eutektičkog otapala, koja neizbježno smanjuje pokretljivost molekularnih spojeva. Ostale sile kao što su elektrostatske ili van der Waalsove interakcije, također mogu doprinijeti visokom viskozitetu. S obzirom na veliki potencijal ovih otapala kao održivih medija, dizajn i razvoj nisko viskoznih DES-ova je poželjan zbog smanjenja operativnih troškova za nekoliko procesnih operacija (npr. miješanje i crpljenje). Viskoznost DES-a je pod utjecajem kemijske prirode komponenata, sadržaja vode i, naravno,

temperature. Zanimljiv efekt opažen u eutektičkom otapalu ChCl:glicerol bio je smanjenje viskoznosti kada se doda veća količina soli. Dok je viskoznost glicerola, na 20 °C 1200 cP, odgovarajući DES (CHCl:glicerol u molarnom omjeru 1: 2) ima viskoznost od 259 cP. To može biti posljedica razbijanja 3D intermolekularne vodikove veze u glicerolu što rezultira manje uređenim sustavom. [3]

Tablica 2. Viskoznost različitih DES-ova i sistema ChCl-glicerol u raznim molarnim omjerima [1]

Organska sol	HBD	Molarni omjer	Viskoznost (cP)
ChCl	Urea	1:2	750
ChCl	Malonska kiselina	1:1	1124
ChCl	Etilen glikol	1:2	37
ChCl	Glicerol	1:2	259
ChCl	Glicerol	1:3	320
ChCl	Glicerol	1:4	350

Vodljivost je mjera sposobnosti materijala za provođenje struje. Ona ovisi o raspoloživim ionima, njihovoj mobilnosti i valencijom. Većina eutektičkih otapala pokazuje slabu ionsku provodnost (manju od 2 mS/cm na sobnoj temperaturi). Umjerena vodljivost može biti posljedica smanjena pokretljivosti iona zbog njihove velike veličine i/ili uparivanja iona ili agregacije koja vodi do manje količine raspoloživih nosača naboja. U tablici 1, prikazane su ionske vodljivosti raznih DES-ova na različitim temperaturama. [3]

2.1.1.3. *Gustoća*

Općenito, gustoća eutektičkih otapala pokazuje više vrijednosti od vode. One su usporedive s onima ionskih kapljevine koja varira između 1.1 g/cm³ i 2,4 g/cm³ . Gustoća ovisi o pakiranju i molekularnoj organizaciji DES-a.

Predloženo je da se eutektičko otapalo sastoji od šupljina i praznih slobodnih mjesta koja upravljaju ponašanjem gustoće. Uglavnom, gustoća se smanjuje s porastom temperature. Opadanje gustoće može biti uzrokovano bržim kretanjem i stvaranjem prostora molekula visoke temperature. Nadalje, gustoća ovisi o sadržaju vode - ona se smanjuje s povećanjem udjela vode.

Osim toga, omjer kvaterne soli i HBD-a također ima utjecaj na gustoću. Na primjer, dodavanje kolin klorda u glicerol rezultira smanjenjem gustoće (Tablica 3.), koje se također može objasniti u smislu slobodnog volumena i teorije šupljina. [1] Gustoća eutektičkih otapala obično se određuje gravimetrijski.

Tablica 3. Gustoće različitih DES-ova i sistema ChCl-glicerol u raznim molarnim omjerima [1]

Organska sol	HBD	Molarni udio	Gustoća (g·cm ⁻³)
ChCl	Urea	1:2	1.25
ChCl	Malonska kiselina	1:1	1.25
ChCl	Etilen glikol	1:2	1.12
ChCl	Glicerol	1:2	1.18
ChCl	Glicerol	1:3	1.20
ChCl	Glicerol	1:4	1.21

2.1.1.4. Ledište

Ledište DES-a ovisi o izboru HBD-a, sastavu i organskoj soli. Pri tome, jačina interakcije između HBD-a i aniona igra važnu ulogu. Na primjer, točke ledišta kolinijeve soli izvedene u DES kombinaciji s ureom smanjuju se u redu F⁻>NO₃⁻> Cl⁻>BF₄⁻ što ukazuje na povezanost sa jakošću vodikove veze. [1]

Eutektička otapala imaju nižu točku ledišta od njihovih pojedinačnih sastojaka, a to svojstvo je pripisano smanjenju Coulombovih sila u DES-ovima s velikim volumenima, te asimetričnoj raspodjeli naboja molekularnih iona. Npr., DES kolin klorid/urea ima niže talište (12 °C) nego bilo koja od dvije komponente zasebno (CHCl₃ pri 302 °C, a urea na 133 °C). Do danas, većina eutektičkih otapala je u kapljevitom stanju, a mogu se pripraviti na sobnoj temperaturi. [2]

2.2. ESTRAKCIJA

Ekstrakcija je izdvajanje aktivne ili otpadne tvari iz krute ili kapljevite smjese pomoću selektivnog otapala. Otapalo se ne miješa ili se tek djelomično miješa s krutom tvari i kapljevnom. Intenzivnim kontaktom, aktivne tvari prenose se iz čvrste ili kapljevite smjese (rafinata) u otapalo (ekstrakt). Nakon miješanja dvije faze potrebno je razdvojiti djelovanjem gravitacije ili centrifugalne sile. Za regeneraciju otapala te za dobivanje aktivne tvari u čistom obliku potreban je daljnji postupak razdvajanja (rektifikacija ili re-ekstrakcijom).

Ovisno o fazama, postoje sljedeće vrste ekstrakcije:

- ekstrakcija čvrsto - kapljevito
- ekstrakcija kapljevito - kapljevito

Glavna područja primjene ekstrakcije su: hidrometalni procesi, procesi u farmaceutskoj industriji (proizvodnja aktivnih sredstava), procesi naftne industrije (proizvodnja monomera i aromata) te čišćenje otpadnih voda.

2.2.1. Izbor otapala

Da bi se otapalo moglo koristiti u procesu ekstrakcije, ono mora zadovoljiti sljedeće zahtjeve:

- Selektivnost → nijedna druga tvar osim aktivne tvari ne smije biti izdvojena iz smjese, što znači da je potrebna velika selektivnost.
- Kapacitet → kako bi se smanjila količina potrebnog otapala, kapacitet otapala mora biti velik.
- Miješanje → da bi se postigla jednostavna regeneracija otapala, mješljivost otapala i primarnog otapala mora biti zanemariva.
- Razlika u gustoći → nakon ekstrakcije, dvije faze se moraju razdvojiti u separatoru, a tome pogoduje velika razlika u gustoći.
- Optimalna površinska napetost → mala σ → potrebna je niska količina energije za disperziju; ako je površinska napetost < 1 mN/m proizvode se stabilne emulzije; $\sigma > 50$ mN/m → potrebna je velika količina energije za disperziju te je velika tendencija za koalescencijom.

- Regeneracija → otapalo se mora moći lako odvojiti od ekstrakta kako bi se iz otapala mogle ukloniti sve nakupljene aktivne tvari a otapalo se vratilo u proces.
- Korozivnost → ako je otapalo korozivno, raste cijena operativnih troškova
- Niska cijena
- Netoksičnost ili izrazito mala toksičnost
- Temperatura plamišta → 25 °C viša od radne temperature
- Viskoznost → niska vrijedost viskoznosti dovodi do manjeg pada tlaka i do dobrog prijenosa tvari i topline
- Kemijska i toplinska stabilnost
- Niski tlak para – otapalo ne smije biti hlapljivo.

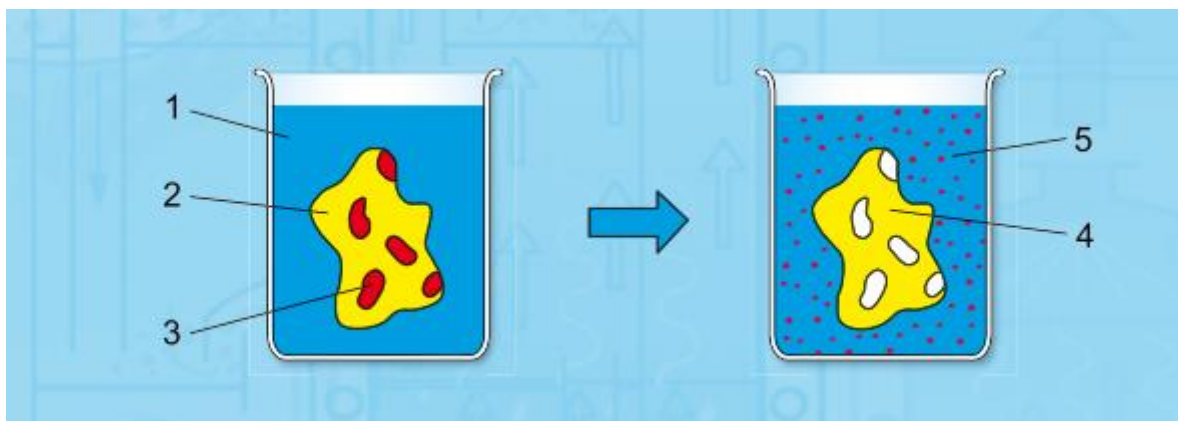
2.2.2. Ekstrakcija čvrsto-kapljevito

U okviru ovog eksperimenta, korištena je ekstrakcija čvrsto - kapljevito poznata još i kao ispiranje. U ovom potpoglavlju, opisat će se ukratko načela i principi ove vrste ekstrakcije.

Načelo za ekstrakciju čvrsto-kapljevito je da su topljivi spojevi krute tvari, postojeće inertne matrice i aktivne tvari, ekstrahirani uz pomoć otapala. Ekstrakt se može nalaziti u tvari za ekstrakciju u krutom ili kapljevitom obliku. Može biti sadržan u stanicama kao što je ulje uljanog sjemenja ili u obliku fine disperzije u krutoj tvari kao što je kafein u kavi. [4]

Da bi proces ekstrakcije čvrsto – kapljevito bio ekonomičan, moraju biti zadovoljeni sljedeći zahtjevi:

- Sirovina iz koje se uklanja ključna komponenta mora biti pripravljena na taj način da ekstrakt može biti izdvojen uz pomoć otapala u kratkom vremenu, što se postiže usitnjavanjem, mljevenjem ili valjanjem.
- Samo željeni ekstrakt mora biti ekstrahiran, što se postiže odabirom selektivnog otapala.
- Ekstrakt treba sadržavati visoke koncentracije ekstrahiranih spojeva.
- Odvajanje otapala iz dobro ekstrahirane otopine kao ekstrakcijskog ostatka, mora biti ekonomično. [4]

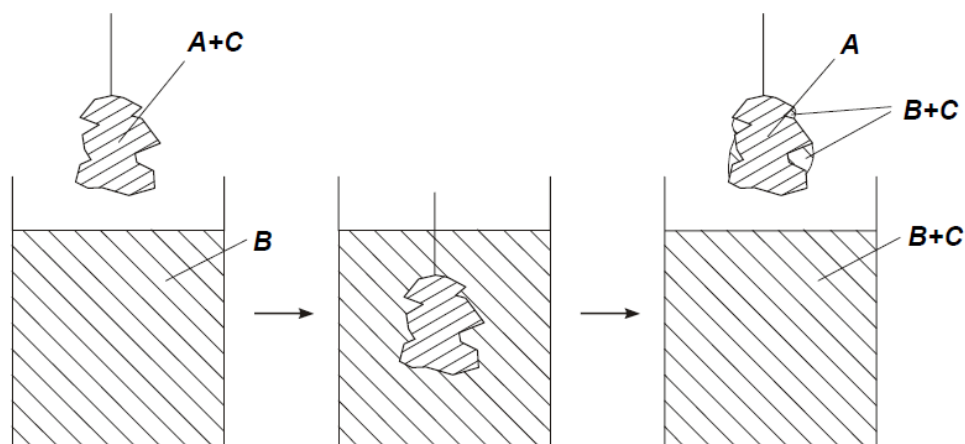


Prije ekstrakcije (lijevo), poslije ekstrakcije (desno)
 1 - otapalo, 2 - materijal za ekstrakciju (nosač čvrste faze s prijelaznom komponentom,
 3 - prijelazna komponenta, 4 – potrošeni nosač čvrste faze, 5 - otapalo s otopljenom
 prijelaznom komponentom

Slika 5. Shematski prikaz ekstrakcije čvrsto-kapljevito [5]

2.2.3. Postupak ekstrakcije

Materijal za ekstrakciju nije homogena tvar već sadrži kapilare različitih dimenzija. Na početku otapalo ulazi u kapilare i otapa ekstrakt. Nastaje otopina visoke koncentracije ekstrakta. Zbog difuzije, dolazi do izmjene tvari između otopine unutar materijala i otopine koja okružuje krute čestice. Na kraju procesa ekstrakcije, određena količina otopine (koja se sastoji od otapala i ekstrahirane tvari) zadržava se unutar čvrstih čestica zbog adhezivnih sila. To je razlog zašto je praktički nemoguća potpuna ekstrakcija. Otopina koja se zadržava u krutom materijalu ima istu koncentraciju na aktivnoj komponenti kao ekstrakt (Slika 6.). Zbog ravnoteže se pretpostavlja da je cijela količina aktivnog spoja otopljena u otapalu. [4]



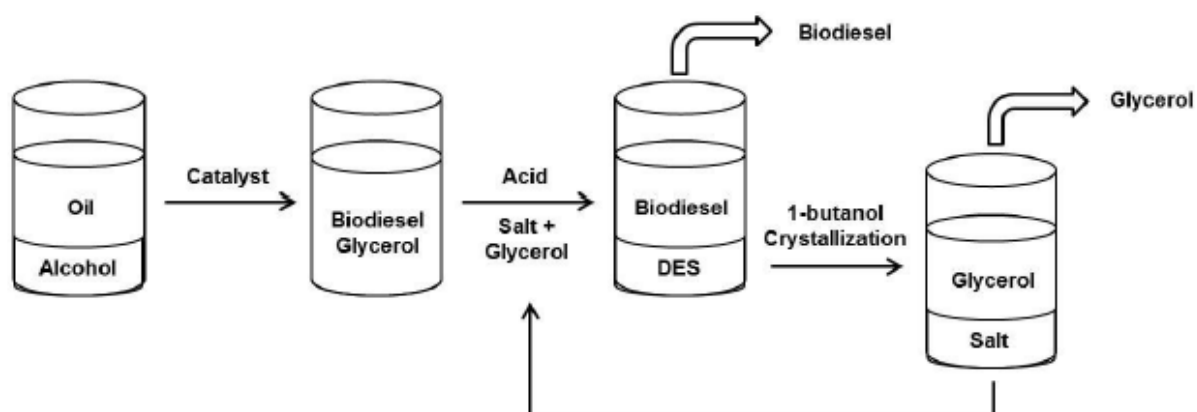
A – inertni materijal; C – aktivna komponenta; B – otapalo

Slika 6. Prikaz idealne ravnoteže u postupku ekstrakcije [4]

2.2.4. Primjena eutektičkih otapala kao medija za ekstrakciju

Istraživanja o primjeni eutektičkih otapala u separacijskim procesima još su na samom začetku, no na tom području se intenzivno radi upravo zbog njihovih posebnih svojstava, jednostavnosti pripreme i ekološke prihvatljivosti. U ovom poglavlju govorit će se o primjeni DES-a kao selektivnog otapala u procesu ekstrakcije ključne komponente iz pojne smjese.

Važan primjer odnosi se na sintezu biodizela. Bez obzira na sirovine korištene za proizvodnju (npr. sjemenke: suncokreta, uljane repice, soje), postupak proizvodnje je analogon i zahtijeva ekstrakciju triglicerida iz sjemenke biljke kako bi se dobila sirovina za transesterifikaciju u alkilne estere (obično metil ili etil). Koriste se homogeni (npr. KOH, NaOH) i heterogeni katalizatori (npr. imobilizirane lipaze, guanidin-bazirani imobilizirani organokatalizatori ili kitozan). Za svaki mol triglicerida, proizvedu se tri mola estera i jedan mol glicerola. Zaostali glicerol u biodizelu šteti radu motora i sprječava potpuno izgaranje goriva u dizelskom motoru. Zbog toga je glicerol potrebno ukloniti kako bi biodizel zadovoljio standard kvalitete. Abbott i suradnici tvrde da se molekule koje ne mogu tvoriti vodikove veze s kolin kloridom ne miješaju s DES-om. [11] Iskorištavanjem ove činjenice istražena je mogućnost uklanjanja glicerola iz biodizela pomoću kvaterne amonijeve soli (Pr4NBr, EtNH3Cl, ClEtMe3NCl, ChCl i AcChCl). Ideja je da se formira DES koji se nakon toga može lako ukloniti iz smjese, a da se se ne miješa sa proizvedenim esterima biodizela. [2]



Slika 7. Shematski prikaz uklanjanja glicerola u proizvodnji biodizela [2]

Nakon ovog postupka, postignuto je značajno smanjenje sadržaja glicerola u biodizelu i, u nekim slučajevima, ovisno o korištenoj soli, dobivene su vrijednosti u skladu s ASTM

standardom (0,00% uočeni molarni udio glicerola, maksimalna dopuštena vrijednost je 0,02%). [2]

Kako bi se prevladali problemi u procesima razdvajanja azeotropnih smjesa primijenjuju se postupci azeotropne destilacije ili ekstrakcije kapljevine -kapljevine. Ekstrakcija kapljevine -kapljevine je atraktivana alternativa metoda jer ne zahtijeva velike količine energije, povišene temperature i tlak. U ovom postupku, odvajanje se vrši uvođenjem treće komponente u azeotropne smjese (ekstrakcijskog otapala) koja prioritetno otapa jednu od komponenti te se na taj način odvija separacija. U tom smislu proučavale su se tri različite vrste DESa (miješanjem ChCl -a i HBD-a kao što je glicerol, etilen glikol i levulinska kiselina) za odvajanje azeotropne smjese etanol-heptan. Eutektička otapala koja sadrže HBD s hidroksilnim skupinama pokazala su se selektivnijima u odnosu na one koji sadrže karboksilnu skupinom kao HBD. Međutim, u svim slučajevima distribucijski koeficijenti i vrijednosti selektivnostisu bili vrlo obećavajući za buduća istraživanja o povećanju opsega procesa. [2]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. SVRHA RADA

Svrha ovog rada je istražiti mogućnost primjene eutektičkih otapala za izdvajanje vrijednih komponenti iz narančine kore, japanskog čempresa i mljevene kave. Odabrana su dva eutektička otapala s kolin kloridom kao akceptorom vodikove veze, te glicerolom i etilen glikolom kao donorom vodikove veze.

3.2. PRIPREMA EUTEKTIČKIH OTAPALA

3.2.1. Kolin klorid – etilen glikol

Navedeni DES pripremljen je u molnom omjeru 1:2,5 što znači da je na 150 g kolin klorida dodano 166.71 g etilen glikola. Svaka kemikalija zasebno se sušila u vakuum sušioniku kroz 8 sati pri temperaturi od 60 °C, slika 8. Nakon toga, odvagane su točno izračunate mase svake kemikalije te su miješane u vakuum isparivaču na temperaturu od 60 °C do postizanja homogene otopine, slika 9.



Slika 8. Vakuum sušionik



Slika 9. Vakuum isparivač

3.2.2. Kolin klorid – glicerol

Eutektičko otapalo kolin klorid – glicerol pripremljeno je u omjeru 1:2; na 100 g kolin klorida dodano je 131.93 g glicerola. Eutektičko otapalo pripravljeno je na način opisan u prethodnom poglavlju.

3.3. ISPITNI UZORCI

U okviru rada, kao polazna sirovina korišteni su narančina kora (svježa i osušena), japanski čempres te mljevena kava. U nastavku, dat će se sažet opis korištenih uzoraka te odabranih supstanci koje sadrže, a koje su se pokušale izdvojiti ekstrakcijom.

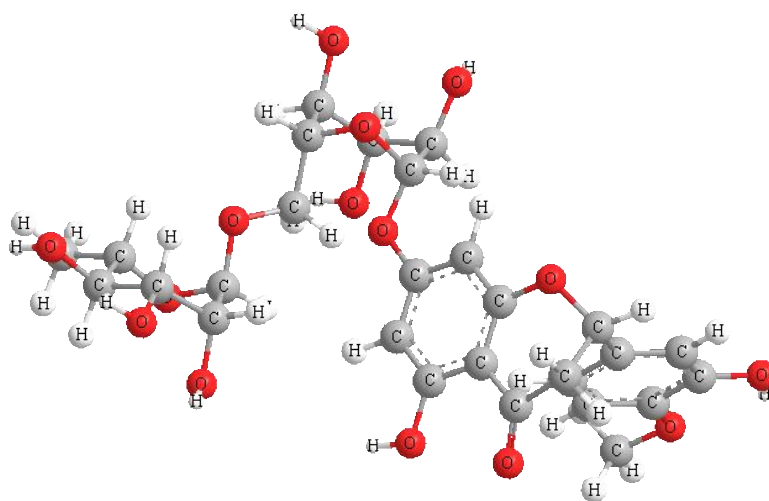
3.3.1. Naranča

Naranča je suptropska biljka iz porodice *Rutaceae*. Može živjeti do 500 godina. Plod je ukusan i sočan, ovalnog oblika. Zimzeleno je drvo iz jugoistočne Azije iz roda *Citrus*. Uzgaja se u regijama s toplom klimom poput Sredozemlja, Južne Afrike i Kalifornije.

Naranča je bogata raznim prirodnim produktima od kojih su u sklopu rada izabrana dva: hesperidin i limonen.

3.3.1.1. Hesperidin

Hesperidin je flavonoid glikozida pronađen u agrumima. Ime dolazi od riječi "*hesperidium*" za voće u produkciji agruma. Hesperidin je prvi put izoliran 1828. od strane francuskog kemičara Lebretona iz bijelog unutarnjeg sloja kore citrusa. Za hesperidin se vjeruje da ima važnu ulogu u obrambenom mehanizmu biljki.



Slika 10. Strukturna formula hesperidina

Hesperidin se istražuje u velikoj mjeri zbog mogućih bioloških svojstava. Jedno od područja istraživanja usmjereno je na mogući kemopreventivni učinak hesperidina, ali još nema

dovoljno dokaza o pozitivnoj ulozi hesperidina u borbi protiv karcinoma. Hesperidin se pokazao učinkovit u liječenju Alzheimerove bolesti kod životinja te ublažavanju patološke promjene inducirane trovanjem aluminijom. [6]

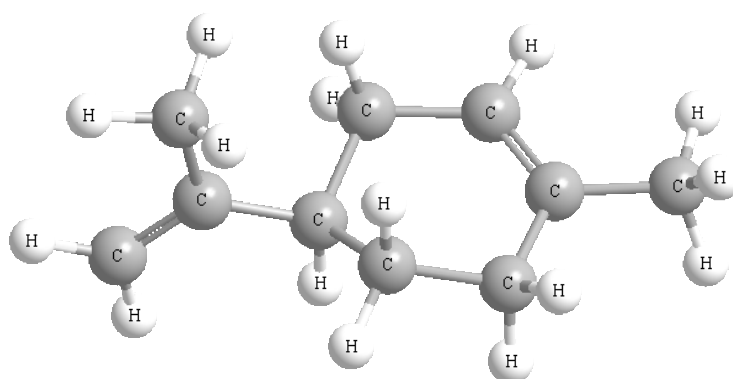
Hesperidin se također sam ili u kombinaciji s drugim bioflavonoidima iz citrusa (*diosmin*, npr.), najčešće koristi za tretiranje bolesti krvnih žila kao što su hemoroidi, proširene vene, i slaba cirkulacija (venski zastoj). Također se koristi za liječenje limfedema, stanja koje uključuje zadržavanje tekućine koje može biti komplikacija operacije raka dojke. [7]

3.3.1.2. Limonen

Limonen je bezbojna kapljevinna koja se klasificira kao ciklički terpen. Najčešći d-izomer ima jak miris naranče. Koristi se u kemijskoj sintezi kao preteča za karvon i kao ekološki prihvatljivo otapalo u proizvodima za čišćenje.

Limonen dobiva ime od limuna. Kora naranče i limuna, kao i kora ostalih agruma, sadrži znatne količine ovog spoja koji doprinosi njihovom mirisu.

Limonen je uobičajen u kozmetičkim proizvodima. Kao glavni sastojak mirisa citrusa (biljne porodice *Rutaceae*), d-limonen se koristi u proizvodnji hrane i nekih lijekova, npr kao začim za prikrivanje gorkog okusa alkaloida te kao miris u parfemima, losionima poslije brijanja, kupkama i drugim sličnim proizvodima koji sadrže parfeme; također se koristi kao botanički insekticid. On se dodaje u sredstva za čišćenje kao što su sapuni za ruke zbog svoje sposobnosti otapanja ulja te kako bi se postigao miris limuna i naranče. [6]



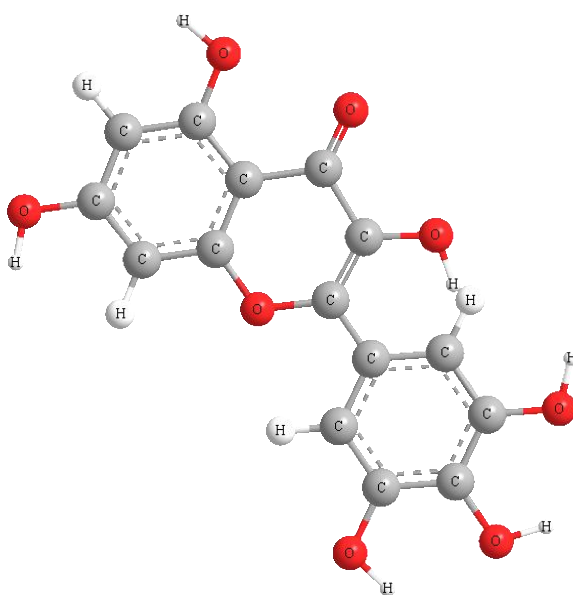
Slika 11. Strukturna formula limonena

3.3.2. Japanski čempres

Japanski čempres (*Chamaecyparis obtusa*) je zimzeleno stablo iz porodice čempresa (*Cupressaceae*). Naraste do 35 m, tvoreći kupastu krošnjju. Deblo je promjera do 1 m, kora mu je crvenosmeđa i guli se u uzdužnim, uskim trakama. Grane su horizontalne, vrhovi im vise i čine kupastu krošnjju. Listovi su ljuskasti, segmenti su dugi 2-4 mm, tupi, na licu zeleni, na naličju imaju bijele pruge. Češeri su okruglasti, promjera 8-12 mm te nalaze se na dršci. Drvo je vrlo kvalitetno, aromatičnog mirisa na limun, otporno na truljenje te pogodno za obradu. Može se koristiti u izradu namještaja, a u Japanu ga koriste za izradu hramova. [8] List Japanskog čempresa sadrži falvonoide miricetin i amentoflavon koji su se u okviru ovog rada pokšali ekstrahirati.

3.3.2.1. Miricetin

Miricetin je član flavonoida u klasi polifenolnih spojeva s antioksidativnim svojstvima. Učinkovit je u zaštiti stanica od kancerogenih mutacija. Miricetin smanjuje rizik od tumora kože koji je uzrokovan policikličkim aromatskim ugljikovodicima kao što su benzo(a)piren (visoko kancerogeni spoj) što je dokazano na miševima kao pokusnim uzorcima. Nakon što se na njihovu kožu nanijelo promotorno sredstvo tumora, uvidjelo se da su se na više biokemijskih razina pokazale lokalne primjene na miševima. Miricetin je inhibirao vezanje benzo(a)pirena na DNA i proteine epidermalnih stanica kože.



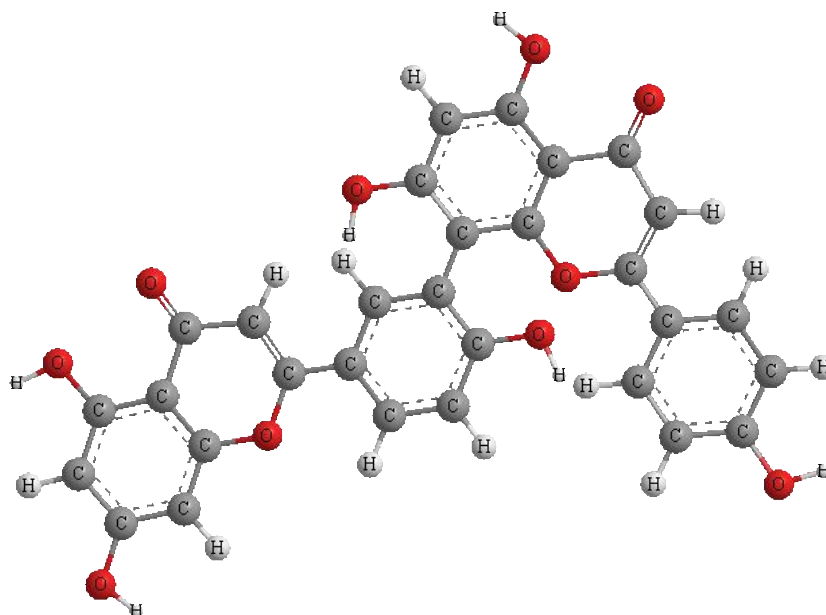
Slika 12. Strukturna formula miricetina

Također se pokazalo da inhibira genetske mutacije. Test je pokazao da je miricetin bio učinkovitiji u sprječavanju mutageneze inicirane određenim kancerogenim policikličkim aromatskim ugljikovodicima u odnosu na druge koji su manje učinkoviti u prevenciji mutageneze. Treba napomenuti da se točna biokemijska djelatnost miricetina još uvijek nije u potpunosti istražila. Jasno, to je višeznačan, složen sustav antikancerogenog djelovanja koji prikazuje da se miricetin ne primjenjuje jednako na sve podvrste karcinogenasa.

Miricetin sadrži i antivirusnu aktivnost protiv brojnih virusa uključujući *Moloney murine* leukemija virus, *Rauscher murine* leukemija virus i virus humane imunodeficijencije. Njegovi učinci protiv širenja virusa, smatraju se posljedicom sposobnosti miricetina da inhibira pravilno funkcioniranje reverzne transkriptaze. [6]

3.3.2.2. Amentoflavin

Amentoflavin je biflavonoid koji se nalazi u velikom broju bilja pa tako i u japanskom čempresu. Ova tvar je poznata kao pojačivač raspoloženja, njegova sposobnost da aktivira GABA-A receptora u mozgu može dati snažan osjećaj budnosti i fokus. Osim toga, amentoflavin također može povećati proizvodnju serotonina u tijelu, što je još jedan pozitivan aspekt ovog spoja.



Slika 13. Strukturna formula amentoflavona

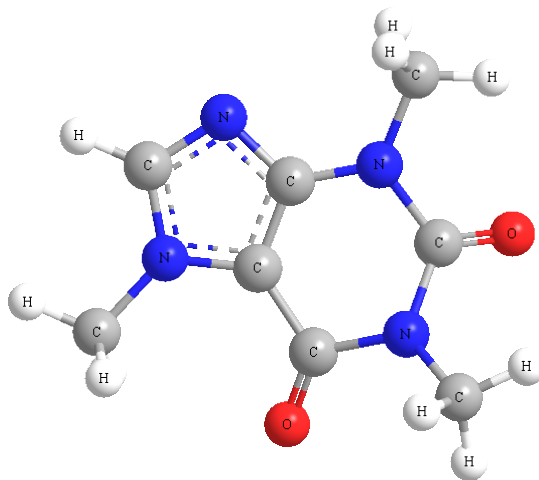
Višestruke studije otkrile su protuupalna svojstva amentoflavona kao i njegova anti-virusna svojstva i sposobnost inhibicije raznih vrsta karcinoma. To je moguće zbog činjenice da amentoflavone inhibira sintezu masnih kiselina, zaustavljajući rast stanica raka i replikaciju nekih virusa. Osim toga, on također u tijelu sprječava skladištenje viška energije u obliku masti i pomaže razbiti masnoće, proces poznat kao lipoliza. Osim toga, sportaši koriste amentoflavon tijekom treninga zbog svojih snažnih vazodilatacijske sposobnosti koja uzrokuje veći protok krvi i snagu kontrakcije mišića. [9]

3.3.3. Kava

Kao treći uzorak koristila se kava. Poznati napitak spravlja se od prženih i mljevenih sjemenki koje rastu na stabljici biljke kave. Biljka potječe iz Etiopije a naziv "*caffa*", napitak je dobio po pokrajini u kojoj su najviše spravljali "čaj" od prženog zrnja. Kafein je glavni sastojak koji se u eksperimentu pokušao ekstrahirati iz kave uz pomoć eutektičkog otapala.

3.3.3.1. Kafein

Kafein je stimulans središnjeg živčanog sustava u klasi metilksantina. To je u svijetu najčešće konzumirana psihoaktivna droga, a za razliku od mnogih drugih psihoaktivnih tvari, to je pravna i neregulirana tvar u gotovo svim dijelovima svijeta. Postoji nekoliko poznatih mehanizama djelovanja koji objašnjavaju učinke kafeina. Najistaknutiji je da se reverzibilno blokira djelovanje adenozina na njegov receptor i time sprječava pojavu pospanosti inducirane adenzinom. Kafein također potiče određene dijelove autonomnog živčanog sustava.



Slika 14. Strukturna formula kafeina

Kafein može imati i pozitivne i negativne posljedice po zdravlje. Može se koristiti za liječenje bronhioplućne displazije u mlađoj dobi, a kako bi se spriječio poremećaj spavanja, apnea (prestanak disanja koji potraje par sekundi), kafein je stavljen na WHO popis bitnih lijekova u 2007. Može se steći skroman zaštitni učinak protiv nekih bolesti, uključujući Parkinsonovu bolest i neke vrste karcinoma. S druge strane, kafein može povisiti krvni tlak i uzrokovati sužavanje krvnih žila što dovodi do veće mogućnosti srčanog udara. [6]

3.4. PRIPRAVA UZORAKA

Za ekstrakciju čvrsto-kapljevito bilo je potrebno uzorke kore naranče i japanskog čempresa usitniti. Kora svježe naranče je naribana na ribežu, a listići japanskog čempresa su narezani na sitne komadiće. Ekstrakcija se provodila sa svježim i osušenim uzorcima narančine kore i japanskog čempresa.

Tablica 4. Koncentracije otopina

UZORAK	Komponenta	Koncentracija, maseni udio, %	
		Kolin klorid – etilen glikol	Kolin klorid - glicerol
Naranča	Hesperidin	0,050	0,314
	Limonen	0,510	0,512
Japanski čempres	Mirecitin	0,050	0,050
	Amentoflavon	-	0.00385
Kava	Kafein	0,0450	0,020

Kako bi se potvrdila ekstrakcija ciljanih spojeva (hesperidin i limonen iz naranče, mirecitin i amentoflavon iz japanskog čempresa te kafein iz kave) pripravljene su otopine tih spojeva u odabranim eutektičkim otapalima, nakon čega su im snimljeni UV/VIS i FTIR spektri. Koncentracija tako pripremljenih otopina ovisila je o topljivosti pojedinih spojeva u eutektičkim otapalima. U tablici 4. prikazane su koncentracije otopina.

3.5. EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija se provodila 60 minuta pri brzini vrtnje miješala od 150 ili 250 o/min u šaržnom ekstraktoru s magnetskim miješanjem, slika 15. Maseni omjer uzorak/otapalo iznosio je 0,25

kg/kg za uzorke narančine kore i japanskog čempresa, te 0,125 za kavu. Nakon ekstrakcije suspenzija je profiltrirana a ekstraktna je faza analizirana na UV/VIS i FTIR spektrofotometru.



Slika 15. Šaržni ekstraktor s magnetskim miješanjem

3.6. SEPARACIJA EKSTRAHIRANIH TVARI

Separacija ekstrahiranih komponenti kristalizacijom provodila se djelovanjem antiotapala i hlađenjem otopina nakon provedene ekstrakcije. S obzirom da hesperidin i limonen nisu topljivi u vodi kao antiotapalo koristila se voda. Za kristalizaciju mirecitina u otopinu se dodala octena kiselina kao antiotapalo. Kafein je dobro topljiv u mnogim otapalima pa se nije pronašlo odgovarajuće antiotapalo. Međutim, njegova se topljivost u različitim otapalima znatno mijenja s promjenom temperature pa su otopine nakon ekstrakcije ostavljene u hladnjaku nekoliko dana.

3.7. KARAKTERIZACIJA UZORAKA

3.7.1. Određivanje početnog sadržaja vlage

Početni sadržaj vlage narančine kore i listića japanskog čempresa određen je na analizatoru vlage, odnosno infracrvenom sušioniku, prikazanom na slici 16. Sušenje se provodilo pri temperaturi od 40 °C.



Slika 16. Analizator vlage

3.7.2. FTIR analiza

Spektroskopija u infracrvenom području temelji se na međudjelovanju infracrvenog zračenja s molekulama. Molekule apsorbiraju infracrveno elektromagnetsko zračenje valnih duljina koje odgovaraju vibracijskim energijama kemijskih veza, karakterističnim za vrstu veze i kemijsku skupinu koja vibrira. FTIR spektroskopija je metoda kojom je moguće određivati kemijski sastav, strukturu i konformacije tvari. Spektroskopija omogućuje karakterizaciju materijala u kapljevitom i krutom stanju, kao i karakterizaciju uzoraka podvrgnutih pirolizi. Analizira se spektralno područje od 400 do 4000 cm^{-1} . [10]



Slika 17. Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala (FTIR) [10]

3.7.3. UV/VIS analiza

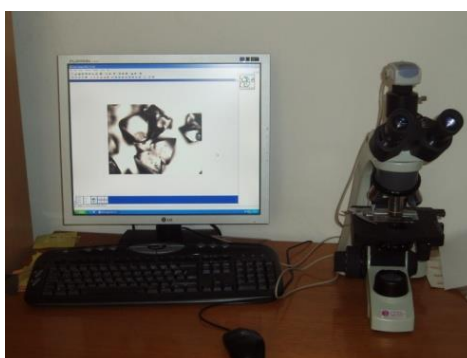
UV/VIS spektroskopija je kvantitativna metoda određivanja koncentracije tvari u otopini. Zraka određene valne duljine zračenja usmjerava se kroz otopinu koja se nalazi u kiveti smještenoj na nosaču uzorka. Spektrofotometar mjeri intenzitet svjetla koje je prošlo kroz analizirani uzorak te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla. Intenzitet apsorbiranog zračenja u uzorku izravno je razmjeran koncentraciji tvari koja se određuje. [10]



Slika 18. UV/VIS spektrofotometar [10]

3.7.4. Mikroskopska analiza

Nakon kristalizacije dodatkom antiotapala u otopinu ili hlađenjem otopine, dobiveni su kristali snimljeni na svjetlosnom mikroskopu prikazanom na slici 19.



Slika 19. Svjetlosni mikroskop

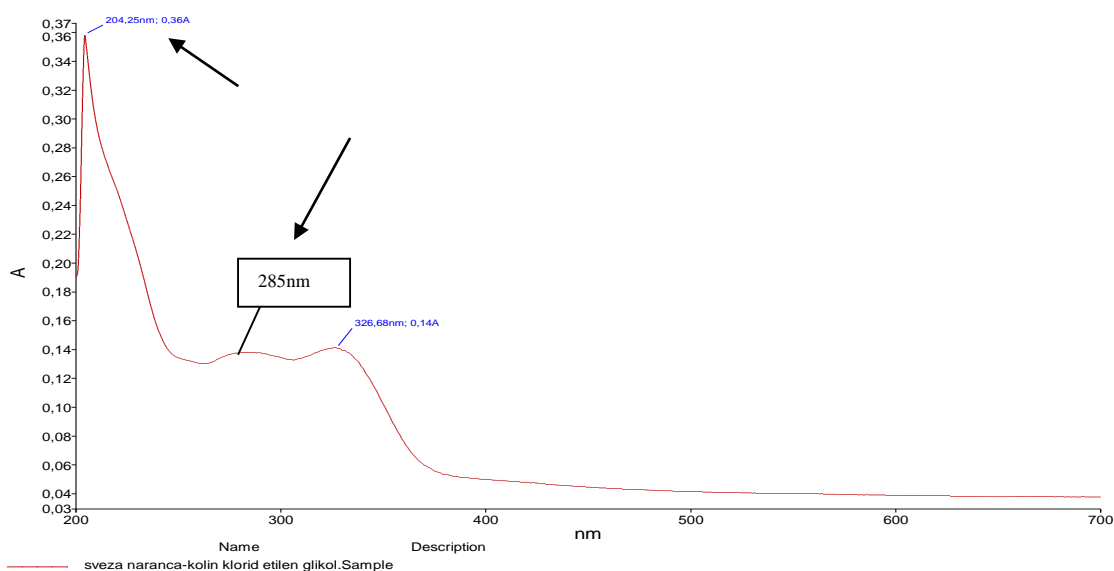
4. REZULTATI

4.1. REZULTATI DOBIVENI UV/VIS ANALIZOM

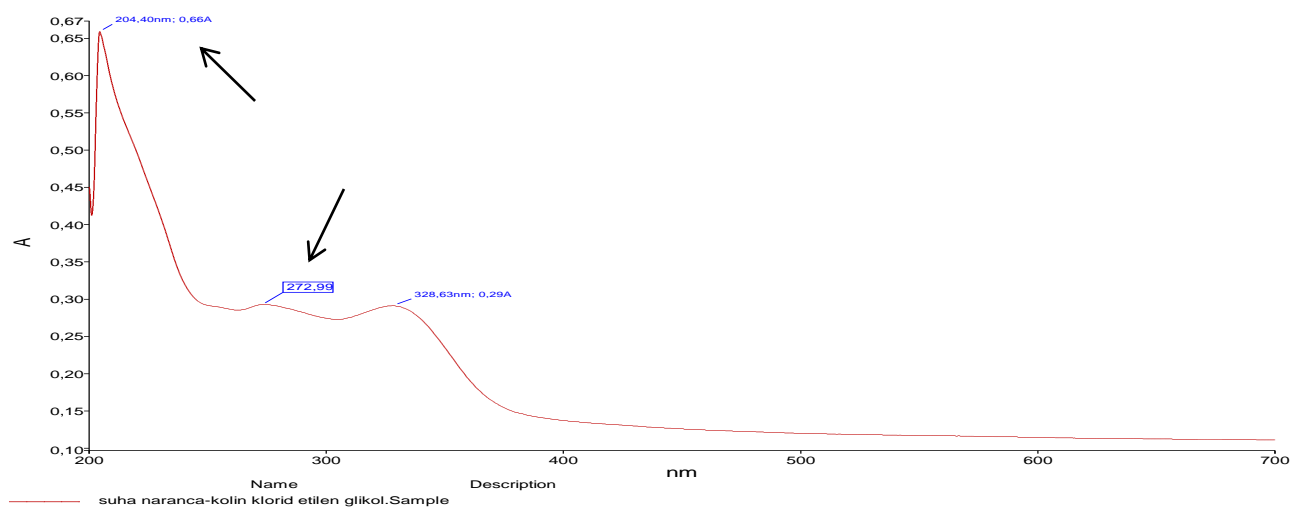
Analizom svih uzoraka naranče, čempresa i kave (po jedan uzorak s kolin klorid-etilen glikolom, a drugi s kolin klorid glicerolom) dobiveni su grafovi koji su omogućili identifikaciju pojedinih spojeva u polaznim sirovinama. Uz to, napravljena je i analiza čistih flavonoida odnosno sastojaka u oba eutektička otapala, kako bi se utvrdilo da li su se tražene tvari iz uzoraka uistinu ekstrahirale uz pomoć korištenih DES-ova.

4.1.1. Uzorci s kolin klorid - etilen glikolom

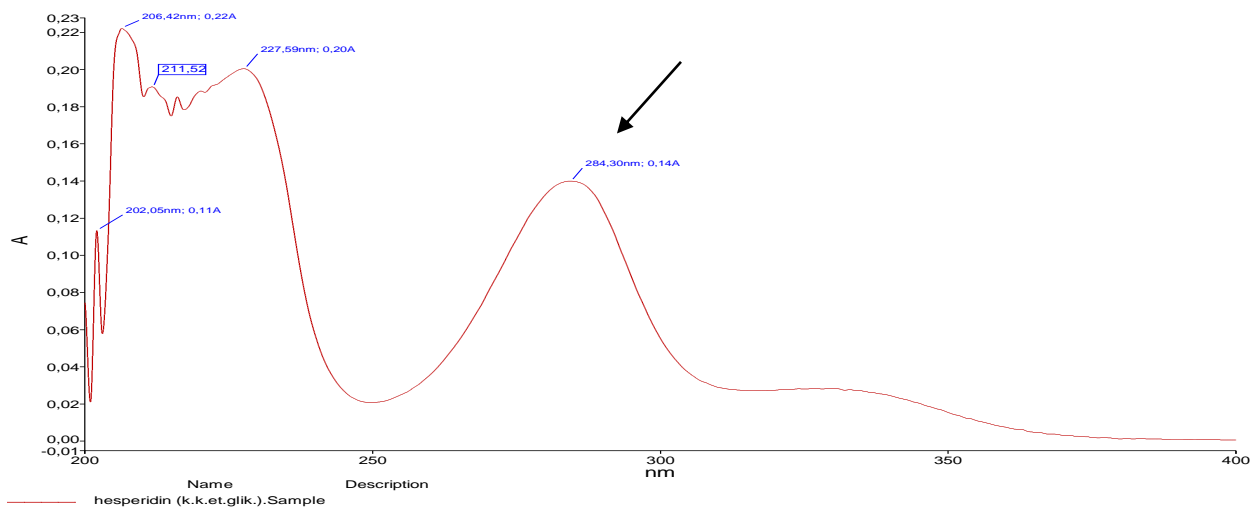
4.1.1.1. Naranča



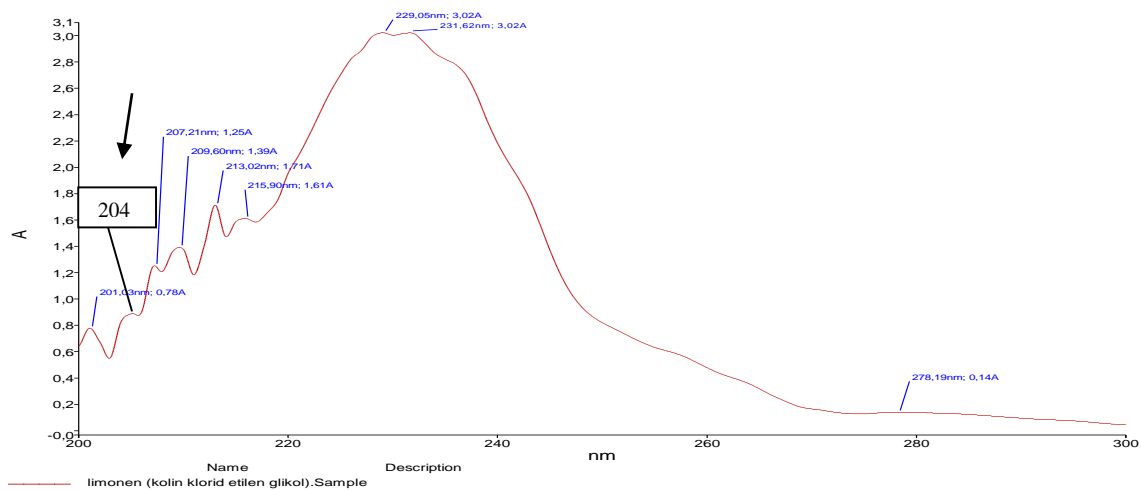
Slika 20. UV/VIS spekter - svježa naranča + kolin klorid - etilen glikol



Slika 21. UV/VIS spekter - suha naranča + kolin klorid - etilen glikol

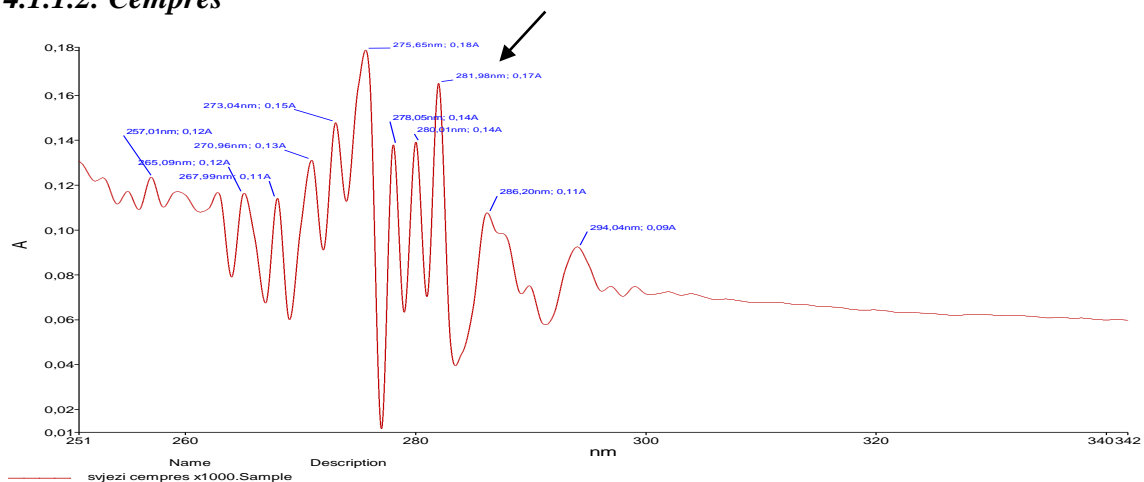


Slika 22. UV/VIS spektar - hesperidin + kolin klorid - etilen glikol

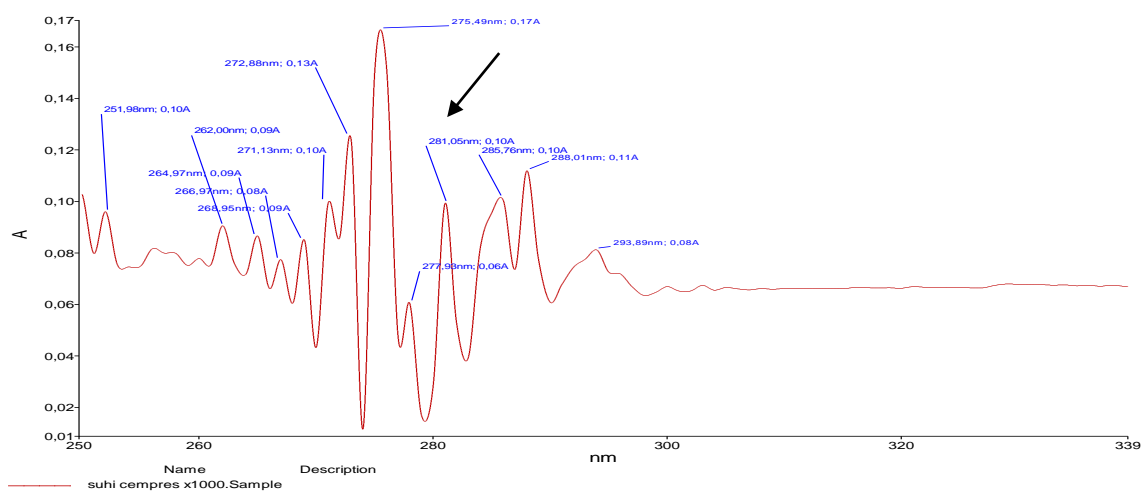


Slika 23. UV/VIS spektar - limonen + kolin klorid - etilen glikol

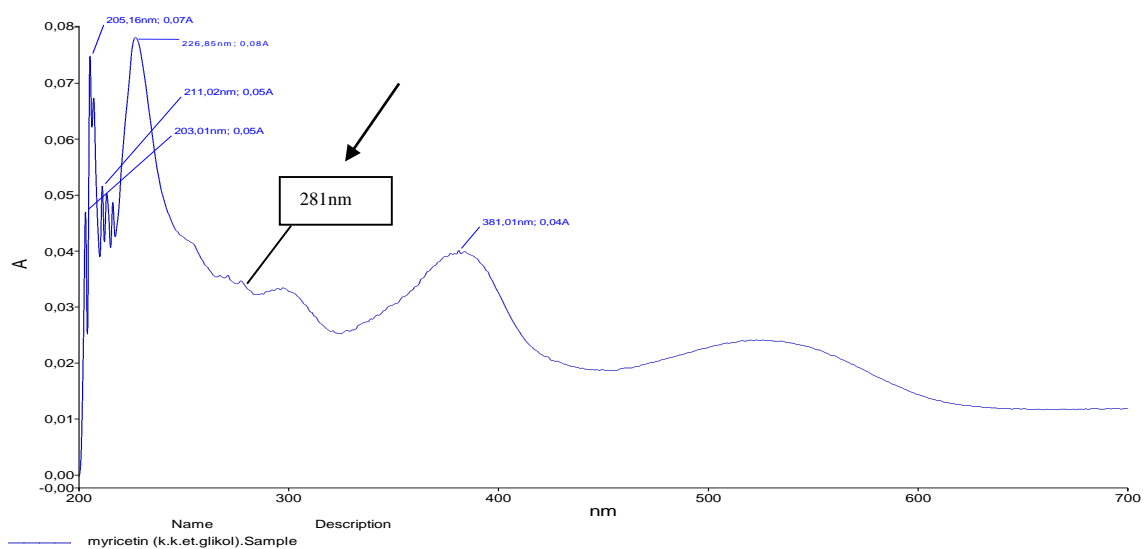
4.1.1.2. Čempres



Slika 24. UV/VIS spekter - sveži čempres + kolin klorid - etilen glikol

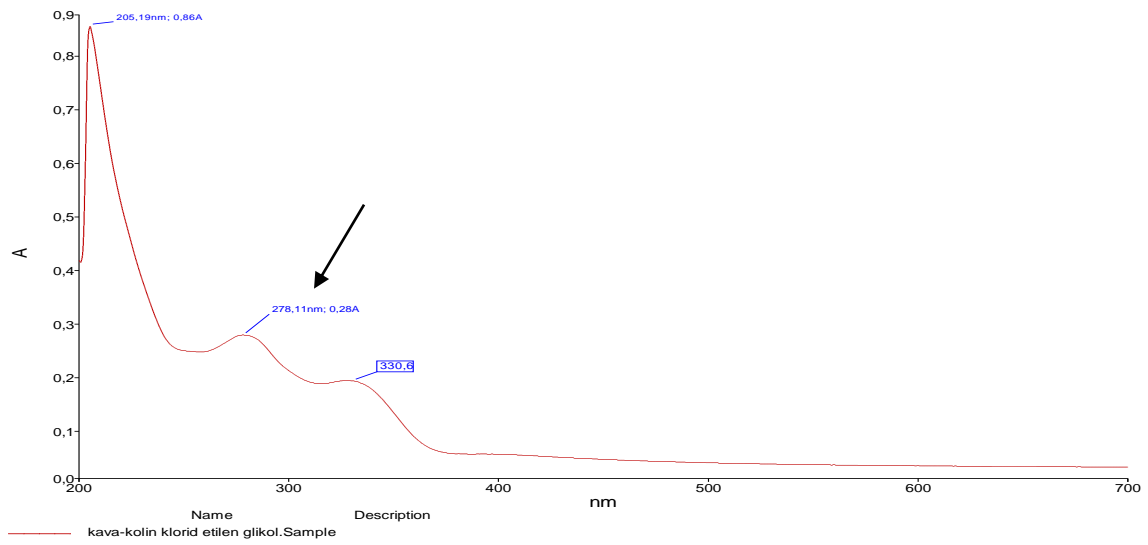


Slika 25. UV/VIS spekter - suhi čempres + kolin klorid etilen - glikol

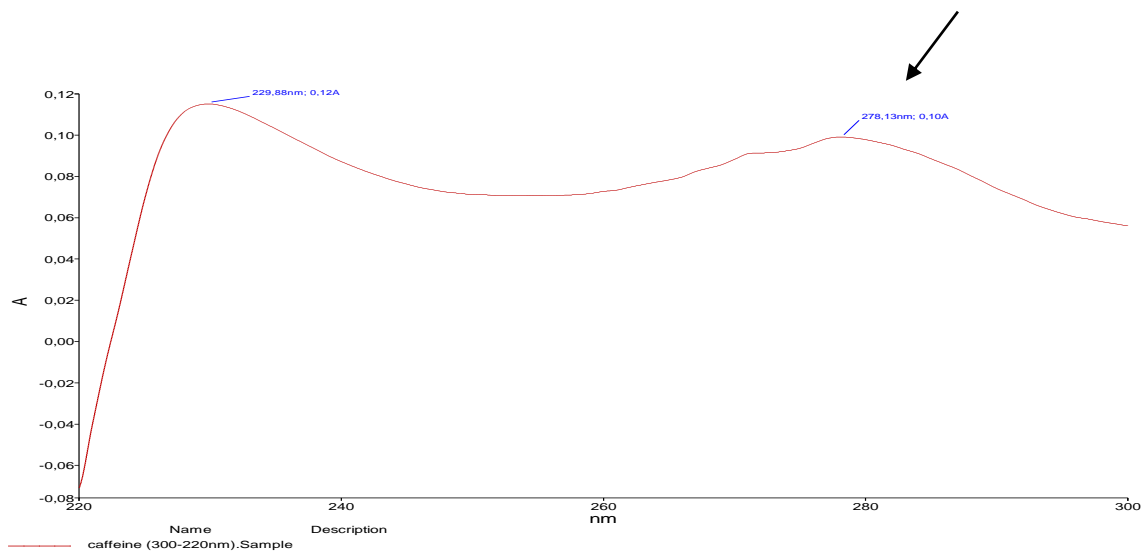


Slika 26. UV/VIS spekter - miricetin + kolin klorid - etilen glikol

4.1.1.3. Kava



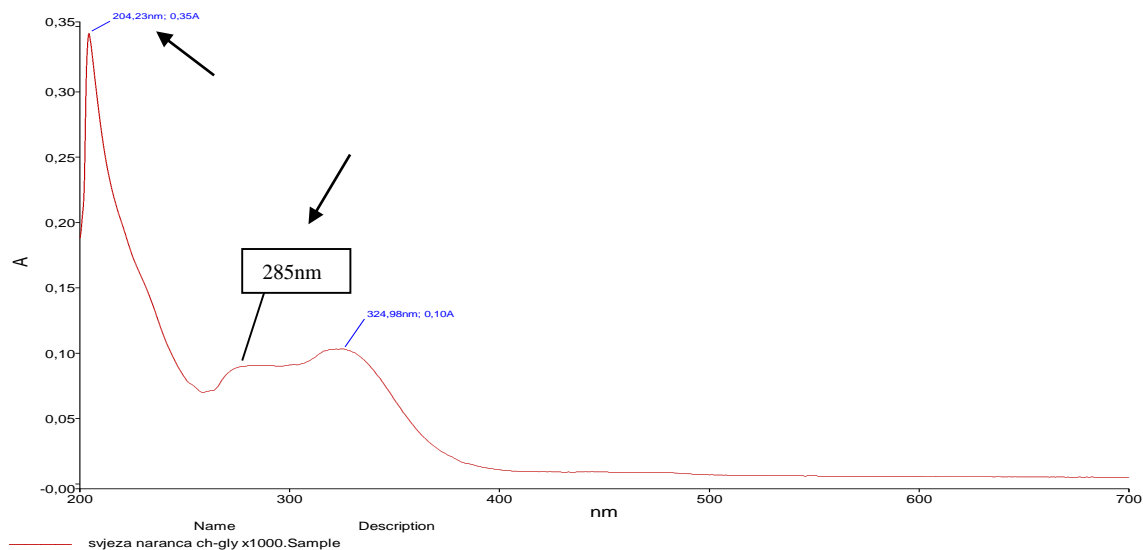
Slika 27. UV/VIS spektar - kava + kolin klorid - etilen glikol



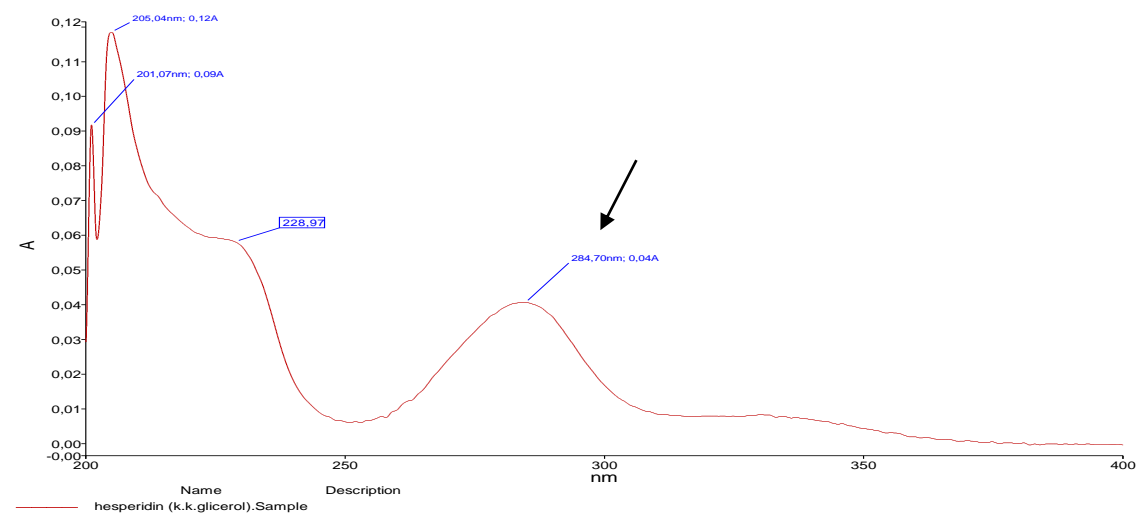
Slika 28. UV/VIS spektar - kafein + kolin klorid - etilen glikol

4.1.2. Uzorci s kolin klorid - glicerolom

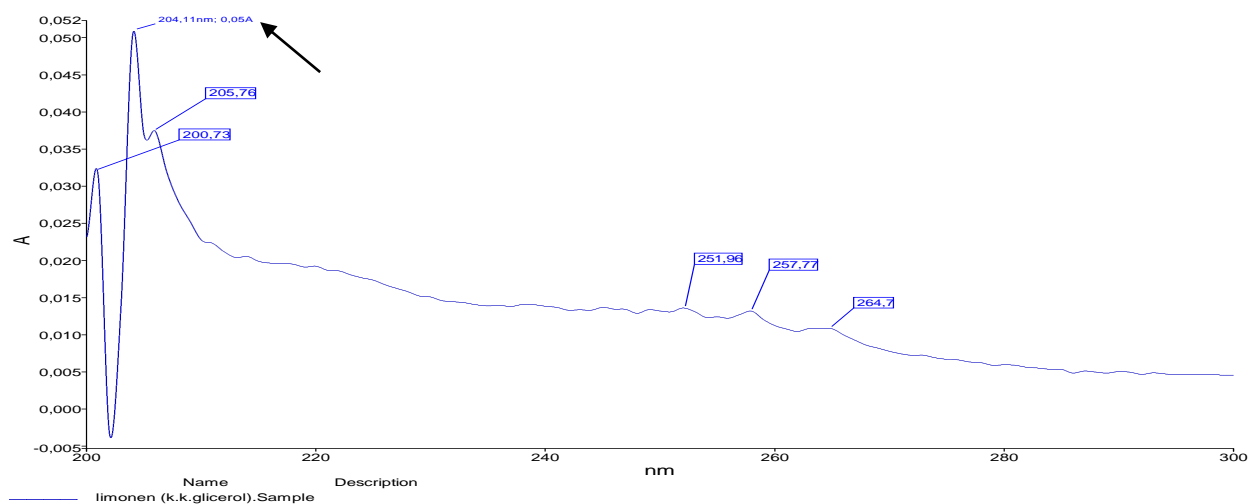
4.1.2.1. Naranča



Slika 29. UV/VIS spektar - svježa naranča + kolin klorid - glicerol

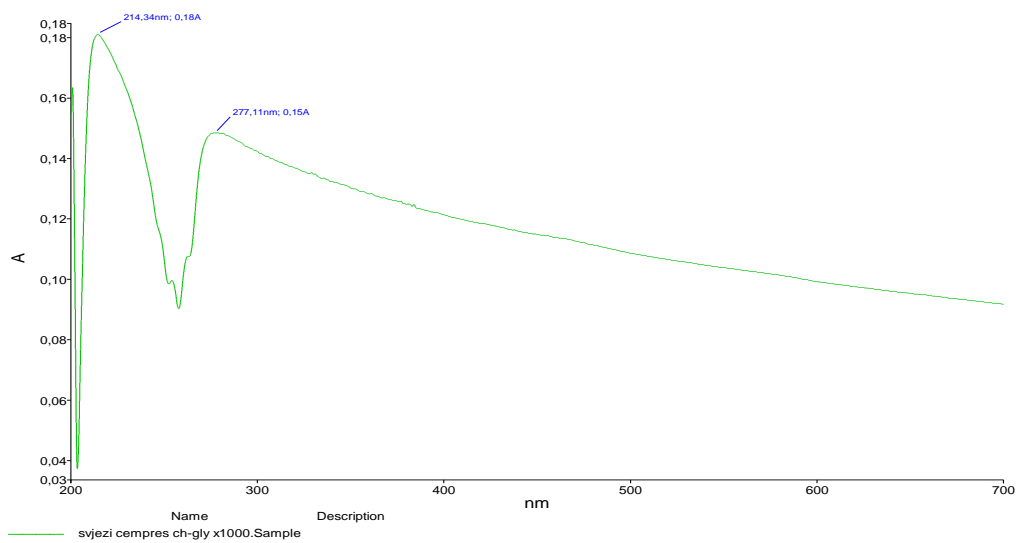


Slika 30. UV/VIS spektar - hesperidin + kolin klorid - glicerol

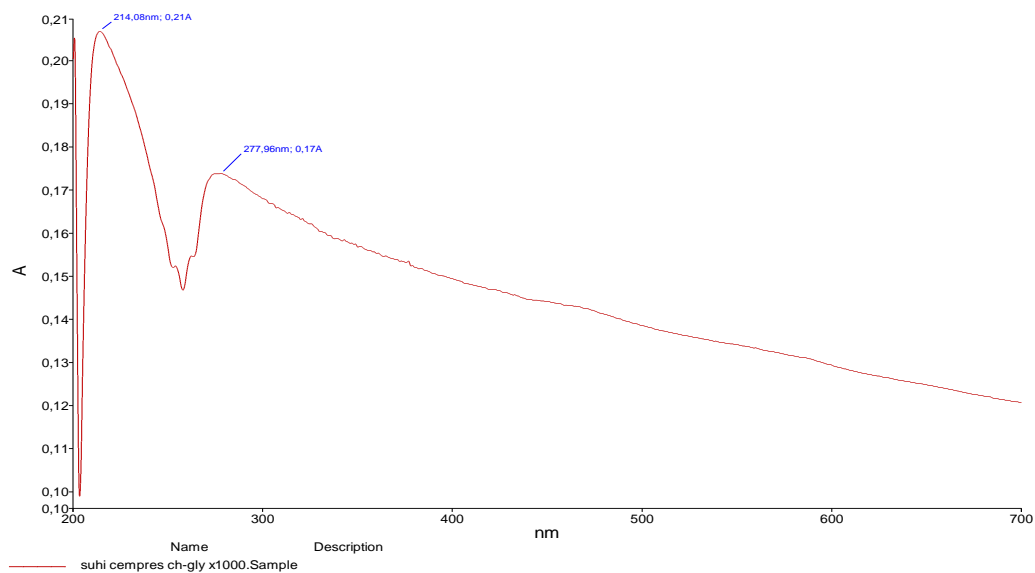


Slika 31. UV/VIS spektar - limonen + kolin klorid - glicerol

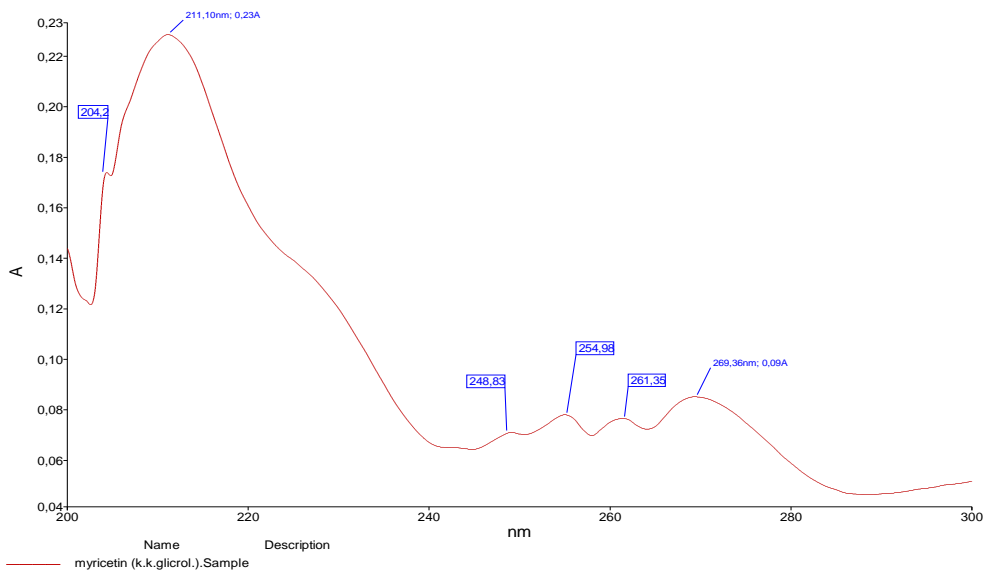
4.1.2.2. Čempres



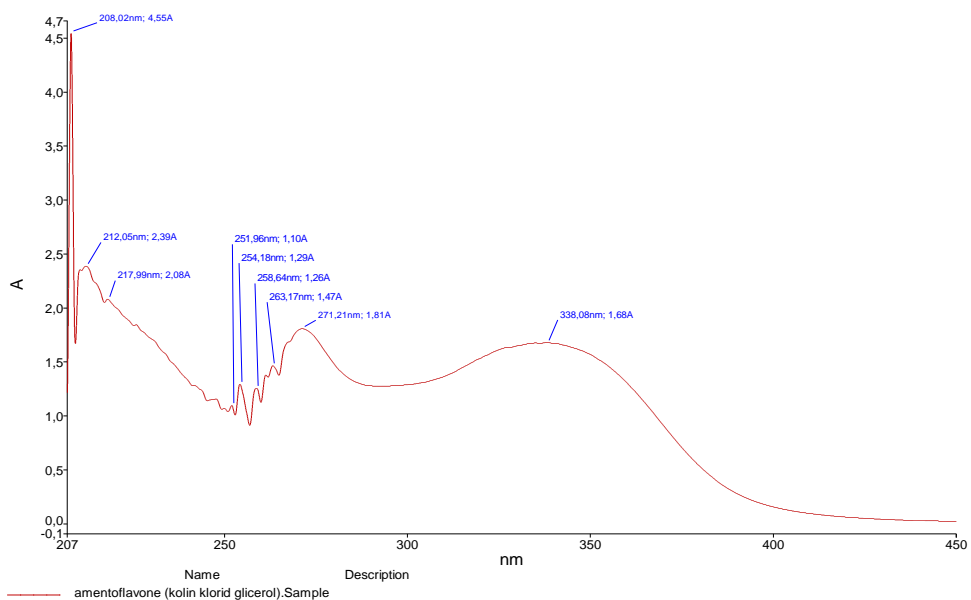
Slika 32. UV/VIS spektar - svježi čempres + kolin klorid - glicerol 214.34 277,11



Slika 33. UV/VIS spektar - suhi čempres + kolin klorid - glicerol

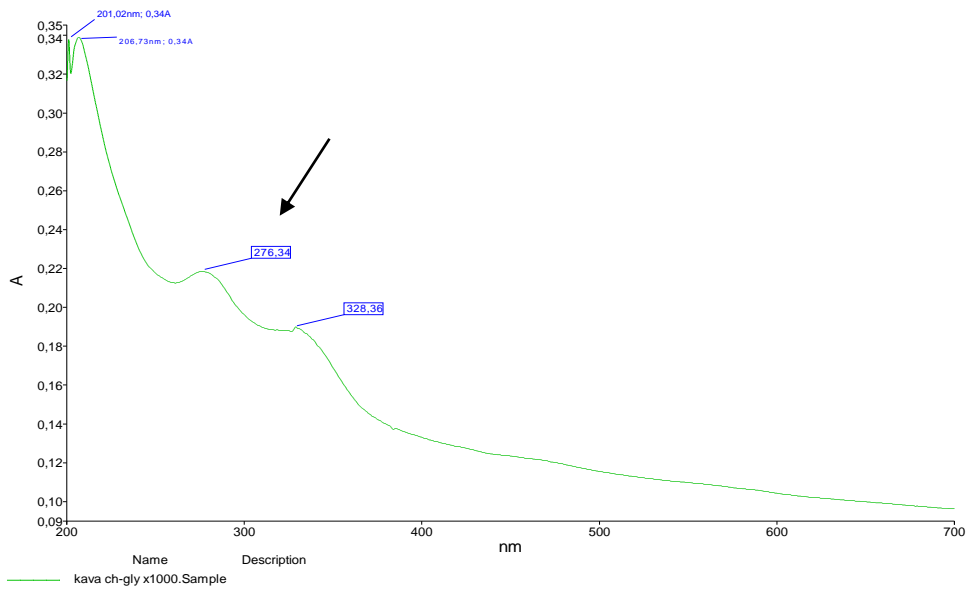


Slika 34. UV/VIS spektar - miricetin + kolin klorid – glicerol

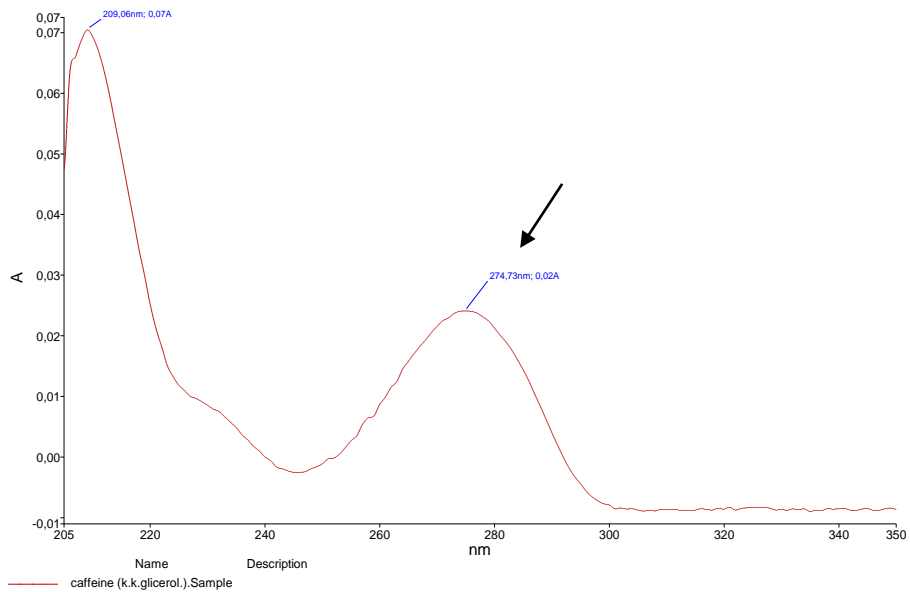


Slika 35. UV/VIS spektar - amentoflavon + kolin klorid - glicerol

4.1.2.3. Kava

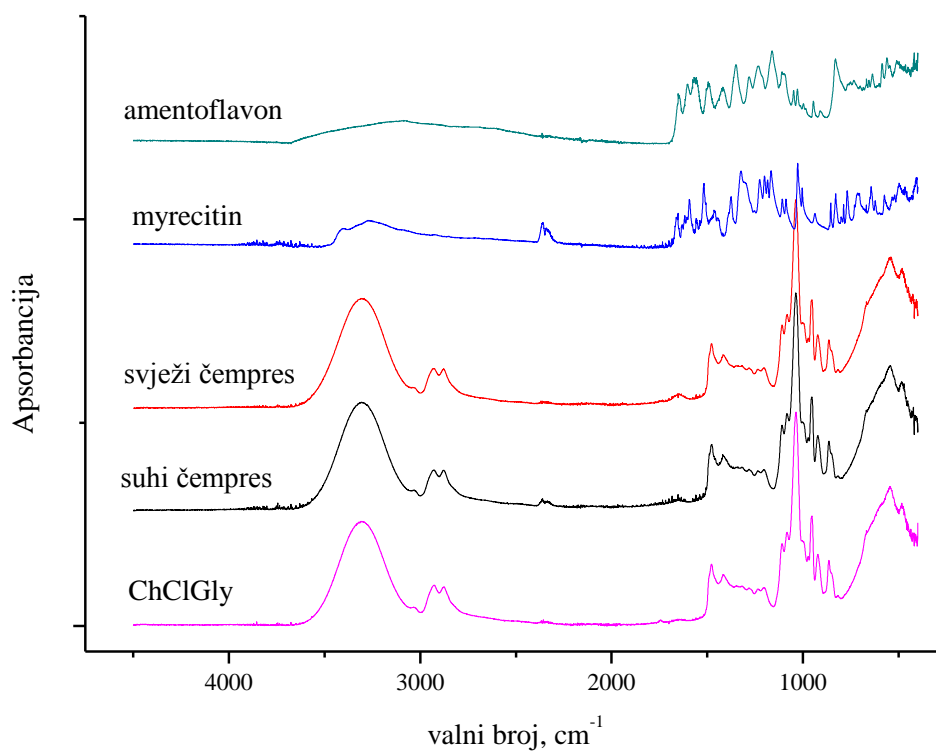


Slika 36. UV/VIS spektar - kava + kolin klorid - glicerol

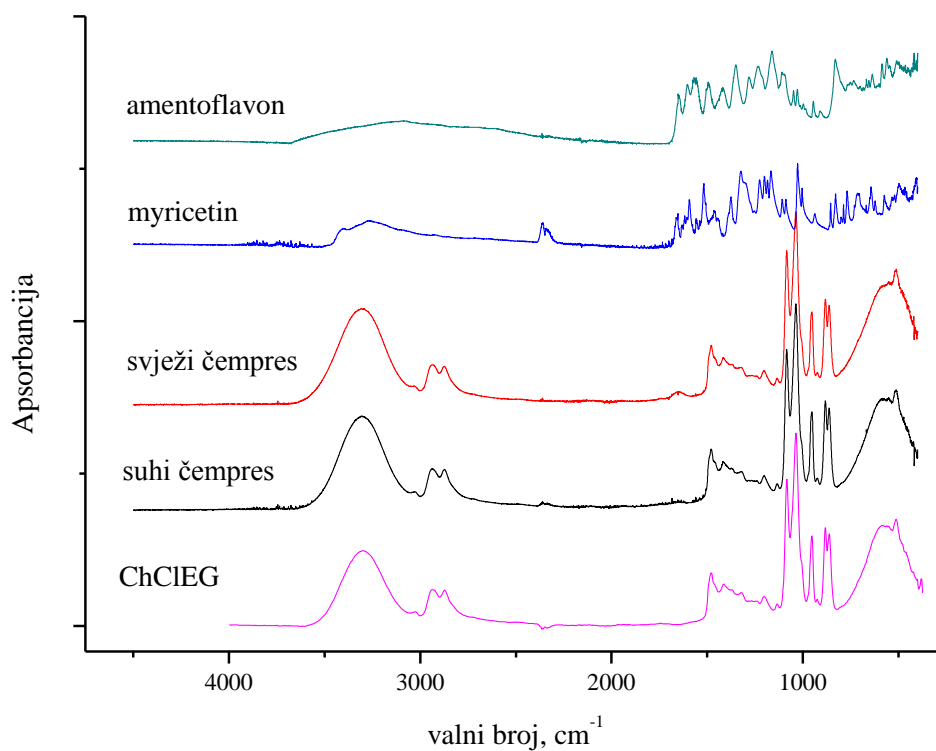


Slika 37. UV/VIS spektar - kafein + kolin klorid - glicerol

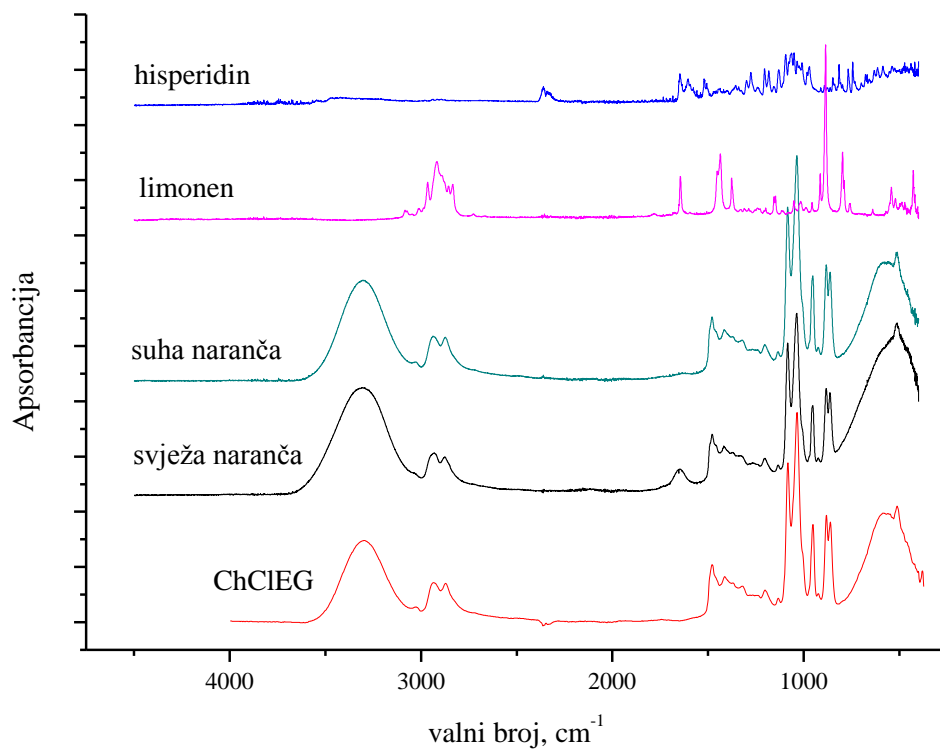
4.2. REZULTATI DOBIVENI FTIR ANALIZOM



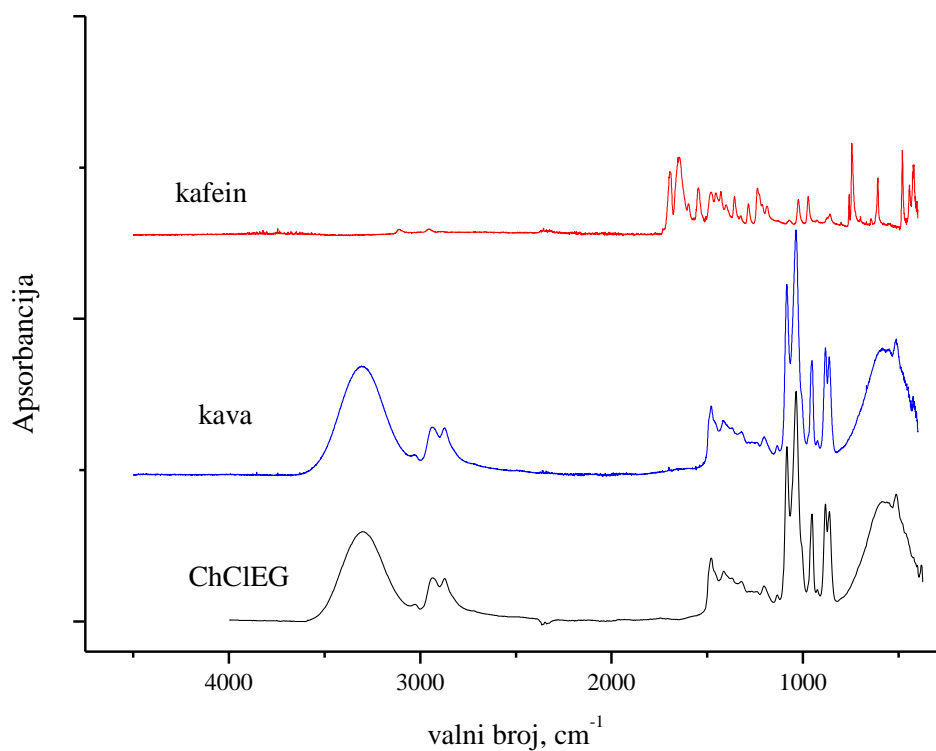
Slika 38. FTIR spektar za uzorke čempresa u kolin klorid - glicerolu



Slika 39. FTIR spektar za uzorke čempresa u kolin klorid - etilen glikolu



Slika 40. FTIR spektar za uzorke naranče u kolin klorid-etilen glikolu

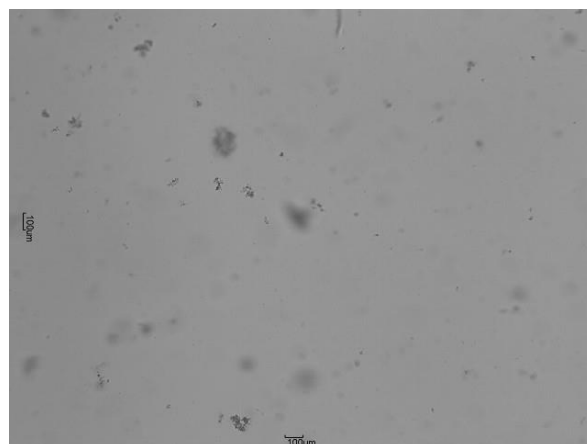


Slika 41. FTIR spektar za uzorak kave u kolin klorid-etilen glikolu

4.3. SEPARACIJA EKSTRAHIRANIH KOMPONENTI

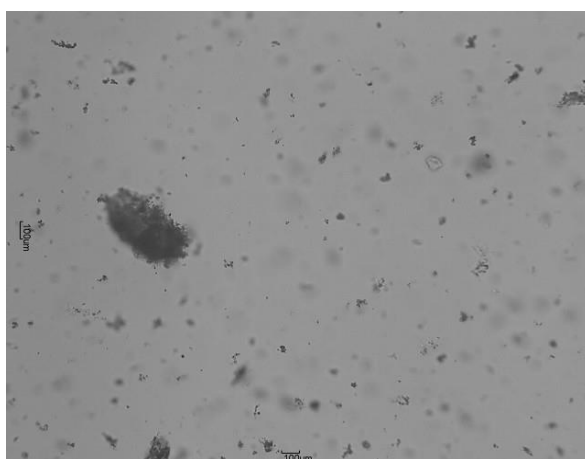


a) kolin klorid – etilen glikol

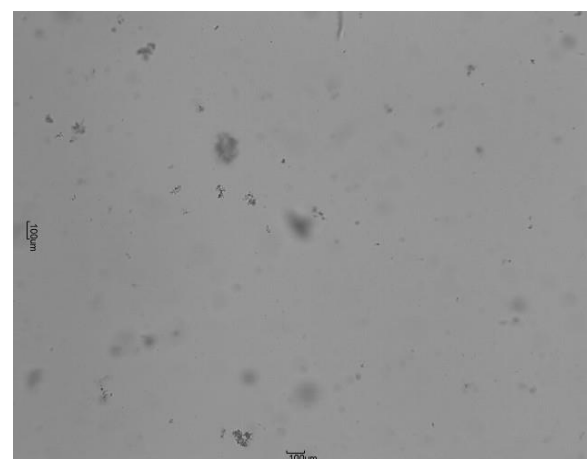


b) kolin klorid glicerol

Slika 42. Fotografije kristala kafeina dobivenih kristalizacijom hlađenjem otopina nakon ekstrakcije

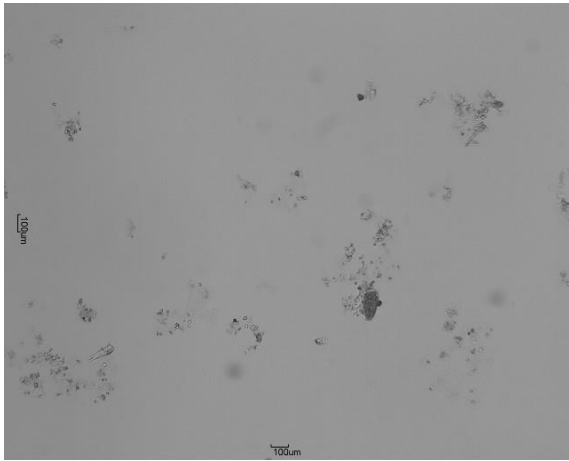


a) kolin klorid – etilen glikol

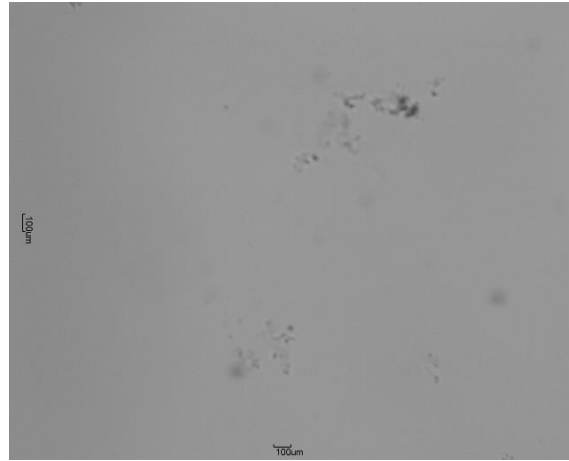


b) kolin klorid glicerol

Slika 43. Fotografije kristala dobivenih dodatkom vode u otopinu nakon ekstrakcije iz narančine kore



a) kolin klorid – etilen glikol



b) kolin klorid glicerol

Slika 44. Fotografije kristala dobivenih dodatkom octene kiseline u otopinu nakon ekstrakcije iz listića japanskog čempresa

5. RASPRAVA

U ovom radu istražena je mogućnost ekstrakcije prirodnih spojeva iz uzoraka narančine kore, japanskog čempresa i kave pomoću ekološki prihvatljivih otapala, odnosno eutektičkih otapala. U tu su svrhu pripravljena dva eutektička otapala: kolin klorid – etilen glikol (1:2,5) i kolin klorid – glicerol (1:2). Uzorci narančine kore i listića čempresa korišteni su svježi i osušeni. Udio vode u narančinoj kori bio je 73.135 %, a u listićima čempresa 27.770 %.

Prije same ekstrakcije istražena je topljivost ciljanih spojeva u odabranim eutektičkim otapalima, a rezultati su prikazani u tablici 4. Topljivost većine spojeva, osim kafeina, veća je u kolin klorid – glicerolu. Amentoflavona je bilo vrlo malo (1 mg) tako da je njegova topljivost određena samo u kolin klorid – etilen glikolu. Pripremljenim su otopinama, snimljeni UV/VIS i FTIR spektri s ciljem identifikacije tih spojeva u otopinama nakon ekstrakcije. Također su snimljeni i FTIR spektri čistih spojeva.

Nakon provedene ekstrakcije snimljeni su UV/VIS i FTIR spektri ekstratnih faza. Na slikama 20 i 21 prikazani su UV/VIS spektri kolin klorid – etilen glikola (ChCIEG) nakon ekstrakcije iz narančine kore, a na slikama 22 i 23 otopina hesperidina i limonena. Na spektrima svježe i suhe naranče mogu se identificirati pikovi na 204,25 nm te na 285 nm koji odgovaraju limonenu, odnosno hesperidinu. Iz uzoraka čempresa ekstrahiran je veći broj spojeva koje nije bilo moguće identificirati što se vidi na slikama 24. i 25. S obzirom na vrlo malu količinu amentoflavona, snimljen je samo spektar otopine mirecicina u ChClGly-u, slika 26. Na spektrima uzoraka svježeg i suhog čempresa uočavaju se pikovi na 281,98 nm i 281,05 nm što se podudara s pikom miricetina na 281 nm. Na slikama 27 i 28 prikazani su UV/VIS spektri otopine ChCIEG nakon provedene ekstrakcije iz uzorka kave te spektar otopine kafeina. Pik karakterističan na kafein, na 278.13nm može se uočiti i na spektru otopine ChCIEG nakon ekstrakcije (278.11nm).

UV/VIS spektri uzoraka ekstraktne faze dobiveni ekstrakcijom s eutektičkim otapalom kolin klorid – glicerol (ChClGly) kao i odgovarajuće otopine ciljanih spojeva prikazani su na slikama 29 do 37. Na spektru otopine ChClGly nakon ekstrakcije iz svježe narančine kore (slika 29) mogu se uočiti karakteristični pikovi hesperidina 285 nm (284,70 nm, slika 30) i limonena 204,23 nm (204,11 nm, slika 31). Što se tiče uzoraka dobivenih nakon ekstrakcije iz japanskog čempresa, rezultati nisu baš sasvim jasni. Znatno je manje spojeva prisutnih u japanskom čempresu topljivo u eutektičkom otapalu ChClGly nego u ChCIEG, što se vidi usporedbom slika 24 i 25 (ChCIEG) sa slikama 34 i 35 (ChClGly). Pikovi koji bi eventualno

mogli odgovarati mirecitolu (211 nm) i amentoflavonu (271 nm) malo su pomaknuti u desno (214 nm i 277 nm). Na slikama 36 i 37 prikazani su UV/VIS spektri otopine ChClGly nakon provedene ekstrakcije iz uzorka kave te spektar otopine kafeina. Pik karakterističan za kafein, na 274,73 nm može se uočiti i na spektru otopine ChClEG nakon ekstrakcije (276.34 nm).

Kako bi se potvrdila ekstrakcija ciljanih spojeva iz polaznih uzoraka snimljeni su FTIR spektri ekstraktnih faza nakon ekstrakcije, kao i spektri čistih spojeva i eutektičkih otapala. Dobiveni su rezultati prikazani na slikama 38 do 41. Na spektrima suhog i svježeg čempresa može se uočiti vrpca slabog intenziteta na 1653 cm^{-1} koja bi mogla odgovarati i amentoflavonu i mirecitolu. Ostale se vrpce preklapaju s vrpcama otapala tako da ih nije moguće identificirati. Intenzitet je slabiji za osušeni uzorak. Sličan je rezultat dobiven i za uzorke otapala nakon ekstrakcije iz svježe i suhe narančine kore, s tim da je intenzitet vrpce na 1650 cm^{-1} nešto jači. Ta bi vrpca također mogla odgovarati i limonenu i hesperidinu. Na FTIR spektru otapala korištenog za ekstrakciju kafeina iz kave ne mogu se identificirati spektri karakteristični za kafein. Očito je da je koncentracija otopljenog kafeina vrlo mala te je moguće da se nalazi ispod granice detekcije uređaja.

Kako bi se istražila mogućnost separacije otopljenih spojeva iz eutektičkih otapala kristalizacijom, u otopine su dodana ili odgovarajuća antiotapala koja smanjuju topljivost tih spojeva ili je otopina hlađena. Nakon kristalizacije uočeno je postojanje vrlo sitnih kristalića u svim otopinama. Kristali su se pokušali izdvojiti centrifugiranjem, ali to nije bilo uspješno, vjerojatno zbog male veličine kristala. Uzorci su zatim fotografirani na svjetlosnom mikroskopu a dobiveni su rezultati prikazani na slikama 42 do 44. Na slici 42 mogu se uočiti kristalići kafeina iskristaliziranih hlađenjem otopine eutektičkih otapala nakon ekstrakcije, dok su na slikama 43 i 44 uočljivi kristali dobiveni dodatkom vode u otopinu nakon ekstrakcije iz narančine kore, odnosno octene kiseline u otopinu nakon ekstrakcije iz listića čempresa. To potvrđuje ekstrakciju limonena i hesperidina iz narančine kore, s obzirom da oba spoja nisu topljivi u vodi, te mirecitina iz listića japanskog čempresa s obzirom na njegovu netopljivost u octenoj kiselini.

6. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost primjene eutektičkih otapala kolin klorid - etilen glikola i kolin klorid - glicerola za ekstrakciju prirodnih produkata iz narančine kore (limonen i hesperidin), listića japanskog čempresa (mirecitin i amentoflavon) i kave (kafein). Na temelju eksperimentalno određene topljivosti navedenih spojeva, može se zaključiti da topljivost svih spojeva, osim kafeina, veća u kolin klorid – etilen glikolu. Obje analitičke metode korištene za identifikaciju limonena i hesperidina u narančinoj kori, mirecitina i amentoflavona u listićima japanskog čempresa potvrdile su prisutnost istraživanih spojeva u eutektičkim otapalima nakon provedene ekstrakcije. Kafein nije identificiran FTIR analizom iako je njegov karakterističan pik identificiran na UV/VIS spektru u oba istraživana eutektička otapala. Kristalizacija otopljenih komponenti dodatkom antiotapala u ekstraktu fazu, odnosno hlađenjem otopine pokazala se kao uspješna metoda za regeneraciju eutektičkih otapala iako izdvajanje nastalih kristala zahtijeva dodatna istraživanja.

7. POPIS OZNAKA

- ILS – ionske tekućine
- DES – eutektičko otapalo
- HBD – donor vodikove veze
- HBA – akceptor vodikove veze
- ChCl – kolin klorid
- UV/VIS – ultraljubičasto - vidljiva spektroskopija
- FTIR – infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala
- ChClEG – kolin klorid - etilen glikol
- ChClGly – kolin klorid - glicerol

8. LITERATURA

- [1] Fischer, V., Properties and Applications of Deep Eutectic Solvents nad Low –Melting Mixtures, Disertation, Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universitat Regensburg, 2015.
- [2] Tang, B., Zhang H., Ho Row, K., Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples, Journal of Separation Science, **38** (2014.) 402-751
- [3] Maugeri, Z., Deep Eutectic Solvents: Properties and Biocatalytic applications, Disertation, Fakultät für Mathematic, Informatik und Naturwissenschaften, RWTH Aachen University zur Erlangund, 2014.
- [4] www.studenti.di3.units.it (pristup 14.5.2016.)
- [5] www.gunt.de (pristup 14.5.2016.)
- [6] www.wikipedia.org (pristup 20.5.2016.)
- [7] www.webmd.com (pristup 20.5.2016.)
- [8] www.plantea.com.hr (pristup 20.5.2016.)
- [9] www.evolutionary.org (pristup 20.5.2016.)
- [10] Glasnović, A., Katalog opreme, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet Kemijskoj inženjerstva i tehnologije, 2007.
- [11] A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, R. K. Rasheed, V. Tambyrajah, Novel Solvent properties of choline chloride/urea mixtures, Chem. Commun., 2003., 70- 71.

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 08. Veljače, 1994. u Zagrebu. Svoje osnovnoškolsko obrazovanje provela sam u OŠ Popovača, Sisačko – Moslavačka županija. Srednjoškolsko obrazovanje završila sam 2012. godine u Ženskoj općoj gimnaziji Družbe sestara milosrdnica u Zagrebu. Od 2012. godine pohađam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Stručnu praksu sam odradila tvrtki PharmaS d.o.o. u odjelu Razvoj proizvoda.