



UNIVERZITET U NIŠU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET U LESKOVCU



Petar S. Milić

Optimizacija i modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida  
i mineralnih materija iz belog ivanjskog cveća  
(*Galium mollugo* L.)

Doktorska disertacija

Leskovac, 2014.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF TECHNOLOGY, LESKOVAC



Petar S. Milić

Optimization and modeling of the kinetics of resinoid and  
minerals extraction from white lady's bedstraw  
(*Galium mollugo* L.)

Doctoral Dissertation

Leskovac, 2014

MENTOR:

dr Vlada Veljković, red. prof.  
Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Mihajlo Stanković, red. prof. u penziji  
Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu

dr Olivera Stamenković, vanred. prof.  
Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu

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

Datum odbrane \_\_\_\_\_

# Optimizacija i modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz belog ivanjskog cveća (*Galium mollugo* L.)

## REZIME

Predmet istraživanja ovog doktorskog rada je ekstrakcija ukupnih ekstraktivnih (rezinoid) i nekih mineralnih (kalijum, kalcijum i magnezijum) materija iz samlevenih nadzemnih delova belog ivanjskog cveća (*Galium mollugo* L.) pomoću vodenog rastvora etanola (50 % vol.) pri odnosu rastvarač-biljni materijal 20 g/g na različitim temperaturama. Korišćene su konvencionalna ekstrakcija (maceracija) i indirektna ultrazvučna ekstrakcija. Glavni ciljevi istraživanja bili su optimizacija, kinetika i termodinamika procesa maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*.

Radi modelovanja procesnih uslova ekstrakcije, zavisnosti prinosa rezinoida i mineralnih materija od temperature i vremena ekstrakcije su utvrđene parametarskom metodom površine odziva u obliku polinoma drugog reda i neparametarskom metodom veštačke neuronske mreže. Metodom površine odziva je utvrđeno da temperatura i vreme imaju statistički značajan uticaj (sa nivoom poverenja od 95 %) na prinose rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, pri čemu je temperatura značajniji faktor od vremena. Vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija koje predviđaju dva modela se slažu sa aktuelnim vrednostima prinosa, tako da su oba modela prihvatljiva za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom u opsegu temperature 23-80 °C i 23-40 °C, respektivno. Pri tome, modeli veštačke neuronske mreže su prihvatljiviji od polinoma drugog reda, jer imaju veće vrednosti koeficijenta determinacije ( $R^2$ ) i manje vrednosti srednje apsolutne relativne greške (*MRPD*) u navedenim opsezima temperature. Međutim, model polinoma drugog reda je pouzdaniji za predviđanje prinosa unutar ispitivanog temperaturnog intervala.

Operativni uslovi ekstrakcije u cilju dobijanja najvećeg prinosa rezinoida ili mineralnih materija su optimizovani pomoću modela polinoma drugog reda i kombinacijom modela veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma. Vrednosti maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija koje predviđaju dva modela su međusobno vrlo bliske, a slažu se i sa aktuelnim maksimalnim vrednostima prinosa. Takođe, oba modela ukazuju na vrlo slične optimalne uslove maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija.

Prema modelu veštačke neuronske mreže i genetičkom inženjerstvu optimalni uslovi maceracije (80 °C i oko 190 min) i ultrazvučne ekstrakcije (40°C i 56 min) osiguravaju maksimalni prinos rezinoida od 21,3 i 26,0 g/100 g, koji se slaže sa ekeperimentalnim prinosima (20,8 i 25,7 g/100 g), respektivno pri približno istim uslovima ekstrakcije. Optimalni uslovi ekstrakcije i maksimalni prinosi mineralnih materija zavise od vrste mineralnih materija i tehnike ekstrakcije. Veći prinos mineralnih materija postiže se na višoj temperaturi i u prisustvu ultrazvuka. Međutim, za obe tehnike ekstrakcije, selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se smanjuje sa povećanjem temperature. Na istoj temperaturi (23 °C), veća selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se postiže maceracijom nego ultrazvučnom ekstrakcijom.

Ekstrakcija rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola u odsustvu i prisustvu ultrazvuka uključuje ispiranje i difuziju ekstraktivnih materija, koji se odigravaju istovremeno. Ovaj mehanizam je korišćen za modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija u odsustvu i prisustvu ultrazvuka primenom fenomenološkog modela. Kinetički modeli za rezinoid i mineralne materije su pouzdani i tačni u predstavljanju promena prinosa rezinoida i mineralnih materija sa vremenom na različitim temperaturama u odsustvu i prisustvu ultrazvuka. Vrednosti parametara modela zavise od tehnike ekstrakcije, temperature i vrste ekstraktivnih materija. Ultrazvuk ima uticaja na ispiranje rezinoida i mineralnih materija, ali ne i na difuziju ekstraktivnih materija kroz biljne čestice. Ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija rastu sa povećanjem ekstrakcione temeperature i pod dejstvom ultrazvuka.

Termodinamička analiza maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* je pokazala da su oba procesa spontana, nepovratna i endotermna. Spontanost ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija je favorizovana povećanjem temperature. Veći stepen ekstrakcije u prisustvu nego u odsustvu ultrazvuka objašnjava se većom promenom entropije ekstrakcionog sistema. Prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa svakih 10 °C povećanja temperature za faktor 1,02-1,06 i 1,14-1,27 u odsustvu i prisustvu ultrazvuka, respektivno.

Za dati sistem rastvarač-biljna sirovina, tj. vodeni rastvor etanola i samleveni suvi nadzemni delovi *G. mollugo*, utvrđeno je da se ultrazvučnom ekstrakcijom ostvaruje veći prinos rezinoida i mineralnih materija za mnogo kraće vreme i na nižoj temperaturi nego maceracijom. Zbog niže operativne temperature, zahtevi za toplotnom energijom su manji nego kod maceracija na povišenoj temperaturi, ali su energetske troškovi uvećani potrošnjom električne energije za rad ultrazvučnih generatora. Na osnovu samo kriterijuma koji su praktično razmatrani u okviru ovog doktorskog rada (prinos, vreme i temperatura), jasno je da je ultrazvučna ekstrakcija povoljniji proces od maceracije. Međutim, ultrazvučna ekstrakcija ima manju selektivnost ekstrakcije mineralnih materija od maceracije, a rezinoid dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom ima manju antioksidativnu aktivnost nego rezinoid dobijen maceracijom na sobnoj ili temperaturi ključanja. Takođe, oprema za ultrazvučnu ekstrakciju je složenija i skuplja nego oprema za maceraciju, a prisutan je inženjerski problem povećanja veličine ultrazvučnih ekstraktora, koji nije dovoljno istražen. Zbog navedenih argumenata za i protiv izbora određene tehnike ekstrakcije i nedostatka svih potrebnih relevantnih podataka teško je doneti u ovom trenutku konačnu odluku o izboru optimalne tehnike ekstrakcije. Da bi se došlo do optimalne tehnike, potrebna su dalja istraživanja procesa ekstrakcije na različitim nivoima i tehnoeкономска analiza procesa.

**Ključne reči:** Belo ivanjsko cveće, *Galium mollugo* L., maceracija, ultrazvučna ekstrakcija, kinetika, modelovanje, optimizacija, termodinamika

**Naučna oblast:** Tehnološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Hemijsko inženjerstvo

**UDK:** 66.061.34:582.936.1:66.011

# Optimization and modeling of the kinetics of resinoid and minerals extraction from white lady's bedstraw (*Galium mollugo* L.)

## SUMMARY

This doctoral dissertation deals with the extraction of total extractive (resinoid) and some minerals (potassium, calcium and magnesium) from ground, dried aerial parts of white lady's bedstraw (*Galium mollugo* L.) using an aqueous ethanolic solution (50 % vol.) at the solvent-to-plant material ratio of 20 g/g and different temperatures. Both maceration and indirect ultrasound-assisted extraction were employed. The main goals were the optimization, kinetic modeling and thermodynamic analysis of the maceration and ultrasound-assisted extraction of resinoid and minerals from aerial parts of *G. mollugo*.

For the purpose of modeling the extraction conditions, the relationships of resinoid and the minerals on extraction temperature and extraction time were modeled by using the parametric response surface methodology (RSM) in the form of a quadratic equation and the non-parametric method of artificial neural network (ANN). Both models were found acceptable for predicting yields of resinoid and the minerals in the temperature ranges of 23-80 °C and 23-40 °C, respectively. However, having higher values of coefficient of determination ( $R^2$ ) and smaller values of mean relative percentage deviation (*MRPD*), the ANN model appears to be better than the quadratic equation, but the latter model is more reliable in predicting the yields within the applied temperature ranges. The RSM showed that both temperature and time had a statistically significant impact on yields of resinoid and the minerals at the 95% confidence level, extraction temperature being more significant than extraction time.

To maximize the yield of resinoid and minerals the extraction conditions were optimized by using the quadratic model and the combination of the ANN coupled with a genetic algorithm (GA). Maximum yields of resinoid and minerals predicted by the two models are very close to each other and agree with the corresponding actual maximum

yields. Also, both models provide similar optimal extraction conditions for both techniques applied.

According to the ANN-GA model, the optimal extraction conditions (80 °C and 190 min for maceration and 40 °C and 56 min for ultrasound-assisted extraction) maximized the resinoid yields to 21.3 and 26.0 g/100 g, respectively which agree with the actual maximum resinoid yields (20.8 i 25.7 g/100 g) achieved under the same extraction conditions. The optimal extraction conditions as well as the maximum yield and extraction selectivity of minerals depended on the extraction technique and the type of mineral. For both techniques applied, the extraction selectivity of the minerals decreased with increasing temperature. At a constant temperature, the higher mineral extraction selectivity was achieved by maceration than by ultrasound-assisted extraction.

The extraction of resinoid and minerals from aerial parts of *G. mollugo* by the aqueous ethanolic solution in the absence of ultrasound than in its presence includes two simultaneous processes, namely washing and diffusion of extractive matters. This mechanism was assumed in modeling the kinetics of resinoid and minerals extraction through the phenomenological model. The derived kinetic models for resinoid and minerals are reliable and accurate in representing the variations of resinoid and minerals yields with time at different temperatures in the absence and the presence of ultrasound. The parameters of the models depend on the extraction technique, temperature, the type of plant material and the type of extractive matters. Ultrasound affects the washing of resinoid and minerals but not the diffusion of extractive matters through plant particles.

The thermodynamic analysis of resinoid and minerals extraction from aerial parts of *G. mollugo* shows that both maceration and ultrasound-assisted extraction are spontaneous, irreversible and endothermic. Spontaneity of resinoid and mineral extraction is favored by increasing the extraction temperature. The higher extraction degree in the presence of ultrasound is explained by the increased change of entropy of the extraction system. The minerals yield increased by a factor of 1.02–1.06 and 1.14–1.27 in the absence and the presence of ultrasound, respectively for every 10 °C rise in temperature.



Based on the higher maximum yields of resinoid and minerals, the lower extraction temperature and the shorter extraction time ultrasound-assisted extraction is more favorable than maceration. However, resinoid obtained in the presence of ultrasound shows lower antioxidative activity. Also, ultrasound-assisted extraction is characterized by poorer extraction selectivity of minerals. Furthermore, ultrasonic extractors are more complex and more expensive than extractors for maceration. Therefore, further investigations and techno-economic analysis are needed to choose the better technique for resinoid and mineral extraction from aerial parts of *G. mollugo*.

**Keywords:** White lady's bedstraw, *Galium mollugo* L., maceration, ultrasound-assisted extraction, kinetics, modeling, optimization, thermodynamics

**Scientific area:** Technological engineering

**Specific scientific area:** Chemical engineering

**UDC:** 66.061.34:582.936.1:66.011

# SADRŽAJ

|          |  |    |
|----------|--|----|
| 1.       | UVOD   | 1  |
| 2.       | TEORIJSKI DEO  | 6  |
| 2.1.     | Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala                             | 6  |
| 2.1.1.   | Tehnike ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala                     | 7  |
| 2.1.2.   | Faktori ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala                     | 9  |
| 2.2.     | Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala maceracijom                 | 11 |
| 2.2.1.   | Mehanizam maceracije   | 11 |
| 2.2.2.   | Ultrazvučna ekstrakcija  | 12 |
| 2.2.3.   | Kinetika ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala                    | 15 |
| 2.2.3.1. | Model zasnovan na drugom Fick-ovom zakonu difuzije                                   | 15 |
| 2.2.3.2. | Model zasnovan na istovremenom ispiranju i difuziji ekstraktivnih materija           | 20 |
| 2.2.3.3. | Model zasnovan na pretpostavci trenutnog ispiranja i difuziji ekstraktivnih materija | 23 |
| 2.2.3.4. | Model pseudo-prvog reda u odnosu na ekstraktivne materije                            | 24 |
| 2.2.3.5. | Empirijski modeli  | 24 |
| 2.2.3.6. | Uticaj temperature na kinetiku ekstrakcije   | 24 |
| 2.3.     | Ivanjsko cveće   | 25 |
| 2.3.1.   | Opis ivanjskog cveća ( <i>Galium</i> )   | 25 |
| 2.3.2.   | Hemijski sastav ivanjskog cveća ( <i>Galium</i> )                                    | 26 |
| 2.3.2.1. | Fenolni i flavonoidni heterozidi   | 27 |
| 2.3.2.2. | Hinonski heterozidi  | 28 |
| 2.3.2.3. | Monoterpenski heterozidi   | 28 |
| 2.3.2.4. | Mineralne materije   | 28 |
| 2.3.2.5. | Etarsko ulje   | 29 |
| 2.3.2.6. | Antioksidativna aktivnost <i>Galium</i>  | 29 |
| 2.4.     | Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz nadzemnih delova <i>G. mollugo</i>             | 30 |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 3.       | EKSPERIMENTALNI DEO   | 33 |
| 3.1.     | Materijal   | 33 |
| 3.1.1.   | Biljni materijal  | 33 |
| 3.1.2.   | Reagensi i hemikalije   | 33 |
| 3.2.     | Oprema  | 33 |
| 3.2.1.   | Ekstrakciona oprema   | 33 |
| 3.2.2.   | Analitička oprema   | 34 |
| 3.3.     | Metode  | 34 |
| 3.3.1.   | Opis postupka ekstrakcije i operativni uslovi                                       | 34 |
| 3.3.2.   | Određivanje prinosa rezinoida   | 35 |
| 3.3.3.   | Određivanje prinosa mineralnih materijai  | 35 |
| 3.3.4.   | Određivanje početnog sadržaja rezinoida i mineralnih materija                       | 36 |
| 3.4.     | Matematička analiza   | 37 |
| 4.       | REZULTATI I DISKUSIJA   | 39 |
| 4.1.     | Uticao rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinose rezinoida i mineralnih materijaa | 39 |
| 4.1.1.   | Uticao rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinos rezinoida                         | 39 |
| 4.1.2.   | Uticao rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinos kalijuma                          | 41 |
| 4.1.3.   | Uticao rastvarača i tehnike ekstrakcije na selektivnost ekstrakcije kalijuma        | 43 |
| 4.1.4.   | Mineralni sastav vodeno-etanolnog ekstrakta <i>G. mollugo</i>                       | 45 |
| 4.2.     | Uticao temperature i ultrazvuka na prinose rezinoida i mineralnih materija          | 47 |
| 4.2.1.   | Uticao temperature i ultrazvuka na ekstrakciju rezinoida                            | 47 |
| 4.2.2.   | Uticao temperature i ultrazvuka na prinose mineralnih materija                      | 48 |
| 4.3.     | Optimizacija operativnih uslova maceracije i ultrazvučne ekstrakcije                | 50 |
| 4.3.1.   | Optimizacija metodom površine odziva  | 50 |
| 4.3.1.1. | Model polinoma drugog reda  | 50 |
| 4.3.1.2. | Optimizacija operativnih uslova ekstrakcije metodom površine odziva                 | 70 |

|          |  |     |
|----------|--|-----|
| 4.3.2.   | Optimizacija kombinacijom veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma          | 73  |
| 4.3.2.1. | Modeli veštačkih neuronskih mreža  | 73  |
| 4.3.2.2. | Modeli veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida i mineralnih materija       | 75  |
| 4.3.2.3. | Optimizacija operativnih uslova ekstrakcije rezinoida metodom genetičkog algoritma | 79  |
| 4.3.3.   | Poređenje modela polinoma drugog reda i veštačke neuronske mreže                   | 83  |
| 4.3.4.   | Selektivnost ekstrakcije mineralnih materija                                       | 87  |
| 4.4.     | Modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija                   | 89  |
| 4.4.1.   | Kinetički modeli ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija                       | 89  |
| 4.4.2.   | Kinetika maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija      | 90  |
| 4.5.     | Termodinamička analiza ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija                 | 98  |
| 4.5.1.   | Koeficijent raspodele rezinoida i mineralnih materija                              | 99  |
| 4.5.2.   | Promene entalpije, entropije i Gibbs-ove slobodne energije                         | 101 |
| 4.5.3.   | Temperaturni ekstrakcioni koeficijent  | 105 |
| 5.       | ZAKLJUČAK  | 107 |
|          | LITERATURA   | 110 |

# 1. UVOD

Ekstrakcija čvrsto-tečno se široko koristi za ekstrahovanje bioaktivnih jedinjenja iz različitih biljnih materijala pomoću pogodnog rastvarača. Ovaj proces se zasniva na difuziji ekstraktivnih materija kroz čestice biljnog materijala do njihove spoljašnje površine, gde se rastvaraju u rastvaraču. Posle odvajanja od iscrpljenog biljnog materijala, rastvor (tzv. tečni ekstrakt) se obično uparava, da bi se dobio suvi ekstrakt, koji sadrži bioaktivna jedinjenja, ali ne i nepoželjna nerastvorna jedinjenja (vlakna i celulozu). Pored mnogih biljaka i njihovih delova, ekstrakti dobijeni iz njih ili bioaktivna jedinjenja izolovana iz ekstrakata imaju široku primenu u prehrambenoj, farmaceutskoj u kozmetičkoj industriji, a njihova upotreba kao dijetetskih, parafarmaceutskih i kozmetičkih proizvoda raste iz godine u godinu. Zbog povećanog sadržaja bioaktivnih jedinjenja, uključujući mineralne materije, biljni ekstrakti mogu biti efektivniji u mnogim primenama nego originalni biljni materijal. Oni nalaze primenu ne samo u lečenju različitih bolesti već i u održavanju funkcija ljudskog organizma u fiziološkim granicama. Tako, brojne mineralne materije mogu delovati preventivno na različite poremećaje ljudskog organizma do kojih može doći u njihovom nedostatku.

Zbog rastuće primene biljnih ekstrakata, istraživanja ekstrakcije ukupnih ekstraktivnih materija i pojedinačnih bioaktivnih jedinjenja iz različitih biljaka i njihovih delova su intenzivirana poslednjih godina. Pri tome, istraživači su se fokusirali na:

- razvoj i primenu novih tehnika ekstrakcije,
- prinos, hemijski sastav i biološku aktivnost ekstrakata i njihovih bioaktivnih sastojaka,
- optimizaciju procesa ekstrakcije korišćenjem zavisnosti prinosa ekstraktivnih materija od procesnih promenljivih,
- modelovanje kinetike procesa ekstrakcije, tj. zavisnosti koje opisuju promenu prinosa ekstraktivnih materija sa vremenom u definisanim uslovima ekstrakcije i
- hemijsko-termodinamičku analizu procesa ekstrakcije.

Prinos ukupnih ekstraktivnih materija (tj. ekstrakta) i sadržaj poželjnih bioaktivnih jedinjenja u njemu zavise ne samo od prirode biljnog materijala već i od tehnike i uslova ekstrakcije. Pošto je sadržaj bioaktivnih jedinjenja u ekstraktima obično mali, čine se naponi da se povećaju prinos ekstrakta i selektivnost ekstrakcije poželjnih bioaktivnih

jedinjenja uz što je moguće manje operativne troškove. Iz ugla tehnološkog inženjerstva važno je izabrati optimalnu tehniku i primeniti optimalne ekstrakcione uslove (rastvarač, stepen usitnjenosti biljnog materijala, odnos rastvarač-biljni materijal, temperatura, vreme trajanja procesa itd.). U slučaju konvencionalne ekstrakcije (najčešće maceracija), obično se za dati sistem rastvarač-biljni materijal optimizuju temperatura ekstrakcije i vreme trajanja procesa. U poslednje vreme, težnja istraživača je da se efikasnost maceracije poboljša njenim izvođenjem u polju ultrazvučnog zračenja. Ovom tzv. ultrazvučnom ekstrakcijom se vrlo često povećava prinos ekstraktivnih materija za mnogo kraće vreme (Pan i sar., 2012a; Stanisavljević i sar., 2007b; Veličković i sar., 2008), što je rezultat razaranja ćelija, smanjenja veličine biljnih čestica i ubrzanja prenosa mase ekstraktivnih materija (Paniwnyk i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997), kao i hidratacije biljnog tkiva (Toma i sar., 2001). Ovi pozitivni efekti ultrazvuka pripisuju se fenomenima vezanim za nastajanje i kolaps kavitacionih mehura.

Kod optimizacije procesa ekstrakcije ekstraktivnih materija iz određenog biljnog materijala prvi je korak da se izaberu najpogodniji rastvarač, veličina biljnih čestica, odnos rastvarač-biljna sirovina, temperatura i mešanje (Ponomarev, 1976). Modelovanje kinetike procesa ekstrakcije može, takođe, doprineti njegovoj optimizaciji. Različiti pristupi kombinuju matematičke principe i eksperimentalne podatke da bi se razvili kinetički ili optimizacioni modeli koji opisuju promenu prinosa ekstraktivnih materija (zavisna promenljiva ili odziv) sa vremenom ili procesnim promenljivima (nezavisne promenljive ili faktori). Kinetički modeli ekstrakcionih procesa imaju značaj za njihovo projektovanje i vođenje, jer omogućuju izračunavanje brzine ekstrakcije, prinosa ekstraktivnih materija, stepena ekstrakcije i vremena trajanja procesa. Optimizacioni modeli imaju za cilj maksimiziranje prinosa ekstrakta ili željenog bioaktivnog jedinjenja.

Kinetički modeli mogu biti fizički ili empirijski. Fizički kinetički modeli se obično zasnivaju na mehanizmu prenosa mase ekstraktivnih materija iz unutrašnjosti biljnih čestica u rastvor, koji se zasniva na drugom Fick-ovom zakonu (Ponomarev, 1976), dok su empirijski modeli samo matematički opis promene prinosa ekstraktivnih materija sa vremenom (Kitanović i sar., 2007). Fizički modeli kinetike procesa ekstrakcije su, po pravilu, jako složeni, pa se često pojednostavljuju. Od pojednostavljenih fizičkih kinetičkih modela najčešće se koriste uprošćen model nestacionarne difuzije (Stanisavljević i sar., 2007a,b; Veličković i sar., 2006; Veljković i Milenović, 2002) i model znan na teoriji filma i pretpostavci o trenutnom ispiranju ekstraktivnih materija sa spoljašnje površine

biljnih čestica (Stanković i sar., 1994; Veličković i sar., 2006; Veljković i Milenović, 2002).

Optimizacioni modeli predstavljaju, takođe, matematički opis promene prinosa sa promenama procesnih promenljivih u određenim opsezima. Modelovanje u kombinaciji sa optimizacijom doprinosi izboru operativnih uslova ekstrakcije, što vodi povećanju prinosa ekstrakta ili bioaktivne komponente i skraćanju trajanja procesa. Poslednjih godina se naročito često koriste metodologija površine odziva i veštačke neuronske mreže, od kojih je prva parametarska a druga neparametarska metoda. Metoda površine odziva omogućuje optimizaciju ekstrakcionih uslova na osnovu razvijenog modela, dok se model veštačke neuronske mreže za ovu svrhu kombinuje sa genetičkim algoritmom.

Metodologija površine odziva je i statistička i matematička tehnika kojom se model zavisnosti prinosa ekstraktivnih materija od procesnih promenljivih i njihovih interakcija izvodi primenom višestruke nelinearne regresione metode. Ovaj model je, po pravilu, polinom drugog reda. Statistička značajnost razvijenog modela, pojedinih procesnih promenljivih i njihovih interakcija se ocenjuje metodom analize varijanse (ANOVA). Ako se adekvatno primeni, metodologija površine odziva je moćna tehnika u nalaženju optimalnih procesnih uslova (Bas i Boyaci, 2007), kao što se potvrdilo u slučaju optimizacija maceracije (Gong i sar., 2012; Kostić i sar., 2013; Milenović i sar., 2002) i ultrazvučne (Le i sar., 2012; Pan i sar., 2012b; Zhu, 2012), mikrotalasne (Kim i sar., 2012; Li i sar., 2012a) i superkritične (Wang i sar., 2012) ekstrakcije.

Veštačke neuronske mreže se, takođe, primenjuju za modelovanje procesa ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala, ali ne tako često kao metodologija površine odziva. One su naročito pogodne za nelinearno, neparametarsko modelovanje procesa. Iako ne produkuju jednačinu modela, veštačke neuronske mreže bolje predstavljaju nelinearne zavisnosti od polinoma drugog reda. Veštačke neuronske mreže su korišćene za modelovanje konvencionalne (Milenović i sar., 2002; Kostić i sar., 2013), ultrazvučne (Alupului i Lavric, 2008) i superkritične (Mitra i sar., 2011; Shokria i sar., 2011; Zahedi i Azarpour, 2011) ekstrakcije. U odnosu na metodologiju površine odziva, veštačke neuronske mreže imaju više prednosti, kao što su: jednostavnost, preciznost i sposobnost da „uče“ kroz ponovno izračunavanje odziva na osnovu ulaznih promenljivih uz uslov postizanja minimalne greške, da obrađuju nekompletne podatke i da povezuju ulazne i izlazne promenljive bez ikakve eksplicitne funkcije. Njihov nedostatak je što ne mogu da se koriste za optimizaciju procesa, ali se ovaj problem prevazilazi njihovim

kombinovanjem sa genetičkim algoritmom (Desai i sar., 2008, Marchitana i sar., 2008; Rajendra i sar., 2009).

Procesi ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala se termodinamički analiziraju u cilju ocenjivanja mogućnosti njihovog unapređenja. Termodinamičkom analizom određuju se promena entalpije, promena entropije i promena Gibsove slobodne energije. Na osnovu vrednosti termodinamičkih veličina zaključuje se da li je proces ekstrakcije spontan ili ne, endoterman ili egzoterman i reverzibilan ili ireverzibilan. Proces ultrazvučne ekstrakcije nije do sada termodinamički analiziran, tako da o uticaju ultrazvuka na termodinamičke veličine nema podataka u literaturi. Međutim, procesi maceracije ekstraktivnih materija iz različitih biljnih materijala su već termodinamički analizirani (Chen i sar., 2012; Meziane i Kadi, 2008; Rodrigues i sar., 2010; Saxena i sar., 2011, 2012; Topallar i Gecgel, 2000).

Ivanjsko cveće (*Galium*), višegodišnja zeljasta biljka iz porodice Rubiaceae, koristi se u tradicionalnoj medicini kao: diuretik, slab sedativ, spazmolitik u slučaju kamena u bubregu, kao i za lečenje kožnih i reumatskih oboljenja (Tămas i sar., 2006). Za ove svrhe koristi se nadzemni deo procvetale biljke (Chevallier, 1996). Ekstrakti nadzemnih delova različitih vrsta *Galium* sadrže fenole, flavonoide, antrahinone i druga bioaktivna jedinjenja (Demirezer i sar., 2006; Du i sar., 2010; Il'ina i sar., 2009; Lakić i sar., 2010; Milić i sar., 2013; Rafaëly i sar., 2008; Shafaghat i sar., 2010; Tămas i sar., 2006; Zhao i sar., 2006). Prisustvom fenola i flavonoida objašnjava se antioksidativno svojstvo ekstrakata vrsta *Galium*. Dosadašnja ispitivanja odnose se uglavnom na vrstu *Galium verum* L., dok je vrsta *Galium mollugo* L. slabije ispitana. U nadzemnim delovima *G. mollugo* dokazano je prisustvo flavonoida i fenola (Lakić i sar., 2010; Milić i sar., 2013). U dostupnoj literaturi ima podataka o prisustvu različitih mineralnih materija u nekim biljnim vrstama, ali nema podataka o sadržaju mineralnih materija u nadzemnim delovima *G. mollugo*.

Za ekstrakciju ukupnih ekstraktivnih materija iz vrsta *Galium* primenjivane su, do sada, različite tehnike ekstrakcije, kao što su: maceracija, Soxhlet-ova ekstrakcija, perkolacija i ultrazvučna ekstrakcija. Kao rastvarač za ekstrakciju ekstraktivnih materija korišćeni su metanol, etanol, heksan, hloroform, dihlormetan i aceton. Pokazano je da prinos ukupnih ekstraktivnih materija zavisi od tehnike ekstrakcije, vrste biljnog materijala, vrste rastvarača, odnosa rastvarač-biljni materijal, temperature i vremenskog trajanja ekstrakcije. Procesi ekstrakcije iz biljnih vrsta *Galium* nisu do sada optimizovani korišćenjem metodologije površine odziva i veštačke neuronske mreže, koje su, inače,



našle primenu u optimizaciji ekstrakcionih procesa iz drugih biljnih materijala. Takođe, retka su istraživanja komparativne primene dve pomenute metode za modelovanje i optimizaciju ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala. Do sada nije sprovedena termodinamička analiza procesa ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz vrsta *Galium*. Posebno treba istaći činjenicu da nije izvršena ni komparativna termodinamička analiza ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala u odsustvu i prisustvu ultrazvuka.

Predmet istraživanja ovog doktorskog rada jeste ekstrakcija ukupnih ekstraktivnih materija (rezinoid) i nekih mineralnih materija (kalijum, kalcijum i magnezijum) iz samlevenih, suvih nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću vodenih rastvora etanola. Od ekstrakcionih tehnika primenjene su konvencionalna ekstrakcija (maceracija), ekstrakcija na temperaturi ključanja rastvarača uz refluks (dekokcija) i indirektna ultrazvučna ekstrakcija. Temperatura ekstrakcije je varirana od sobne do temperature ključanja tečnog ekstrakta.

Glavni ciljevi istraživanja konvencionalne i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću rastvora etanola su:

- utvrđivanje uticaja procesnih uslova maceracije i ultrazvučne ekstrakcije na prinose rezinoida i mineralnih materija i izbor tehnike ekstrakcije;
- modelovanje i optimizacija maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija pomoću metodologije površine odziva i veštačke neuronske mreže (optimizacija uz pomoć genetičkog algoritma), kao i poređenje korišćenih metoda modelovanja i optimizacije;
- razvoj i validacija kinetičkih modela za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija;
- određivanje i poređenje energija aktivacije maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija;
- simulacija promene koncentracija rezinoida i mineralnih materija tokom procesa maceracije i ultrazvučne ekstrakcije;
- termodinamička analiza procesa maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija i
- određivanje i poređenje vrednosti temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija.

## 2. TEORIJSKI DEO

### 2.1. Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala

Izdvajanje jednog ili više sastojaka (ekstraktivne materije) iz biljnog materijala pomoću pogodnog rastvarača je poznato pod imenom ekstrakcija čvrsto-tečno (luženje). To je, dakle, separacioni proces prenosa mase ekstraktivnih materija iz biljnog materijala u rastvarač. Jedan deo biljnog materijala (po pravilu, željeni sastojak) rastvara se u rastvaraču, a zatim se dobijeni rastvor (tečni ekstrakt) odvaja od nerastvornog dela biljnog materijala (iscrpljeni biljni materijal). Pored naziva ekstrakcija čvrsto-tečno i luženje, koriste se i drugi termini, sa specifičnim značenjem. Tako se, na primer, maceracijom naziva ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala koji je potopljen u rastvaraču. Nazivom dekokcija označava se maceracija koja se izvodi na temperaturi ključanja rastvarača, odnosno tečnog ekstrakta. Termin ispiranje (eluacija) se koristi kada se ekstraktivne materije nalaze gotovo isključivo na površini biljnih čestica, tako da se one samo "isperu" rastvaračem.

Efikasnost i brzina ekstrakcije čvrsto-tečno zavisi od više faktora vezanih za biljni materijal, a najvažniji su: sadržaj i raspodela ekstraktivnih materija u biljnom materijalu, priroda (strukturalne i teksturalne karakteristike) biljnog materijala i veličina biljnih čestica (Coulson i sar., 1991; Ponomarev, 1976). Za dati biljni materijal i rastvarač, uspešnost i brzina ekstrakcije čvrsto-tečno zavise od prethodne pripreme čvrstog materijala.

Kada su ekstraktivne materije ravnomerno raspodeljene unutar biljnih čestica, rastvarač najpre rastvara ekstraktivne materije koje se nalaze na spoljašnjoj površini čestica ili blizu nje, stvarajući poroznu strukturu. Rastvarač, zatim, prodire kroz poroznu strukturu čestice da bi dospelo do ekstraktivnih materija u unutrašnjosti biljnih čestica, što usporava ekstrakciju. Kada ekstraktivne materije zauzimaju značajan deo biljnog materijala, porozna struktura se može razoriti, dajući fini talog nerastvornog ostatka čvrstog materijala, što olakšava pristup rastvarača ekstraktivnim materijama unutar biljnih čestica.

U nekim slučajevima, ekstraktivne materije se nalaze unutar biljnih čestica, okružene nerastvornim delom, koji može biti nepropustljiv za rastvarač. Usitnjavanjem biljnog materijala ubrzava se ekstrakcija ekstraktivnih materija, jer su lakše dostupne rastvaraču. Kada su ekstraktivne materije više ili manje uniformno raspodeljene unutar biljnog

materijala, ekstrakcijom mogu nastati kanali za prolaz svežeg rastvarača, tako da usitnjavanje nije neophodno.

Biljni materijali su, po svojoj strukturi, celularni, a željene ekstraktivne materije se, po pravilu, nalaze unutar biljnih ćelija ili organa. Ako ćelijski zidovi ostanu nerazoreni posle tretiranja rastvaračem, ekstraktivne materije se ekstrahuju na račun osmotskog pritiska, koji obezbeđuje pogonsku silu prolaza ekstraktivnih materija kroz ćelijski zid. Zbog otpora ćelijskog zida, prenos mase difuzijom kroz biljne čestice može biti relativno spor. Usitnjavanje pomaže da se prenos mase ubrza, time što se rastvaraču olakšava pristup ekstraktivnim materijama. Međutim, ponekad je nepoželjno usitnjavati biljni materijal do veličine čestica koja omogućuje oslobađanje sadržaja pojedinačnih ćelija.

### 2.1.1. Tehnike ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala

Dve glavne tehnike, koje se uobičajeno koriste za ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala, jesu (Ponomarev, 1976):

- potapanje biljnog materijala u rastvarač (maceracija) i
- proticanje rastvarača kroz nepokretan sloj biljnog materijala (perkolacija).

Fino usitnjeni biljni materijal, koji se može lako držati suspendovan u rastvaraču, na primer, mehaničkim mešanjem, podvrgava se maceraciji, dok se komadasti biljni materijal, po pravilu, podvrgava perkolaciji. Dakle, maceracija je šaržni, dok je perkolacija polušaržni proces. Obe tehnike ekstrakcije su nestacionarni procesi.

Nezavisno od primenjene tehnike, postupak ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala uključuje tri operacije:

- rastvaranje ekstraktivnih materija u rastvaraču,
- odvajanje tečnog ekstrakta od iscrpljenog biljnog materijala i
- ispiranje iscrpljenog biljnog materijala rastvaračem, da se, kao proizvod, dobije što je moguće veća količina željenih ekstraktivnih materija.

Sud za ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala (ekstraktor, macerator ili perkolator) obično ima "lažno" dno, na koje se stavlja biljni materijal i koje olakšava ceđenje, i omotač, ako je potrebno zagrevanje. U slučaju kada se maceracija izvodi uz zagrevanje, sud ima i refluksni hladnjak, da bi se izbegli gubici rastvarača.

Ne postoje generalna pravila za izbor tehnike ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala zbog različitih karakteristika biljnih materijala i razlika u vrednosti ekstraktivnih materija, ali sledeće preporuke mogu biti od praktične koristi (Coulson i sar., 1991; Ponomarev, 1976). Čestice biljnog materijala treba da budu što ravnomernije po veličini, jer će poroznost sloja biti najveća, pad pritiska kroz sloj najmanji, kanalisanje kroz sloj smanjeno (od značaja za perkolaciju), a ekstrakcija ekstraktivnih materija iz čestica ravnomerna. Fino usitnjavanje je skuplje, ali obezbeđuje bržu i potpuniju ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala. Nedostatak finog usitnjavanja je i to što je masa tečnog ekstrakta zadržana u iscrpljenom biljnom materijalu velika, koja je, po pravilu, jednaka masi čvrstog materijala. Tada se za ispiranje iscrpljenog biljnog materijala mora upotrebiti značajna količina rastvarača, koja razblažuje tečni ekstrakt. Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz grubo usitnjenog biljnog materijala je spora i verovatno manje potpuna, ali posle dreniranja (ceđenja) iscrpljeni biljni materijal zadržava malu količinu rastvarača, pa se za njegovo ispiranje troši manja zapremina rastvarača i finalni tečni ekstrakt je koncentrovaniji. Mešanje suspenzije biljnih čestica u rastvoru vodi bržoj i potpunijoj ekstrakciji ekstraktivnih materija, ali i većim operativnim troškovima.

Važan parametar ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala je tzv. stepen ekstrakcije, koji se definiše kao odnos razlike početnog i aktuelnog sadržaja ekstraktivnih materija u biljnom materijalu koji je postignut za određeno vreme trajanja procesa i početnog sadržaja ekstraktivnih materija u biljnom materijalu:

$$SE = \frac{q_0 - q_s}{q_0} \quad (2.1)$$

gde je:  $SE$  – stepen ekstrakcije (obično u %),  $q_0$  – početni sadržaj ekstraktivnih materija u biljnom materijalu (g/100 g) i  $q_s$  – aktuelni sadržaj ekstraktivnih materija u biljnom materijalu (g/100 g). Najveći stepen ekstrakcije se postiže u ravnoteži ekstrakcionog sistema, kada je  $q = q_\infty$ , gde je :  $q_\infty$  – sadržaj ekstraktivnih materija u biljnom materijalu koji je u ravnoteži sa tečnim ekstraktom.

Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnih materijala se, po pravilu, ne vodi do postizanja ravnotežnog stanja sistema, tj. do potpunog ekstrahovanja ekstraktivnih materija, već do postizanja određenog stepena ekstrakcije, koji se određuje na osnovu tehno-ekonomske analize.

## 2.1.2. Faktori ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala

Prilikom izbora tehnike i uslova ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala posebnu pažnju treba obratiti na veličinu čestica, rastvarač, odnos biljni materijal-rastvarač, radnu temperaturu i mešanje suspenzije (Coulson i sar., 1991; Ponomarev, 1976).

Veličina biljnih čestica može da utiče pozitivno i negativno na ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnih materijala. Ukoliko je veličina biljnih čestica manja, utoliko je veća brzina ekstrakcije ekstraktivnih materija zbog veće kontaktne površine između biljnog materijala i rastvarača. Takođe, rastojanje koje ekstraktivne materije moraju da prođu kroz biljne čestice do spoljašnje površine je kraće, pa je otpor difuziji manji (Cissé i sar., 2012; Herodež i sar., 2003; Hojnik i sar., 2008). Međutim, odvajanje biljnih čestica od tečnog ekstrakta i dreniranje iscrpljenog biljnog materijala je utoliko teže, ukoliko su biljne čestice manje. Vrlo sitne biljne čestice mogu da prodru u pore krupnijih biljnih čestica, ometajući difuziju rastvarača. Poželjno je da opseg veličine biljnih čestica bude uzak, da bi vreme ekstrakcije ekstraktivnih materija bilo približno jednako za sve biljne čestice.

Kinetika ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala jako zavisi od veličine biljnih čestica, tako da i male promene u njihovoj veličini mogu značajno da utiču na prinos ekstraktivnih materija i vreme trajanja procesa (Chan i sar., 2013). Takođe, prinos ekstraktivnih materija ispiranjem se može povećati smanjenjem veličine biljnih čestica zbog većeg stepena usitnjavanja biljnih ćelija (Qu i sar., 2010), dok početna brzina ekstrakcije ostaje nepromenjena zbog toga što difuzija kroz biljne čestice limitira brzinu ukupnog procesa (Herodež i sar., 2003). Međutim, smanjenje veličine biljnih čestica može da smanji selektivnost ekstrakcije zbog povećanja stepena ekstrakcije nepoželjnih ekstraktivnih materija (Cissé i sar., 2012).

Rastvarač ima značajnu ulogu u ekstrakciji ekstraktivnih materija iz biljnih materijala. Različiti rastvarači imaju različitu moć preovladavanja energetske barijere poznate kao energija aktivacije ekstrakcije (Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2007; Spigno i De Faveri, 2009). Ova energija je potrebna da bi rastvarač prodro u biljne ćelije. Rastvarač treba da bude hemijski stabilan i inertan prema svim komponentama sistema i uobičajenim konstrukcionim materijalima. Pogodan rastvarač može ubrzati ispiranje i skratiti vreme trajanja ukupnog procesa (Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2007) ili može

poboljšati difuzivnost ekstraktivnih materija (Xu i sar., 2008). Takođe, rastvarač treba da je netoksičan, nezapaljiv i jeftin. On treba da je selektivan u odnosu na željene ekstraktivne materije. Ako postoji mogućnost izbora, bira se rastvarač manjeg viskoziteta, da bi se difuzija rastvarača kroz biljni materijal i difuzija ekstraktivnih materija kroz rastvarač odvijale lakše. Kao rastvarači koriste se voda ili organski rastvarači, koji najčešće ne reaguju hemijski sa ekstraktivnim materijama. Rastvori etanola u vodi se često koriste kao rastvarač za ekstrahovanje ekstraktivnih materija, na primer, iz *Fumaria officinalis* L. (Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2010), drveta kestena (Gironi i Piemonte, 2011), nadzemnih delova žalfije (Veličković i sar., 2006), semenki grožđa (Bucić-Kojić i sar., 2007) i dr.

Odnos rastvarač-biljni materijal je značajan procesni faktor koji utiče na brzinu prenosa mase ekstraktivnih materija. Ako se korektno izabere, ovaj odnos može smanjiti otpor prenosu mase difuzijom i povećati prinos ekstraktivnih materija (Franco i sar., 2007a; Qu i sar., 2010). Ako je odnos rastvarač-biljni materijal veći od optimalnog, višak rastvarača neće značajno uticati na ravnotežni prinos ekstraktivnih materija, ali će povećati troškove ekstrakcije (Chan i sar., 2013). U nekim slučajevima, povećanje odnosa rastvarač-biljni materijal nije značajno uticalo na brzinu ispiranja ekstraktivnih materija (Herodež i sar., 2003). U nekim slučajevima je uočeno da se ravnoteža ekstrakcionih sistema brže postiže pri manjim odnosima rastvarač-biljni materijal zbog manjih ravnotežnih prinosa ekstraktivnih materija (Stanisavljević i sar., 2007b).

Generalno pravilo je da ekstrakciju termostabilnih ekstraktivnih materija treba izvoditi na što je moguće većoj temperaturi (Ponomarev, 1976). Postoji nekoliko razloga za ovakav izbor ekstrakcione temperature. Brzina ekstrakcije ekstraktivnih materija se povećava sa povećanjem temperature, jer je viskoznost rastvarača manja, a koeficijent difuzije rastvorka veći na većoj temperaturi (Cissé i sar., 2012; Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2007). Po pravilu, na većoj temperaturi je rastvorljivost ekstraktivnih materija veća, pa se postiže veća krajnja koncentracija ekstraktivnih materija u tečnom ekstraktu i veća pogonska sila prenosa mase, što ima za rezultat kraće vreme trajanja ekstrakcije (Cissé i sar., 2012). Važno je, takođe, da se ispiranje ubrzava sa povišenjem temperature ekstrakcije zbog veće solvacione moći rastvarača (Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2007, 2010). Pri tome, treba imati na umu da se sa povećanjem temperature povećava i rastvorljivost nepoželjnih komponenti biljnog materijala, kao i da je moguća razgradnja nekih ekstraktivnih materija. Ako su ekstraktivne materije termolabilna jedinjenja, onda

povišenje temperature ima negativan efekat na ekstrakciju i treba ga izbegavati. Generalno, stabilnost termolabilnih jedinjenja se smanjuje sa povećanjem temperature (Cissé i sar., 2012). Prema tome, izbor optimalne temperature ekstrakcije treba da bude rezultat kompromisa između efikasnosti ekstrakcije i termičke stabilnosti ekstraktivnih materija.

Mešanjem suspenzije biljnih čestica u rastvaraču sprečava se njihovo taloženje na dno suda i smanjuje otpor prenosu mase ekstraktivnih materija od spoljašnje površine čestica ka tečnom ekstraktu.

## 2.2. Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala maceracijom

Za dobijanje biljnih ekstrakta koriste se različite metode ekstrakcije, pri čemu se tradicionalne metode ekstrakcije sve više zamenjuju savremenim. U tradicionalne metode ubrajaju se maceracija, perkolacija, Soxhlet-ova ekstrakcija i ekstrakcija uz refluks. Nedostaci maceracije su dugo vreme ekstrakcije i velika potrošnja rastvarača, zbog kojih se uvode nove tehnike ekstrakcije, kao što su: ultrazvučna, mikrotalasna, superkritična i dr. Pošto su primenjene u ovom radu za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*, posebna pažnja biće posvećena maceraciji i ultrazvučnoj ekstrakciji.

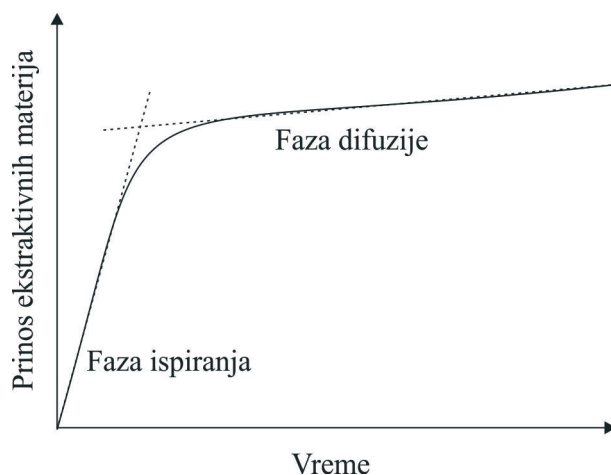
### 2.2.1. Mehanizam maceracije

Potapanjem biljnog materijala u rastvarač, najpre dolazi do prodiranja (difuzije) rastvarača od spoljašnje površine prema unutrašnjosti biljnih čestica. Deo ekstraktivnih materija može se nalaziti na spoljašnjoj površini biljnih čestica i on se direktno ispira rastvaračem. Pošto biljni materijal nabubri, počinje izdvajanje ekstraktivnih materija iz unutrašnjosti biljnih čestica, koje se, generalno, odvija u sledeće tri faze (Ponomarev, 1976):

- prelaz ekstraktivnih materija iz čvrste u tečni fazu, rastvaranjem u rastvaraču,
- difuzija ekstraktivnih materija kroz rastvarač u porama biljnih čestica prema spoljašnjoj površini i
- difuzija ekstraktivnih materija iz rastvora u kontaktu sa biljnim česticama u glavninu rastvora (tečni ekstrakt).

Bilo koja od ove tri faze može limitirati brzinu ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala (Coulson i sar., 1991). Obično je rastvaranje ekstraktivnih materija u rastvaraču veoma brz proces, bez uticaja na brzinu ukupnog procesa. Ako difuzija rastvorka kroz poroznu strukturu biljnih čestica kontroliše brzinu ekstrakcije ekstraktivnih materija, biljni materijal treba usitniti, da bi put ekstraktivnih materija kroz biljne čestice bio što kraći. Kada je, pak, difuzija ekstraktivnih materija od površine biljnih čestica prema glavni rastvora limitirajući faktor brzine procesa, onda je potrebno obezbediti dovoljno intenzivno mešanje suspenzije.

Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz biljnog materijala odigrava se po dva mehanizma, i to (Coulson i sar., 1991): a) “spiranjem” ekstraktivnih materija sa spoljašnje površine čestica biljnog materijala (poznat kao ispiranje ili brza ekstrakcija) i b) difuzijom ekstraktivnih materija kroz čestice biljnog materijala do njihove spoljašnje površine (poznat kao spora ekstrakcija). Slika 2.1 ilustruje dve faze ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala u šaržnom sistemu. Ova dva mehanizma prenosa mase se odigravaju istovremeno (Kostić i sar., 2013; Patricelli i sar., 1979; So i Macdonald, 1986), iako neki istraživači pretpostavljaju da se ispiranje ekstraktivnih materija odigrava trenutno, posle čega se odigrava difuzija ekstraktivnih materija kroz biljne čestice (Stanković i sar., 1994; Veljković i Milenović, 2002).



Slika 2.1 Tipična kriva ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala u šaržnom sistemu

## 2.2.2. Ultrazvučna ekstrakcija

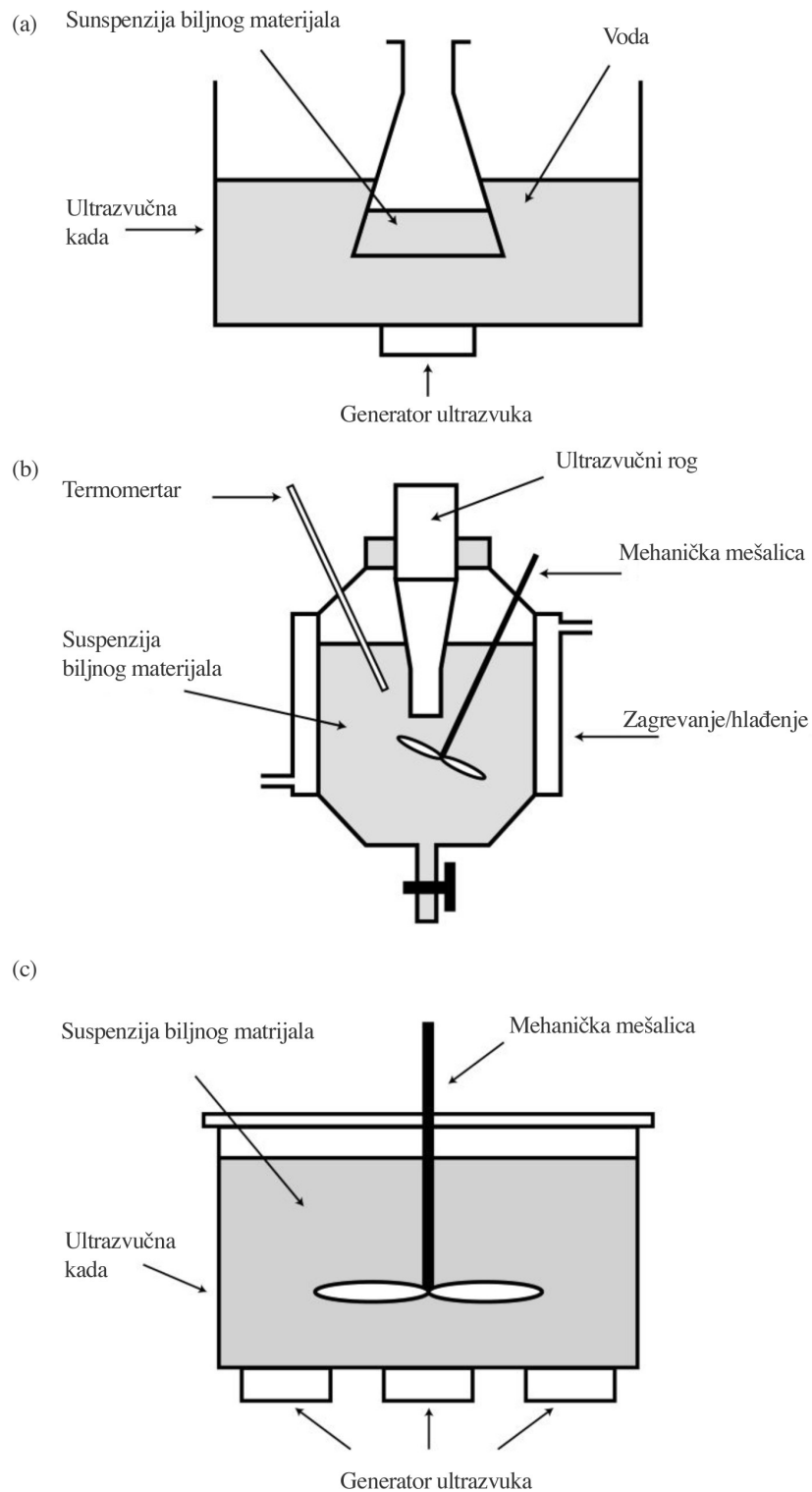
Pored opštih procesnih faktora, na ultrazvučnu ekstrakciju utiču i specifični faktori: intenzitet ultrazvučnog zračenja, način sonikacije i drugi (Chan i sar., 2013). Veći broj istraživanja je pokazao da intenzitet ultrazvučnog zračenja utiče značajno na stepen



ekstrakcije (Ma i sar., 2009), i to tako što se sa njegovim povećanjem povećava stepen ekstrakcije i skraćuje vreme trajanja ekstrakcije (Stanisavljević i sar., 2007b; Veličković i sar., 2008) bez obzira na način sonikacije (Pan i sar., 2012a). Ova poboljšanja u smislu ubrzanja procesa i povećanja prinosa ekstraktivnih materija postižu se zahvaljujući pozitivnom uticaju ultrazvuka na prenos mase, razaranje ćelije, penetraciju rastvarača i kapilarni efekat (Paniwnyk i sar., 2001; Toma i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997). Pozitivan efekat ultrazvuka se pripisuje fenomenu kavitacije koji utiče na razaranje ćelijskog zida, hidrataciju biljnog materijala, smanjenje veličine biljnih čestica i ubrzanje prenosa mase ekstraktivnih materija (Toma i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997). Ovaj uticaj ultrazvuka je dokazan kod ekstrakcije farmakološki aktivnih materija (Paniwnyk i sar., 2001; Sališova i sar., 1997; Valachovič i sar., 2001) i polisaharida (Hromádková i sar., 1999) iz mnogih biljaka. Ultrazvučni talasi mogu izazvati mehaničke, hemijske, toplotne i druge efekte jer odaju veliku energiju po jedinici površine (Ley, 1989). Međutim, neka istraživanja su pokazala da ultrazvuk nema nikakav uticaj na stepen i brzinu ekstrakcije, bez obzira na uslove sonikacije (Mircea, 2001, Romdhane i Gourdon, 2002). Ovakav uticaj ultrazvuka je možda posledica geometrijskog oblika biljnih čestica, kao, na primer, u slučaju stabljika grožđa (Cárcel i sar., 2010). U nekim slučajevima je ultrazvučna ekstrakcija manje efikasna od maceracije zbog oksidacije i degradacije ekstraktivnih materija tokom produžene sonikacije (Stanisavljević i sar., 2007b, 2008).

Najznačajniji fenomen za primenu ultrazvuka u ekstrakciji je kavitacija. Pri širenju ultrazvuka kroz tečnost, longitudinalne vibracije molekula stvaraju zone visokog i niskog lokalnog pritiska (tj. naizmenično kompresiju i ekspanziju). Kod ekstrakcionih sistema, dinamika kavitacionog kolapsa se razlikuje od one koja se dešava u čistom rastvaraču. U blizini granice biljnih čestica, kavitacioni mehur postaje veoma asimetričan i generiše mlaz tečnosti velike brzine. Brzina kavitacionog mehura raste skoro linearno sa porastom ultrazvučne snage (Tsochatzidis i sar., 2001). Nastajanje i kolaps kavitacionih mehura se smatraju odgovornim za fizičke efekte zapažene u ekstrakcionim sistemima. Tako, na primer, uticajem turbulencije na mikro nivou na difuzioni granični sloj oko biljnih čestica, ultrazvuk smanjuje otpor prenosu mase kroz granični sloj i intenzivira prenos mase (Neis, 2002). Pod ovim hidrodinamičkim uticajem, debljina difuzionog graničnog sloja se smanjuje. Pored toga, zbog povećanja lokalne temperature može se očekivati smanjenje viskoziteta tečnosti u laminarnom podsloju. Oba efekta imaju za posledicu povećanje koeficijenta prenosa mase i brzine prenosa mase ekstraktivnih materija u rastvor. Povećanje koeficijenta prenosa mase zavisi direktno od primenjene ultrazvučne snage (Neis, 2002).

Tehnike ekstrakcije ultrazvukom razlikuju se po načinu delovanja i izvoru ultrazvuka (sl. 2.2). Uticaj ultrzvuka pri ekstrakciji može biti direktan ili indirketan, a izvor može biti ultrazvučna sonda ili ultrazvučno kupatilo (Vinatoru i sar., 1997).



Slika 2.2 Načini primene ultrazvuka u ekstrakciji iz biljnog materijala: a) indirektni u ultrazvučnoj kadi, b) direktni ultrazvučnom sondom i c) direktni u ultrazvučnoj kadi

### 2.2.3. Kinetika ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala

Kriva promene prinosa ekstraktivnih materija u toku šaržne ekstrakcije sastoji se od ispiranja (brza ekstrakcija) i difuzije (spora ekstrakcija), kao što je prikazano na sl. 2.1. Ekstrakcija počinje kada molekuli rastvarača prodru u biljno tkivo, pri čemu se citoplazmatični sloj izlaže direktno rastvaraču (Crossley i Aguilera, 2001), što olakšava rastvaranje ekstraktivnih materija u rastvaraču. Brzina ekstrakcije u fazi ispiranja može biti konstantna (Rakotondramasy-Rabesiaka i sar., 2009). Kada je brzina ekstrakcije jako velika, onda se period ispiranja može teško odrediti (Franco i sar., 2007b). Tokom perioda spore ekstrakcije ekstraktivne materije difunduju kroz biljno tkivo i rastvaraju se u rastvaraču. Prinos ekstraktivnih materija u ovom periodu jako zavisi od udela nerazorenih biljnih ćelija (Crossley i Aguilera, 2001).

Za modelovanje kinetike ekstrakcije u šaržnom sistemu korišćeni su različiti matematički modeli. Kinetičke jednačine u okviru razvijenih modela koji opisuju promenu koncentracije ekstraktivnih materija u rastvoru ili biljnom materijalu sa vremenom su teorijske ili empirijske. Najšire su korišćeni modeli zasnovani na drugom Fick-ovom zakonu difuzije, modeli jednačina hemijske kinetike (prvog i drugog reda), kao i dvo i višeparametarski modeli (Chan i sar., 2013). Tabela 2.1 prikazuje korišćene kinetičke modele za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz različitog biljnog materijala.

#### 2.2.3.1. Model zasnovan na drugom Fick-ovom zakonu difuzije

Prenos mase ekstraktivnih materija u šaržnom ekstrakcionom sistemu zavisi od difuzije ekstraktivnih materija kroz biljnu česticu (tzv. unutrašnja difuzija) i difuzije ekstraktivnih materija od spoljašnje površine biljne čestice u rastvor (tzv. spoljašnja difuzija). U skladu sa prvim Fick-ovim zakonom, unutrašnja difuzija ekstraktivnih materija zavisi od gradijenta koncentracije ekstraktivnih materija u pravcu prenosa:

$$N = -D \frac{dc}{dx} \quad (2.2)$$

gde je:  $N$  – maseni fluks ekstraktivnih materija,  $c$  – koncentracija ekstraktivnih materija u biljnim česticama,  $D$  – koeficijent difuzije ekstraktivnih materija u rastvaraču i  $x$  – rastojanje u pravcu prenosa mase.

Tabela 2.1 Pregled korišćenih kinetičkih modela za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala

| Tehnika ekstrakcije | Ekstraktivne materije/ biljni materijal   | Uslovi ekstrakcije <sup>a</sup>   | Kinetički model  | Referenca                              |
|---------------------|---|---|--|--|
| Maceracija          | Ulje/ seme suncokreta ( <i>Helianthus annuus</i> ) i divljeg suncokreta ( <i>Helianthus petiolaris</i> )                  | <i>n</i> -Heksan, 10 cm <sup>3</sup> /g, oko 0,6 mm, 40-60 °C, mešanje                          | Uprošćeni model difuzije (sferne čestice)  | Perez i sar. (2011)                    |
| Maceracija          | Antocijani/malezijanski jasmin ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ) (bez ili sa prethodnim tretmanom sa parom visokog pritiska) | Voda, 100 cm <sup>3</sup> /g, 0,135 mm, 100 °C, mešanje   | Uprošćeni model difuzije (pločaste čestice)  | Ben Amor i Allaf (2009)                |
| Maceracija          | Lutein/latice cveta nevena  | <i>n</i> -Heksan, 10 cm <sup>3</sup> /g, oko <0,315 mm, 20-60 °C, istovremena alkalna hidroliza | Model istovremenog ispiranja i difuzije (sferne čestice)   | Hojnik i sar. (2008)                   |
| Maceracija          | Ulje/ <i>Rosa rubiginosa</i>  | Etanol, 15-50 cm <sup>3</sup> /g, <0,6 mm, 50 °C, mešanje                                       | Uprošćeni model difuzije (sferne čestice)  | Franco i sar. (2007a)                  |
| Maceracija          | Karnozinska, ursolinska i oleanolinska kiselina/lišće matišnjaka ( <i>Melissa officinalis</i> )                           | Etanol, 4-10 cm <sup>3</sup> /g, 0,2-0,4 mm, 0-80 °C, mešanje                                   | Model istovremenog ispiranja i difuzije (pločaste čestice)   | Herodež i sar. (2003)                  |
| Maceracija          | Ukupni fenoli/ <i>Sideritis</i> ssp.  | 80 % etanol, 15 cm <sup>3</sup> /g, 0,04 mm, sobna temperatura, mešanje                         | Modeli nestacionarne difuzije za česticu i sistem čestica-rastvarač  | Tsibranska i sar. (2011)               |
| Maceracija          | Izoflavoini/stabljike <i>Pueraria lobata</i> (Willd.)   | 50 % <i>n</i> -butanol, 50 cm <sup>3</sup> /g, 0,4-0,8 mm, 25 °C, mešanje                       | Modeli nestacionarne difuzije za česticu i sistem čestica-rastvarač  | Xu i sar. (2008)                       |
| Maceracija          | Antocijani / <i>Hibiscus sabdariffa</i>   | Voda, 25 cm <sup>3</sup> /g, 0,15 mm, 25-90 °C, mešanje   | Model nestacionarne difuzije za sistem čestica-rastvarač i model prenosa mase sa degradacijom ekstraktivnih materija | Cissé i sar. (2012)                    |
| Maceracija          | Ulje/ <i>Rosa rubiginosa</i>  | 92% etanol, 50 cm <sup>3</sup> /g, 0,25, 0,35 i 0,75 mm, 50 °C, mešanje                         | Modeli nestacionarne difuzije sa spoljašnjim otporom prenosu mase  | Franco i sar. (2007b)                  |
| Maceracija          | Ukupni fenoli/kora nara   | Voda, 10-50 cm <sup>3</sup> /g, 0,2-3,5 mm, 25-90 °C, mešanje                                   | Model brzine ekstrakcije drugog reda   | Qu i sar. (2010)                       |
| Maceracija          | Protopin/ <i>F. officinalis</i>   | Vodeni rastvori etanola (0-94 %), 6,25-100 cm <sup>3</sup> /g, 0,4-0,5 mm, 30 °C, mešanje       | Model brzine ekstrakcije drugog reda   | Rakotondramasy-Rabesiaka i sar. (2007) |

| <b>Tehnika ekstrakcije</b> | <b>Ekstraktivne materije/ biljni materijal</b>                      | <b>Uslovi ekstrakcije<sup>a</sup></b>  | <b>Kinetički model</b>   | <b>Referenca</b>                |
|----------------------------|---|--|--|---------------------------------|
| Maceracija                 | Ukupne ekstraktivne materije/ <i>Foeniculum vulgare</i>             | Voda, 2 cm <sup>3</sup> /g, 30 °C, mešanje   | Model istovremenog ispiranja i difuzije  | Moubarik i sar. (2011)          |
| Maceracija                 | Ukupni fenoli/semenske grožđa                                       | 50 % etanol, 40 cm <sup>3</sup> /g, 0,16-0,4, 0,4-0,63 i >0,63 mm, 25, 50 i 80 °C  | Peleg-ov model   | Bucić-Kojić i sar. (2007)       |
| Maceracija                 | Rezinoid/nadzemni delovi kokotca                                    | Vodeni rastvori etanola (40-96%), 7-25 cm <sup>3</sup> /g, 0,45 mm, 20 °C - do ključanja   | Model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji   | Stanković i sar. (1994)         |
| Maceracija                 | Rezinoid/nadzemni delovi kantariona                                 | Vodeni rastvor etanola (70 i 95 %), 5 i 10 cm <sup>3</sup> /g, 0,23, 0,57 i 1,05 mm, 25, 50 i 80 °C  | Uprošćeni model difuzije, model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji i Ponomarev model             | Veljković i Milenović (2002)    |
| Maceracija                 | Rezinoid/nadzemni delovi kantariona                                 | Vodeni rastvor etanola (70 i 95 %), 5 i 10 cm <sup>3</sup> /g, 0,23, 0,57 i 1,05 mm, 25, 50 i 80 °C  | Parabolni difuzion model, model stepenog zakona, hiperbolični model, Weibull-ov model i Elovich-ov model | Kitanović i sar. (2007)         |
| Maceracija                 | Ulje/semke kanole   | <i>n</i> -Heksan, 4 cm <sup>3</sup> /g, 0,06-0,76 mm, 25-55 °C   | Model istovremenog ispiranja i difuzije  | So i Macdonald (1986)           |
| Maceracija                 | Ulje/semke konoplje   | <i>n</i> -Heksan, 3-10 cm <sup>3</sup> /g, 0,47 mm, 20-70 °C   | Model istovremenog ispiranja i difuzije  | Kostić i sar. (2013)            |
| Maceracija                 | Flavonoidi/ <i>Artemisia vulgaris</i> i <i>Artemisia campestris</i> | Metanol, 10 cm <sup>3</sup> /g, 25 °C, 40 °C, 150 W, 40 kHz  | Uprošćeni model difuzije   | Karabegović i sar. (2011)       |
| Ultrazvučna ekstrakcija    | Ulje/semke duvana   | <i>n</i> -Heksan ili petrol etar, 3-10 cm <sup>3</sup> /g, <0,4, 0,4-0,5 i 0,5-0,63 mm, 40 °C, 150 W, 40 kHz   | Uprošćeni model difuzije   | Stanisavljević i sar. (2007a,b) |
| Ultrazvučna ekstrakcija    | Ukupni ekstrakt/obična i lepljiva žalfija                           | Petrol etar, 70 % etanol ili voda, 10 cm <sup>3</sup> /g, <6 mm, 40 °C, 150 W, 40 kHz  | Uprošćeni model difuzije, model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji i Ponomarev model             | Veličković i sar. (2006)        |
| Ultrazvučna ekstrakcija    | Ukupni fenoli/kora nara   | Voda, 10 cm <sup>3</sup> /g, režim sonikacije: 1) kontinualni 2,4-59,2 W/cm <sup>2</sup> , 20 kHz, 2) pulsni (2/2, 5/5 i 5/15 s/s) 59,2 W/cm <sup>2</sup> , 20 kHz | Model brzine ekstrakcije drugog reda   | Pan i sar. (2012b)              |

<sup>a</sup> Rastvarač, odnos rastvarač-biljna sirovina, veličina čestica, temperatura i uslovi mešanje.

Za modelovanje kinetike prenosa mase ekstraktivnih materija u šaržnom ekstrakcionom sistemu važno je znati koji mehanizam difuzije određuje brzinu ukupnog procesa (tzv. limitirajući korak). Obično se otpor spoljašnjoj difuziji ekstraktivnih materija minimizuje, tako da brzina procesa ekstrakcije zavisi od brzine unutrašnje difuzije ekstraktivnih materija, koja je definisana drugim Fick-ovim zakonom (Cranck, 1975; Treybal, 1981):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2.3)$$

gde je:  $t$  – vreme ekstrakcije. Do jednačine za kinetiku ekstrakcije može se doći rešavanjem jednačine (2.3) uz odgovarajuće početne i granične uslove:

$$t = 0, c = c_0 \text{ za } \forall x \quad (2.4a)$$

$$t > 0, c = c_i = 0 \text{ za } x = \delta \quad (2.4b)$$

$$t > 0, \frac{\partial c}{\partial x} = 0 \text{ za } x = 0 \quad (2.4c)$$

gde je:  $c_0$  – početna koncentracija ekstraktivnih materija u biljnim česticama,  $c_i$  – koncentracija ekstraktivnih materija na spoljašnjoj površini biljnih čestica i  $\delta$  – karakteristična dimenzija biljne čestice (na primer, poluprečnik sferne čestice  $R$  ili polovina debljine ploče  $L$ ). Koncentracija ekstraktivnih materija na spoljašnjoj površini biljnih čestica je jednaka nuli, jednačina (2.4b) ako je otpor spoljašnjoj difuziji zanemarljiv.

Rešavanje jednačine (2.3), uz primenu uslova definisanih jednačinama (2.4), značajno se uprošćava uvođenjem sledećih pretpostavki:

- a) ekstraktivne materije se posmatraju kao jedna pseudo-komponenta;
- b) biljne čestice su simetrične, izotropne, jednake po veličini i uniformnog sastava, pa se mogu predstaviti jednom pseudo-česticom, tako da se koncentracija ekstraktivnih materija menja sa vremenom i u pravcu prenosa mase;
- c) otpor spoljašnjoj difuziji se zanemaruje, tako da se koncentracija ekstraktivnih materija u rastvoru menja samo sa vremenom;
- d) koeficijent unutrašnje difuzije je konstantan;
- e) koncentracija ekstraktivnih materija u rastvoru u unutrašnjosti biljnih čestica je jednaka njihovoj koncentraciji u masi rastvora.

Rešenje jednačine (2.3) zavisi od geometrijskog oblika biljne čestice (Cranck, 1975), i to:

– za sfernu česticu ( $x = r$ ,  $\delta = R$ )

$$\frac{c - c_0}{c_i - c_0} = 1 + \frac{2R}{\pi r} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin\left(\frac{n\pi}{R} r\right) \cdot \exp\left(-D \frac{n^2 \pi^2}{R^2} t\right) \quad (2.5)$$

– za česticu oblika ploče ( $\delta = L$ )

$$\frac{c - c_0}{c_i - c_0} = 1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \cos\left[\frac{(2n+1)^2 \pi}{2L} x\right] \cdot \exp\left[-D \frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4L^2} t\right] \quad (2.6)$$

Masa ekstraktivnih materija izdvojena iz biljnih čestica u bilo kom trenutku ekstrakcije se može izračunati integriranjem koncentracije ekstraktivnih materija po poluprečniku ili debljini čestice, pri čemu se dobija:

– za sfernu česticu

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-D \frac{n^2 \pi^2}{R^2} t\right) \quad (2.7)$$

– za česticu oblika ploče

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-D \frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4L^2} t\right] \quad (2.8)$$

gde je:  $q$  – masa ekstraktivnih materija izdvojena iz biljnih čestica u bilo kom trenutku ekstrakcije (g/100 g) i  $q_{\infty}$  – masa ekstraktivnih materija izdvojena iz biljnih čestica po postizanju zasićenja, tj. ravnoteže (teorijski za  $t \rightarrow \infty$ ).

Posle dovoljno dugačkog vremena od početka ekstrakcije (obično posle perioda ispiranja), samo je prvi član reda značajan, tako da se jednačine (2.7) i (2.8) pojednostavljaju u uprošćeni model difuzije (Perez i sar., 2011):

$$\frac{q}{q_{\infty}} = 1 - \alpha e^{-\beta t} \quad (2.9)$$

gde je:  $\alpha$  – konstanta modela, a  $\beta$  – konstanta brzine unutrašnje difuzije (za sfernu česticu:  $\beta = \pi^2 D/R^2$ ; za česticu oblika ploče:  $\beta = \pi^2 D/4L^2$ ). Relativna greška izračunavanja vrednosti  $q/q_{\infty}$  pomoću jednačine (2.9), umesto jednačinama (2.7) i (2.8), ne prelaze 0,1 % ako je  $q/q_{\infty} > 0,5$  (Boutekedjiret i sar., 2005).

Vrednosti parametara jednačine (2.9) se obično izračunavaju iz njenog linearizovanog oblika:

$$\ln\left(1 - \frac{q}{q_{\infty}}\right) = \ln \alpha - \beta \cdot t \quad (2.10)$$

### 2.2.3.2. Model zasnovan na istovremenom ispiranju i difuziji ekstraktivnih materija

Ovaj matematički model kinetike ekstrakcije ekstraktivnih materija je izveden za šaržni ekstraktor u kome je biljna sirovina potopljena u rastvaraču. Suspenzija može biti izložena dejstvu ultrazvuka. Kinetički model se zasniva na sledećim pretpostavkama (Kostić i sar., 2014):

- i) ekstraktivne materije se posmatraju kao jedna pseudo-komponenta;
- ii) čestice biljnog materijala su izotropne, jednake po veličini, obliku i početnom sadržaju ekstraktivnih materija, odnosno sve se ponašaju kao jedna pseudo-čestica;
- iii) ekstrakcija ekstraktivnih materija odigrava se preko dva istovremena mehanizma, ispiranjem ekstraktivnih materija sa spoljašnje površine čestica biljnog materijala i difuzijom ekstraktivnih materija kroz čestice biljnog materijala do njihove spoljašnje površine;
- iv) ne postoji ograničenje prenosa mase ekstraktivnih materija u rastvoru;
- v) koeficijenti brzine prenosa mase ekstraktivnih materija ispiranjem i difuzijom kroz biljne čestice su konstantni, ali zavise od temperature i ultrazvuka.

U izvođenju jednačine modela koriste se bilansi mase ekstraktivnih materija za tečnu i čvrstu fazu i jednačina za brzinu prenosa mase ekstraktivnih materija. Proces ispiranja i difuzije se posmatraju odvojeno, ali se koncentracije ekstraktivnih materija koje su posledica oba procesa sabiraju, da bi se odredila promena ukupne koncentracije ekstraktivnih materija sa vremenom.

Bilansi mase ekstraktivnih materija u tečnoj i čvrstoj fazi u bilo kom trenutku ekstrakcije i stanju ravnoteže (zasićenja) za šaržni proces dati su sledećim jednačinama:

$$L \cdot c = S \cdot q \quad (2.11)$$

$$L \cdot c^* = S \cdot q_{\infty} \quad (2.12)$$



gde je:  $L$  – zapremina rastvarača,  $S$  – masa biljnog materijala,  $c$  – koncentracija ekstraktivnih materija u masi tečnog ekstrakta posle vremena  $t$ ,  $c^*$  – koncentracija ekstraktivnih materija u zasićenom tečnom ekstraktu u kontaktu sa biljnim materijalom,  $q$  – količina ekstraktivnih materija po jedinici mase biljnog materijala ekstrahovana za vreme  $t$  i  $q_\infty$  – količina ekstraktivnih materija po jedinici mase biljnog materijala ekstrahovana do postizanja zasićenja.

Za oba procesa (ispiranje i difuzija) brzina prenosa mase ekstraktivnih materija iz čestica biljnog materijala u masu rastvora, pretpostavljajući postojanje tankog sloja tečnosti oko čestica biljnog materijala u kome je skoncentrisan ukupan otpor prenosu mase, definisana je sledećom jednačinom:

$$\frac{dc}{dt} = K_c a \cdot (c^* - c) \quad (2.13)$$

gde je:  $a$  – specifična površina čvrstih čestica u kontaktu sa rastvorom, a  $K_c$  – koeficijent prenosa mase ekstraktivnih materija u tečnoj fazi. Proizvod  $K_c a$  je zapreminski koeficijent prenosa mase ekstraktivnih materija u tečnoj fazi, koji se obično označava kao konstanta brzine procesa  $k$ , tako da se jednačina (2.13) može napisati u sledećem obliku

$$\frac{dc}{dt} = k \cdot (c^* - c) \quad (2.14)$$

Pošto se za ekstrakciju koristi čist rastvarač, početna koncentracija ekstraktivnih materija u tečnoj fazi je jednaka nuli, tj.

$$\text{za } t = 0, c = c_0 = 0 \quad (2.15)$$

Pretpostavljajući da  $k$  i  $c^*$  ostaju konstantni tokom ekstrakcije, jednačina (2.14), posle preuređenja i integracije, daje sledeću jednačinu:

$$\ln \frac{c^* - c}{c^*} = -k \cdot t \quad (2.16)$$

ili

$$c = c^* (1 - e^{-kt}) \quad (2.17)$$

koja predstavlja vremensku promenu koncentracije ekstraktivnih materija ispiranjem ili difuzijom dok se ne dostigne zasićenje (teorijski, za  $t \rightarrow \infty$ ,  $c = c^*$ ).

Pošto jednačina (2.17) važi i za ispiranje i za difuziju, mogu se napisati odvojene jednačine promene koncentracije ekstraktivnih materija sa vremenom:

$$c_1 = c_1^* (1 - e^{-k_1 \vartheta}) \quad (2.18)$$

$$c_2 = c_2^* (1 - e^{-k_2 \vartheta}) \quad (2.19)$$

gde subskripti 1 i 2 označavaju, redom, ispiranje i difuziju. Pretpostavlja se da je  $k_1 > k_2$ .

Pošto je ukupna koncentracija ekstraktivnih materija u tečnoj fazi rezultat i ispiranja i difuzije

$$c = c_1 + c_2 \quad (2.20)$$

onda iz jednačina (2.18), (2.19) i (2.20) sledi

$$c = c_1^* (1 - e^{-k_1 \vartheta}) + c_2^* (1 - e^{-k_2 \vartheta}) \quad (2.21)$$

Budući da je i zasićenje tečne faze rezultat i ispiranja i difuzije, onda je

$$c^* = c_1^* + c_2^* \quad (2.22)$$

Prema tome, promena koncentracije ekstraktivnih materija u tečnoj fazi sa vremenom može se opisati sledećom jednačinom:

$$c = c^* - c_1^* \cdot e^{-k_1 \vartheta} - c_2^* \cdot e^{-k_2 \vartheta} \quad (2.23)$$

Deljenjem jednačine (2.23) sa  $c^*$ , dobija se

$$\frac{c}{c^*} = 1 - \frac{c_1^*}{c^*} e^{-k_1 \vartheta} - \frac{c_2^*}{c^*} e^{-k_2 \vartheta} \quad (2.24)$$

ili

$$\frac{c}{c^*} = 1 - f \cdot e^{-k_1 \vartheta} - (1 - f) \cdot e^{-k_2 \vartheta} \quad (2.25)$$

gde su  $f = \frac{c_1^*}{c^*}$  i  $(1 - f) = \frac{c_2^*}{c^*}$  konstante koje predstavljaju, redom, udele ekstraktivnih materija ekstrahovanih iz čestica biljnog materijala ispiranjem i difuzijom.

Konačno, na osnovu jednačina (2.11), (2.12) i (2.25), dobija se jednačina (2.26) koja opisuje promenu sadržaja ekstraktivnih materija u čvrstom materijalu sa vremenom:

$$q = q_{\infty} \left[ 1 - f \cdot e^{-k_1 g} - (1 - f) \cdot e^{-k_2 g} \right] \quad (2.26)$$

Ovaj model poznat je kao fenomenološki model (Kostić i sar., 2014). Jednačina (2.26) je ranije izvedena za ekstrakciju ulja iz suncokretovog semena (Patricelli i sar., 1979) i semena konoplje (Kostić i sar., 2014). Fenomenološki model je pokazao odličnu moć predviđanja prinosa ulja ekstrakcijom iz semena kanole (So i Macdonald, 1986) i semena konoplje (Kostić i sar., 2014), pošto je koeficijent determinacije blizak jedinici ( $R^2 > 0,98$ ).

### 2.2.3.3. Model zasnovan na pretpostavci trenutnog ispiranja i difuziji ekstraktivnih materija

Fenomenološki model, jednačina (2.26), može se uprostiti uvođenjem pretpostavke da se ispiranje odigrava trenutno ( $k_1 \rightarrow \infty$ ). Ovim pristupom dobija se sledeća kinetička jednačina poznata kao model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji:

$$q = q_{\infty} \left[ 1 - (1 - f) \cdot e^{-k_2 g} \right] \quad (2.27)$$

Parametri jednačine (2.27),  $f$  i  $k_2$ , poznati su kao koeficijent ispiranja i koeficijent spore ekstrakcije (Veljković i Milenović, 2002). Jednačina (2.27) je identična jednačini (2.9) ako je  $\alpha = 1 - f$  i  $\beta = k_2$ .

Model zasnovan na pretpostavci trenutnog ispiranja i difuziji je prethodno korišćen za opisivanje kinetike ekstrakcije ukupnih ekstraktivnih materija iz kokoca (Stanković i sar., 1994) i kantariona (Veljković i Milenović, 2002), kao i ulja iz semena duvana (Stanisavljević i sar., 2007b). Isti model je verifikovan za ultrazvučnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz obične i lepljive žalfije (Veličković i sar., 2006). Ovaj kinetički model se sasvim dobro slaže sa eksperimentalnim podacima samo u drugom delu ekstrakcije, što potvrđuje visoka vrednost  $R^2 (> 0,98)$  za ekstrakciju rezinoida iz obične i lepljive žalfije (Veličković i sar., 2006) i mala vrednost  $MRPD (\pm 3.8\%)$  za ekstrakciju ulja iz semena duvana (Stanisavljević i sar., 2007b).

### 2.2.3.4. Model pseudo-prvog reda u odnosu na ekstraktivne materije

Ako se prenos mase ekstraktivnih materija iz čestica biljnog materijala u masu rastvora odigrava samo difuzijom, bez ispiranja ( $f = 0$ ), onda se dobija eksponencijalna funkcija:

$$q = q_{\infty} \left(1 - e^{-k_2 g}\right) \quad (2.28)$$

Ovaj model se, u stvari, bazira na pretpostavci o kinetici ekstrakcije ekstraktivnih materija kao procesu pseudo-prvog reda u odnosu na ekstraktivne materije koje zaostaju u biljnom materijalu (model pseudo-prvog reda ili difuzioni model).

### 2.2.3.5. Empirijski modeli

Pored fundamentalnih modela, za modelovanje kinetike ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnih materijala korišćeni su i empirijski modeli. Empirijski modeli matematički opisuju promenu koncentracije ekstraktivnih materija u biljnom materijalu ili u rastvoru sa vremenom. Po pravilu, ovi modeli su jednostavniji od fizičkih modela, ali su i oni pogodni za inženjerske potrebe. Smatra se da su empirijski modeli pogodniji za ekstrakcije potpomognute ultrazvukom, mikrotalasima ili električnim poljem od fizičkih, pošto se one ne mogu opisati adekvatnim teorijama (Chan i sar., 2013). Najčešće korišćeni empirijski modeli su hiperbolična jednačina, poznata kao Peleg-ov (hiperbolični) model (Bucić-Kojić i sar., 2007; Kitanović i sar., 2008), koji je originalno razvijen za sorpcione procese (Peleg, 1988), i Ponomarev model (Pekić i sar., 1988; Ponomarev, 1976; Stanković i sar., 2004; Veličković i sar., 2006, Veljković i Milenović, 2002). Kitanović i sar. (2008) poredili su pet dvo-paramaterskih empirijskih modela u slučaju kinetike ekstrakcije rezinoida iz kantariona. Svi modeli se dobro slažu sa eksperimentalnim podacima, ali se najboljim pokazao Elovich-ov model.

### 2.2.3.6. Uticaj temperature na kinetiku ekstrakcije

Za opisivanje uticaja temperature na kinetiku ekstrakcije ekstraktivnih materija iz biljnog materijala obično se koristi Arrhenius-ova jednačina:

$$k = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (2.29)$$

gde je:  $k$  – konstanta brzine prenosa mase ekstraktivnih materija ispiranjem ili difuzijom,  $E_a$  – energija aktivacije ekstrakcije,  $R$  – univerzalna gasna konstanta i  $T$  – apsolutna temperatura. Zamenom jednačine (2.29) u kinetičke jednačine može se definisati uticaj temperature na ekstrakcioni proces, tj. na promenu  $q/q_{\infty}$  ili stepen ekstrakcije sa vremenom.

## 2.3. Ivanjsko cveće

### 2.3.1. Opis ivanjskog cveća (*Galium*)

Ivanjsko cveće (*Galium*) je višegodišnja zeljasta biljka iz porodice broćeva (Rubiaceae). Naziv roda potiče od grčke reči *gala* koja znači mleko (neke vrste se koriste za zgrušavanje mleka). Vrste ovog roda su veoma rasprostranjene evroazijsko-submediteranske biljke, koje su prenete u Severnu Ameriku. U srpskoj flori postoji 37 vrsta *Galium* (Gajić, 1973; Nikolić i sar., 1986). Rastu na brdskim i pretplaninskim livadama, pored puteva, listopadnih šuma i šibljacka. Njihove stabljike su četvrtaste, uspravne, dostižu visinu od 30 cm do 1 m i mogu biti malo dlakave ili gole. Listovi su linearni i raspoređeni pršljenasto, sa lica su tamnozeleni, goli i malo hrapavi, a sa naličja gusto dlakavi i završavaju se trničem na vrhu. Cvetovi su sitni, sakupljeni u metličaste vršne cvasti, čija je osovina gusto obrasla kratkim dlakama. Krunični listići mogu biti žute ili bele boje, pa se razlikuje žuto (*G. verum*) i belo (*G. mollugo*) ivanjsko cveće (sl. 2.3). Plod je sitan, dužine oko 1,5 mm, i kada sazri crne je boje. Vrste *G. verum* i *G. mollugo* često rastu na istom mestu, ali se *G. mollugo* smatra nečistoćom za *G. verum* (Wichtl i Bisset, 1994).

U tradicionalnoj medicini koristi se nadzemni deo procvetale vrste *G. verum* koji se sakuplja po suvom i sunčanom vremenu (Chevallier, 1996). Droga se koristi kao diuretik, slab depurativ, sedativ, spazmolitik u slučaju kamena u bubregu, za spoljašnju upotrebu kod povreda i oštećenja kože (zarastanje rana), kao i za lečenje psorijaze i reumatizma (Tămas i sar., 2006). Veruje se da ima blagotvorne efekte kod psihoza, fobija, kardiovaskularnih bolesti i poremećaja jetre (Bisset i Wichtl, 2001; Tucakov, 2006). Međutim, do sada nije bilo relevantnih istraživanja koja bi potkrepila ova pozitivna dejstva (Lakić i sar., 2010). U nekim zemljama se nadzemni delovi *G. verum* koristi kao boja i u preradi mleka u jogurt i sir (Wichtl i Bisset, 1994; Bisset i Wichtl, 2001).



Slika 2.3 Ivanjско cveće: (a) belo (*G. mollugo*) i (b) žuto (*G. verum*)

### 2.3.2. Hemijski sastav ivanjskog cveća (*Galium*)

Hemijski sastav nadzemnih delova *G. verum* je prilično dobro poznat (Il'ina i sar., 2009; Lakić i sar., 2010; Shafaghat i sar., 2010; Tămas i sar., 2006), dok je hemijski sastav nadzemnih delova *G. mollugo* veoma malo ispitan (Milić i sar., 2013; Tămas i sar., 2006). Nadzemni deo procvetalog *G. verum* sadrži fenole (Lakić i sar., 2010), flavonoide (Demirezer i sar., 2006; Du i sar., 2010; Lakić i sar., 2010; Tămas i sar., 2006; Temizer i sar., 1996; Zhao i sar., 2008, 2009), različite vrste antrahinona (Rafaëly i sar., 2008; Zhao i sar., 2006) i iridoide (Demirezer i sar., 2006). Ćelijska kultura *G. verum* proizvodi nekoliko vrsta antrahinona (Banthorpe i White, 1995). Ova biljna vrsta sadrži etarsko ulje (Il'ina i sar., 2009) i ima antioksidativno dejstvo koje je uzrokovano prisustvom flavonoida (Lakić i sar., 2010; Milić i sar., 2013). Metanolni ekstrakt nadzemnih delova *G. verum* pokazuje jače antioksidativno dejstvo od vodenih ekstrakata (Mali i sar., 2006). Nadzemni delovi *G. mollugo* sadrže, takođe, flavonoide, ali je njihov sadržaj tri puta manji nego kod nadzemnih delova *G. verum* (Tămas i sar., 2006).

### 2.3.2.1. Fenolni i flavonoidni heterozidi

U nadzemnim delovima *G. verum* sa Zlatara i iz Veternika nađeni su fenolni heterozidi i flavonoidi (Lakić i sar., 2010). Sadržaj ukupnih fenola (izažen u odnosu na galnu kiselinu, GAE) u biljnom materijalu sa Zlatara iznosi 2,44-4,65 mg GAE/g, a iz Veternika 4,57-5,16 mg GAE/g. Sadržaj ukupnih flavonoida (izažen u odnosu na kvercetin, QE) u biljnom materijalu sa Zlatara je bio 6,38-13,40 µg QE/g, dok je u biljnom materijalu iz Veternika bio 15,56-17,96 µg QE /g.

*Galium verum* sa područija severne Kine je poznat kao izvor vitamina i bioaktivnih materija (salicilna kiselina i flavon) (Du i sar., 2010). Aktivnost vodenog ekstrakta nadzemnih delova ove biljke protiv venske tromboze je veća nego aktivnost ekstrakata drugih biljaka, a pripisuje se prisustvu flavonoida diosmetin.

Analiza ukupnih flavonoida tečnom hromatografijom pokazuje da postoji razlika njihovog sadržaja u nadzemnim delovima *G. verum* i *G. molugo*. Sadržaj ukupnih flavonoida u nadzemnim delovima *G. verum* (2,24 %) je tri puta veći nego u nadzemnim delovima *G. molugo* (0,72 %) (Tamas i sar., 2006). Polarografskom metodom je u *G. verum* nađeno 0,75 % rutina (Temizer i sar., 1996). Na osnovu 1D i 2D NMR spektroskopije, u kombinaciji sa IR, UV i ESI-MS analizom, određena je struktura dva flavonoida iz nadzemnih delova *G. verum*, i to astragalina (kaempferol 3-O-glukopiranosid) i rutina (kvercetin 3-O- rutinosid) (Demirezer i sar., 2006).

Milić i sar. (2013) su ispitivali sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima dobijenim iz nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću vodenog rastvora etanola (50 % vol.) primenom maceracije, ekstrakcije uz refluks i ultrazvučne ekstrakcije. Tabela 2.2 pokazuje da svi ekstrakti imaju velike sadržaje ukupnih fenola i flavonoida. Ovaj rezultat potvrđuje ranije zapažanje da biljni ekstrakti sa visokim sadržajem fenola imaju, takođe, visok sadržaj flavonoida (Maisuthisakul i sar., 2007). Najveće sadržaje ukupnih fenola i flavonoida ima ekstrakt dobijen ekstrakcijom uz refluks, dok najmanje sadržaje ukupnih fenola i flavonoida ima ekstrakt dobijen maceracijom na 25 °C. Veći prinos ukupnih fenola i flavonoida na temperaturi ključanja može se objasniti povećanjem njihove rastvorljivosti u rastvaraču. Manji prinosi ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima dobijenim ultrazvučnom ekstrakcijom mogu se objasniti oksidacijom i degradacijom pojedinih bioaktivnih komponenti u interakciji sa hidroksil radikalima formiranim tokom sonikacije (Vinatoru i sar., 1999).

Tabela 2.2 Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida i antioksidativna aktivnost ekstrakata nadzemnih delova *G. mollugo* (Milić i sar., 2013)\*

| Tehnika ekstrakcije             | Ukupni fenoli<br>mg GAE/g | Ukupni<br>flavonoidi<br>mg RE/g | EC <sub>50</sub><br>mg/cm <sup>3</sup> |                          |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------------|--|--------------------------|
|                                 |                           |                                 | Inkubacija<br>0 min                    | Inkubacija<br>20 min     |
| Maceracija (25 °C)              | 243,30±2,50               | 65,97±0,82                      | 0,055±0,003 <sup>a</sup>               | 0,051±0,002 <sup>a</sup> |
| Ekstrakcija uz refluks          | 295,83±0,95               | 76,03±1,12                      | 0,046±0,004 <sup>b</sup>               | 0,045±0,003 <sup>b</sup> |
| Ultrazvučna ekstrakcija (25 °C) | 209,33±0,80               | 64,33±0,78                      | 0,073±0,003                            | 0,062±0,002              |

\*Vrednosti u tabeli su prikazane u obliku: srednja vrednost ± standardna devijacija. Srednje vrednosti (n = 3) obeležene istim slovima se ne razlikuju statistički značajno (p ≤ 0,05; Duncan-ov test višestrukih intervala).

### 2.3.2.2. Hinonski heterozidi

U nadzemnim delovima *G. verum* je, tečnom hromatografijom, pronađeno osam antrahinona: 1,3-dihidroksi-2-metoksimetil-, 1,3-dimetoksi-2-hidroksi-, 1,3-dihidroksi-2-acetoksi-, 1-hidroksi-2-hidroksimetil-, 1,3-dihidroksi-2-metil-, 1-metoksi-2-hidroksi-, 1,3-dihidroksi-2-hidroksimetil-6-metoksi- i 1,6-dihidroksi-2-metil-antrahinon (Banthorpe i White, 1995). Tečnom hromatografijom sa masenom spektrometijom je potvrđeno prisustvo ranije izolovanih antrahinona (1,3-dihidroksi-2-metil-antrahinon, fiscion i 2-hidroksi-1,3-dimetoksi-antrahinon). Izolovan je i 2,5-dihidroksi-1,3-dimetoksi-antrahinon, koji pokazuje antimikrobnu aktivnost *in vitro* (Zhao i sar., 2006).

### 2.3.2.3. Monoterpeniski heterozidi

Iz nadzemnih delova *G. verum* izolovano je sedam iridoida (asperulosid, asperulosidna kiselina, diacetil-asperulosidna kiselina, monotropen, 6-O-epi-acetil-skandosidin, dafiosid i diacetil-daflosid) i dva monoterpeniska glikozida (betulal-busid A i (2E)-2,6-dimetil-2,7-oktadien-1,6-diol-6-O-glukopiranozid) (Demirezer i sar., 2006).

### 2.3.2.4. Mineralne materije

U literaturi nema radova o sadržaju mineralnih materija u vrstama *Galium*, iako se one ubrajaju u farmakološki aktivne materije. O sadržaju mineralnih materija u drugim biljnim materijalima ima malo literaturnih podataka. Slabo poznavanje mineralnog sastava ekstrakata biljaka se teško može objasniti, s obzirom da bi oni mogli da se koriste za prevenciju poremećaja u količini i sastavu elektrolita u ljudskom organizmu kod različitih bolesti.



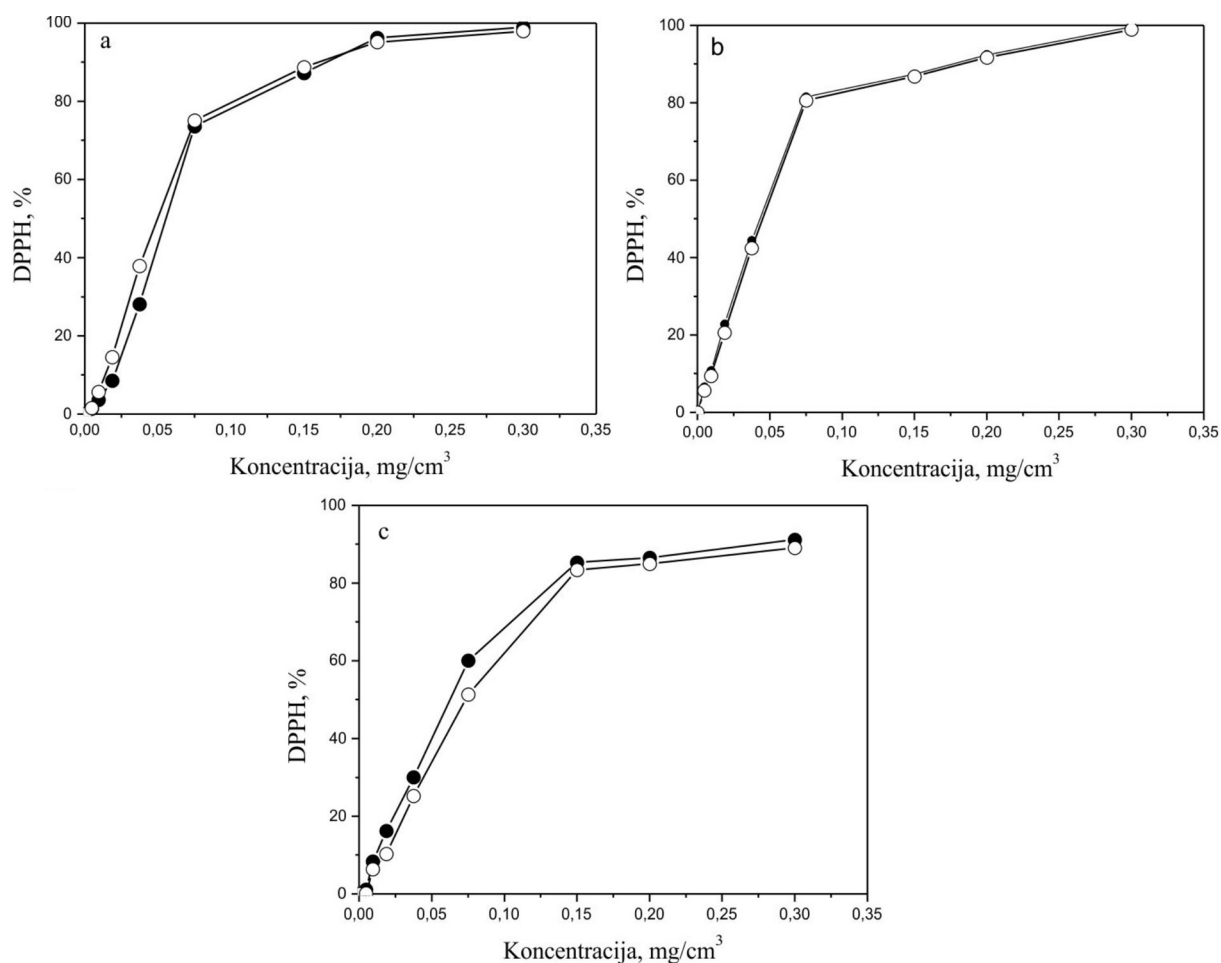
### 2.3.2.5. Etarsko ulje

Iz cveta *G. verum*, ubranog u oblasti Karkov, dobijeno je etarsko ulje (2,74 %), čiji je sastav analiziran gasno-masenom hromatografijom (Il'ina i sar., 2009). Dokazano je prisustvo devet terpena, pet aromatičnih jedinjenja i četiri masne kiseline. U ovom etarskom ulju dominiraju *cis*-3-heksen-1-ol (29,77 %), skvalen (20,82 %), dietilen-glikol-monometil-etar (10,17 %) i benzil alkohol (7,85 %).

### 2.3.2.6. Antioksidativna aktivnost vrsta *Galium*

Ekstrakti nadzemnih delova *G. verum* sa dve različite lokacije (Veternik i Zlatar) imaju veoma jaku aktivnost hvatanja radikala, i to: DPPH-radikala (IC<sub>50</sub>: 3,10 µg/ml i 8,04 µg/ml), OH-radikala (IC<sub>50</sub>: 0,05 µg/cm<sup>3</sup> i 0,54 µg/cm<sup>3</sup>) i radikala H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub>: 4,98 µg/cm<sup>3</sup> and 3,80 µg/cm<sup>3</sup>) (Lakić i sar., 2010). Takođe, ovi ekstrakti pokazuju moć inhibicije lipidne peroksidacije (IC<sub>50</sub>: 11,69 µg/cm<sup>3</sup> i 19,47 µg/cm<sup>3</sup>). Nadzemni delovi *G. verum* iz Veternika imaju jaču antioksidativnu aktivnost samo pri ispitivanju vodonik-peroksidne neutralizacije, dok biljka ubrana na Zlataru ima jače antioksidativno svojstvo prema ostalim testovima. Postojanje razlike u antioksidativnoj aktivnosti vrsta *Galium* različitog porekla je najverovatnija posledica i njihove razlike u sadržaju fenolnih jedinjenja i flavonoida.

Milić i sar. (2013) su ispitali antioksidativnu aktivnost ekstrakata iz nadzemnih delova *G. mollugo* dobijenim vodenim rastvorima etanola (50 % vol.) i različitim tehnikama ekstrakcije. Ekstrakti su pokazali antioksidativnu aktivnost kao rezultat prisustva fenolnih i flavonoidnih jedinjenja (Stanojević i sar., 2008). Slika 2.4 ilustruje neutralisanje DPPH-radikala sa porastom koncentracije ekstraktivnih suspcstanci sa i bez inkubacije (20 min). DPPH antioksidativna aktivnost sva tri ekstrakta se povećava sa povećanjem koncentracije ekstraktivnih suspcstanci u opsegu od 0,005 do 0,30 mg/cm<sup>3</sup>. Kao mera aktivnosti ekstrakata u neutralisanju slobodnih radikala korišćene su vrednosti parametra EC<sub>50</sub> koji predstavlja koncentraciju rastvora ekstrakta potrebnu za neutralizaciju 50 % DPPH-radikala (tabela 2.2). Ekstrakt dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom ima najveću vrednost EC<sub>50</sub>, a to znači i najmanju antioksidativnu aktivnost, što se može pripisati degradaciji bioaktivnih jedinjenja odgovornih za antioakisdativnu aktivnost pod dejstvom ultrazvuka (Vinatoru i sar., 1999). Ekstrakt dobijen ekstrakcijom uz refluks ima jaču antioksidativnu aktivnost od ekstrakata dobijenih maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom na 25 °C. Inkubaciono vreme od 20 min je statistički značajan faktor (sa verovatnoćom od 95 %) za neutralisanje DPPH-radikala samo u slučaju ultrazvučne ekstrakcije (tabela 2.2).



Slika 2.4 Zavisnost DPPH-vrednosti od koncentracije ekstrakta nadzemnih delova *G. mollugo*: a) maceracija, b) ekstrakcija uz refluks i c) ultrazvučna ekstrakcija (bez inkubacije - ○ i sa inkubacijom od 20 min - ●) (Milić i sar., 2013)

## 2.4. Ekstrakcija ekstraktivnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*

Tabela 2.3 daje pregled korišćenih tehnika i uslova ekstrakcije, kao i prinos ekstraktivnih materija iz nadzemnih delova vrsta *Galium* različitog porekla. Do sada su samo Milić i sar. (2013) ispitivali ekstrakciju ekstraktivnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*. Za ekstrahovanje ekstraktivnih materija iz biljnih vrsta *Galium* korišćene su različite tehnike ekstrakcije: maceracija, ekstrakcija uz refluks, Soxhlet-ova ekstrakcija i ultrazvučna ekstrakcija. Metanol je najčešće korišćen kao rastvarač za ekstrakciju, mada su korišćeni još i etanol, heksan, hloroform, dihlormetan i aceton. Najčešće je korišćena maceracija na različitim temperaturama (od sobne do temperature ključanja) i sa različitim odnosima rastvarač-biljna sirovina (do 20 g/g). Vreme trajanja maceracije se razlikuje u različitim istraživanjima i kreće se od jednog do četiri dana. Prinos ekstraktivnih materija zavisi od tehnike ekstrakcije, vrste biljnog materijala, rastvarača, odnosa rastvarač-biljni material, temperature ekstrakcije i vremena trajanja procesa.

Table 2.3 Pregled tehnika, uslova ekstrakcije i prinosa suvih ekstraktivnih materija iz vrsta *Galium* različitog porekla

| Biljni materijal                                  | Poreklo biljnog materijala      | Ekstrakciona tehnika    | Rastvarač          | Rastvarač-biljni materijal, cm <sup>3</sup> /g | Temperatura, °C   | Vreme trajanja procesa, h | Prinos suvog ekstrakta, g/100 g | Referenca               |
|---|---------------------------------|-------------------------|--------------------|--|-------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|   |                                 | Maceracija              |                    |  | 25                | 24                        | 16,80                           |                         |
| <i>G. mollugo</i> , nadzemni delovi (cvetanje)    | Srbija (Kruševica)              | Ekstrakcija uz refluks  | Etanol (50 % vol.) | 20   | T.k. <sup>a</sup> | 4                         | 17,60                           | Milić i sar. (2013)     |
|   |                                 | Ultrazvučna ekstrakcija |                    |  |                   | 1.3                       | 17,05                           |                         |
| <i>G. verum</i> , nadzemni delovi (cvetanje)      | Srbija (Veternik)               | Maceracija              | Metanol (80%)      | 1:1  | Sobna             | 24                        | 5,69                            | Lakić i sar. (2010)     |
|   | Srbija (Zlatar)                 |                         |                    |  |                   | 48                        | 7,18                            |                         |
| <i>G. verum</i> , nadzemni delovi (jul 2009)      | Iran (Ardabil)                  | Soxhlet-ova ekstrakcija | Metanol            | -  | T.k.              | 24                        | 5,67                            |                         |
|   |                                 |                         |                    |  |                   | 48                        | 7,21                            |                         |
| <i>G. mexicanum</i> , nadzemni delovi             | Meksiko (San Jose del Pacifico) | Sekvenciona maceracija  | <i>n</i> -Heksan   |  |                   |                           | 0,50                            | Bolivar i sar. (2011)   |
|   |                                 |                         | Hloroform          | -  | Sobna             | 48                        | 0,47                            |                         |
|   |                                 |                         | Metanol            |  |                   |                           | 15,62                           |                         |
| <i>G. rivale</i> , nadzemni delovi (jul 1992)     | Bulgaria (dolina Strumice)      | Maceracija              | Metanol (2 puta)   | -  | Sobna             | -                         | 7,03                            | De Rosa i sar. (2000)   |
|   | Nadzemni delovi (avgust 1994)   |                         |                    |  |                   |                           | Bugarska (Slavjanka)            |                         |
| <i>G. tortumense</i> , nadzemni delovi (jul 2002) | Turska (Erzurum)                | Maceracija              | Metanol (3 puta)   | 1:4  | 40                | -                         | 19,78                           | Guvenalp i sar. (2006)  |
| <i>G. verum</i> , nadzemni delovi (jun 2001)      | Turska (Altinyayla)             | Maceracija              | Metanol            | 1:3  | 40                | -                         | 19,60                           | Demirezer i sar. (2006) |

| Biljni material                                      | Poreklo biljnog materiala | Ekstrakciona tehnika     | Rastvarač     | Rastvarač-biljni material, cm <sup>3</sup> /g | Temperatura, °C | Vreme trajanja procesa, h | Prinos suvog ekstrakta, g/100 g | Referenca               |
|--|---------------------------|--------------------------|---------------|---|-----------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| <i>G. aparine</i> , nadzemni delovi (juni 1997)      | Turska (Ankara Çankırı)   | Perkolacija (ponovljena) | Etanol (80 %) | 1:15  | Sobna           | -                         | 2,32                            | Deliorman i sar. (2001) |
|  |                           |                          | Dihlorometan  |   |                 |                           | 1,38                            |                         |
| <i>G. schmidii</i> , nadzemni delovi (maj 2004)      |                           |                          | Aceton        |   |                 |                           | 0,66                            |                         |
|  | Italija (Sardinija)       | Maceracija               | Etanol        | -   | Sobna           | 72                        | 0,52                            | Rafaëly i sar. (2008)   |
|  |                           |                          |               |   |                 |                           | 1,36                            |                         |
| <i>G. glaucophyllum</i> , nadzemni delovi (maj 2004) |                           |                          | Dihlorometan  |   |                 |                           | 0,44                            |                         |
|  |                           |                          | Aceton        |   |                 |                           | 0,44                            |                         |
|  |                           |                          | Etanol        |   |                 |                           | 0,60                            |                         |

<sup>a</sup> T.k. – temperature ključanja.

## 3. EKSPERIMENTALNI DEO

### 3.1. Materijal

#### 3.1.1. Biljni materijal

Nadzemni delovi *G. mollugo* sakupljeni su u periodu cvetanja u podnožju Vlasine (jugoistočna Srbija). Biljni materijal je sušen na sobnoj temperaturi, u hladovini. Neposredno pre ekstrakcije, biljni materijal je samleven u mlinu (Alpina). Srednji prečnik čestica od 0,75 mm je određen sejanjem samlevenog materijala kroz standardna sita.

#### 3.1.2. Reagensi i hemikalije

Kao rastvarač za ekstrakciju, korišćeni su rastvori etanola različitih koncentracija, dobijeni razblaživanjem 96 % vol. (p.a.) etanola (Zorka, Šabac, Srbija) sa destilovanom vodom.

Za određivanje mineralnih materija atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom (AAS) korišćene su sledeće hemikalije analitičkog stepena čistoće (p.a.): cezijum-hlorid, lantan-oksidi, kalijum-nitrat, kalcijum-nitrat i magnezijum-nitrat (T. Bakern, Los Anđeles, SAD).

### 3.2. Oprema

#### 3.2.1. Ekstrakciona oprema

Ultrazvučna kada (Sonic, Niš ili UKS6, EI, Niš, Srbija), snage 120 W i frekvencije 40 kHz, korišćena je za indirektnu ultrazvučnu ekstrakciju. Konstantna temperatura je održavana cirkulacijom termostatisane vode kroz ultrazvučnu kadu, pomoću pumpe. Prilikom ultrazvučne ekstrakcije ultrazvučni generator je bio uključen, dok je prilikom maceracije bio isključen. Ultrazvučna snaga rasuta unutar suspenzije biljnog materijala u vodenom rastvoru etanola iznosila je  $7,3 \pm 0,3$  W, a izmerena je

kalorimetrijskom metodom (Kimura i sar., 1996), zasnovanoj na praćenju porasta temperature tokom konverzije ultrazvučne energije u toplotu, termoparom K-tipa posle uključivanja ultrazvučnog generatora.

### 3.2.2. Analitička oprema

Za određivanje mineralnog sastava ekstrakata korišćen je atomski apsorpcioni spektrofotometar (serija S-4 AA, Thermo Electron Corporation, Waltham, SAD) sa gorionikom za vazduh/acetilen i plamenikom od 5 cm. Granice detekcije za određivane metale su ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ ): kadmijum  $1,00 \cdot 10^{-3}$ , cink  $1,50 \cdot 10^{-3}$ , bakar  $4,00 \cdot 10^{-3}$ ; olovo i gvožđe  $1,00 \cdot 10^{-2}$ , kalijum, natrijum, kalcijum i magnezijum  $5,00 \cdot 10^{-2}$  i kalaj  $2,00 \cdot 10^{-1}$ .

## 3.3. Metode

### 3.3.1. Opis postupka ekstrakcije i operativni uslovi

U erlenmajer snabdeven povratnim kondenzatorom, biljni materijal (7,5 g) je preliven vodenim rastvorom etanola (150 g). Erlenmajer je odmah uronjen u kadu i u njoj držan određeno vreme. Posle isteka određenog vremena, erlenmajer sa suspenzijom biljnog materijala je ohlađen pod mlazom vode do sobne temperature. Dobijeni tečni ekstrakt je odmah odvojen od iscrpljenog biljnog materijala filtracijom pod vakuumom. Tečnom ekstraktu je određen suvi ostatak i koncentracija kalijuma, kalcijuma i magnezijuma i na osnovu njih su izračunati prinosi rezinoida i mineralnih materija izraženi u g/100 g suvog biljnog materijala. Ekstrakcija za date operativne uslove je ponovljena dva puta.

Izvršene su tri serije eksperimenata:

U prvoj seriji eksperimenata ispitivan je uticaj koncentracije rastvora etanola (10 do 90 %) na prinos rezinoida i kalijuma u toku maceracije na sobnoj temperaturi (25 °C, 24 h), ekstrakcije uz refluks (na temperaturi ključanja rastvora, 6 h) i ultrazvučne ekstrakcije (pri promenljivoj temperaturi od sobne do 40 °C, 80 min).

U drugoj seriji eksperimenata ispitivan je mineralni sastav rezinoida dobijenih rastvorom etanola koncentracije 50 % vol. postupcima maceracije (25 °C, 24 h),

ekstrakcije uz refluks (na temperaturi ključanja rastvora, 6 h) i ultrazvučne ekstrakcije (25 °C, 80 min).

U trećoj seriji eksperimenata ispitivan je uticaj temperature i vremena na prinose rezinoida i mineralnih materija (kalijum, kalcijum ili magnezijum) ekstrakcijom sa rastvorom etanola koncentracije 50 % vol. Maceracija je izvođena na 23, 50, 65 i 80 °C. Tečni ekstrakt je uziman u sledećim vremenskim intervalima: 30, 60, 90, 120, 160, 240, 360, 480, 600, 720 i 1440 min kad je maceracija izvođena na 23 °C, a posle 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180 i 240 min kad je maceracija izvođena na 50, 65 i 80 °C. Ultrazvučna ekstrakcija je izvođena na 23, 30, 35 i 40 °C, a tečni ekstrakt je uziman u sledećim vremenskim intervalima: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 i 80 min. Rezultati ove serije eksperimenata su korišćeni u optimizaciji, modelovanju kinetike i termodinamičkoj analizi procesa ekstrakcije.

### 3.3.2. Određivanje prinosa rezinoida

Alkoholni ekstrakt je uparavan pod vakuumom dok nije dobijen polučvrsti ostatak, koji je zatim sušen do konstantne mase na 60 °C. Suvi ostatak predstavlja ukupan alkoholni ekstrakt (rezinoid). Prinos rezinoida je izražen u g/100 g suvog biljnog materijala.

### 3.3.3. Određivanje prinosa mineralnih materija

Sadržaj mineralnih materija u ekstraktima je određen AAS metodom. Kalijum je određivan emisionom metodom, dok su kalcijum i magnezijum određivani apsorpcionom metodom uz pomoć lampi sa šupljom katodom. Kao standardni rastvori, korišćeni su rastvori kalijum-nitrata, kalcijum-nitrata i magnezijum-nitrata. Da bi se sprečila delimična jonizacija metala u plamenu, pri određivanju kalijuma je korišćen cezijum-hlorid, a pri određivanju kalcijuma i magnezijuma lantan-oksidi. Parametri korišćeni za određivanje sadržaja mineralnih materija pomoću AAS su prikazani u tabeli 3.1. Za akviziciju i obradu podataka korišćen je računarski program SOLAR AA System.

Tabela 3.1 Parametri AAS

| Metal | Protok gasa (dm <sup>3</sup> /min) | Talasna dužina (nm) | Tip plamene tehnike | Visina plamena (mm) |
|-------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| K     | 0,8                                | 766,5               | Emisija             | 7,0                 |
| Ca    | 0,8                                | 422,7               | Apsorpcija          | 11,0                |
| Mg    | 1,2                                | 285,2               | Apsorpcija          | 16,9                |

Za određivanje kalijuma tečni ekstrakt (1 cm<sup>3</sup>) je razblažen destilovanom vodom (99 cm<sup>3</sup>), da bi se očekivani sadržaj kalijuma našao u linearnom delu kalibracione krive u opsegu koncentracije 1-12 mg/dm<sup>3</sup>. Osnovni rastvor cezijum-hlorida (40 g/dm<sup>3</sup>) je dodat razblaženim tečnim ekstraktima, tako da je koncentracija cezijum-hlorida iznosila 0,4 g/100 cm<sup>3</sup>.

Za određivanje kalcijuma i magnezijuma tečni ekstrakt (1 cm<sup>3</sup>) je razblažen destilovanom vodom (19 cm<sup>3</sup>), da bi se očekivani sadržaj kalcijuma i magnezijuma našao u linearnom delu kalibracione krive u opsegu koncentracije 0,5-4,0 mg/dm<sup>3</sup>. Osnovni rastvor lantan-oksida (50 g/dm<sup>3</sup>) dodat je razblaženim tečnim ekstraktima, tako da je koncentracija lantan-oksida iznosila 0,5 g/100 cm<sup>3</sup>.

Prinosi mineralnih materija su izraženi u g/100 g suvog biljnog materijala.

### 3.3.4. Određivanje početnog sadržaja rezinoida i mineralnih materija

Biljni materijal (5 g) je preliven rastvorom etanola (100 g, 50 % vol.) u erlenmajeru sa povratnim kondenzatorom i držan 240 min na temperaturi ključanja. Postupak je ponavljan još dva puta sa iscrpljenom biljnom materijalom i svežim rastvaračem. Početni sadržaj ekstraktivnih susptanci u biljnom materijalu je izračunavan na osnovu suvog ostatka u spojenim tečnim ekstraktima. Vrednosti početnog sadržaja rezinoida, kalijuma, kalcijuma i magnezijuma su iznosile 28,50, 1,734, 0,110 i 0,144 g/100 g, respektivno.



### 3.4. Matematička analiza

Adekvatnost razvijenih matematičkih modela je statistički ocenjena na osnovu sledećih veličina:

- srednja kvadratna greška (*MSE* - *mean squared error*)

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_{a,i} - y_{p,i})^2 \quad (3.1)$$

- standardna devijacija (*SD* - *standard deviation*)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{a,i} - y_m)^2}{n}} \quad (3.2)$$

- apsolutna relativna greška izražena u procentima (*RPD* - *relative percent deviation*)

$$RPD = \left| \frac{y_{pi} - y_{ai}}{y_{ai}} \right| \times 100 \quad (3.3)$$

- srednja apsolutna relativna greška (*MRPD* - *mean relative percent deviation*)

$$MRPD = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{y_{pi} - y_{ai}}{y_{ai}} \right| \quad (3.4)$$

- koeficijent determinacije

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{res}}{SS_{tot}} \quad (3.5)$$

- podešeni koeficijent determinacije

$$R_{adj}^2 = 1 - (1 - R^2) \frac{n-1}{n-p-1} \quad (3.6)$$

- predviđeni koeficijent determinacije

$$R_{pred}^2 = 1 - \frac{PRESS}{SS_{tot}} \quad (3.7)$$

– koeficijent varijacije

$$C.V. = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_{p,i} - y_{a,i})^2 / n}}{y_m} 100 \quad (3.8)$$

– adekvatna preciznost

$$Adeq. Prec. = \frac{y_{p,max} - y_{p,min}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_{p,i} - y_{a,i})^2 / (n-1)}} \quad (3.9)$$

– srednja kvadratna greška fitnes funkcije

$$MFSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (f_i - f_m)^2 \quad (3.10)$$

gde su:  $y_{p,j}$  i  $y_{a,i}$  – predviđene (izračunate) i aktuelne (eksperimentalne) vrednosti,  $y_m$  – srednja vrednost,  $y_{p,max}$  i  $y_{p,min}$  – maksimalna i minimalna predviđena vrednost,  $y_{p(i)}$  – predviđena vrednost za izuzetu aktuelnu vrednost  $y_{a,i}$ ,  $PRESS$  – predviđena suma kvadrata ostataka  $\left( = \sum_i (y_{a,i} - y_{p(i)}) \right)$ ,  $SS_{tot}$  – ukupna suma kvadrata  $\left( = \sum_i (y_{a,i} - y_m) \right)$ ,  $SS_{res}$  – suma kvadrata ostataka  $\left( = \sum_i (y_{a,i} - y_{p,i}) \right)$ ,  $n$  – broj eksperimentalnih merenja,  $p$  – broj članova jednačine modela (ne računajući konstantu),  $N$  – broj hromozoma, a  $f_i$  i  $f_m$  – najbolja individualna i srednja vrednost fitnes funkcije  $N$  populacionih hromozoma. Takođe, korišćen je i koeficijent korelacije  $R$ , koji je jednak kvadratnom korenu koeficijenta determinacije. Sve navedene veličine izračunavane su odgovarajućim računarskim programima.

Statistička značajnost koeficijenta determinacije i koeficijenta korelacije je ispitana pomoću Student-ovog  $t$ -testa.

Značajnost razlika između prinosa mineralnih materija ostvarenih različitim tehnikama je procenjena Duncan-ovim testom višestrukih intervala.

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

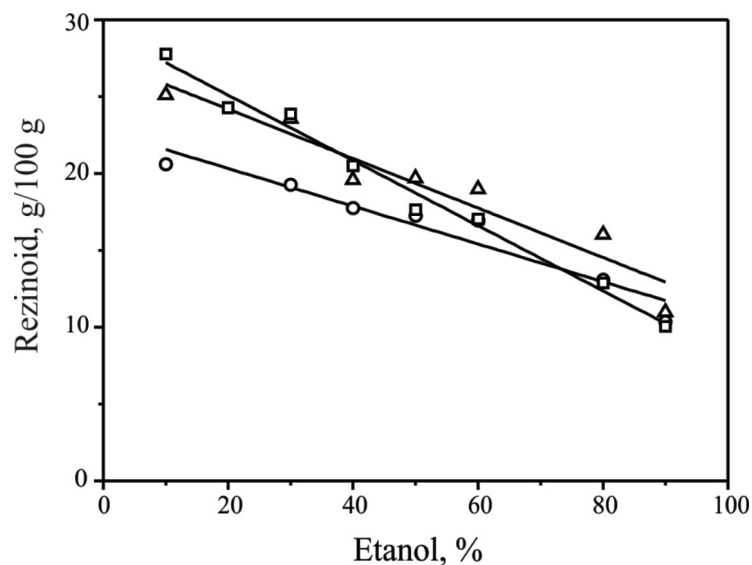
### 4.1. Uticaj rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinose rezinoida i mineralnih materija

Preliminarno je ispitivan uticaj koncentracije etanola u ekstrakcionom rastvaraču (vodeni rastvor etanola) i tehnike ekstrakcije (maceracija na sobnoj temperaturi od 25 °C, ekstrakcija uz refluks na temperaturi ključanja tečnog ekstrakta i ultrazvučna ekstrakcija na promenljivoj temperaturi od sobne do 40 °C na kraju procesa) na prinos rezinoida i prinos i selektivnost ekstrakcije kalijuma iz nadzemnih delova *G. mollugo*. Koncentracija etanola je bila u opsegu 10-90 %. Maceracija je trajala 24 h, ekstrakcija uz refluks 4 h, a ultrazvučna ekstrakcija 80 min. Ova istraživanja su pokazala da se kod sve tri ekstrakcione tehnike uspostavlja ravnoteža između rastvora i biljnog materijala, kada se postiže najveći prinos rezinoida. Takođe, analiziran je mineralni sastav rezinoida dobijenih rastvorom etanola (50 % vol.) različitim tehnikama, i to: maceracijom (25 °C, 24 h), ekstrakcijom uz refluks (temperatura ključanja rastvora, 6 h) i ultrazvučnom ekstrakcijom (25 °C, 80 min).

#### 4.1.1. Uticaj rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinos rezinoida

Za ispitivanje uticaja rastvarača na prinos rezinoida iz nadzemnih delova *G. mollugo* maceracijom, ekstrakcijom uz refluks i ultrazvučnom ekstrakcijom korišćeni su rastvori etanola u opsegu koncentracije 10-90 %. Iz zavisnosti prinosa rezinoida dobijenog različitim tehnikama ekstrakcije od koncentracije etanola, koja je prikazana na sl. 4.1, može se izvesti nekoliko zaključaka. Kao prvo, kod sve tri tehnike ekstrakcije, prinos rezinoida opada sa porastom koncentracije etanola. Ovo se objašnjava smanjenjem rastvorljivosti polarnih ekstraktivnih materija iz biljnog materijala u manje polarnim koncentrovanijim rastvorima etanola. Ranije je pokazano da polarnost vodeno-etanolnog rastvora direktno utiče na prinos ukupnih ekstraktivnih materija iz kore nara (Tabaraki i sar., 2012). Drugo, tehnika ekstrakcije ima uticaj na prinos rezinoida samo pri koncentracijama etanola manjim od 40 %. Ovo znači da je uticaj polarnosti veći od uticaja ultrazvuka pri koncentracijama rastvora većim od 40 %. Maksimalni prinosi rezinoida ostvareni maceracijom (25 °C), ekstrakcijom uz refluks i

ultrazvučnom ekstrakcijom pri koncentraciji etanola od 10 % iznose, redom,  $20,6 \pm 0,3$ ,  $25,1 \pm 0,2$  i  $27,8 \pm 0,5$  g/100 g, koji odgovaraju stepenu ekstrakcije rezinoida od 72,3, 88,1 i 97,5 %. Pri ekstrakciji ukupnih flavonoida iz *Flos populi* rastvorima etanola koncentracije do 100 %, maksimalni prinos je postignut pri koncentraciji od 40 % (Sheng i sar., 2013). Veći prinos rezinoida pri ultrazvučnoj ekstrakciji i ekstrakciji uz refluks nego pri maceraciju na sobnoj temperaturi objašnjen je pozitivnim efektima ultrazvuka i temperature na proces ekstrakcije. Ultrazvuk, putem kavitacionog fenomena, pospešuje razaranje biljnih ćelija, penetraciju rastvarača u biljne ćelije i prenos mase od površine biljnih čestica ka tečnom ekstraktu (Vinatoru i sar., 1999). Sa povišenjem temperature ekstrakcije povećava se rastvorljivost ekstraktivnih materija, dok se viskozitet rastvarača smanjuje, što pozitivno utiče na brzinu prenosa mase ekstraktivnih materija kroz biljne čestice. Ovi pozitivni efekti temperature i ultrazvuka su potvrđeni u slučaju ekstrakcije iz mnogih biljnih materijala, kao, na primer, pri ekstrakciji ukupnih flavonoida iz *F. populi* maceracijom (Sheng i sar., 2013) i ultrazvučnoj ekstrakciji antrahinona iz korena *Morinda citrifolia* (Hemwimol i sar., 2006).



Slika 4.1 Zavisnost prinosa rezinoida iz nadzemnih delova *G. mollugo* od koncentracije etanola (maceracija – ○, ekstrakcija uz refluks – △ i ultrazvučna ekstrakcija – □; eksperiment: simboli; model: puna linija)

Zavisnost prinosa rezinoida od koncentracije etanola može se opisati sledećom linearnom jednačinom:

$$q = a_0 + a_1 \cdot c_e \quad (4.1)$$

gde je:  $q$  – prinos rezinoida (g/100 g),  $c_e$  – koncentracija etanola (g/100 g), a  $a_0$  i  $a_1$  – konstante. Vrednosti parametara jednačine (4.1), koeficijenta determinacije i  $MRPD$  su date u tabeli 4.1. Slika 4.1 ilustruje dobro slaganje jednačine modela sa eksperimentalnim podacima za prinos rezinoida, što potvrđuju visoke vrednosti  $R^2$  (iznad 0,90) i male vrednosti  $MRPD$  ( $\pm 3,2$ - $7,1$  %). Maksimalni prinosi rezinoida izračunati prema jednačini (4.1) za koncentraciju etanola 10 % iznose 21,6, 25,8 i 27,2 g/100 g za maceraciju (25 °C), ekstrakciju uz refluks i ultrazvučnu ekstrakciju, a vrednosti  $MRPD$  su  $\pm 4,8$ ,  $\pm 2,7$  i  $\pm 2,2$  %, respektivno.

Tabela 4.1 Vrednosti parametara jednačine (4.1), koeficijenta determinacije i  $MRPD$

| Tehnika ekstrakcije     | $a_0^a$<br>g/100 g | $a_1^a$<br>-       | $R^2$ | $MRPD$<br>% |
|-------------------------|--------------------|--------------------|-------|-------------|
| Maceracija              | 22,79 $\pm$ 0,87   | -0,123 $\pm$ 0,016 | 0,912 | $\pm$ 4,7   |
| Ekstrakcija uz refluks  | 27,41 $\pm$ 1,25   | -0,161 $\pm$ 0,022 | 0,899 | $\pm$ 7,1   |
| Ultrazvučna ekstrakcija | 29,35 $\pm$ 0,56   | -0,212 $\pm$ 0,010 | 0,984 | $\pm$ 3,2   |

<sup>a</sup> Vrednosti su prikazane u obliku: srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija.

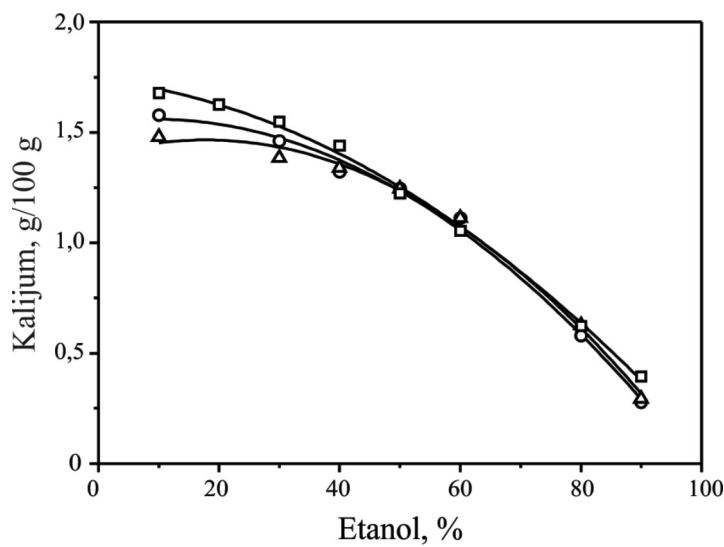
#### 4.1.2. Uticaj rastvarača i tehnike ekstrakcije na prinos kalijuma

Prinos kalijuma zavisi, takođe, od koncentracije etanola i tehnike ekstrakcije. Slika 4.2 ilustruje uticaj koncentracije etanola na prinos kalijuma različitim tehnikama ekstrakcije. Kao i u slučaju rezinoida, prinos kalijuma se smanjuje sa povećanjem koncentracije etanola kod sve tri tehnike ekstrakcije. Prinos kalijuma se smanjuje najpre sporo sa povećanjem koncentracije etanola do oko 40 %, a zatim brzo sa daljim povećanjem koncentracije etanola. Sa sl. 4.2 može se zaključiti da tehnika ekstrakcije utiče na prinos kalijuma samo ako je koncentracija etanola manja od 40 %. Nešto veći prinos kalijuma postiže se ultrazvučnom ekstrakcijom nego maceracijom ili ekstrakcijom uz refluks.

Zavisnost prinosa kalijuma od koncentracije etanola se uspešno opisuje kvadratnom jednačinom:

$$q = a_0 + a_1 \cdot c_e + a_2 \cdot c_e^2 \quad (4.2)$$

gde je  $q$  – prinos rezinoida (g/100 g),  $c_e$  – koncentracija etanola (g/100 g), a  $a_0$ ,  $a_1$  i  $a_2$  – parametri jednačine (4.2). Slika 4.2 pokazuje dobro slaganje jednačine modela sa eksperimentalnim podacima za prinos kalijuma. Vrednosti parametara jednačine (4.2), koeficijenta determinacije i *MRPD* su date u tabeli 4.2. Jednačina (4.2) ima statistički značajnu veliku vrednost koeficijenta determinacije ( $R^2 > 0,99$ ) i daje malu vrednost *MRPD* ( $\pm 2,0-2,9$  %).



Slika 4.2 Zavisnost prinosa kalijuma iz nadzemnih delova *G. mollugo* od koncentracije etanola (maceracija – ○, ekstrakcija uz reflux – △ i ultrazvučna ekstrakcija – □; eksperiment: simboli; model: puna linija)

Slika 4.2 pokazuje da zavisnost prinosa kalijuma od koncentracije etanola ima maksimum za sve tri tehnike ekstrakcije. Vrednosti maksimalnih prinosa za maceraciju, ekstrakciju uz reflux i ultrazvučnu ekstrakciju, izračunate pomoću jednačine (4.2), iznose, redom,  $1,56 \pm 0,08$ ,  $1,47 \pm 0,07$  i  $1,70 \pm 0,01$  g/100 g, a ostvareni su rastvorima etanola koncentracije 10, 18 i 10 g/100 g. Izračunate vrednosti prinosa kalijuma se dobro slažu sa eksperimentalnim vrednostima: 1,58, 1,43 i 1,68 g/100 g koji su ostvareni maceracijom, ekstrakcijom uz reflux i ultrazvučnom ekstrakcijom, respektivno. Ovi prinosi kalijuma odgovaraju vrednostima stepena ekstrakcije od 91,1, 85,5 i 96,9 %, respektivno. Dobro slaganje između modela i eksperimenta potvrđuju male vrednosti *MRPD* od samo  $\pm 1,3$ ,  $\pm 2,8$  i  $\pm 1,2$  % za maceraciju, ekstrakciju uz reflux i ultrazvučnu ekstrakciju, respektivno.

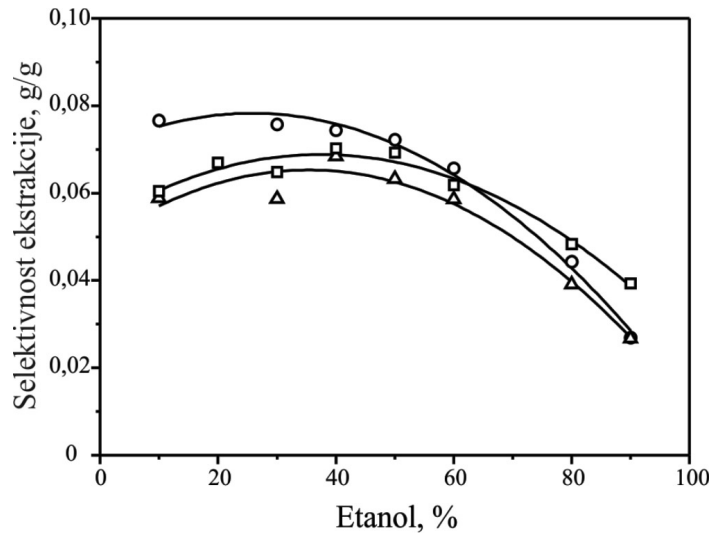
Tabela 4.2 Vrednosti parametara jednačine (4.2), koeficijenta determinacije i *MRPD*

| Tehnika ekstrakcije     | $a_0^a$   | $a_1 \times 10^{3a}$ | $a_2 \times 10^{4a}$ | $R^2$ | <i>MRPD</i> (%) |
|-------------------------|-----------|----------------------|----------------------|-------|-----------------|
| Maceracija              | 1,54±0,06 | 3,47±0,25            | -1,93±0,01           | 0,993 | ±2,4            |
| Ekstrakcija uz refluks  | 1,39±0,05 | 7,81±0,23            | -2,20±0,01           | 0,993 | ±2,9            |
| Ultrazvučna ekstrakcija | 1,74±0,04 | -3,07±0,16           | -1,34±0,01           | 0,996 | ±2,0            |

<sup>a</sup> Vrednosti su prikazane u obliku: srednja vrednost ± standardna devijacija.

### 4.1.3. Uticaj rastvarača i tehnike ekstrakcije na selektivnost ekstrakcije kalijuma

Važan kriterijum uspešnosti ekstrakcije mineralnih materija je ne samo njihov prinos, odnosno stepen ekstrakcije, nego i selektivnost njihove ekstrakcije, koji se definiše kao masa mineralne materije koja se ekstrahuje po masi ukupnih ekstraktivnih materija (rezinoida). Selektivnost ekstrakcije mineralnih materija je mera čistoće rezinoida u odnosu na mineralne materije, pa je poželjno da ona bude što veća. Na sl. 4.3 prikazana je zavisnost selektivnosti ekstrakcije kalijuma od koncentracije etanola za maceraciju, ekstrakciju uz refluks i ultrazvučnu ekstrakciju. Jasno se zapaža da tehnika ekstrakcije i koncentracija etanola utiču na selektivnost ekstrakcije kalijuma. Od korišćenih tehnika, maceracija se odlikuje najvećom selektivnošću ekstrakcije kalijuma. Drugim rečima, povećanje temperature i primena ultrazvuka smanjuju selektivnost ekstrakcije kalijuma, kao rezultat boljeg rastvaranja drugih ekstraktivnih materija. Uticaj koncentracije etanola na selektivnost ekstrakcije kalijuma je složeniji i zavisi od tehnike ekstrakcije. Kod maceracije, selektivnost ekstrakcije kalijuma se skoro ne menja ili malo opada sa povećanjem koncentracije etanola do oko 40-45 %, dok se sa daljim povećanjem koncentracije etanola naglo smanjuje. Oblik zavisnosti selektivnosti ekstrakcije kalijuma od koncentracije etanola za ekstrakciju uz refluks i ultrazvučnu ekstrakciju je identičan. Sa povećanjem koncentracije etanola, selektivnost ekstrakcije kalijuma malo raste, dostiže maksimum u oblasti 40-50 %, a zatim naglo opada. Ovakva promena selektivnosti ekstrakcije kalijuma se može objasniti povećanjem rastvorljivosti manje polarnih ekstraktivnih materija sa smanjenjem polarnosti koncentrovanijih rastvora etanola.



Slika 4.3 Zavisnost selektivnosti ekstrakcije kalijuma iz nadzemnih delova *G. mollugo* od koncentracije etanola (maceracija – ●, ekstrakcija uz refluks – ▲ i ultrazvučna ekstrakcija – ■; eksperiment: simboli; model: puna linija)

Zavisnost selektivnosti ekstrakcije kalijuma od koncentracije etanola za tri korišćene tehnike ekstrakcije se može opisati kvadratnom jednačinom:

$$SE_K = a_0 + a_1 \cdot c_e + a_2 \cdot c_e^2 \quad (4.3)$$

gde je:  $SE_K$  – selektivnost ekstrakcije kalijuma (g/g),  $c_e$  – koncentracija etanola (g/100 g), a  $a_0$ ,  $a_1$  i  $a_2$  – parametri jednačine (4.3). Vrednosti parametara jednačine (4.3), koeficijenta determinacije i *MRPD* su date u tabeli 4.3. Jednačina (4.3) ima statistički značajnu veliku vrednost koeficijenta determinacije ( $R^2 > 0,94$ ) i daje malu vrednost *MRPD* (manje od  $\pm 3,5$  %). Maksimalne izračunate vrednosti selektivnosti ekstrakcije kalijuma za maceraciju (0,079 g/g), ekstrakciju uz refluks (0,065 g/g) i ultrazvučnu ekstrakciju (0,068 g/g), dobro se slažu sa eksperimentalnim vrednostima (0,076, 0,065 i 0,068 g/g, respektivno).

Tabela 4.3 Vrednosti parametara jednačine (4.3), koeficijenta determinacije i *MRPD*

| Tehnika ekstrakcije     | $a_0^a$     | $a_1 \times 10^{4a}$ | $a_2 \times 10^{5a}$ | $R^2$ | <i>MRPD</i> (%) |
|-------------------------|-------------|----------------------|----------------------|-------|-----------------|
| Maceracija              | 0,071±0,003 | 6,29±1,28            | -1,21±0,12           | 0,988 | ±2,8            |
| Ekstrakcija uz refluks  | 0,049±0,005 | 9,07±2,30            | -1,28±0,21           | 0,937 | ±3,5            |
| Ultrazvučna ekstrakcija | 0,053±0,003 | 8,19±1,29            | -1,09±0,12           | 0,961 | ±2,5            |

<sup>a</sup> Vrednosti su prikazane u obliku: srednja vrednost ± standardna devijacija.



S obzirom na rezultat ispitivanja uticaja koncentracije etanola na selektivnost ekstrakcije kalijuma, prema kome se najveća vrednost selektivnosti može očekivati u opsegu koncentracije etanola 40-50 % (sl. 4.3), odlučeno je da se dalja ispitivanja sprovedu sa rastvorom etanola koncentracije 50 % vol. (42,4 %) kao ekstrakcionog rastvarača.

#### 4.1.4. Mineralni sastav vodeno-etanolnog ekstrakta *G. mollugo*

Primenjene tehnike analize mineralnog sastava ekstrakata iz nadzemnih delova *G. mollugo* dobijenog rastvorom etanola (50 % vol.) ukazale su na prisustvo kalijuma, kalcijuma i magnezijuma, dok su koncentracije drugih mineralnih materija bile ispod granice detekcije. Tabela 4.4 sadrži podatke o mineralnom sastavu ekstrakata dobijenih maceracijom na 25 °C, ekstrakcijom uz refluks na temperaturi ključanja rastvora i ultrazvučnom ekstrakcijom na 25 °C. Procena značajnosti razlika između prinosa mineralnih materija ostvarenih različitim tehnikama je izvršena Duncan-ovim testom višestrukih intervala ( $p \leq 0,05$ ). Ultrazvuk ima statistički značajan uticaj na prinos kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Veći prinosi mineralnih materija ultrazvučnom ekstrakcijom mogu se objasniti uticajem ultrazvuka na delove *G. mollugo* u kojima se nalaze u vodi rastvorne soli kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Temperatura (u kombinaciji sa vremenom ekstrakcije) utiče statistički značajno samo na ekstrakciju kalcijuma, što se može objasniti povećanjem rastvorljivosti jedinjenja kalcijuma sa povećanjem temperature. Maceracijom na 25 °C za 24 h i ekstrakcijom uz refluks na znatno višoj temperaturi (oko 82 °C), ali za znatno kraće vreme (4 h), postižu se približno isti prinosi kalijuma i magnezijuma. Stepem ekstrakcije kalijuma, kalcijuma i magnezijuma ultrazvučnom ekstrakcijom iznose 80,2, 101,8 i 59,7 %, respektivno.

Tabela 4.4 Sadržaj kalijuma, kalcijuma i magnezijuma u etanolnim ekstraktima *G. mollugo* dobijenih različitim tehnikama ekstrakcije\*

| Tehnika ekstrakcije             | Kalijum<br>g/100 g       | Kalcijum<br>g/100 g | Magnezijum<br>g/100      |
|---------------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| Maceracija (25 °C)              | 1,380±0,002 <sup>a</sup> | 0,074±0,004         | 0,055±0,001 <sup>b</sup> |
| Ekstrakcija uz refluks          | 1,382±0,001 <sup>a</sup> | 0,088±0,002         | 0,058±0,003 <sup>b</sup> |
| Ultrazvučna ekstrakcija (25 °C) | 1,391±0,001              | 0,112±0,002         | 0,086±0,001              |

\* Vrednosti u tabeli su prikazane u obliku: srednja vrednost ± standardna devijacija. Srednje vrednosti obeležene istim slovima u istoj koloni se ne razlikuju statistički značajno ( $p \leq 0,05$ ) na osnovu Duncan-ovog testa višestrukih intervala.

Veći prinos kalijuma u odnosu na prinose kalcijuma i magnezijuma može biti rezultat njegovog većeg sadržaja i veće rastvorljivosti njegovih jedinjenja od sadržaja i rastvorljivosti jedinjenja kalcijuma i magnezijuma prisutnih u nadzemnim delovima *G. mollugo*. Poznato je da se pri hidrodestilaciji etarskog ulja iz različitih delova vrste *Eucalyptus polybractea* jedinjenja natrijuma i kalijuma lakše rastvaraju nego jedinjenja kalcijuma i magnezijuma (Wu i sar., 2011). Ovo je objašnjeno ne samo većom rastvorljivošću jedinjenja natrijuma i kalijuma u vodi od rastvorljivosti jedinjenja kalcijuma i magnezijuma nego i strukturom biljnog tkiva u kojima se ona nalaze. Pri hidrodestilaciji, veći deo magnezijuma iz lista i drvenastog dela biljke i kalcijuma iz lista i kore se ne rastvara u vodi, dok se blizu 50 % kalcijuma iz drvenastih delova i magnezijuma iz kore rastvara u vodi.

Prinosi kalijuma dobijeni ekstrakcijom iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola (50 vol. %) pod različitim uslovima ekstrakcije su približno isti sa sadržajem kalijuma u biljnom materijalu vrsta *Artemisia* (1,14-1,84 g/100 g) (Ashraf i sar., 2010), ali mnogo veći nego sadržaj kalijuma u biljnom materijalu vrste *Solenostemma argel* (0,54 g/100 g) (Murwan i Murwa, 2010), u različitim medicinskim biljkama iz porodice Lamiaceae (0,43-0,76 g/100 g) (Ražić i sar., 2006), kao i u različitim delovima vrste *E. polybractea* (0,10-0,39 g/100 g) (Wu i sar., 2011). Prinosi kalcijuma iz nadzemnih delova *G. mollugo* različitim tehnikama ekstrakcije rastvorom etanola (50 vol %) nešto su veći od sadržaja kalcijuma u *S. argel* (0,06 g/100 g) (Murwan i Murwa, 2010), u opsegu su sadržaja kalcijuma kod biljnih vrsta *Artemisia* (0,07-1,07 g/100 g) (Ashraf i sar., 2010), ali su mnogo manji nego sadržaj kalcijuma u biljkama iz porodice Lamiaceae (0,77-1,51 g/100 g) (Ražić i sar., 2006) i različitim delovima *E. polybractea* (0,11-4,76 g/100 g) (Wu i sar., 2011). Prinosi magnezijuma ekstrakcijom sa rastvorom etanola (50 vol. %) su u opsegu sadržaja magnezijuma u biljnom materijalu vrsta *Artemisia* (0,006-0,225 g/100 g) (Ashraf i sar., 2010), nešto su veći nego u *S. argel* (0,03 g/100 g) (Murwan i Murwa, 2010), ali i mnogo manji nego u biljkama iz porodice Lamiaceae (0,26-0,77 g/100 g) (Ražić i sar., 2006) i različitim delovima vrste *E. polybractea* (0,08-0,22 g/100 g) (Wu i sar., 2011).

## 4.2. Uticaj temperature i ultrazvuka na prinose rezinoida i mineralnih materija

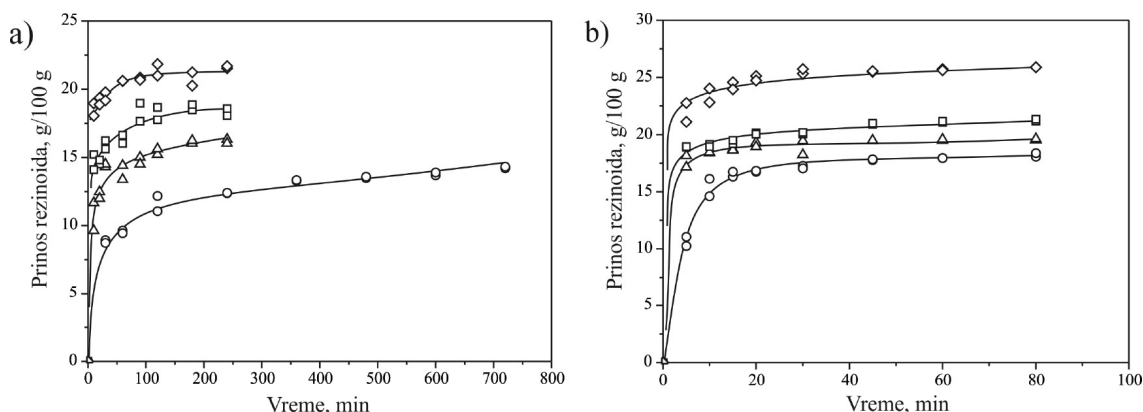
Ekstrakcija rezinoida i mineralnih materija (kalijuma, kalcijuma i magnezijuma) iz nadzemnih delova *G. mollugo* vodenim rastvorom etanola (50 % vol.) ispitivana je pri odnosu rastvarač-biljni materijal 20 g/g na različitim temperaturama u odsustvu (maceracija) i prisustvu ultrazvuka (ultrazvučna ekstrakcija). Maceracija je izvođena na 23, 50, 65 i 80 °C, a ultrazvučna ekstrakcija na 23, 30, 35 i 40 °C. Male vrednosti *MRPD* za prinose rezinoida i mineralnih materija su ukazivale na dobru reproduktivnost merenja prinosa rezinoida i mineralnih materija. Tako, vrednosti *MRPD* za prinos rezinoida maceracijom, odnosno utrazvučnom ekstrakcijom iznose  $\pm 1,8$  % (66 podataka), odnosno  $\pm 1,0$  % (64 podatka), dok su vrednosti *MRPD* za prinose mineralnih materija maceracijom  $\pm 1,1$  % (K),  $\pm 2,7$  % (Ca) i  $\pm 3,4$  % (Mg), a utrazvučnom ekstrakcijom  $\pm 1,0$  % (K),  $\pm 3,1$  % (Ca) i  $\pm 4,0$  % (Mg).

### 4.2.1. Uticaj temperature i ultrazvuka na ekstrakciju rezinoida

Slika 4.4 pokazuje promenu prinosa rezinoida u toku ekstrakcije iz nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću rastvora etanola (50 % vol.) u odsustvu i prisustvu ultrazvuka (maceracija i ultrazvučna ekstrakcija) na različitim temperaturama. Na konstantnoj temperaturi, prinos rezinoida se povećava u toku maceracije i ultrazvučne ekstrakcije kao rezultat rastvaranja ekstraktivnih materija iz biljnog materijala. U početku, prinos rezinoida se brzo povećava, a zatim sve sporije dok ne dostigne ravnotežnu vrednost. Prinos rezinoida se povećava sa povećanjem temperature u slučaju obe tehnike ekstrakcije, kao rezultat povećanja rastvorljivosti ekstraktivnih materija. Takođe, jasno se uočava da je prinos rezinoida ultrazvučnom ekstrakcijom veći od prinosa rezinoida maceracijom, i to na nižoj temperaturi i za kraće vreme. Povoljan efekat ultrazvuka na ekstrakciju rezinoida, kojim se povećavaju prinos i brzina ekstrakcije rezinoida, pripisuje se stvaranju i nestajanju kavitacionih mehurova (Paniwnyk i sar., 2001; Toma i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997). Ovi rezultati potvrđuju ranija zapažanja pri ekstrakciji rezinoida iz lišća žalfije (Veličković i sar., 2006).

Rezultati praćenja promene prinosa rezinoida sa vremenom potvrđuju da se ekstrakcija rezinoida u odsustvu i prisustvu ultrazvuka sastoji od dva istovremena procesa: ispiranja i difuzije ekstraktivnih materija, koja su ranije uočena u slučaju

ekstrakcije ekstraktivnih materija iz različitog biljnog materijala (Kostić i sar., 2013; Patricelli i sar., 1979; So i Macdonald, 1986; Stanisavljević i sar., 2007a,b; Stanković i sar., 1994, 2007; Veličković i sar., 2006; Veljković i Milenović, 2002). Suspenzija biljnih čestica u rastvaraču se sastoji od čestica sa delom ekstraktivnih materija na površini i čestica sa ekstraktivnim materijama u njihovoj unutrašnjosti. Ekstraktivne materije na površini biljnih čestica, koje potiču iz razorenih biljnih ćelija, brzo se rastvaraju u rastvaraču u početnom periodu ekstrakcije (ispiranje), dok ekstraktivne materije sadržane u nerazorenim biljnim ćelijama unutar čestica sporo difunduju prema spoljašnjoj površini čestica (difuzija ili spora ekstrakcija). Ovaj mehanizam će biti iskorišćen za modelovanje kinetike ekstrakcije u odsustvu i prisustvu ultrazvuka. Prema sl. 4.4, povećanje temperature ekstrakcije povećava brzinu ispiranja i u odsustvu i u prisustvu ultrazvuka, pošto smanjenje viskoziteta rastvora utiče na povećanje brzine prenosa mase rastvorenih ekstraktivnih materija u rastvor.

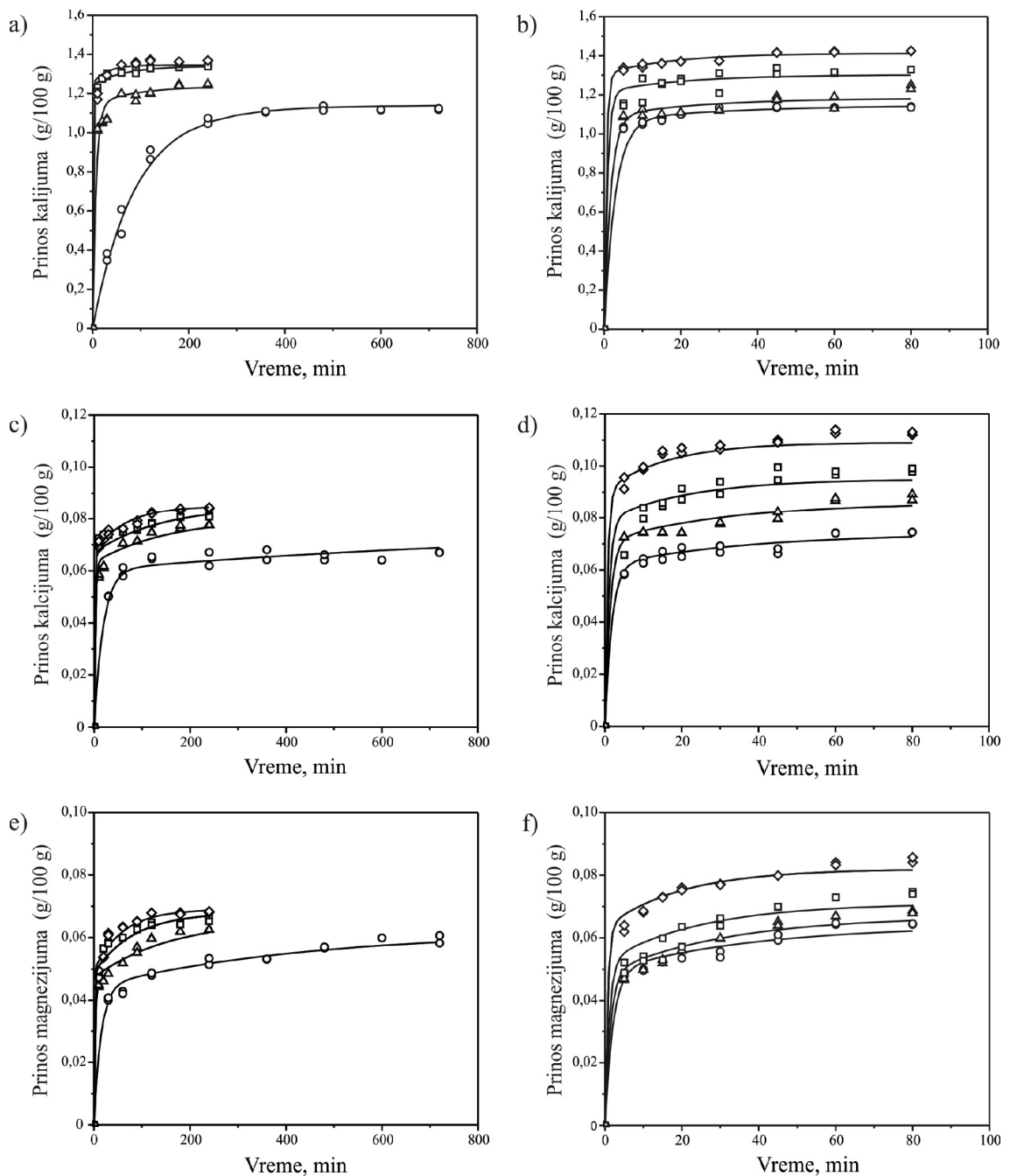


Slika 4.4 Promena prinosa rezinoida iz nadzemnih delova *G. mollugo* sa vremenom na različitim temperaturama (eksperiment: simboli; model, jednačina 2.25: puna linija): a) maceracija (23 °C – ○, 50 °C – △, 65 °C – □ i 80 °C – ◇) i b) ultrazvučna ekstrakcija (23 °C – ○, 30 °C – △, 35 °C – □ i 40 °C – ◇)

#### 4.2.2. Uticaj temperature i ultrazvuka na prinose mineralnih materija

Slika 4.5 pokazuje promenu prinosa mineralnih materija (kalijuma, kalcijuma i magnezijuma) u toku ekstrakcije iz nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću vodenog rastvora etanola (50 % vol.) u toku maceracije i ultrazvučne ekstrakcije na različitim temperaturama. Oblik krivih linija koje predstavljaju promenu prinosa mineralnih materija sa vremenom je tipičan za šaržnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala. Na konstantnoj temperaturi, prinosi mineralnih materija se povećavaju u toku maceracije i ultrazvučne ekstrakcije kao rezultat njihovog rastvaranja iz biljnog materijala. Kao i u slučaju rezinoida, prinosi mineralnih materija se brzo povećavaju u

početnom periodu, a zatim sve sporije dok se ne dostignu ravnotežne vrednosti. Prema tome, ekstrakcija mineralnih materija u odsustvu i prisustvu ultrazvuka uključuje brzo ispiranje i sporu difuziju, koji se odigravaju istovremeno.



Slika 4.5 Promena prinosa mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* sa vremenom na različitim temperaturama (eksperiment: simboli; model, jednačina 2.25: puna linija): a, c i e) maceracija (23 °C – ○, 50 °C – Δ, 65 °C – □ i 80 °C – ◇) i b, d i f) ultrazvučna ekstrakcija (23 °C – ○, 30 °C – Δ, 35 °C – □ i 40 °C – ◇)

Prinosi mineralnih materija se povećavaju sa povećanjem temperature i kod maceracije i kod ultrazvučne ekstrakcije, kao rezultat povećanja rastvorljivosti njihovih jedinjenja sadržanih u biljnom materijalu na višim temperaturama. Takođe, na

konstantnoj temperaturi prinosi mineralnih materija ultrazvučnom ekstrakcijom su veći od prinosa mineralnih materija maceracijom. Pri tome, veći prinosi mineralnih materija u prisustvu ultrazvuka ostvaruju se za kraće vreme. Povećanje prinosa i brzine ekstrakcije mineralnih materija u prisustvu ultrazvuka je rezultat pozitivnih efekata stvaranja i nestajanja kavitacionih mehurova (Paniwnyk i sar., 2001; Toma i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997).

### 4.3. Optimizacija operativnih uslova maceracije i ultrazvučne ekstrakcije

Modelovanje i optimizacija prinosa rezinoida i mineralnih materija (kalijuma, kalcijuma i magnezijuma) iz nadzemnih delova *G. mollugo* u odsustvu (maceracija) i prisustvu ultrazvuka (ultrazvučna ekstrakcija) imaju za cilj utvrđivanje optimalnih ekstrakcionih uslova koji obezbeđuju maksimalne prinose. Zbog toga je analiziran uticaj temperature i vremena na prinose rezinoida i mineralnih materija u ekstrakciji sa rastvorom etanola koncentracije 50 % vol. pri odnosu rastvarač-biljni materijal 20 g/g. Za modelovanje zavisnosti prinosa rezinoida i mineralnih materija od temperature i vremena ekstrakcije korišćene su metode površine odziva i veštačke neuronske mreže. Kod prve metode, zavisnosti prinosa rezinoida i mineralnih materija od temperature i vremena ekstrakcije su aproksimirane polinomom drugog reda. Optimizacija operativnih uslova ekstrakcije u cilju dobijanja najvećeg prinosa rezinoida ili mineralne materije je vršena rešavanjem polinoma drugog reda ili kombinacijom veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma.

#### 4.3.1. Optimizacija metodom površine odziva

##### 4.3.1.1. Model polinoma drugog reda

Funkcija odziva (prinos rezinoida ili mineralnih materija), koja je nepoznata, aproksimira se polinomom drugog reda:

$$q = b_0 + b_1 T + b_2 t + b_{12} T t + b_{11} T^2 + b_{22} t^2 \quad (4.4)$$

gde je:  $q$  – prinos rezinoida ili mineralne materije (g/100 g),  $T$  – temperatura ekstrakcije ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $t$  – vreme ekstrakcije (min), a  $b_i$  i  $b_{ij}$  ( $i=0, 1, 2$  i  $j=1, 2$ ) – parametri jednačine (4.4). Vrednosti parametara polinoma su izračunati na osnovu rezultata eksperimenata pomoću metode višestruke nelinearne regresije uz korišćenje statističkog programa Design Expert Trial 7.0. Pri ovom izračunavanju korišćene su eksperimentalne vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija određenih na 23, 50 i 80  $^{\circ}\text{C}$  (maceracija), odnosno na 23, 30 i 40  $^{\circ}\text{C}$  (ultrazvučna ekstrakcija), dok su vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija dobijenih maceracijom na 65  $^{\circ}\text{C}$  i ultrazvučnom ekstrakcijom na 35  $^{\circ}\text{C}$  korišćeni za testiranje (validaciju) razvijenih jednačina modela.

Statistička značajnost polinoma drugog reda, pojedinih članova ovog modela i odstupanja od modela je ocenjena metodom ANOVA. Glavni rezultati ove ocene dati su u tabelama 4.5 i 4.6. Dijagnostički grafici, koji su prikazani na sl. 4.6 i 4.7, iskorišćeni su za ocenu adekvatnosti modela polinoma drugog reda za prinose rezinoda i mineralnih materija. Rezultati ANOVA su validni jer nije uočen nikakav problem normalnosti raspodele reziduala (sl. 4.6). Reziduali su blizu prave linije i ravnomerno raspoređeni oko nje, što potvrđuje normalnu raspodelu reziduala i adekvantost razvijenih modela. Vrednosti Cook-ove udaljenosti su daleko manje od granične vrednosti 0,8, tako da nema netipičnih vrednosti („autlajera“) u setovima eksperimentalnih podataka za prinose rezinoida i mineralnih materija (sl. 4.7).

Za ocenjivanje statističke značajnosti modela, operativnih promenljivih, interakcija između operativnih promenljivih i odstupanja od modela korišćene su njihove vrednosti Fisher-ovog kriterijuma ( $F$ -vrednost) i nivoa značajnosti ( $p$ -vrednost), koje su date u tabelama 4.5 i 4.6.  $F$ -vrednost modela ili člana modela, kao odnos procenjene varijanse modela i procenjene varijanse ostatka, pokazuje relativan doprinos procenjene varijanse modela ili njegovog člana procenjenoj varijansi ostatka. Velika  $F$ -vrednost pokazuje da je varijansa u velikoj meri objašnjena modelom ili njegovim članom, a mala vrednost da je varijansa moguća zbog šumova. Model i njegovi pojedinačni članovi (operativne promenljive i njihovi kvadrati i interakcija) imaju statistički značajan uticaj na prinose rezinoida i mineralnih materija sa nivoom poverenja od 95 % samo ako je njihova  $p$ -vrednost manja od 0,05.

Tabela 4.5 Rezultati ANOVA: maceracija

| <b>Ekstraktivna materija</b> | <b>Faktor<sup>a</sup></b> | <b>Zbir kvadrata</b> | <b>Stepen slobode</b> | <b>Srednji kvadrat</b> | <b>F - vrednost</b> | <b>P - vrednost<sup>b</sup></b> |
|------------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|
| <b>Rezinoid</b>              | Model                     | 443,31               | 5                     | 88,66                  | 359,33              | < 0,0001                        |
|                              | <i>A</i>                  | 370,81               | 1                     | 370,81                 | 1502,81             | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i>                  | 23,46                | 1                     | 23,46                  | 95,08               | < 0,0001                        |
|                              | <i>AB</i>                 | 1,66                 | 1                     | 1,66                   | 6,71                | 0,0185                          |
|                              | <i>A</i> <sup>2</sup>     | 1,07                 | 1                     | 1,07                   | 4,32                | 0,0523                          |
|                              | <i>B</i> <sup>2</sup>     | 2,58                 | 1                     | 2,58                   | 10,47               | 0,0046                          |
|                              | Ostatak                   | 4,44                 | 18                    | 0,25                   |                     |                                 |
|                              | Odstupanje od modela      | 2,56                 | 6                     | 0,43                   | 2,73                | 0,0653                          |
|                              | Čista greška              | 1,88                 | 12                    | 0,16                   |                     |                                 |
|                              | Ukupna korekcija          | 447,76               | 23                    |                        |                     |                                 |
| <b>Kalijum</b>               | Model                     | 2,56                 | 5                     | 0,51                   | 123,99              | < 0,0001                        |
|                              | <i>A</i>                  | 1,61                 | 1                     | 1,61                   | 390,86              | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i>                  | 0,54                 | 1                     | 0,54                   | 131,45              | < 0,0001                        |
|                              | <i>AB</i>                 | 0,20                 | 1                     | 0,20                   | 48,85               | < 0,0001                        |
|                              | <i>A</i> <sup>2</sup>     | 0,30                 | 1                     | 0,30                   | 71,88               | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i> <sup>2</sup>     | 0,07                 | 1                     | 0,067                  | 16,19               | 0,0003                          |
|                              | Ostatak                   | 0,14                 | 34                    | 0,0041                 |                     |                                 |
|                              | Odstupanje od modela      | 0,13                 | 14                    | 0,0090                 | 13,17               | < 0,0001                        |
|                              | Čista greška              | 0,014                | 20                    | 0,0007                 |                     |                                 |
|                              | Ukupna korekcija          | 2,70                 | 39                    |                        |                     |                                 |



| Ekstraktivna materija | Faktor <sup>a</sup>  | Zbir kvadrata | Stepen slobode | Srednji kvadrat | F - vrednost | P - vrednost <sup>b</sup> |
|-----------------------|----------------------|---------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------------|
| <b>Kalcijum</b>       | Model                | 0,00314       | 5              | 0,000627        | 242,92       | < 0,0001                  |
|                       | A                    | 0,00163       | 1              | 0,001625        | 629,19       | < 0,0001                  |
|                       | B                    | 0,00123       | 1              | 0,001230        | 474,76       | < 0,0001                  |
|                       | AB                   | 0,00003       | 1              | 0,000034        | 13,04        | 0,001                     |
|                       | A <sup>2</sup>       | 0,00002       | 1              | 0,000015        | 5,77         | 0,022                     |
|                       | B <sup>2</sup>       | 0,00023       | 1              | 0,000234        | 90,75        | < 0,0001                  |
|                       | Ostatak              | 0,00009       | 34             | 0,000003        |              |                           |
|                       | Odstupanje od modela | 0,00007       | 14             | 0,000005        | 6,37         | < 0,0001                  |
|                       | Čista greška         | 0,00002       | 20             | 0,000001        |              |                           |
| Ukupna korekcija      | 0,00322              | 39            |                |                 |              |                           |
| <b>Magnezijum</b>     | Model                | 0,00298       | 5              | 0,000597        | 147,21       | < 0,0001                  |
|                       | A                    | 0,00149       | 1              | 0,001493        | 368,29       | < 0,0001                  |
|                       | B                    | 0,00121       | 1              | 0,001210        | 298,64       | < 0,0001                  |
|                       | AB                   | 0,00000       | 1              | 0,000003        | 0,77         | 0,387 <sup>a</sup>        |
|                       | A <sup>2</sup>       | 0,00001       | 1              | 0,000011        | 2,79         | 0,104 <sup>a</sup>        |
|                       | B <sup>2</sup>       | 0,00027       | 1              | 0,000272        | 67,00        | < 0,0001                  |
|                       | Ostatak              | 0,00014       | 34             | 0,000004        |              |                           |
|                       | Odstupanje od modela | 0,00013       | 14             | 0,000009        | 19,06        | < 0,0001                  |
|                       | Čista greška         | 0,00000       | 20             | 0,000001        |              |                           |
| Ukupna korekcija      | 0,00312              | 39            |                |                 |              |                           |

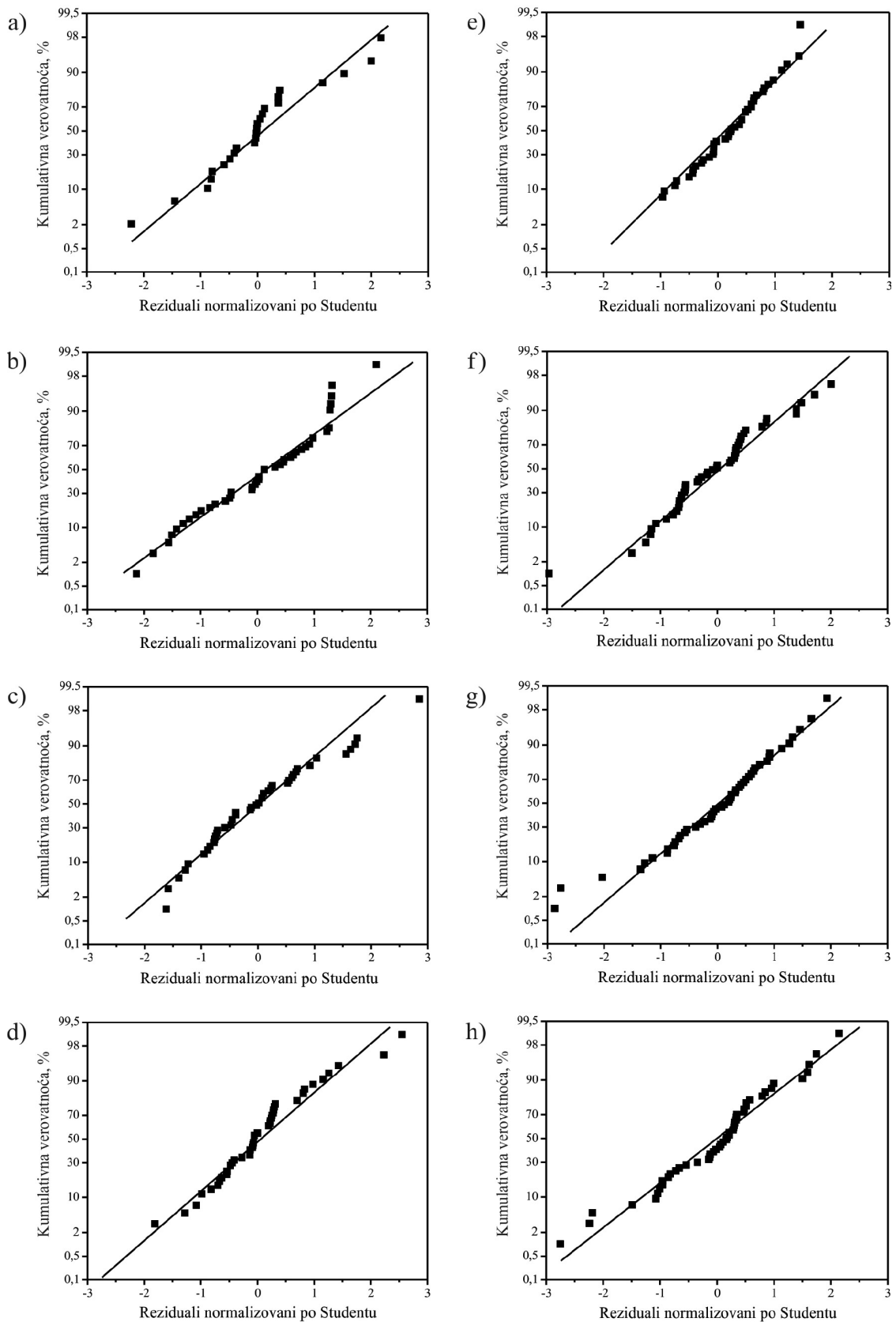
<sup>a</sup> A – temperatura i B – vreme. <sup>b</sup> Prob >F.

Tabela 4.6 Rezultati ANOVA: ultrazvučna ekstrakcija

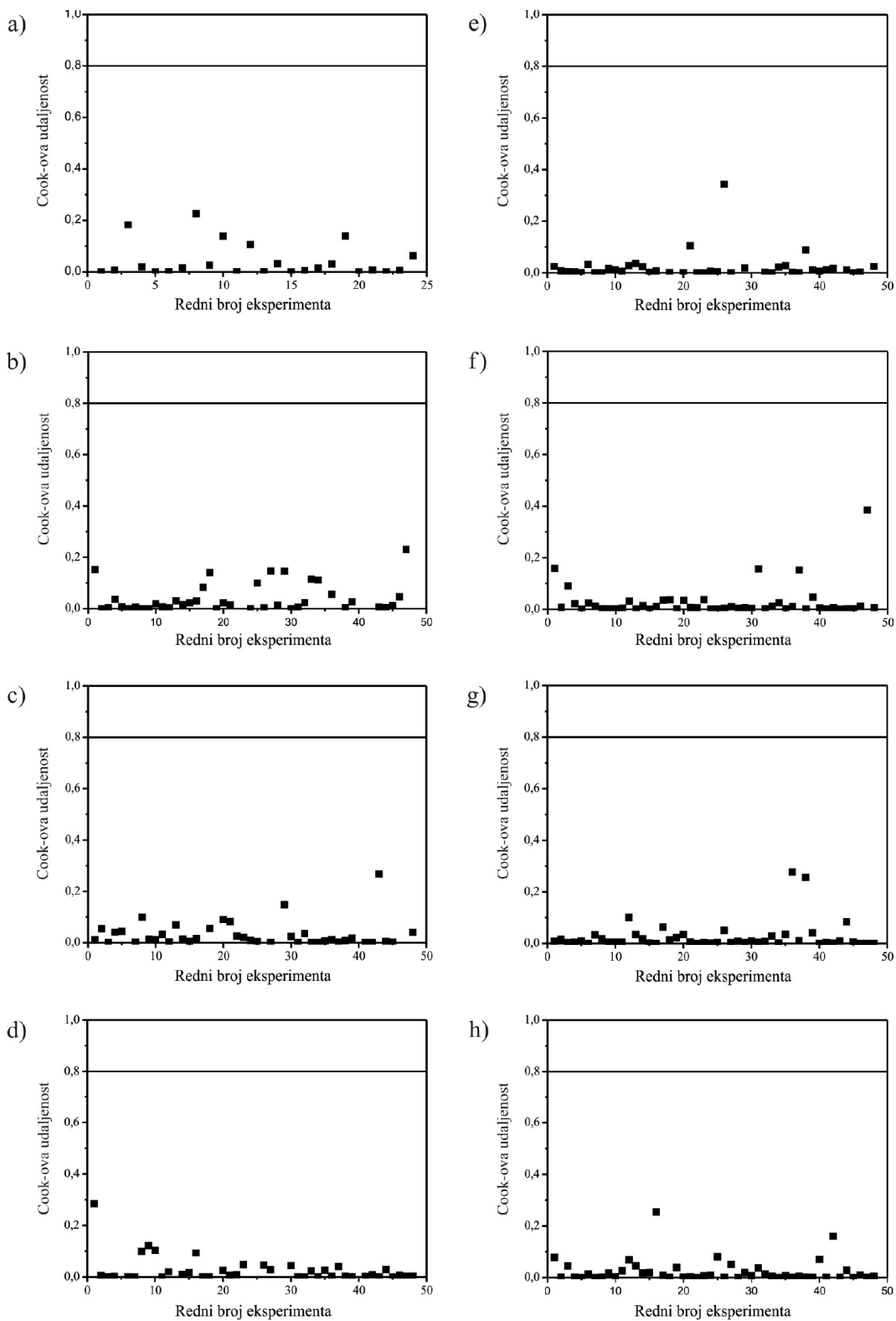
| Ekstraktivna materija | Faktor <sup>a</sup>  | Zbir kvadrata | Stepen slobode | Srednji kvadrat | F - vrednost | P - vrednost <sup>b</sup> |
|-----------------------|----------------------|---------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------------|
| Rezinoid              | Model                | 495,26        | 5              | 99,05           | 468,94       | < 0,0001                  |
|                       | A                    | 415,94        | 1              | 415,94          | 1969,19      | < 0,0001                  |
|                       | B                    | 18,18         | 1              | 18,18           | 86,05        | < 0,0001                  |
|                       | AB                   | 0,059         | 1              | 0,059           | 0,28         | 0,600                     |
|                       | A <sup>2</sup>       | 15,17         | 1              | 15,17           | 71,80        | < 0,0001                  |
|                       | B <sup>2</sup>       | 3,17          | 1              | 3,17            | 15,01        | 0,0004                    |
|                       | Ostatak              | 7,60          | 36             | 0,21            |              |                           |
|                       | Odstupanje od modela | 4,29          | 15             | 0,29            | 1,81         | 0,103                     |
|                       | Čista greška         | 3,32          | 21             | 0,16            |              |                           |
|                       | Ukupna korekcija     | 502,87        | 41             |                 |              |                           |
| Kalijum               | Model                | 0,81          | 5              | 0,16            | 431,34       | < 0,0001                  |
|                       | A                    | 0,55          | 1              | 0,55            | 1458,97      | < 0,0001                  |
|                       | B                    | 0,06          | 1              | 0,06            | 160,25       | < 0,0001                  |
|                       | AB                   | 0,00011       | 1              | 0,00011         | 0,29         | 0,591                     |
|                       | A <sup>2</sup>       | 0,062         | 1              | 0,062           | 165,65       | < 0,0001                  |
|                       | B <sup>2</sup>       | 0,0033        | 1              | 0,0033          | 8,60         | 0,0054                    |
|                       | Ostatak              | 0,016         | 42             | 0,00038         |              |                           |
|                       | Odstupanje od modela | 0,013         | 18             | 0,0007          | 5,36         | < 0,0001                  |
|                       | Čista greška         | 0,00315       | 24             | 0,00013         |              |                           |
|                       | Ukupna korekcija     | 0,83          | 47             |                 |              |                           |

| <b>Ekstraktivna materija</b> | <b>Faktor<sup>a</sup></b> | <b>Zbir kvadrata</b> | <b>Stepen slobode</b> | <b>Srednji kvadrat</b> | <b>F - vrednost</b> | <b>P - vrednost<sup>b</sup></b> |
|------------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|
| Kalcijum                     | Model                     | 0,014                | 5                     | 0,00274                | 381,34              | < 0,0001                        |
|                              | <i>A</i>                  | 0,010                | 1                     | 0,010                  | 1452,53             | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i>                  | 0,00129              | 1                     | 0,00129                | 179,45              | < 0,0001                        |
|                              | <i>AB</i>                 | 0,000014             | 1                     | 0,000014               | 1,95                | 0,170                           |
|                              | <i>A</i> <sup>2</sup>     | 0,000188             | 1                     | 0,000188               | 26,14               | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i> <sup>2</sup>     | 0,000094             | 1                     | 0,000094               | 13,08               | 0,0008                          |
|                              | Ostatak                   | 0,000302             | 42                    | 0,0000072              |                     |                                 |
|                              | Odstupanje od modela      | 0,000271             | 18                    | 0,000015               | 11,58               | < 0,0001                        |
|                              | Čista greška              | 0,0000312            | 24                    | 0,0000013              |                     |                                 |
|                              | Ukupna korekcija          | 0,014                | 47                    |                        |                     |                                 |
| Magnezijum                   | Model                     | 0,00589              | 5                     | 0,001178               | 424,88              | < 0,0001                        |
|                              | <i>A</i>                  | 0,00274              | 1                     | 0,00274                | 989,74              | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i>                  | 0,00189              | 1                     | 0,00189                | 681,79              | < 0,0001                        |
|                              | <i>AB</i>                 | 0,0000052            | 1                     | 0,0000052              | 1,89                | 0,176                           |
|                              | <i>A</i> <sup>2</sup>     | 0,000370             | 1                     | 0,000370               | 133,60              | < 0,0001                        |
|                              | <i>B</i> <sup>2</sup>     | 0,000189             | 1                     | 0,000189               | 68,09               | < 0,0001                        |
|                              | Ostatak                   | 0,000116             | 42                    | 0,0000028              |                     |                                 |
|                              | Odstupanje od modela      | 0,000108             | 18                    | 0,000006               | 16,95               | < 0,0001                        |
|                              | Čista greška              | 0,0000085            | 24                    | 0,00000035             |                     |                                 |
|                              | Ukupna korekcija          | 0,00601              | 47                    |                        |                     |                                 |

<sup>a</sup> A – temperatura i B – vreme. <sup>b</sup> Prob >F.



Slika 4.6 Ocena normalnosti raspodele reziduala za prinose rezinoida (a, e), kalijuma (b, f), kalcijuma (c, g) i magnezijuma (d, h) dobijene maceracijom (a-d) i ultrazvučnom ekstrakcijom (e-h)



Slika 4.7 Ocena Cook-ove udaljenosti za prinose rezinoida (a, e), kalijuma (b, f), kalcijuma (c, g) i magnezijuma (d, h) dobijene maceracijom (a-d) i ultrazvučnom ekstrakcijom (e-h)

Vrednosti parametara polinoma drugog reda za prinose rezinoida, kalijuma, kalcijuma i magnezijuma ostvarenih maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom date su u tabeli 4.7.

Tabela 4.7 Parametri i pokazatelji kvaliteta modela polinoma drugog reda<sup>a</sup>

| Parametar                                    | Maceracija   |                       |                       |                       | Ultrazvučna ekstrakcija |                       |                       |                       |                       |
|--|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|  | Rezinoid     | Kalijum               | Kalcijum              | Magnezijum            | Rezinoid                | Kalijum               | Kalcijum              | Magnezijum            |                       |
| <b>Aktuelne vrednosti procesnih faktora</b>  | $b_0$        | 4,47                  | -0,438                | 0,0344                | 0,0224                  | 21,22                 | 1,654                 | 0,0644                | 0,0967                |
|  | $b_1$        | $1,37 \cdot 10^{-1}$  | $3,86 \cdot 10^{-2}$  | $5,51 \cdot 10^{-4}$  | $4,68 \cdot 10^{-4}$    | $-6,79 \cdot 10^{-1}$ | $-5,23 \cdot 10^{-2}$ | $-1,66 \cdot 10^{-3}$ | $-4,25 \cdot 10^{-3}$ |
|  | $b_2$        | $3,96 \cdot 10^{-2}$  | $5,81 \cdot 10^{-3}$  | $2,24 \cdot 10^{-4}$  | $2,13 \cdot 10^{-4}$    | $8,57 \cdot 10^{-2}$  | $3,09 \cdot 10^{-3}$  | $3,46 \cdot 10^{-4}$  | $5,26 \cdot 10^{-4}$  |
|  | $b_{12}$     | $-1,40 \cdot 10^{-4}$ | $-4,28 \cdot 10^{-5}$ | $-5,53 \cdot 10^{-7}$ | $-1,68 \cdot 10^{-7}$   | $-2,25 \cdot 10^{-4}$ | $-8,78 \cdot 10^{-6}$ | $3,13 \cdot 10^{-6}$  | $1,92 \cdot 10^{-6}$  |
|  | $b_{11}$     | $5,52 \cdot 10^{-4}$  | $-2,26 \cdot 10^{-4}$ | $-1,60 \cdot 10^{-6}$ | $-1,39 \cdot 10^{-6}$   | $1,83 \cdot 10^{-2}$  | $1,10 \cdot 10^{-3}$  | $6,03 \cdot 10^{-5}$  | $8,46 \cdot 10^{-5}$  |
|  | $b_{22}$     | $-7,40 \cdot 10^{-5}$ | $-8,29 \cdot 10^{-6}$ | $-4,90 \cdot 10^{-7}$ | $-5,28 \cdot 10^{-7}$   | $-5,95 \cdot 10^{-4}$ | $-1,61 \cdot 10^{-5}$ | $-2,75 \cdot 10^{-6}$ | $-3,89 \cdot 10^{-6}$ |
| <b>Kodirane vrednosti procesnih faktora</b>  | $b_0$        | 16,03                 | 1,27                  | 0,075                 | 0,06                    | 20,26                 | 1,19                  | 0,086                 | 0,065                 |
|  | $b_1$        | 5,00                  | 0,28                  | $9,03 \cdot 10^{-3}$  | $8,66 \cdot 10^{-3}$    | 3,95                  | 0,14                  | 0,019                 | $9,90 \cdot 10^{-3}$  |
|  | $b_2$        | 1,30                  | 0,18                  | $8,38 \cdot 10^{-3}$  | $8,33 \cdot 10^{-3}$    | 1,05                  | 0,054                 | $7,92 \cdot 10^{-3}$  | $9,59 \cdot 10^{-3}$  |
|  | $b_{12}$     | -0,42                 | -0,14                 | $-1,81 \cdot 10^{-3}$ | $-5,51 \cdot 10^{-4}$   | -0,072                | -0,0028               | $9,98 \cdot 10^{-4}$  | $6,11 \cdot 10^{-4}$  |
|  | $b_{11}$     | 0,45                  | -0,18                 | $-1,30 \cdot 10^{-3}$ | $-1,13 \cdot 10^{-3}$   | 1,32                  | 0,079                 | $4,35 \cdot 10^{-3}$  | $6,11 \cdot 10^{-3}$  |
|  | $b_{22}$     | -0,82                 | -0,11                 | $-6,49 \cdot 10^{-3}$ | $-6,98 \cdot 10^{-3}$   | -0,84                 | -0,023                | $-3,86 \cdot 10^{-3}$ | $-5,48 \cdot 10^{-3}$ |
| <b>Kriterijumi ocene adekvatnosti modela</b> | $R^2$        | 0,980                 | 0,948                 | 0,973                 | 0,956                   | 0,970                 | 0,981                 | 0,978                 | 0,981                 |
|  | $R_{adj}^2$  | 0,974                 | 0,940                 | 0,969                 | 0,949                   | 0,966                 | 0,979                 | 0,976                 | 0,978                 |
|  | $R_{pred}^2$ | 0,984                 | 0,921                 | 0,962                 | 0,940                   | 0,979                 | 0,974                 | 0,971                 | 0,975                 |
|  | $C.V. \%$    | 3,22                  | 5,71                  | 2,27                  | 3,63                    | 2,25                  | 1,61                  | 3,20                  | 2,64                  |
|  | $Adeq.Prec.$ | 50,8                  | 36,33                 | 52,35                 | 40,46                   | 56,2                  | 56,6                  | 57,44                 | 66,20                 |
|  | $MRPD (\%)$  | $\pm 3,5$             | $\pm 5,7$             | $\pm 1,7$             | $\pm 2,5$               | $\pm 1,5$             | $\pm 1,2$             | $\pm 2,3$             | $\pm 1,9$             |

<sup>a</sup> Maceracija: 23, 50 i 80 °C; ultrazvučna ekstrakcija: 23, 30 i 40 °C.

Velike  $F$  -vrednosti i male  $p$  -vrednosti ( $< 0,0001$ ) modela ukazuju na statistički značaj modela polinoma drugog reda za obe tehnike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija u okviru 95 % nivoa poverenja. Drugim rečima, verovatnoća da se pojave tako velike  $F$  - vrednosti modela usled šuma iznosi manje od 0,01 %. Obe operativne promenljive utiču statistički značajno (sa nivoom poverenja od 95 %) na prinose rezinoida i mineralnih materija obema tehnikama ekstrakcije. Pri tome, sudeći po njihovim  $F$  -vrednostima, temperatura ekstrakcije ima značajniji uticaj na prinose rezinoida i mineralnih materija od vremena ekstrakcije. Od kvadratnih članova, samo efekat kvadrata temperature nije statistički značajan za prinose rezinoida i magnezijuma maceracijom. Interakcija temperature i vremena je statistički značajna u okviru 95 % nivoa poverenja za prinose rezinoida, kalijuma i kalcijuma maceracijom, dok nema statistički značajan uticaj na prinos magnezijuma maceracijom, kao ni na prinose kalijuma, kalcijuma i magnezijuma ultrazvučnom ekstrakcijom.

$F$  -vrednost odstupanja od modela pokazuje relativan doprinos procenjene varijanse odstupanja od modela procenjenoj varijansi čiste greške. Drugim rečima,  $F$  -vrednost odstupanja od modela govori o varijaciji vrednosti odziva u ponovljenim eksperimentima oko srednje vrednosti (Trinh i Kang, 2010). Pri tome, velika  $F$  -vrednost pokazuje da je varijansa u velikoj meri objašnjena odstupanjem od modela, a mala vrednost da je varijansa moguća zbog šumova. Ako je  $p$  -vrednost odstupanja od modela manja od 0,05 ( $p < 0,05$ ), onda je odstupanje od modela statistički značajno, što je nepoželjno. U obrnutom slučaju, tj. ako je  $p > 0,05$ , onda je odstupanje od modela statistički neznačajno, što je poželjno. Zbog toga je odstupanje od modela mera neuspešnosti modela u predstavljanju podataka za zavisnu promenljivu pri datim uslovima nezavisnih promenljivih.

Pošto su  $p$ -vrednosti odstupanja od modela za prinose rezinoida maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom veće od 0,050, ono nije značajno u odnosu na čistu grešku, ili, drugim rečima, razvijeni modeli polinoma drugog reda su merodavni za opisivanje zavisnosti između prinosa rezinoida i operativnih promenljivih. Takođe, male vrednosti čiste greške ukazuju na dobru reproduktivnost podataka. Međutim,  $p$ -vrednosti odstupanja od modela za prinose mineralnih materija su manje od 0,050, što ukazuje da je u ovim slučajevima odstupanje od modela statistički značajno u odnosu na čistu grešku. Zbog toga, modeli polinoma drugog reda nisu statistički značajni za sprovedene eksperimente, odnosno njihova moć predviđanja prinosa mineralnih materija na osnovu

nezavisnih promenljivih je statistički neznačajna. Prema tome, potrebno je biti obazriv u primeni ovih modela za izračunavanje i optimizaciju prinosa mineralnih materija.

Značajno odstupanje od modela u slučaju modela za prinose mineralnih materija znači da su varijacije ponovljenih merenja prinosa mineralnih materija oko srednje vrednosti u datim eksperimentalnim tačkama manje od varijacija ponovljenih merenja prinosa mineralnih materija oko odgovarajućih predviđenih vrednosti. Značajno odstupanje od modela može biti rezultat lošeg modela (nepotpuna ili pogrešno odabrana zavisnost između prinosa mineralnih materija i operativnih promenljivih) ili istih ili vrlo bliskih vrednosti prinosa mineralnih materija u ponovljenim merenjima koje uzrokuju njihovu malu varijansu.

Prvi uzrok („loš model“) se možda može otkloniti preformulisanjem jednačine modela, bilo isključenjem statistički neznačajnih članova (Hamdzah i sar., 2013), bilo uključenjem novih članova u jednačine modela, tj. korišćenjem polinoma višeg reda od drugog (Oh i sar., 1995; Lim i sar., 2007). Tako su Hamdzah i sar. (2013) pokušali, bez uspeha, da poboljšaju modele sa statistički značajnim odstupanjem od modela izbacivanjem statistički neznačajnih članova iz njihovih regresionih jednačina. Takođe, proverom je utvrđeno da se redukovane jednačine modela za prinose mineralnih materija, koje ne sadrže statistički neznačajne članove, odlikuju statistički značajnim odstupanjem od modela, ali i većim vrednostima *MRPD* nego potpune jednačine polinoma drugog reda. Na drugoj strani, neki istraživači su uspeli da selekcijom članova polinomne jednačine, uz povećanje reda polinoma do četvrtog, poboljšaju model sa statistički značajnim odstupanjem od modela (Oh i sar., 1995; Lim i sar., 2007). Međutim, u metodologiji površine odziva nije uobičajeno da red polinoma bude veći od dva (Buchholz i sar., 2005; Kleijnen, 1998), jer se povećanjem reda regresione jednačine mogu dobiti nerealni modeli koje je teško interpretirati (Schepers i sar., 2002). I pokušaj da se prinosi mineralnih materija predstave polinomom trećeg reda nisu otklonili problem značajnog odstupanja od modela. Pored toga, ovi modeli imali su članove koji se preklapaju (konstanta,  $A$ ,  $A^2$  i  $A^3$ , gde je:  $A$  - ekstrakciona temperatura). Razmotrena je i mogućnost transformacije jednačine modela na osnovu Box-Cox-ovog dijagnostičkog grafika, u jednačinu koja bi bolje odgovarala eksperimentalnim podacima za prinose mineralnih materija. Međutim, ovaj grafik nije preporučio transformaciju jednačine modela. Prema tome, redefinisanje modela za

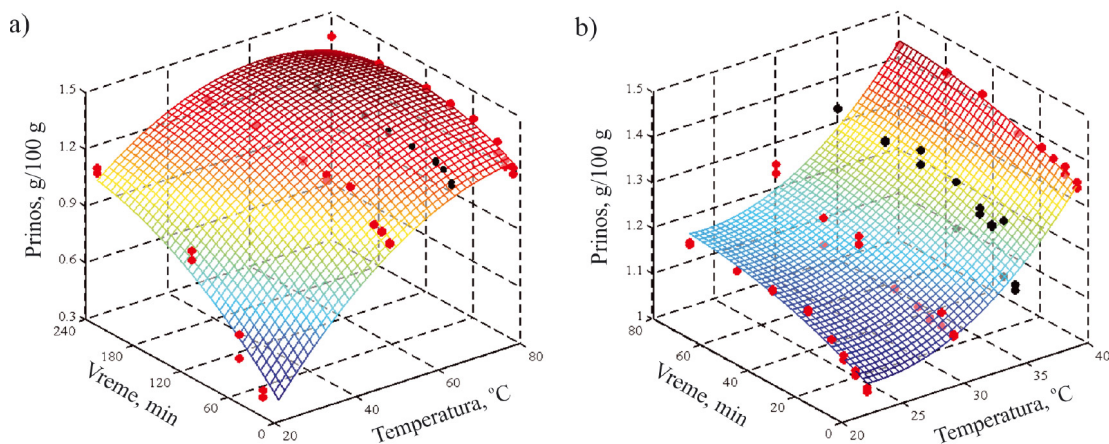


prinos mineralnih materija nije se pokazalo delotvornim u otklanjanju statistički značajnog odstupanja od modela u slučaju prinosa mineralnih materija.

Kako bi se pronašlo objašnjenje za statistički značajno odstupanja od modela u slučaju prinosa mineralnih materija, pristupilo se analizi mogućih uzroka velike  $F$ -vrednost odstupanja od modela i analizi eksperimentalnih podataka.  $F$ -vrednost odstupanja od modela izračunava se deljenjem srednje sume kvadrata za odstupanja od modela sa srednjom sumom kvadrata za čistu grešku. Dakle, velika  $F$ -vrednost odstupanja od modela se može dobiti ne samo ako je vrednost srednje sume kvadrata za odstupanja od modela velika već i ako je vrednost srednje sume kvadrata za čistu grešku mala. Pri tome, što je  $F$ -vrednost odstupanja od modela veća, to je veća verovatnoća da je odstupanje od modela statistički značajno.

Značajno odstupanje od modela ukazuje da možda postoje neke sistematske varijacije odziva koje se ne mogu objasniti razvijenim modelom (Bashir i sar., 2010). Ono se javlja ne samo kada model slabo predstavlja eksperimentalne podatke već i kada ih model dobro opisuje, ali je preciznost merenja odziva tako visoka da je čista greška mala (Saldaña-Roblesa i sar., 2013), uz uslov da su ponovljena merenja korektno izvedena. Prinosi mineralnih materija su određivani u dva eksperimenta ekstrakcije na istoj temperaturi, a uzorkovanje je vršeno u definisanim vremenima trajanja procesa, što znači da se zaista radilo o dva nezavisna ponovljenja merenja prinosa mineralnih materija na istoj temperaturi i za isto vreme ekstrakcije. Već je ukazano na dobru reproduktivnost određivanja prinosa mineralnih materija, koja su vršena sa malom relativnom greškom merenja ( $MRPD < \pm 2,5 \%$ ), kao rezultat preciznosti korišćenih metoda merenja. To praktično znači da su vrednosti prinosa mineralnih materija u ponovljenim merenjima međusobno vrlo bliske. Otuda su vrednosti varijansi za ponovljena merenja prinosa mineralnih materija male, što dovodi do male vrednosti sume kvadrata za čistu grešku. Dakle, može se zaključiti da su male greške određivanja prinosa mineralnih materija verovatni uzrok malih vrednosti čiste greške i statistički značajnog odstupanja od modela. Slika 4.8 ilustruje odstupanja eksperimentalnih vrednosti prinosa kalijuma određenih maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom od površine koja odgovara modelu polinoma drugog reda. Uočava se da su neke vrednosti prinosa kalijuma u dva ponovljena merenja za dati par temperatura-vreme ili iznad ili ispod površine. To znači da postoje eksperimentalne tačke koje su više udaljene od regresione površine nego što je varijacija ponovljenih merenja u istim tačkama, što je

uzrok značajnog odstupanje od modela. Pošto su  $F$ -vrednosti odstupanja od modela uvećane (malom vrednošću srednje sume kvadrata za čistu grešku), statistička ocena na osnovu odstupanja od modela nije više validan test, pa se odluka o adekvatnosti i pouzdanosti modela mora doneti na bazi drugih statističkih kriterijuma. Takođe, poželjno je da se razvijeni model validira nezavisnim setom eksperimenata unutar opsega nezavisnih promenljivih koji su primenjeni za dobijanje podataka za razvoj modela.



Slika 4.8 Odstupanje eksperimentalnih vrednosti prinosa kalijuma od površine polinoma drugog reda: a) maceracija i b) ultrazvučna ekstrakcija (maceracija na 23, 50 i 80 °C ultrazvučna ekstrakcija na 23, 30 i 40 °C: crveni krugovi; maceracija na 65 °C ultrazvučna ekstrakcija na 35 °C: crni krugovi)

Analiza radova objavljenih poslednjih godina pokazuje da istraživači imaju različit odnos prema pojavi značajnog odstupanja od modela kao rezultata ANOVA. Manji broj istraživača pogrešno inerpertira slučaj kada je  $p$ -vrednost za odstupanje od modela manje od 0,05, proglašavajući odstupanje od modela statistički neznačajnim, a model statistički značajnim (Demirel i Kayan, 2012; Xu i sar., 2013; Zhu i sar., 2011), dok druga grupa istraživača ignoriše značajno odstupanje od modela (Ahmad i sar., 2014; Cui i sar., 2013; Huang i sar., 2013; Galonde i sar., 2013; Yusoff i sar., 2013). Najveći broj istraživača konstatuje statistički značajno odstupanje od modela, ali razvijene modele koristi za optimizaciju ispitivanog procesa (Bashir i sar., 2010; Endut i sar., 2013; Hamdzah i sar., 2013; Kobylański i sar., 2004; Lim i sar., 2007; Martínez i sar., 2012; Rajasimman i Murugaiyan, 2011, 2012; Sabanis i sar., 2009; Saldaña-Roblesa i sar., 2013; Subha i Muthukumar, 2012; Tanyildizi i sar., 2012). Kao dokaz adekvatnosti modela za primenu u opsezima operativnih promenljivih uključenih u

razvoj modela istraživači su prihvatili male  $p$ -vrednosti modela (manje od 0,05) i velike vrednosti koeficijenata determinacije (uglavnom veće od 0,9). U nekim od ovih istraživanja model je proveren u opsegu operativnih promenljivih primenjenih u razvoju modela i naročito pod uslovima koji su optimalni prema modelu (Bashir i sar., 2010; Cui i sar., 2013; Endut i sar., 2013; Galonde i sar., 2013; Huang i sar., 2013; Rajasimman i Murugaiyan, 2011, 2012; Sabanis i sar., 2009; Saldaña-Roblesa i sar., 2013; Tanyildizi i sar., 2012; Yusoff i sar., 2013; Xu i sar., 2013). Ovi istraživači su proglašavali model pouzdanim za predviđanje vrednosti odziva u datoj eksperimentalnoj oblasti, uprkos njegovom statistički značajnom odstupanju od modela, ako su razlike između aktuelnih i predviđenih vrednosti odziva prihvatljivo male.

Ako je dovoljno veliki broj podataka bio uključen u analizu, model sa značajnim odstupanjem od modela može da se praktično koristi (Box i Drapper, 1987). Zbog toga je odlučeno da se, kao i u mnogim ranijim istraživanjima, analiziraju drugi statistički kriterijumi kvaliteta modela polinoma drugog reda za prinose mineralnih materija: koeficijent determinacije  $R^2$ , prilagođeni koeficijent determinacije  $R_{adj}^2$ , podešeni koeficijent determinacije  $R_{pred}^2$ , koeficijent varijacije  $C.V.$ , adekvatna preciznost  $Adeq.Prec.$  i srednje relativno procentno odstupanje  $MRPD$ . Vrednosti ovih pokazatelja kvaliteta polinoma drugog reda za prinose mineralnih materija date su u tabeli 4.7. Pored toga, moć predviđanja razvijenog modela je testirana podacima za prinos mineralnih materija na temperaturi koja nije korišćena za dobijanje podataka za razvoj modela (maceracija na 65 °C i ultrazvučna ekstrakcija na 35 °C).

Vrednosti koeficijenta determinacije bliske jedinici ( $R^2 > 0,920$ ) pokazuju da postoji jaka veza između prinosa rezinoida i mineralnih materija sa temperaturom i vremenom ekstrakcije. Ovo znači, takođe, da između eksperimentalnih i predviđenih vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija postoji dobra korelacija. Pošto koeficijent determinacije predstavlja procenu ukupne varijacije podataka objašnjenih pomoću modela, to znači da jednačine polinoma drugog reda objašnjavaju najveći deo od ukupnih promena u vrednostima prinosa rezinoida i mineralnih materija (na primer, 98 %, odnosno 97 % od ukupne promene prinosa rezinoida maceracijom, odnosno ultrazvučnom ekstrakcijom), dok manji deo (ostatak od 2 %, odnosno 3 % u slučaju maceracija, odnosno ultrazvučne ekstrakcije) ostaje neobjašnjen i smatra se posledicom drugih, manje značajnih faktora koji nisu obuhvaćeni eksperimentalnim planom.

Vrednost koeficijenta determinacije  $R^2$  se smanjuje, odnosno povećava sa smanjivanjem, odnosno povećanjem broja nezavisnih promenljivih. Zbog toga je uobičajeno da se eksplanatorna moć modela sa različitim brojem nezavisnih promenljivih poredi prilagođenim koeficijentom determinacije  $R_{adj}^2$  koji uzima u obzir broj nezavisnih promenljivih. Vrednost ovog koeficijenta se povećava samo kada nova nezavisna promenljiva suštinski poboljšava jednačinu modela. Vrednosti prilagođenog koeficijenta determinacije  $R_{adj}^2$  za prinose rezinoida i mineralnih materija su veće od 0,91, tj. veće su od granične vrednosti (0,75) iznad koje se model može smatrati pouzdanim (Bauer, 2006). Predviđeni koeficijent determinacije  $R_{pred}^2$  je mera iznosa varijacija u novim podacima objašnjenim pomoću modela. Vrednosti predviđenog koeficijenta determinacije su veće od 0,92 i u okviru prihvatljivih granica  $R_{pred}^2 \geq 0,80$  (Lundstedt i sar., 1998), što potvrđuje da su eksperimentalni podaci dobro uklopljeni u polinome drugog reda. Vrednosti prilagođenog koeficijenta determinacije  $R_{pred}^2$  su usklađene sa vrednostima predviđenog koeficijenta determinacije  $R_{adj}^2$ , jer je razlika između njih manja od 0,02. Ova razlika ne sme biti veća od 0,2, što je ispunjeno u slučaju razvijenih modela za prinose rezinoida i mineralnih materija.

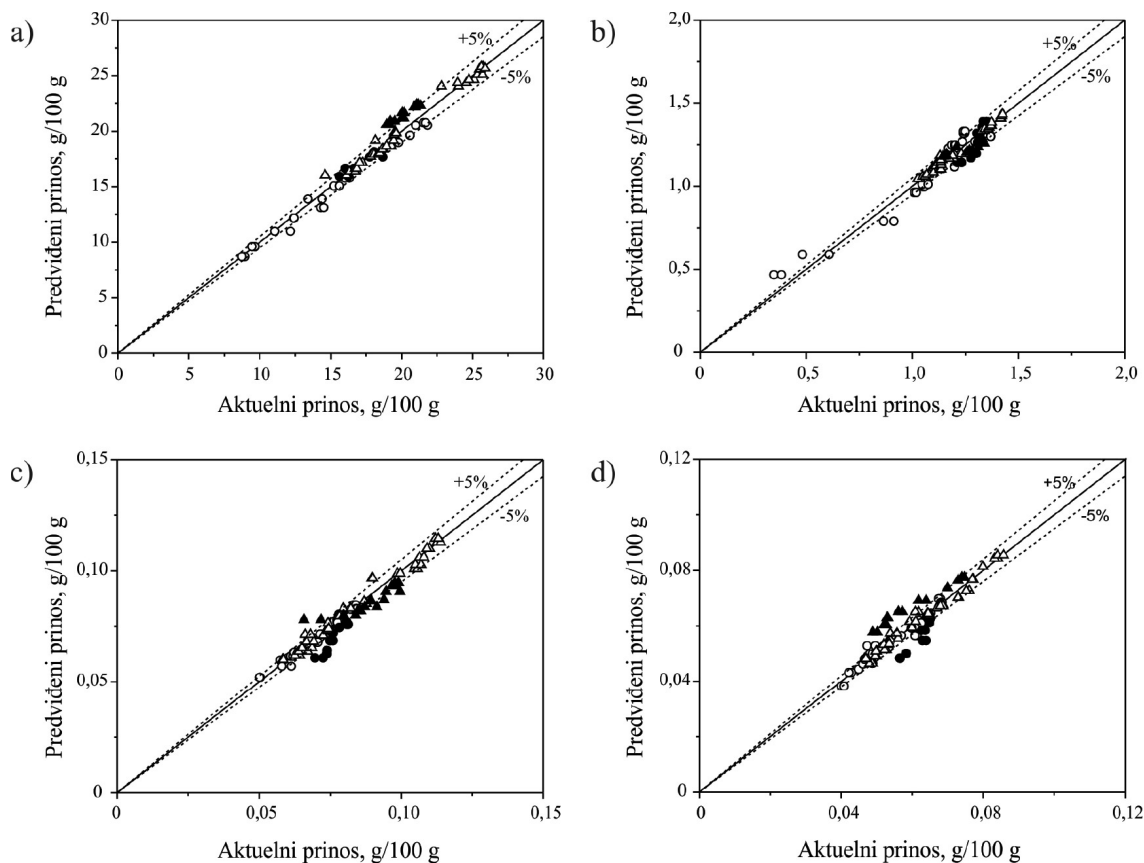
Koeficijent varijacije  $C.V.$  je odnos standardne devijacije i srednje vrednosti, tako da je reproduktivnost modela utoliko bolja ukoliko je njegova vrednost manja. Ako je vrednost koeficijenta varijacije  $C.V.$  manja od 10 %, model se smatra reproduktivnim (Myers i Montgomery, 2002). Veoma male vrednosti koeficijenta varijacije  $C.V.$  za rezinoide (3,2 %) i mineralne materije (1,6-5,7 %) ukazuju na male razlike između eksperimentalnih i izračunatih vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija, potvrđujući pouzdanost i dobru reproduktivnost modela.

Adekvatna preciznost  $Adeq.Prec.$  je mera raspona predviđenog odziva u odnosu na njegovu grešku, tj. radi se o odnosu signal-šum. Poželjno je da je  $Adeq.Prec. > 4$  (Anderson i Whitcomb, 2005). Pošto su vrednosti adekvatne preciznosti za prinose rezinoida i mineralnih materija veće od traženog minimuma, jasno je da postoji primeren signal i da se stoga razvijeni modeli polinoma drugog reda mogu koristiti za analize u eksperimentalnom prostoru.

Pouzdanost i tačnost modela polinoma drugog reda za prinose rezinoida i mineralnih materija potvrđuju, takođe, male vrednosti *MRPD* ( $< \pm 5,0$  %, tabela 4.7). Slika 4.9 ukazuje na dobro slaganje aktuelnih i predviđenih vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija, što znači da modeli adekvatno povezuju zavisne sa nezavisnim promenljivama.

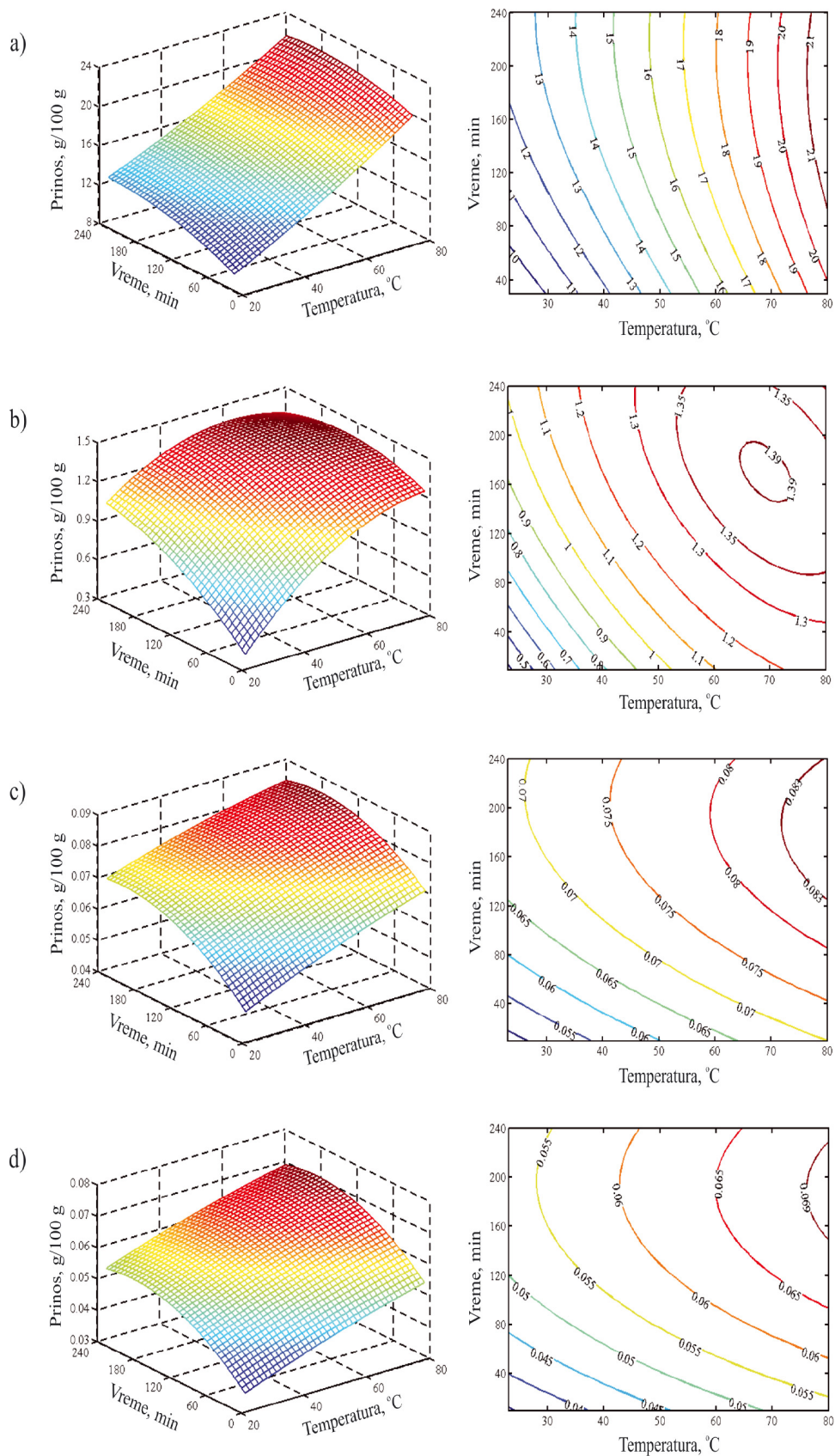
Modeli polinoma drugog reda su testirani sa vrednostima prinosa rezinoida i mineralnih materija postignutih maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom na 65 i 35 °C, respektivno. Vrednosti *MRPD* između eksperimentalnih i izračunatih vrednosti za prinose rezinoida i mineralnih materija za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju (po 16 podataka u svakom setu) potvrđuju sposobnost generalizacije modela u primenjenim opsezima temperature (23-80 °C i 23-40 °C, respektivno). U slučaju maceracije, vrednosti *MRPD* su:  $\pm 3,8$  % (rezinoid),  $\pm 4,1$  % (kalijum),  $\pm 9,0$  % (kalcijum) i  $\pm 8,0$  % (magnezijum), dok u slučaju ultrazvučne ekstrakcije one iznose:  $\pm 6,5$  % (rezinoid),  $\pm 3,9$  % (kalijum),  $\pm 5,7$  % (kalcijum) i  $\pm 11,3$  % (magnezijum). Veće vrednosti *MRPD* su zapažene kod kalcijuma i magnezijuma, i to u početnom periodu maceracije i ultrazvučne ekstrakcije.

S obzirom da su analize reziduala i Cook-ove udaljenosti pokazale da nema odstupanja od normalne raspodele i netipičnih podataka, da su vrednosti koeficijenata determinacije  $R^2$ ,  $R_{adj}^2$  i  $R_{pred}^2$  veće, redom, od 0,95, 0,94 i 0,92, da su vrednosti *MRPD* prihvatljivo male ( $\leq \pm 6$  %), kao i da su modeli validirani u okviru opsega nezavisnih promenljivih primenjenih u eksperimentalnom planu, modeli polinoma drugog reda za prinose mineralnih materija (kalijum, kalcijum i magnezijum) maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, sa vrednostima parametara datim u tabeli 4.7, mogu se smatrati adekvatnim za praktičnu primenu, bez obzira na statističko značajno odstupanje od modela. Smatra se da je visoka preciznost merenja prinosa mineralnih materija uzrokovala vrlo male čiste greške, što je dovelo do značajnog odstupanja od modela, kao i da modeli polinoma drugog reda za prinose mineralnih materija predstavljaju realnu zavisnost prinosa mineralnih materija od ekstrakcione temperature i ekstrakcionog vremena na zadovoljavajući način u korišćenom eksperimentalnom prostoru, tj. opsezima temperature i vremena ekstrakcije.

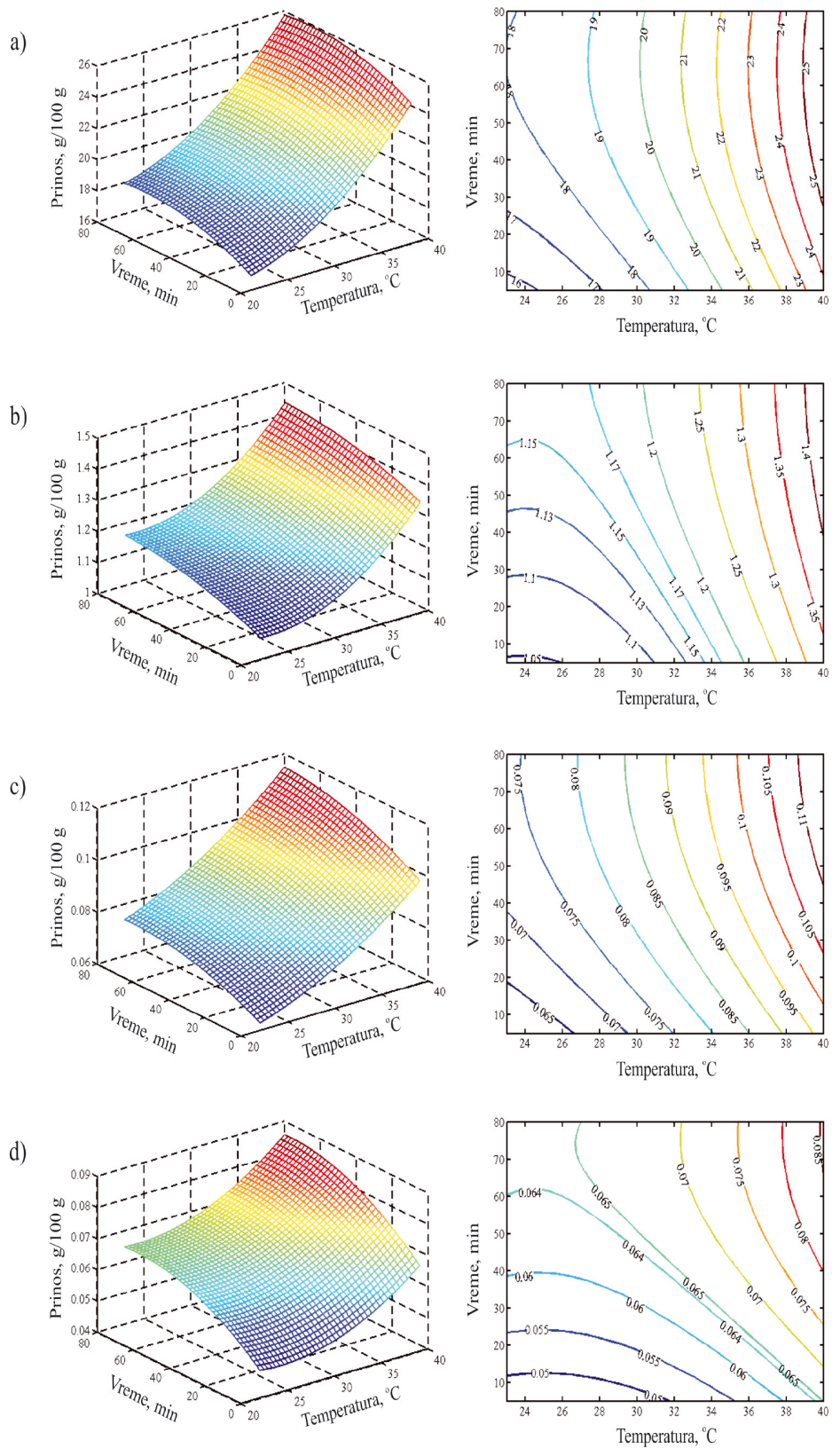


Slika 4.9 Poređenje predviđenih i eksperimentalnih vrednosti prinosa: a) rezinoida, b) kalijuma, c) kalcijuma i d) magnezijuma za model polinoma drugog reda (predviđene vrednosti: otvoreni simboli; testiranje razvijenih modela sa podacima za maceraciju na 65 °C i ultrazvučnu ekstrakciju na 35 °C: puni simboli; maceracija – ○, ● i ultrazvučna ekstrakcija – Δ, ▲).

Grafici površina odziva i konturni grafici za prinose rezinoida i mineralnih materija, kao funkcije temperature i vremena ekstrakcije opisane polinomom drugog reda, za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju prikazani su na sl. 4.10 i 4.11. Sa povišenjem temperature prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju za obe tehnike ekstrakcije kao rezultat povećanja rastvorljivosti i brzine prenosa mase ekstraktivnih materija, uključujući i mineralne materije, na višim temperaturama. Na višim temperaturama se smanjuju viskozitet i površinski napon rastvarača, što olakšava penetriranje rastvarača u biljne čestice. Delimično odstupanje od uočenog pravila, odnosno manje značajan uticaj temperature ekstrakcije na prinos kalijuma se javlja u slučaju ekstrakcije maceracijom pri dužem vremenu trajanja procesa, što može biti posledica postizanja ravnoteže usled dugog vremena kontakta između rastvarača i biljnog materijala. Na visokim temperaturama i pri dužem procesu ekstrakcije dostiže se maksimum prinosa kalijuma, što se lako uočava na konturnom grafiku na sl. 4.10b.



Slika 4.10 Površine odziva i konturni grafici na bazi polinoma drugog reda za prinose a) rezinoida, b) kalijuma, c) kalcijuma i d) magnezijuma dobijenih maceracijom kao funkcije temperature i vremena ekstrakcije



Slika 4.11 Površine odziva i konturni grafici na bazi polinoma drugog reda za prinose a) rezinoida, b) kalijuma, c) kalcijuma i d) magnezijuma dobijenih ultrazvučnom ekstrakcijom kao funkcije temperature i vremena ekstrakcije



Generalno, za obe tehnike ekstrakcije, prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa vremenom trajanja ekstrakcije. Uticaj vremena trajanja ekstrakcije je izraženiji na nižim temperaturama dok je na višim temperaturama manje značajan, kao posledica uticaja temperature na brzinu ekstrakcije i prinos ekstraktivnih materija. U slučaju ekstrakcije kalijuma maceracijom zabeleženo je smanjenje prinosa kalijuma na visokim temperaturama i pri dužem trajanju ekstrakcije, što potvrđuju eliptični oblici kontura na sl. 4.10b. Ovakvo ponašanje se možda može pripisati vezivanju jedinjenja kalijuma iz rastvora za biljni materijal.

Oblici površina odziva i konturnih grafika na sl. 4.10 i 4.11 potvrđuju slab uticaj interakcije između temperature i vremena ekstrakcije na prinose rezinoida i mineralnih materija. Grafici površina odziva i konturni grafici mogu poslužiti i za utvrđivanje operativnih uslova maceracije (sl. 4.10) i ultrazvučne ekstrakcije (sl. 4.11) pri kojima se postižu maksimalni prinosi rezinoida i mineralnih materija. Ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija se dostižu i maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, ali mnogo brže u drugom slučaju (posle samo 30 min). Ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija su veći u prisustvu ultrazvuka zbog pozitivnog efekta kolapsa kavitacionih mehura na razaranje bioloških membrana, čime se olakšava oslobađanje ekstraktivnih materija iz biljnih ćelija, penetracija rastvarača u biljni materijal i brzina prenosa mase (Paniwnyk i sar., 2001; Toma i sar., 2001; Vinatoru i sar., 1997).

Rezultati ispitivanja uticaja operativnih promenljivih na prinos ekstraktivnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* u odsustvu i prisustvu ultrazvuka slažu se sa ranije objavljenim zapažanjima, kao, na primer, sa rezultatima ekstrakcije rezinoida iz kantariona (*Hypericum perforatum* L.) (Milenović i Veljković, 2002) i bioaktivnih materija iz nevena (*Tagetes erecta* L.) (Gong i sar., 2012) maceracijom, kao i ulja semena *Isatis indigotica* Fort (Li i sar., 2012b) i flavonoida iz semena gloga (Pan i sar., 2012b) ultrazvučnom ekstrakcijom. Prinos rezinoida iz kantariona maceracijom povećava se sa povećanjem temperature ekstrakcije i odnosa rastvarač-biljni materijal, kao i sa smanjenjem koncentracije etanola i veličine biljnih čestica (Milenović i Veljković, 2002). Vreme, temperatura, koncentracija etanola i odnos rastvarač-biljni

materijal imaju statistički značajan uticaj na prinos flavonoida iz *F. populi* maceracijom (Sheng i sar., 2013) i flavonoida iz semena gloga ultrazvučnom ekstrakcijom (Pan i sar., 2012b). Temperatura maceracije i koncentracija etanola najviše utiču na prinos bioaktivnih materija (ukupni fenoli i flavonoidi) iz nevena (Gong i sar., 2012). Temperatura i vreme maceracije imaju značajan uticaj na prinos ukupnih fenola iz *Pleurotus porrigens* (Yim i sar., 2012). Temperatura je, takođe, uticajan faktor za ultrazvučnu ekstrakciju ulja semena biljne vrste *I. indigotica* Fort (Li i sar., 2012b). Najznačajnije ekstrakcione promenljive za ultrazvučnu ekstrakciju flavonoida iz semena gloga su vreme, koncentracija etanola i temperatura (Pan i sar., 2012b). Koncentracija etanola značajno utiče na prinose polifenola i antioksidanasa iz pirinčanih mekinja ultrazvučnom ekstrakcijom (Tabaraki i Nateghi, 2011). Metoda površine odziva nije do sada korišćena za ocenjivanje značajnosti uticaja operativnih promenljivih na prinose mineralnih materija postignutih maceracijom ili ultrazvučnom ekstrakcijom.

#### 4.3.1.2. Optimizacija operativnih uslova ekstrakcije metodom površine odziva

Optimizacija procesa maceracije i ultrazvučne ekstrakcije je izvršena korišćenjem programskog paketa Design-Expert koja je zasnovana na razvijenim modelima polinoma drugog reda i funkciji poželjnosti. Tražena vrednost odziva (prinos rezinoida ili mineralnih materija) može biti maksimalna ili minimalna ili tačno određena vrednost. Optimumi, tj. tačke koje definišu optimalne operativne uslove maceracije i ultrazvučne ekstrakcije, određeni su postavljanjem maksimalnog prinosa rezinoida ili mineralne materije kao željenog cilja optimizacije. Vrednosti maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija i selektivnosti ekstrakcije mineralnih materija pri optimalnim operativnim uslovima maceracije i ultrazvučne ekstrakcije su date u tabeli 4.8. Jasno se uočava da modeli polinoma drugog reda utvrđuju vrednosti maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija koje se dobro slažu sa aktuelnim prinosima.

Tabela 4.8 Maksimalni prinosi rezinoida i mineralnih materija i selektivnost ekstrakcije mineralnih materija pri optimalnim operativnim uslovima maceracije i ultrazvučne ekstrakcije

| Tehnika ekstrakcije            | Ekstraktivna materija | Metodologija površine odziva |           |                                      | Aktuelni maksimalni prinos g/100 g | Aktuelni stepen ekstrakcije % | Selektivnost mg/g |
|--------------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------|
|                                |                       | Optimalni uslovi             |           | Predviđeni maksimalni prinos g/100 g |                                    |                               |                   |
|                                |                       | Temperatura °C               | Vreme min |                                      |                                    |                               |                   |
| <b>Maceracija</b>              | Rezinoid              | 80                           | 192-208   | 21,7                                 | 20,8 <sup>a</sup>                  | 73,0                          |                   |
|                                | Kalijum               | 69                           | 152       | 1,393                                | 1,366 <sup>b</sup>                 | 78,8                          |                   |
|                                | Kalcijum              | 80                           | 169       | 0,0845                               | 0,0836 <sup>c</sup>                | 76,0                          |                   |
|                                | Magnezijum            | 79                           | 191       | 0,0696                               | 0,0634 <sup>d</sup>                | 44,0                          |                   |
| <b>Ultrazvučna ekstrakcija</b> | Rezinoid              | 40                           | 56-64     | 25,8                                 | 25,7 <sup>e</sup>                  | 90,2                          |                   |
|                                | Kalijum               | 40                           | 80        | 1,434                                | 1,424 <sup>f</sup>                 | 82,1                          |                   |
|                                | Kalcijum              | 40                           | 77        | 0,114                                | 0,113 <sup>g</sup>                 | 102,7                         |                   |
|                                | Magnezijum            | 40                           | 77        | 0,0855                               | 0,0849 <sup>f</sup>                | 59,0                          |                   |

<sup>a</sup>180 min. <sup>b</sup>80 °C i 150 min (prinos izračunat interpolacijom). <sup>c</sup>180 min. <sup>d</sup>80 °C i 180 min. <sup>e</sup>60 min. <sup>f</sup>80 min, <sup>g</sup>40 °C i 60 min.

Za maceraciju, maksimalni predviđeni prinos rezinoda iznosi 21,7 g/100 g (aktuelni prinos 20,8 g/100 g), a postiže se na 80 °C za 172 min. Sa tehnoekonomske tačke gledišta ovi uslovi nemaju praktičan značaj, pogotovo kad se uporede sa optimalnim uslovima ultrazvučne ekstrakcije. Najveći prinos rezinoida ultrazvučnom ekstrakcijom 25,8 g/100 g postiže se na 40 °C za oko 60 min. Ova vrednost maksimalnog predviđenog prinosa rezinoida slaže se sa stvarnim prinosom rezinoida postignutim na 40 °C za 60 min (25,7 g/100 g). Ovim se, na još jedan način, potvrđuje adekvatnost razvijenog modela polinoma drugog reda. Maksimalne predviđene vrednosti stepena ekstrakcije maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom iznose 76,1 i 90,2 %, respektivno.

U odnosu na eksperimentalne rezultate, maksimalni predviđeni prinosi mineralnih materija maceracijom postižu se pri istoj (kalcijum i magnezijum 79-80 °C) ili nižoj (kalijum 65 °C) temperaturi i za približno isto (kalijum 180 min), nešto duže (kalcijum 187 min) ili nešto kraće (magnezijum 158 min) vreme. U poređenju sa stvarnim procesom ultrazvučne ekstrakcije, maksimalne vrednosti predviđenog prinosa mineralnih materija postižu se pri istoj temperaturi (40 °C), ali za duže vreme (kalijum 80 min, kalcijum 72 min i magnezijum 79 min).

Vrednosti selektivnosti mineralnih materija za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju su, takođe, date u tabeli 4.8. Pod optimalnim operativnim uslovima, maceracija obezbeđuje veću selektivnost ekstrakcije mineralnih materija od ultrazvučne ekstrakcije, što znači da ultrazvuk više doprinosi ekstrakciji pratećih ekstraktivnih materija nego ekstrakciji jedinjenja kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Vrednosti selektivnosti ekstrakcije mineralnih materija za obe tehnike ekstrakcije se međusobno razlikuju. Najveća vrednost selektivnosti ekstrakcije je zabeležena za kalijum, pa onda za kalcijum i magnezijum, što je verovatno vezano za različitu rastvorljivost i dostupnost njihovih jedinjenja.

## 4.3.2. Optimizacija kombinacijom veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma

### 4.3.2.1. Modeli veštačkih neuronskih mreža

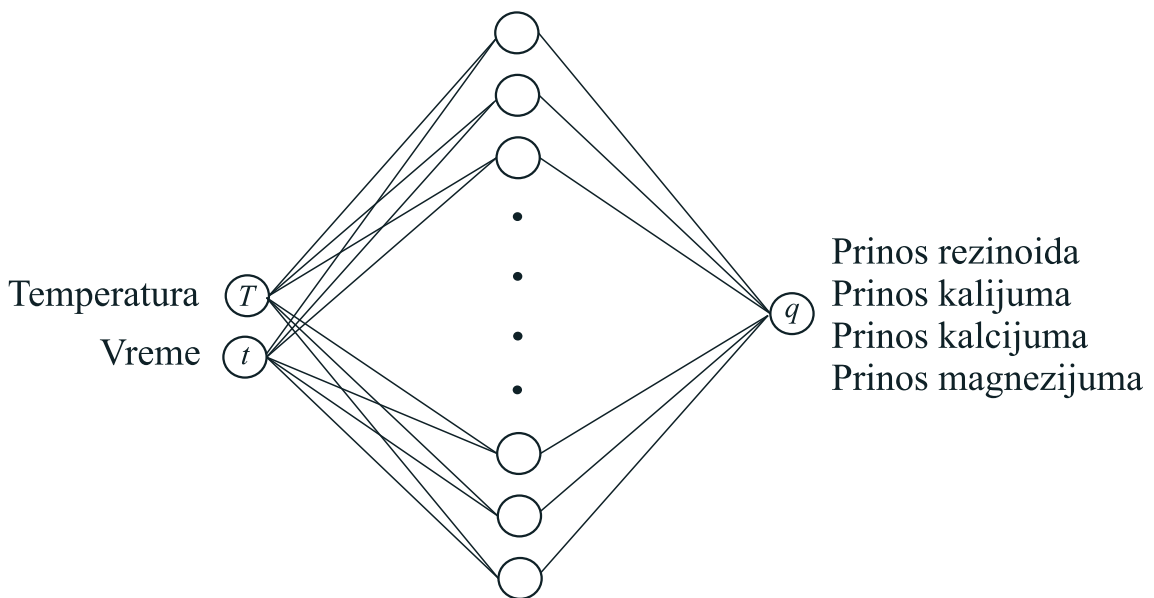
Za modelovanje zavisnosti prinosa rezinoida i mineralnih materija od temperature i vremena ekstrakcije razvijene su višeslojne veštačke neuronske mreže, korišćenjem programskog paketa MATLAB R2013a (8.1.0.604) 64-bit. Ove mreže koriste Levenberg–Marquardt-ov algoritam sa povratnim širenjem signala (*back propagation*) i skupove ulaznih i izlaznih podataka da bi uspostavile veze između prinosa rezinoida i mineralnih materija i operativnih uslova (temperatura i vreme) ekstrakcije. Adekvatnost razvijenih modela je ocenjena na bazi vrednosti *MSE*.

Veštačke neuronske mreže se primenjuju u tri faze: obučavanje (treniranje), testiranje i validacija, pa su svi eksperimentalni podaci za prinos rezinoida ili mineralnih materija podeljeni u tri grupe. U fazi obučavanja, 70 % podataka su nasumično izabrani od početnog skupa podataka i težinski parametri su utvrđeni kroz niz iteracija potrebnih za postizanje minimalne vrednosti *MSE* između predviđenih i aktuelnih vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija. U toku druge faze (testiranje), 15 % od ukupnog broja podataka je korišćeno za testiranje obučene veštačke neuronske mreže. U ovoj fazi, veštačke neuronske mreže koriste težinske parametre određene tokom prve faze. Poslednja faza (validacija) je provera mreže na preostalom podskupu podataka (15% od ukupnog broja podataka). Faza validacije predstavlja konačno predviđanje prinosa rezinoida ili mineralnih materija razvijenom veštačkom neuronskom mrežom u dve prethodne faze, koristeći novi podskup eksperimentalnih podataka.

Arhitektura veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida i mineralnih materija je prikazana na sl. 4.12. Veštačke neuronske mreže se sastoje od tri sloja neurona, i to: ulaznog, skrivenog i izlaznog. Ulazni sloj ima dva neurona, koji predstavljaju ulazne podatke o temperaturi i vremenu ekstrakcije. Izlazni sloj sadrži jedan neuron, koji

predstavlja prinos rezinoida ili mineralnih materija (kalijuma, kalcijuma ili magnezijuma). Broj neurona u skrivenom sloju se određuje heurističkom procedurom, tako što se testira različit broj neurona sve dok se ne dobije minimalna vrednost *MSE* za izlazne podatke. Glavne karakteristike veštačkih neuronskih mreža za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija predstavljene su u tabeli 4.9.

Vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija dobijenih maceracijom na 23, 50 i 80°C i ultrazvučnom ekstrakcijom na 23, 30 i 40 °C, korišćene su za razvoj veštačkih neuronskih mreža za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija. Vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija dobijenih maceracijom, odnosno ultrazvučnom ekstrakcijom na 65 °C, odnosno 35 °C korišćene su za testiranje (validaciju) razvijenih veštačkih neuronskih mreža.



Slika 4.12 Arhitektura veštačke neuronske mreže za prinose rezinoida i mineralnih materija

Tabela 4.9 Glavne karakteristike veštačkih neuronskih mreža za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija

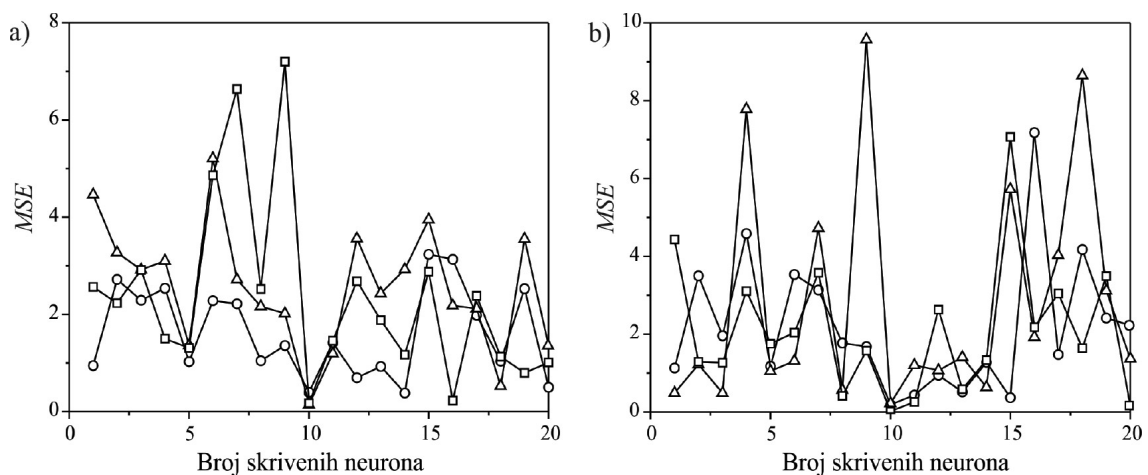
| <b>Karakteristika</b>                  |  |
|--|--|
| <b>Algoritam</b>                       | Levenberg-Marquardt, sa povratnim širenjem signala   |
| <b>Minimalizovanje greške funkcije</b> | <i>MSE</i>   |
| <b>Učenje</b>                          | Nadgledni tip  |
| <b>Ulazni sloj</b>                     | Bez prenosne funkcije  |
| <b>Skriveni sloj</b>                   | Hiperbolična tangetna sigmoidalna prenosna funkcija  |
| <b>Izlazni sloj</b>                    | Hiperbolična tangetna sigmoidalna prenosna funkcija  |
| <b>Broj podataka</b>                   | 50 <sup>a</sup> , 48 <sup>b</sup>  |
| <b>Broj izvršenih iteracija</b>        | Rezinoid: 23 <sup>a</sup> , 15 <sup>b</sup><br>Kalijum: 18 <sup>a</sup> , 9 <sup>b</sup><br>Kalcijum: 27 <sup>a</sup> , 13 <sup>b</sup><br>Magnezijum: 96 <sup>a</sup> , 11 <sup>b</sup> |
| <b>Broj najboljih iteracija</b>        | Rezinoid: 17 <sup>a</sup> , 9 <sup>b</sup><br>Kalijum: 12 <sup>a</sup> , 3 <sup>b</sup><br>Kalcijum: 21 <sup>a</sup> , 7 <sup>b</sup><br>Magnezijum: 96 <sup>a</sup> , 7 <sup>b</sup>    |
| <b>Broj ulaznih neurona</b>            | 2 <sup>c</sup>   |
| <b>Broj neurona skrivenog sloja</b>    | Testirano sa 1-20 neurona (optimalan broj 10)  |
| <b>Broj izlaznih neurona</b>           | 1 <sup>d</sup>   |

<sup>a</sup> Maceracija. <sup>b</sup> Ultrazvučna ekstrakcija. <sup>c</sup> Temperature (T) i vreme (t). <sup>d</sup> Prinos rezinoida, kalijuma, kalcijuma ili magnezijuma.

#### 4.3.2.2. Modeli veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida i mineralnih materija

Radi ilustracije korišćenog postupka modelovanja prinosa rezinoda i mineralnih materija, na sl. 4.13 prikazana je zavisnost *MSE* od broja neurona u skrivenom sloju veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida maceracijom i ultazvučnom

ekstrakcijom. Minimalne vrednosti  $MSE$  za treniranje, testiranje i validaciju veštačkih neuronskih mreža su dobijene kada se skriveni sloj sastojao od 10 neurona i iznosile su 0,40, 0,14 i 0,17 za maceraciju, odnosno 0,19, 0,22 i 0,02 za ultrazvučnu ekstrakciju (tabela 4.10). Na osnovu ovog rezultata, u modelovanju prinosa rezinoida i mineralnih materija korišćene su veštačke neuronske mreže sa topologijom 2-10-1. Prilikom treniranja, testiranja i validacije veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida, vrednost  $MSE$  opada brzo sa porastom broja epoha (iteracija), kao što se vidi na sl. 4.14. Najbolja validacija veštačkih neuronskih mreža za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju je dobijena na devetoj i petoj epohi, kada su vrednosti  $MSE$  iznosile 0,17 i 0,22, respektivno. Ostali značajni rezultati vezani za treniranje, testiranje i validaciju veštačkih neuronskih mreža za prinose rezinoida i mineralnih materija ostvarene maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, kao što su:  $MSE$ ,  $MRPD$ , koeficijent korelacije  $R$  i broj iteracija (epoha) sa najboljim rezultatom validacije, date su u tabeli 4.10. Veštačke neuronske mreže sa topologijom 2-10-1 za prinose rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom imaju vrednosti koeficijenta korelacije bliske jedinici ( $\geq 0,98$ ). Takođe, sl. 4.14 i male vrednosti  $MRPD$  date u tabeli 4.10 potvrđuje dobro slaganje aktuelnih i predviđenih vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija.



Slika 4.13 Zavisnost  $MSE$  od broja neurona u skrivenom sloju za prinose rezinoida: a) maceracija i b) ultrazvučna ekstrakcija (treniranje –  $\circ$ , testiranje –  $\Delta$  i validacija –  $\square$ )

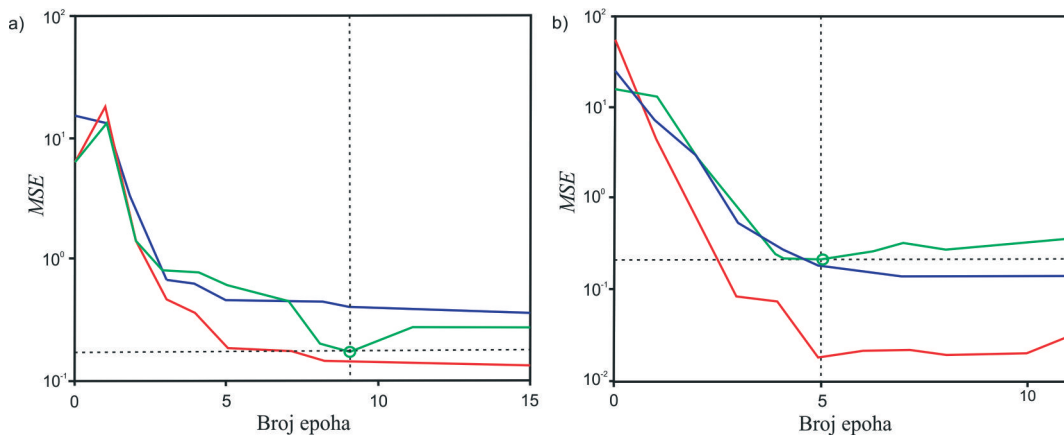


Tabela 4.10 Rezultati modelovanja prinosa rezinoida i mineralnih materija modelom veštačke neuronske mreže sa topologijom 2-10-1

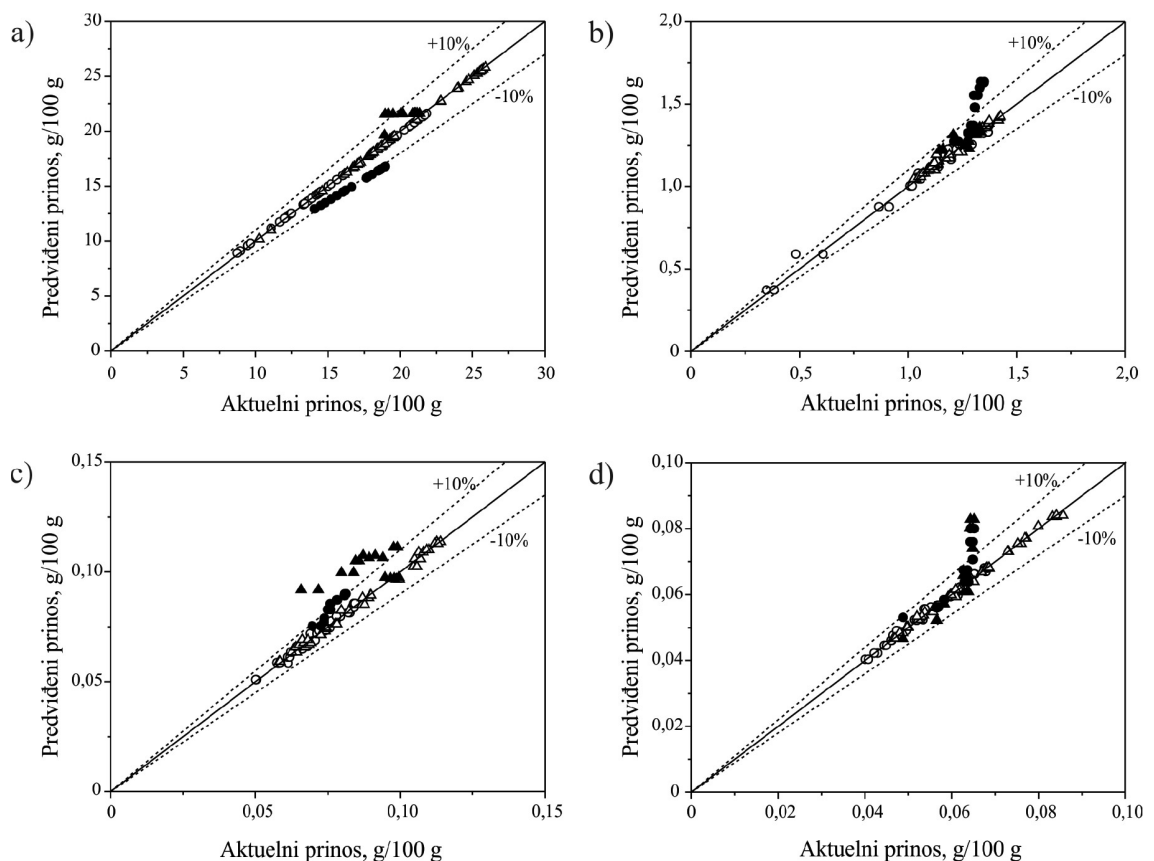
| Ekstrakciona tehnika           | Ekstraktivne materije | Treniranje           |                | Testiranje           |                | Validacija           |                | Epoha <sup>b</sup> | Korelacija svih podataka | MRPD % |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|--------------------|--------------------------|--------|
|                                |                       | MSE                  | R <sup>a</sup> | MSE                  | R <sup>a</sup> | MSE                  | R <sup>a</sup> |                    | R <sup>a</sup>           |        |
| <b>Maceracija</b>              | Rezinoid              | $3,95 \cdot 10^{-1}$ | 0,985          | $1,42 \cdot 10^{-1}$ | 0,995          | $1,71 \cdot 10^{-1}$ | 0,996          | 9                  | 0,989                    | ±0,6   |
|                                | Kalijum               | $4,31 \cdot 10^{-4}$ | 0,996          | $2,06 \cdot 10^{-3}$ | 0,998          | $4,38 \cdot 10^{-4}$ | 0,997          | 12                 | 0,994                    | ±2,0   |
|                                | Kalcijum              | $9,66 \cdot 10^{-7}$ | 0,993          | $2,35 \cdot 10^{-6}$ | 0,994          | $1,51 \cdot 10^{-6}$ | 0,991          | 21                 | 0,991                    | ±1,3   |
|                                | Magnezijum            | $3,67 \cdot 10^{-7}$ | 0,997          | $9,03 \cdot 10^{-7}$ | 0,995          | $1,39 \cdot 10^{-6}$ | 0,997          | 96                 | 0,997                    | ±1,0   |
| <b>Ultrazvučna ekstrakcija</b> | Rezinoid              | $1,86 \cdot 10^{-1}$ | 0,994          | $1,75 \cdot 10^{-2}$ | 0,999          | $2,19 \cdot 10^{-1}$ | 0,997          | <b>5</b>           | 0,995                    | ±0,4   |
|                                | Kalijum               | $3,03 \cdot 10^{-4}$ | 0,992          | $2,37 \cdot 10^{-4}$ | 0,996          | $1,98 \cdot 10^{-4}$ | 0,996          | 3                  | 0,993                    | ±1,0   |
|                                | Kalcijum              | $2,33 \cdot 10^{-6}$ | 0,996          | $1,68 \cdot 10^{-6}$ | 0,996          | $1,78 \cdot 10^{-6}$ | 0,998          | 7                  | 0,996                    | ±1,5   |
|                                | Magnezijum            | $1,19 \cdot 10^{-7}$ | 0,999          | $1,35 \cdot 10^{-6}$ | 0,997          | $3,64 \cdot 10^{-7}$ | 0,997          | 7                  | 0,999                    | ±0,6   |

<sup>a</sup> Koeffcijent korelacije između predviđenih i aktuelnih vrednosti prinosa.

<sup>b</sup> Redni broj epohe sa najboljim rezultatom validacije.



Slika 4.14 Zavisnost MSE od broja iteracija (epoha) za veštačke neuronske mreže za prinose rezinoida sa topologijom 2-10-1: a) maceracija i b) ultrazvučna ekstrakcija (treniranje – plava linija, testiranje – crvena linija i validacija – zelena linija)



Slika 4.15 Poređenje predviđenih i eksperimentalnih vrednosti prinosa: a) rezinoida, b) kalijuma, c) kalcijuma i d) magnezijuma za modele veštačkih neuronskih mreža sa topologijom 2-10-1 (predviđene vrednosti: otvoreni simboli; testiranje razvijenog modela prinosa rezinoida dobijenih maceracijom na  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  i ultrazvučnom ekstrakcijom na  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ : puni simboli; maceracija –  $\circ$ ,  $\bullet$  i ultrazvučna ekstrakcija –  $\Delta$ ,  $\blacktriangle$ ).

Razvijeni modeli veštačkih neuronskih mreža su testirani sa vrednostima prinosa rezinoida i mineralnih materija dobijenih maceracijom na 65 °C i ultrazvučnom ekstrakcijom na 35 °C. Moć generalizacije razvijenih modela je potvrđena u primenjenom opsegu temperature ekstrakcije pošto su vrednosti *MRPD* bile prihvatljive, i to: za maceraciju  $\pm 10,2$  % (rezinoid),  $\pm 13,6$  % (kalijum),  $\pm 9,2$  % (kalcijum) i  $\pm 8,5$  % (magnezijum), a za ultrazvučnu ekstrakciju  $\pm 6,9$  % (rezinoid),  $\pm 2,7$  % (kalijum),  $\pm 16,4$  % (kalcijum) i  $\pm 6,7$  % (magnezijum). Naročito velika odstupanja zapažena su za prinos kalcijuma ( $\pm 20$ – $40$  %) ultrazvučnom ekstrakcijom u početnom periodu ( $\leq$  do 20 min), kao i za prinos magnezijuma ( $\pm 17$ – $25$  %) maceracijom u završnom delu procesa ( $\geq$  180 min).

Površine odziva i konturni dijagrami na bazi vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija koje predviđaju modeli veštačkih neuronskih mreža kao funkcija temperature i vremena za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju slični su površinama odziva i konturnim dijagramima dobijenih na osnovu modela polinoma drugog reda, pa neće biti prikazani i diskutovani.

#### 4.3.2.3. Optimizacija operativnih uslova ekstrakcije rezinoida metodom genetičkog algoritma

Radi određivanja optimalnih uslova ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*, ulazni prostori razvijenih veštačkih neuronskih mreža su optimizovani korišćenjem metode genetičkog algoritma (Desai i sar., 2008; Marchitana i sar., 2010; Rajendra i sar., 2009). Ova metoda spada u grupu stohastičkih optimizacionih metoda, a bazirana je na konceptu prirodne selekcije i evolucije. Genetički algoritam predstavlja svaku tačku svog prostora rešenja preko binarnog niza (stringa), koji se zove hromozom. Obično se koristi niz hromozoma, koji se naziva populacija. Svakom hromozomu populacije pridružuje se određena vrednost prilagođenosti (podobnosti ili fitnesa), čija se procena svodi na određivanje fitnes (kriterijumske) funkcije. Populacija evoluiru u pravcu zadovoljenja fitnes funkcije. Genetički algoritam proizvodi novu populaciju u svakoj generaciji promenom genetičkih operatora: selekcije, ukrštanja i mutacije. Pri tome, oni članovi populacije koji bolje zadovoljavaju fitnes funkciju imaju veću šansu da “prežive” i učestvuju u

budućim ukrštanjima. Posle određenog broja generacija, dobija se populacija sa članovima sa većim stepenom zadovoljenja fitnes funkcije.

Ulazni podaci za temperaturu i vreme ekstrakcije su odlučujuće promenljive za genetički algoritam, koji vrši optimizaciju kroz ponavljanja do konvergencije, sa ciljem maksimiziranja prinosa rezinoida ili mineralne materije. Genetički algoritam počinje sa ulaznim skupom temperatura i vremena, koji predstavlja početnu populaciju hromozoma. Genetički algoritam slučajno bira članove iz aktuelne populacije, koja u ulozi “roditelja” produkuje “deca” naredne generacije uz korišćenje pravila selekcije, ukrštanja i mutacije. Zatim, genetički algoritam izračunava vrednosti fitnes funkcije svih hromozoma i selektuje najbolje. Ovde vredi reći da je fitnes funkcija u terminologiji genetičkog programiranja isto što i objektivna funkcija u terminologiji matematičkog programiranja. Pošto se izračunaju vrednosti fitnes funkcije za svaki pojedinačni hromozom (rešenje), proverava se kriterijum za zaustavljanje genetičkog algoritma, koji se definiše kao određena vrednost  $MFSE$ . Ako je ovaj kriterijum dostignut, zaustavlja se rad genetičkog algoritma, a dobijeno rešenje se prihvata kao optimalno. Ovo rešenje obuhvata vrednosti prinosa rezinoida ili mineralnih materija, temperature i vremena. Ako kriterijum za zaustavljanje rada genetičkog algoritma nije dostignut, onda se neki hromozomi selektuju iz aktuelne populacije na bazi rangiranja i sortiranja vrednosti fitnes funkcije. Ovi selektirani hromozomi “roditelji” se koriste da bi se produkovala nova generacija “dece” hromozoma, pri čemu se koriste vrednosti genetičkih operatora: reprodukcija, ukrštanje i mutacija. Dozvoljava se, takođe, da se određen broj “dece” hromozoma direktno prenese u narednu generaciju (tzv. elitizam). Posle određenog broja generacija, genetički algoritam konverguje prema najboljem hromozomu, tj. optimalnom rešenju. Potraga za optimalnim rešenjem u svim fazama optimizacionog postupka je ograničena u granicama procesnih promenljivih koje su definisane eksperimentalnim planom.

Za optimizaciju prinosa rezinoida i mineralnih materija korišćena je fitnes funkcija u vidu prethodno obučene, testirane i validirane veštačke neuronske mreže. Primenom genetičkog algoritma optimizovan je ulazni skup procesnih promenljivih (temperature i vremena ekstrakcije) za neuronsku mrežu na sledeći način:

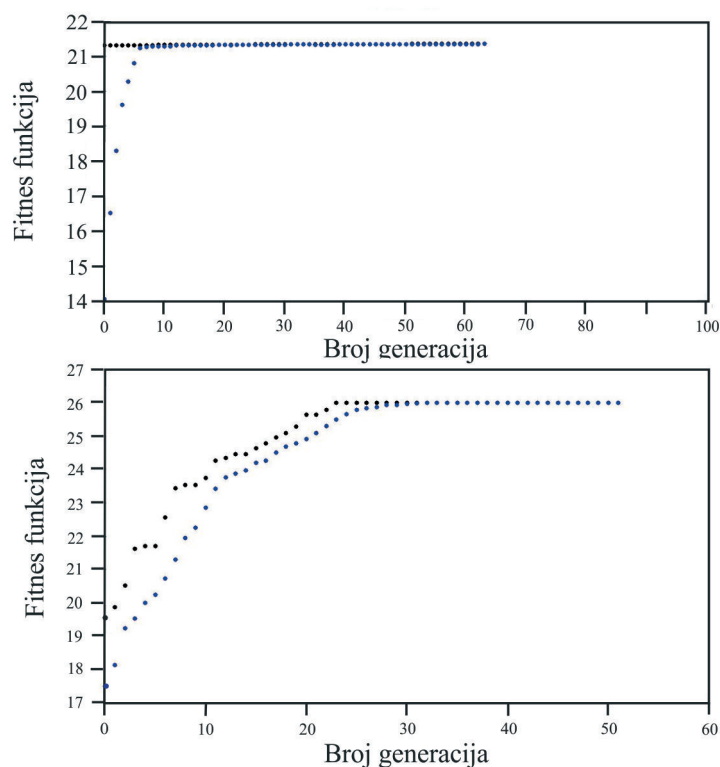
$$\text{Maximize } q = f(T, t) \quad (4.5)$$

gde je:  $q$  - prinos rezinoida ili mineralnih materija, a  $f(T, t)$  - fitnes funkcija u obliku prethodno obučene, testirane i validirane veštačke neuronske mreže. Veštačka neuronska mreža formira nelinearne veze između odgovora (prinosi rezinoida ili mineralnih materija) i procesnih promenljivih (temperatura i vreme). Izračunavanja pomoću genetičkog algoritma se izvršavaju do postizanja odgovarajućih prinosa, kada srednja vrednost sume kvadrata razlike između najbolje individualne i srednje fitnes funkcije aktuelne populacije (tj.  $MFSE$ ) hromozoma postane manja od prethodno definisane male vrednosti. Vrednost  $MFSE$  se izračunava pomoću jednačine (3.10) (Rajendra i sar., 2009).

Optimizaciji pomoću genetičkog algoritma u kombinaciji sa veštačkom neuronskom mrežom prethodi nalaženje vrednosti genetičkih operatora. Prethodnim probnim izračunavanjima utvrđeni su sledeći uslovi rada genetičkog algoritma:

- izračunavanja u svakoj fazi su ograničena graničnim vrednostima temperature ( $23 \leq T \leq 80$  °C za maceraciju i  $23 \leq T \leq 80$  °C za ultrazvučnu ekstrakciju) i vremena ( $0 \leq t \leq 240$  min za maceraciju i  $0 \leq t \leq 80$  min za ultrazvučnu ekstrakciju);
- kriterijumi za zaustavljanje izračunavanja su: a) broj generacija 60, b) vreme izračunavanja  $\infty$ , c) granica fitnes funkcije  $-\infty$  i d)  $MFSE \leq 10^{-6}$ ;
- vrsta populacije: dvostruko vektorska (pri čemu jedan vector sadrži vrednosti temperature, a drugi vrednosti vremena), sa funkcijom kreiranja koja je zavisna od ograničenja i ostalim podrazumevanim vrednostima;
- početna populacija: ulazne vrednosti temperature i vremena;
- veličina populacije: 50 za maceraciju i 30 za ultrazvučnu ekstrakciju;
- rangirano skaliranje fitnes funkcije;
- selekcija u vidu stohastičke uniformne funkcije;
- reprodukcija sa izborom dve najbolje jedinke i verovatnoćom ukrštanja 0,8;
- raštrkano ukrštanje;
- migracija unapred sa stepenom 0,2 i intervalom 20 (podrazumevane vrednosti);
- mutacija sa prilagodljivom i izvodljivom funkcijom;
- parametri ograničenja sa podrazumevanim vrednostima;
- bez hibridne funkcije.

Uslovi maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija su optimizovani pri odabranim uslovima rada genetičkog algoritma sprovođenjem izračunavanja kroz određeni broj generacija. Radi ilustracije postupka izračunavanja, promene vrednosti fitnes funkcije za prinose rezinoida maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom prikazane su na slici 4.16. Najbolja vrednost fitnes funkcije se poboljšava brzo u prvim generacijama, kada su jedinke daleko od optimalnog rešenja. Njihovo poboljšavanje je sporije u kasnijim generacijama čije populacije su bliže optimalnom rešenju. Posle određenog broja generacija (maceracija 63 i ultrazvučna ekstrakcija 51), genetički algoritam konvergira ka optimalnom rešenju.



Slika 4.16 Promene vrednosti fitnes funkcije za prinos rezinoida u toku izračunavanja a) maceracija i b) ultrazvučna ekstrakcija (vrednost fitnes funkcije: najbolja – ● i srednja – ●)

Maksimalne vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija pri optimalnim uslovima maceracije i ultrazvučne ekstrakcije koji su određeni metodom genetičkog algoritma date su u tabeli 4.11. Ove vrednosti se dobro slažu sa aktuelnim maksimalnim vrednostima prinosa rezinoida i mineralnih materija ostvarenim pod istim uslovima maceracije i ultrazvučne ekstrakcije. Maksimalni predviđeni prinos rezinoida

maceracijom na temperaturi 80 °C i za vreme od 193 min iznosi 21,3 g/100 g, što se slaže sa eksperimentalnom vrednošću 20,8 g/100 g pri skoro istim ekstrakcionim uslovima. Za ultrazvučnu ekstrakciju, maksimalni predviđeni prinos rezinoida od 26,0 g/100 g ostvaruje se na temperaturi 40°C za 56 min, koji je saglasan sa aktuelnom vrednošću 25,7 g/100 g pri približno istim uslovima ekstrakcije.

#### 4.3.3. Poređenje modela polinoma drugog reda i veštačke neuronske mreže

Modeli polinoma drugog reda i veštačke neuronske mreže za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija mogu se porediti na osnovu vrednosti  $R^2$ ,  $MRPD$  (tabela 4.12) i predviđenih maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija koji se postižu pri optimalnim procesnim uslovima (tabela 4.13).

Tabela 4.12 pokazuje da su vrednosti  $R^2$  bliske jedinici, a vrednosti  $MRPD$  male, tako da su oba modela prihvatljiva za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom u opsegu temperature 23-80 °C i 23-40 °C, respektivno. Pri tome, modeli veštačke neuronske mreže imaju veće vrednosti  $R^2$  i manje vrednosti  $MRPD$  u navedenim opsezima temperature od modela polinoma drugog reda, što znači da su prvi modeli bolji od drugih. Složeniju sliku stvara poređenje modela u odnosu na podatke koji su korišćeni za validaciju modela. Tako se vrednosti aktuelnih prinosa rezinoida i mineralnih materija maceracijom na 65 °C bolje slažu sa vrednostima prinosa koje predviđaju modeli polinoma drugog reda nego modeli veštačke neuronske mreže, što se zaključuje na osnovu manjih vrednosti  $MRPD$ . Međutim, kod prinosa rezinoida i mineralnih materija ultrazvučnom ekstrakcijom na 35 °C zapaža se da su modeli polinoma drugog reda bolji u slučaju rezinoida i kalcijuma, a lošiji u slučaju kalijuma i magnezijuma.

Tabela 4.11 Rezultati optimizacije prinosa rezinoida i mineralnih materija kombinacijom modela veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma<sup>a</sup>

| Ekstrakciona tehnika    | Ekstraktivne materije | Broj izvršenih iteracija | Optimalni uslovi            |                        | Predviđeni <sup>b</sup> prinos g/100 g | Aktuelni prinos g/100 g | RPD % |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|--|-------------------------|-------|
|                         |                       |                          | Temperatura <sup>b</sup> °C | Vreme <sup>b</sup> min |  |                         |       |
| Maceracija              | Rezinoid              | 51-63                    | 80±0                        | 193±3                  | 21,3±0,0                               | 20,8 <sup>c</sup>       | -2,4  |
|                         | Kalijum               | 52-68                    | 59,6±0,2                    | 171±2                  | 1,466±0,001                            | 1,342 <sup>d</sup>      | -9,2  |
|                         | Kalcijum              | 51-52                    | 80,1±0,2                    | 170±9                  | 0,0829±0,0005                          | 0,0838 <sup>c</sup>     | 1,1   |
|                         | Magnezijum            | 51-59                    | 77±0                        | 196±2                  | 0,0690±0,0001                          | 0,0677 <sup>c</sup>     | -1,9  |
| Ultrazvučna ekstrakcija | Rezinoid              | 51                       | 40,0±0,0                    | 55,9±0,2               | 26,0±0,0                               | 25,7 <sup>e</sup>       | -1,2  |
|                         | Kalijum               | 51                       | 40,0±0,0                    | 78,4±2,8               | 1,425±0,001                            | 1,424 <sup>f</sup>      | -0,1  |
|                         | Kalcijum              | 51                       | 38,1±0,0                    | 65,3±4,1               | 0,115±0,000                            | 0,113 <sup>g</sup>      | 1,8   |
|                         | Magnezijum            | 51                       | 39,9±0,1                    | 79,3±1,3               | 0,0841±0,0000                          | 0,0849 <sup>f</sup>     | 0,9   |

<sup>a</sup> Veličina populacije: 30, stepen ukrštanja: 0,8 i stepen migracije 0,2. <sup>b</sup> Srednja vrednost ± standardna devijacija (n = 10). <sup>c</sup> 80 °C i 180 min. <sup>d</sup> 65 °C i 180 min. <sup>e</sup> 60 min. <sup>f</sup> 80 min. <sup>g</sup> 40 °C i 60 min.



Tabela 4.12 Poređenje modela polinoma drugog reda i modela veštačke neuronske mreže

| Ekstraktivna materija | Tip modela <sup>a</sup> | Maceracija          |             |                          |             | Ultrazvučna ekstrakcija |             |                          |             |
|-----------------------|-------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|-------------|-------------------------|-------------|--------------------------|-------------|
|                       |                         | Polinom drugog reda |             | Veštačka neuronska mreža |             | Polinom drugog reda     |             | Veštačka neuronska mreža |             |
|                       |                         | $R^2$               | $MRPD$<br>% | $R^2$                    | $MRPD$<br>% | $R^2$                   | $MRPD$<br>% | $R^2$                    | $MRPD$<br>% |
| Rezonid               | Model                   | 0,980               | ±3,5        | 0,986                    | ±0,6        | 0,970                   | ±1,5        | 0,974                    | ±0,4        |
|                       | Validacija modela       |                     | ±3,8        |                          | ±10,2       |                         | ±6,6        |                          | ±6,9        |
| Kalijum               | Model                   | 0,948               | ±5,7        | 0,988                    | ±2,0        | 0,981                   | ±1,2        | 0,986                    | ±1,0        |
|                       | Validacija modela       |                     | ±4,1        |                          | ±13,6       |                         | ±3,9        |                          | ±2,7        |
| Kalcijum              | Model                   | 0,973               | ±1,7        | 0,988                    | ±1,3        | 0,978                   | ±2,3        | 0,993                    | ±1,5        |
|                       | Validacija modela       |                     | ±9,0        |                          | ±9,2        |                         | ±5,7        |                          | ±16,4       |
| Magnezijum            | Model                   | 0,956               | ±2,5        | 0,991                    | ±1,0        | 0,981                   | ±1,9        | 0,997                    | ±0,6        |
|                       | Validacija modela       |                     | ±8,0        |                          | ±8,5        |                         | ±11,3       |                          | ±6,7        |

<sup>a</sup>Maceracija: razvoj modela – 23, 50 i 80°C, validacija modela - 65°C.

Ultrazvučna ekstrakcija: razvoj modela - 23, 30 i 40°C, validacija modela - 35°C.

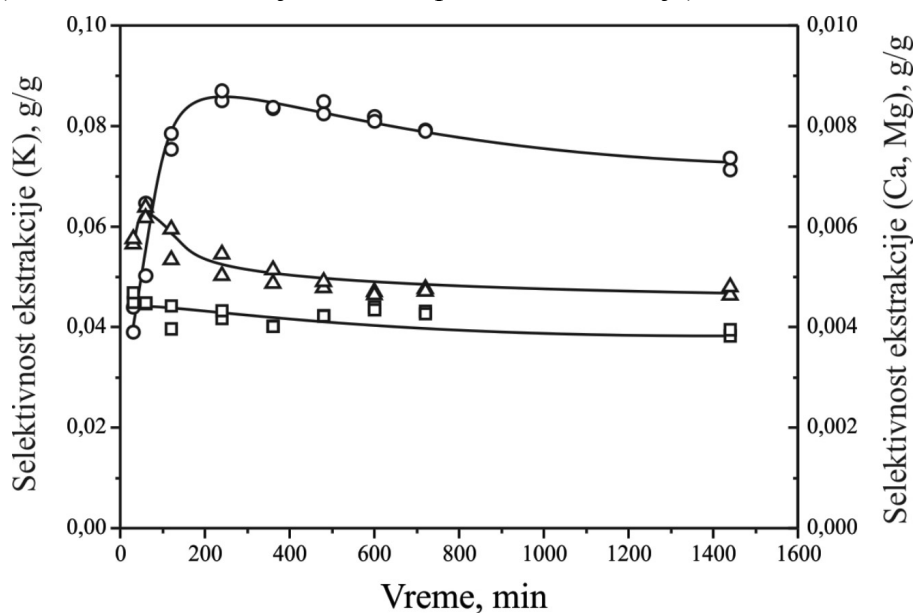
Tabela 4.13 Poređenje maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija pri optimalnim operativnim uslovima maceracije i ultrazvučne ekstrakcije određenim metodologijom površine odziva i kombinacijom veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma

| Tehnika ekstrakcije     | Ekstraktivna materija | Metodologija površine odziva |           |                                      | Veštačka neuronska mreža i genetički algoritam |           |                                      | RPD % |
|-------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------|--------------------------------------|--|-----------|--------------------------------------|-------|
|                         |                       | Temperatura °C               | Vreme min | Predviđeni maksimalni prinos g/100 g | Temperatura °C                                 | Vreme min | Predviđeni maksimalni prinos g/100 g |       |
| Maceracija              | Rezinoid              | 80                           | 192-208   | 21,7                                 | 80   | 193       | 21,3                                 | 1,8   |
|                         | Kalijum               | 69                           | 152       | 1,393                                | 60   | 170       | 1,466                                | -5,2  |
|                         | Kalcijum              | 80                           | 169       | 0,0845                               | 80   | 170       | 0,0829                               | 1,9   |
| Ultrazvučna ekstrakcija | Magnezijum            | 79                           | 191       | 0,0696                               | 77   | 196       | 0,0690                               | 0,9   |
|                         | Rezinoid              | 40                           | 56-64     | 25,8                                 | 40   | 56        | 26,0                                 | -0,8  |
|                         | Kalijum               | 40                           | 80        | 1,434                                | 40   | 78        | 1,425                                | 0,6   |
|                         | Kalcijum              | 40                           | 77        | 0,114                                | 38   | 65        | 0,115                                | -0,9  |
|                         | Magnezijum            | 40                           | 77        | 0,0855                               | 40   | 79        | 0,0841                               | 1,6   |

Poređenje predviđenih maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija i optimalnih uslova maceracije i ultrazvučne ekstrakcije određenih polinomom drugog reda i kombinovanjem veštačke neuronske mreže sa genetičkim algoritmom može se izvršiti na osnovu podataka datih u tabeli 4.13. Jasno se vidi da su vrednosti maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija koje predviđaju dva modela međusobno vrlo bliske. Takođe, oba modela ukazuju na vrlo slične optimalne uslove i za maceraciju i za ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija.

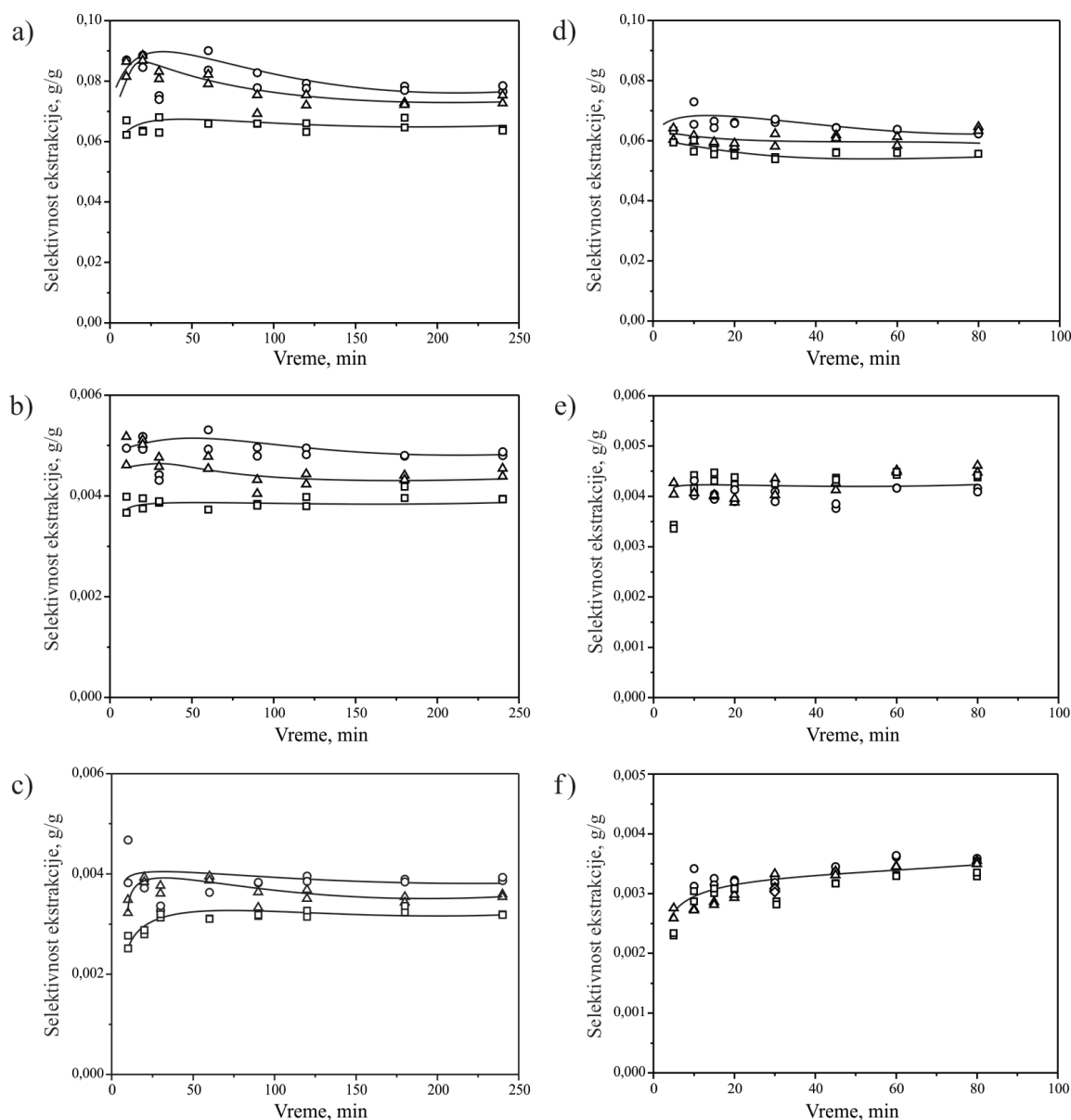
#### 4.3.4. Selektivnost ekstrakcije mineralnih materija

Selektivnost ekstrakcije mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom menja se u toku ekstrakcije, kao što se može videti na sl. 4.17 i 4.18, pri čemu prva pokazuje promene selektivnosti ekstrakcije kalijuma, kalcijuma i magnezijuma u toku maceracije na 23 °C, a druga promene selektivnosti ekstrakcije kalijuma, kalcijuma i magnezijuma u toku maceracije na 50, 65 i 80 °C i ultrazvučne ekstrakcije na 23, 30 i 40 °C. Generalno, bez obzira na tehniku ekstrakcije i temperaturu ekstrakcije, selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se povećava sa vremenom, dostiže maksimum i opada do stalne vrednosti. Međutim, pod nekim uslovima ekstrakcije maksimum krivih koje predstavljaju promenu selektivnosti ekstrakcije mineralnih materija sa vremenom se jedva (maceracija na 65 i 80 °C) ili uopšte ne uočava (ultrazvučna ekstrakcija i više temperature ekstrakcije).



Slika 4.17 Promena selektivnosti ekstrakcije kalijuma (○), kalcijuma (Δ) i magnezijuma (□) u toku maceracije na 23 °C

Jasno je, takođe, da se selektivnost ekstrakcije mineralnih materija smanjuje sa povećanjem temperature, ukazujući da se na višim temperaturama rastvorljivost pratećih materija više povećava nego rastvorljivosti jedinjenja kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Na istoj temperaturi (23 °C), veća selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se postiže maceracijom nego ultrazvučnom ekstrakcijom, što znači da ultrazvuk više pospešuje ekstrakciju pratećih materija nego jedinjenja kalijuma, kalcijuma i magnezijuma.



Slika 4.18 Promena selektivnosti ekstrakcije a i d) kalijuma, b i e) kalcijuma i c i f) magnezijuma u toku maceracije (a, b i c: 50 °C – ○, 65 °C – Δ i 80 °C – □) i ultrazvučne ekstrakcije (d, e i f: 23 °C – ○, 30 °C – Δ i 40 °C – □)

U slučaju maceracije na 23 °C, maksimalne vrednosti selektivnosti ekstrakcije kalijuma (0,086 g/g), kalcijuma (0,0063 g/g) i magnezijuma (0,0046 g/g) postižu se približno posle 240, 60 i 30 min, respektivno (sl. 4.17). Selektivnost ekstrakcije kalijuma maceracijom na 50 i 65 °C dostiže maksimalnu vrednost posle približno 60 min (0,087 g/g), odnosno 20 min (0,088 g/g), dok se ona (0,065±0,002 g/g) praktično ne menja na 80 °C (sl. 4.18a). Selektivnost ekstrakcije kalcijuma i magnezijuma raste dok ne dostigne maksimalnu vrednost, posle čega blago opada ili ostaje nepromenjena tokom maceracije, nezavisno od temperature ekstrakcije (sl. 4.18b i c).

U prisustvu ultrazvuka, selektivnost ekstrakcije se skoro ne menja (kalcijum, 0,0042 g/g), blago opada (kalijum) ili blago povećava (magnezijum, od 0,0026 g/g do 0,0035 g/g) na svim temperaturama (sl. 4.18d, e i f). Selektivnost ekstrakcije kalijuma opada sa povećanjem temperature (0,066 g/g na 23 °C i 0,057 g/g na 40 °C), dok se čini da selektivnost ekstrakcije kalcijuma (0,0043 g/g) i magnezijuma (0,0031 g/g) ne zavisi od temperature. Na višim temperaturama (30 i 40 °C), selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se povećava do dostizanja platoa.

## 4.4. Modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija

### 4.4.1. Kinetički modeli ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija

Kinetika procesa ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija (kalijuma, kalcijuma i magnezijuma) iz nadzemnih delova *G. mollugo* vodenim rastvorom etanola (50 % vol.) je ispitivana pri odnosu rastvarač-biljni materijal 20 g/g na različitim temperaturama u odsustvu (maceracija) i prisustvu ultrazvuka (ultrazvučna ekstrakcija). Maceracija je izvođena na 23, 50, 65 i 80 °C, a ultrazvučna ekstrakcija na 23, 30, 35 i 40 °C. Slika 4.4 i 4.5 ilustruju promene prinosa rezinoida i mineralnih materija u toku ekstrakcije maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, respektivno i potvrđuju brzo ispiranje u početnoj fazi procesa i sporu ekstrakciju (difuziju) u kasnijoj fazi. Zbog toga je za opisivanje promene prinosa rezinoida i mineralnih materija sa vremenom najpre korišćen fenomenološki model istovremenog ispiranja i difuzije, jednačina (2.26), zatim model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji, jednačina (2.27) i, na kraju, model pseudo-prvog reda, jednačina (2.28).

#### 4.4.2. Kinetika maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija

Vrednosti parametara fenomenološkog modela  $q_{\infty}$ ,  $f$ ,  $k_1$  i  $k_2$ , za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija, kao i vrednosti  $R^2$  i  $MRPD$ , date su u tabelama 4.14 i 4.15. Fenomenološki modeli za prinos rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom imaju vrednost  $R^2$  približno jednaku jedinici, koje su statistički značajne na nivou  $p < 0,001$ . Male vrednosti  $MRPD$  potvrđuju dobro slaganje između predviđenih i aktuelnih vrednosti prinosa rezinoida (tabela 4.14), kalijuma, kalcijuma i magnezijuma (tabela 4.15).

Ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija rastu sa povećanjem ekstrakcione temperature kod obe primenjene tehnike ekstrakcije, zbog povećanja rastvorljivosti ekstraktivnih materija, uključujući jedinjenja kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Kada se porede dve tehnike ekstrakcije, ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija su veći za ultrazvučnu ekstrakciju nego za maceraciju, i to na nižim temperaturama, kao rezultat pozitivnih efekata kolapsa kavitacionih mehura na rastvaranje ekstraktivnih materija (na primer, visokom lokalnom temperaturom). Između predviđenih i aktuelnih vrednosti ravnotežnih prinosa mineralnih materija postoji dobro slaganje, što se zaključuje iz male vrednosti  $MRPD$  (rezinoid:  $\pm 2,2\%$ , 16 podataka; mineralne materije:  $\pm 2,5\%$ , 48 podataka).

Za proces maceracije vrednost frakcije rezinoida izdvojenog ispiranjem  $f$  povećava se linearno sa povećanjem ekstrakcione temperature ( $R^2 = 0,979$ ):

$$f = 3,46 \cdot 10^{-3} T + 0,544 \quad (4.6)$$

Međutim, za ultrazvučnu ekstrakciju, vrednost frakcije rezinoida izdvojenog ispiranjem ne zavisi od ekstrakcione temperature i iznosi  $0,880 \pm 0,024$ . Vrednost ovog parametra je veća za ultrazvučnu ekstrakciju nego za maceraciju, čak i na nižim ekstrakcionim temperaturama, što ukazuje na pozitivan uticaj ultrazvuka na proces ispiranja. Ekstraktivne materije locirane unutar biljnog materijala, ali blizu spoljašnje površine, mogu biti otpuštene zbog razaranja ćelijskog zida ultrazvukom i postati dostupne rastvaraču (Vinatoru i sar., 1999).

Tabela 4.14 Parametri fenomenološkog modela za ekstrakciju rezinoida iz nadzemnih delova *G. mollugo*<sup>a</sup>

| Ekstrakciona tehnika    | $T$<br>°C | $q_{\infty}$ , g/100 g |            | $f$         | $k_1 \cdot 10^1$<br>min <sup>-1</sup> | $k_2 \cdot 10^2$<br>min <sup>-1</sup> | $R^{2b}$    | MRPD<br>% |
|-------------------------|-----------|------------------------|------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------|-----------|
|                         |           | Predviđeno             | Aktuelno   |             |                                       |                                       |             |           |
| Maceracija              | 23        | 15,58±0,05             | 15,56±0,24 | 0,623±0,015 | 0,626±0,005                           | 0,230±0,009                           | 0,992±0,003 | ±2,7      |
|                         | 50        | 17,28±0,38             | 16,17±0,15 | 0,725±0,057 | 1,58±0,05                             | 0,695±0,015                           | 0,995±0,001 | ±5,7      |
|                         | 65        | 18,67±0,09             | 18,32±0,26 | 0,750±0,007 | 15,84±0,11                            | 1,585±0,025                           | 0,990±0,001 | ±2,8      |
|                         | 80        | 21,30±0,02             | 21,61±0,08 | 0,830±0,025 | 49,11±0,11                            | 2,505±0,024                           | 0,997±0,002 | ±1,6      |
| Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 18,56±0,20             | 18,22±0,16 | 0,895±0,015 | 2,13±0,13                             | 1,995±0,055                           | 0,997±0,001 | ±1,8      |
|                         | 30        | 19,72±0,01             | 19,57±0,04 | 0,913±0,018 | 6,69±0,02                             | 3,473±0,093                           | 0,998±0,001 | ±1,1      |
|                         | 35        | 21,37±0,07             | 21,26±0,08 | 0,850±0,004 | 12,33±0,04                            | 3,893±0,021                           | 0,999±0,000 | ±0,8      |
|                         | 40        | 25,95±0,21             | 25,89±0,00 | 0,860±0,004 | 18,31±0,06                            | 4,415±0,075                           | 0,995±0,003 | ±1,7      |

<sup>a</sup>Vrednost parametra±standardna devijacija. <sup>b</sup> $p < 0,001$ .

Tabela 4.15 Parametri fenomenološkog modela za ekstrakciju mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*

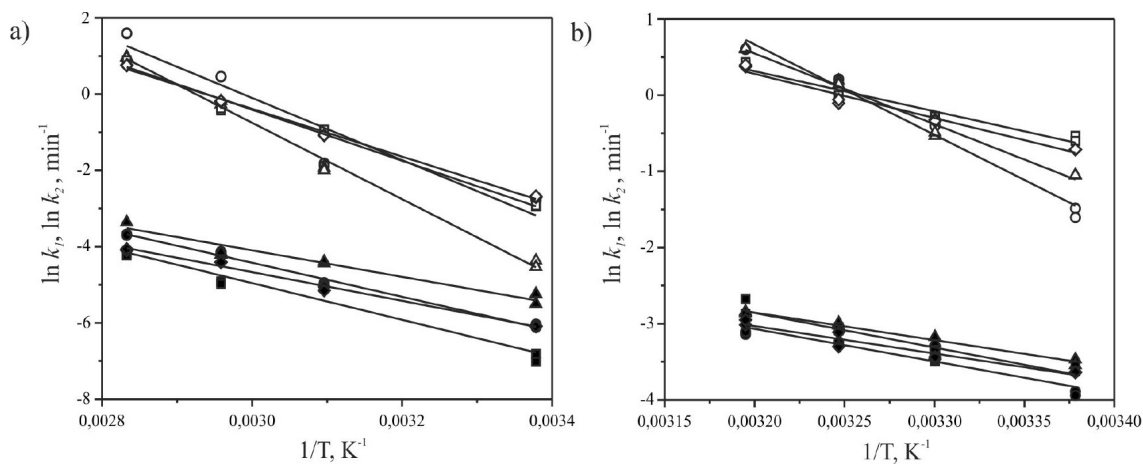
| Ekstraktivna materija | Ekstrakciona tehnika    | $T$<br>°C | $q_{\infty}$ , <sup>a</sup> g/100 g |             | $f^a$       | $k_1 \times 10^{1a}$<br>min <sup>-1</sup> | $k_2 \times 10^{2a}$<br>min <sup>-1</sup> | $R^{2a,b}$  | MRPD<br>% |
|-----------------------|-------------------------|-----------|-------------------------------------|-------------|-------------|---|---|-------------|-----------|
|                       |                         |           | Izračunato                          | Eksperiment |             |   |   |             |           |
| Kalijum               | Maceracija              | 23        | 1,141±0,022                         | 1,119±0,001 | 0,924±0,005 | 0,118±0,001                               | 0,470±0,001                               | 0,989±0,003 | ±4,7      |
|                       |                         | 50        | 1,235±0,008                         | 1,245±0,006 | 0,921±0,001 | 1,41±0,01                                 | 1,21±0,00                                 | 0,975±0,004 | ±4,0      |
|                       |                         | 65        | 1,340±0,003                         | 1,344±0,063 | 0,929±0,001 | 7,99±0,05                                 | 1,55±0,00                                 | 0,999±0,001 | ±0,9      |
|                       |                         | 80        | 1,345±0,000                         | 1,369±0,008 | 0,930±0,000 | 26,26±0,06                                | 3,48±0,00                                 | 0,993±0,003 | ±3,3      |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 1,148±0,002                         | 1,138±0,004 | 0,929±0,001 | 3,50±0,00                                 | 3,01±0,00                                 | 0,999±0,000 | ±2,3      |
|                       |                         | 30        | 1,183±0,004                         | 1,241±0,014 | 0,919±0,005 | 6,00±0,02                                 | 4,04±0,00                                 | 0,991±0,003 | ±2,9      |
|                       |                         | 35        | 1,302±0,013                         | 1,329±0,001 | 0,932±0,003 | 11,81±0,044                               | 4,95±0,00                                 | 0,992±0,003 | ±2,9      |
|                       |                         | 40        | 1,412±0,001                         | 1,424±0,001 | 0,925±0,001 | 18,42±0,01                                | 5,79±0,00                                 | 0,999±0,000 | ±0,8      |
| Kalcijum              | Maceracija              | 23        | 0,077±0,001                         | 0,073±0,000 | 0,783±0,003 | 0,533±0,001                               | 0,100±0,00                                | 0,989±0,001 | ±3,0      |
|                       |                         | 50        | 0,080±0,000                         | 0,078±0,000 | 0,786±0,003 | 3,90±0,00                                 | 0,642±0,00                                | 0,988±0,002 | ±3,9      |
|                       |                         | 65        | 0,085±0,000                         | 0,081±0,000 | 0,788±0,004 | 6,70±0,03                                 | 0,714±0,00                                | 0,995±0,000 | ±2,1      |
|                       |                         | 80        | 0,085±0,000                         | 0,084±0,000 | 0,791±0,001 | 23,74±0,07                                | 1,50±0,00                                 | 0,998±0,001 | ±1,3      |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 0,074±0,000                         | 0,075±0,001 | 0,832±0,004 | 5,68±0,03                                 | 2,78±0,00                                 | 0,993±0,003 | ±2,6      |
|                       |                         | 30        | 0,086±0,000                         | 0,088±0,001 | 0,824±0,004 | 7,59±0,00                                 | 3,15±0,00                                 | 0,991±0,002 | ±2,8      |
|                       |                         | 35        | 0,095±0,002                         | 0,099±0,001 | 0,832±0,001 | 9,94±0,006                                | 4,66±0,00                                 | 0,976±0,019 | ±5,3      |
|                       |                         | 40        | 0,109±0,002                         | 0,113±0,001 | 0,828±0,002 | 15,24±0,025                               | 6,26±0,01                                 | 0,968±0,011 | ±4,4      |
| Magnezijum            | Maceracija              | 23        | 0,062±0,001                         | 0,060±0,000 | 0,714±0,001 | 0,677±0,001                               | 0,228±0,00                                | 0,992±0,003 | ±2,7      |
|                       |                         | 50        | 0,066±0,000                         | 0,063±0,000 | 0,717±0,002 | 3,39±0,00                                 | 0,610±0,00                                | 0,989±0,001 | ±3,9      |
|                       |                         | 65        | 0,068±0,000                         | 0,065±0,000 | 0,715±0,000 | 8,25±0,01                                 | 1,22±0,00                                 | 0,988±0,002 | ±4,1      |
|                       |                         | 80        | 0,069±0,000                         | 0,068±0,000 | 0,717±0,001 | 21,34±0,02                                | 1,69±0,00                                 | 0,990±0,005 | ±3,0      |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 0,064±0,000                         | 0,061±0,000 | 0,769±0,004 | 4,90±0,00                                 | 2,63±0,00                                 | 0,987±0,003 | ±3,7      |
|                       |                         | 30        | 0,067±0,001                         | 0,069±0,000 | 0,725±0,015 | 7,20±0,01                                 | 3,17±0,00                                 | 0,985±0,003 | ±4,1      |
|                       |                         | 35        | 0,071±0,001                         | 0,075±0,000 | 0,736±0,029 | 9,22±0,03                                 | 4,07±0,01                                 | 0,979±0,009 | ±7,3      |
|                       |                         | 40        | 0,082±0,001                         | 0,086±0,000 | 0,771±0,004 | 14,70±0,02                                | 5,07±0,00                                 | 0,960±0,027 | ±5,3      |

<sup>a</sup>Vrednost parametra±standarda devijacija. <sup>b</sup> $p < 0,001$ .



Frakcija kalijuma izdvojena ispiranjem ne zavisi od temperature i dejstva ultrazvuka, a njegova vrednost iznosi  $0,926 \pm 0,005$ . Frakcije kalcijuma i magnezijuma izdvojene ispiranjem ne zavise od temperature, ali zavise od dejstva ultrazvuka. Vrednosti frakcije kalcijuma izdvojene ispiranjem iznose  $0,787 \pm 0,003$  i  $0,829 \pm 0,003$  za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju, dok ove vrednosti za magnezijum iznose  $0,716 \pm 0,001$  i  $0,750 \pm 0,020$ , respektivno. Dakle, ultrazvuk malo povećava vrednost frakcije kalcijuma i magnezijuma izdvojenih ispiranjem, verovatno čineći dostupnim rastvaraču njihova rastvorna jedinjenja iz slojeva blizu spoljašnje površine biljnih čestica. Veća vrednost frakcije izdvojene ispiranjem za kalijum u odnosu na kalcijum i magnezijum može se objasniti većom rastvorljivošću njegovih jedinjenja prisutnih u biljnom materijalu.

Konstante brzine ispiranja i difuzije rezinoida i mineralnih materija  $k_1$  i  $k_2$  rastu sa povećanjem temperature prema Arrhenius-ovoj jednačini, kao što se vidi na sl. 4.19. Vrednosti ovih konstanti brzine su veće u prisustvu ultrazvuka nego u njegovom odsustvu, čak i na nižoj temperaturi. Povećanje konstante brzine pod dejstvom ultrazvuka može se pripisati razaranju ćelijskog zida, intenziviranju prenosa mase i mogućem smanjenju veličine čestice (Vinatoru i sar., 1999).



Slika 4.19 Zavisnost  $\ln k_1$  i  $\ln k_2$  od  $1/T$ : a) maceracija b) ultrazvučna ekstrakcija (ispiranje: otvoreni simboli; difuzija: puni simboli; rezinoid -  $\circ$ ,  $\bullet$ , kalijum -  $\Delta$ ,  $\blacktriangle$ , kalcijum -  $\square$ ,  $\blacksquare$  i magnezijum -  $\diamond$ ,  $\blacklozenge$ )

Vrednosti parametara Arrhenius-ove jednačine date su u tabeli 4.16. Korišćenjem Student-ovog  $t$ -testa ocenjeno je da su sve  $R^2$  vrednosti značajne na nivou  $p < 0,001$ . Na osnovu vrednosti za energiju aktivacije, može se zaključiti da ultrazvuk ima uticaja na proces ispiranja rezinoida i mineralnih materija, ali ne i na difuziju ekstraktivnih

materija kroz biljne čestice. Vrednosti energije aktivacije za ispiranje rezinoida i mineralnih materija su veće u odsustvu ultrazvuka nego u njegovom prisustvu. Povećanje konstante brzine ispiranja rezinoida i mineralnih materija pod dejstvom ultrazvuka može se pripisati razaranju ćelijskog zida, intenziviranju prenosa mase i mogućem smanjenju veličine čestica (Vinatoru i sar., 1999). Vrednosti energije aktivacije za ispiranje kalijuma su veće nego vrednosti energije aktivacije za ispiranje kalcijuma i magnezijuma. Pored toga, vrednosti energije aktivacije za difuziju mineralnih materija su slične u odsustvu i prisustvu ultrazvuka, s tim što su one za kalcijum nešto veće od vrednosti za kalijum i magnezijum, koje su međusobno jednake.

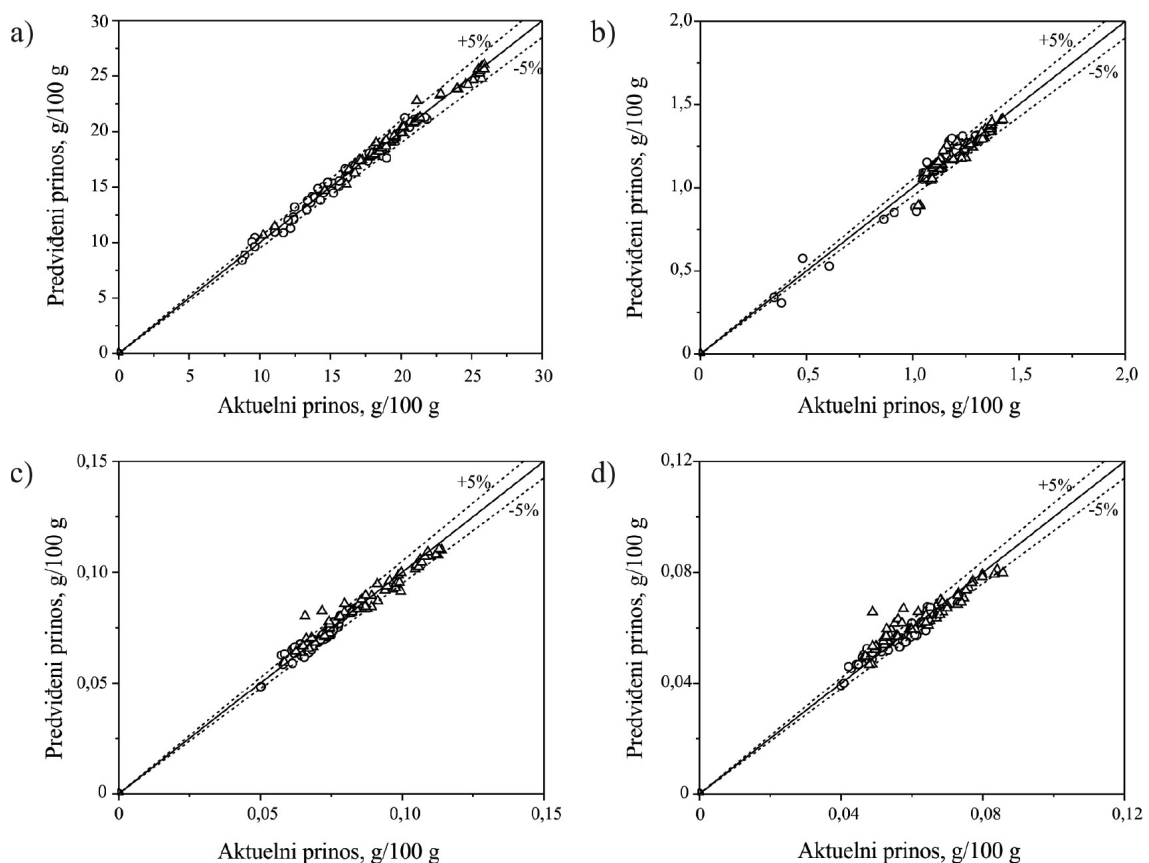
Tabela 4.16 Parametri Arrhenius-ove jednačine za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija

| Ekstraktivna materija | Ekstrakciona tehnika    |       | $A$<br>( $\text{min}^{-1}$ ) | $E_a$<br>(kJ/mol) | $R^2$ <sup>a</sup> |
|-----------------------|-------------------------|-------|------------------------------|-------------------|--------------------|
| Rezinoid              | Maceracija              | $k_1$ | $3,79 \cdot 10^{10}$         | 67,8              | 0,897              |
|                       |                         | $k_2$ | $7,84 \cdot 10^3$            | 37,1              | 0,992              |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | $k_1$ | $5,89 \cdot 10^{16}$         | 98,6              | 0,980              |
|                       |                         | $k_2$ | $4,02 \cdot 10^4$            | 35,5              | 0,909              |
| Kalijum               | Maceracija              | $k_1$ | $5,29 \cdot 10^{12}$         | 83,27             | 0,994              |
|                       |                         | $k_2$ | $5,56 \cdot 10^2$            | 28,87             | 0,955              |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | $k_1$ | $1,37 \cdot 10^{13}$         | 77,17             | 0,985              |
|                       |                         | $k_2$ | $5,97 \cdot 10^3$            | 30,01             | 0,984              |
| Kalcijuma             | Maceracija              | $k_1$ | $3,57 \cdot 10^8$            | 55,70             | 0,985              |
|                       |                         | $k_2$ | $1,31 \cdot 10^4$            | 40,02             | 0,949              |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | $k_1$ | $2,79 \cdot 10^7$            | 43,72             | 0,962              |
|                       |                         | $k_2$ | $1,16 \cdot 10^5$            | 37,73             | 0,896              |
| Magnezijum            | Maceracija              | $k_1$ | $9,62 \cdot 10^7$            | 52,01             | 0,996              |
|                       |                         | $k_2$ | $7,31 \cdot 10^2$            | 31,32             | 0,989              |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | $k_1$ | $1,50 \cdot 10^8$            | 48,18             | 0,973              |
|                       |                         | $k_2$ | $4,92 \cdot 10^3$            | 29,96             | 0,938              |

<sup>a</sup>  $p < 0.001$

Vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija su izračunate pomoću fenomenološkog modela, uz korišćenje: vrednosti  $q_\infty$  izračunate pomoću modela (tabela 4.14 i 4.15), vrednosti  $k_1$  i  $k_2$  izračunate pomoću Arrhenius-ove jednačine, jednačina (2.29), uz korišćenje parametara iz tabele 4.16, i vrednosti parametara

$f$  izračunate pomoću jednačine (4.6) za maceraciju i  $f = 0,880$  za ultrazvučnu ekstrakciju u slučaju rezinoida, odnosno konstantnih vrednosti parametara  $f$  za mineralne materije. Na sl. 4.20 je izvršeno poređenje predviđenih i aktuelnih vrednosti prinosa rezinoida za obe tehnike ekstrakcije. Predviđanje vrednosti prinosa rezinoida i mineralnih materija na osnovu fenomenološkog modela je veoma uspešno jer je razlika između predviđenih i aktuelnih vrednosti prinosa rezinoida za obe ekstrakcione tehnike mala ( $MRPD = \pm 3,3, \pm 2,8, \pm 3,5$  i  $\pm 4,5$  % za rezinoid, kalijum, kalcijum i magnezijum, respektivno). Slika 4.4 i 4.5, gde su krive fenomenološkog modela prikazane punom linijom, ilustruju dobro slaganje modela sa eksperimentom.



Slika 4.20 Poređenje izračunatih i ekeperimentalnih vrednosti prinosa a) rezinoida, b) kalijuma, c) kalcijuma i d) magnezijuma (maceracija – ○ i ultrazvučna ekstrakcija – Δ)

Razvijeni fenomenološki model je testiran podacima dobijenim ultrazvučnom ekstrakcijom rezinoida iz obične i lepljive žalfije vodom i rastvorom etanola (70 %) (Veličković i sar., 2006). Rezultati testiranja fenomenološkog modela za ovaj ekstrakcioni sistem prikazani su u tabeli 4.17. Pokazano je da je kinetički model

statistički značajan na nivou  $p < 0,0001$ . Ovo je važan rezultat jer upućuje na zaključak da se fenomenološki model može primeniti i na druge ekstrakcione sisteme.

Tabela 4.17 Rezultati validacije fenomenološkog modela za ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida iz obične i lepljive žalfije (40 °C)<sup>a</sup>

| Biljni materijal                                  | Rastvarač        | $q_{\infty}$<br>g/100 g | $f$   | $k_1 \cdot 10^1$<br>min <sup>-1</sup> | $k_2 \cdot 10^2$<br>min <sup>-1</sup> | $R^2$ | MRPL<br>% |
|---|------------------|-------------------------|-------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------|-----------|
| Obična žalfija<br>( <i>Salvia officinalis</i> L.) | Etanol<br>(70 %) | 11,9                    | 0,629 | 5,07                                  | 1,82                                  | 0,998 | ±1,5      |
|   | Voda             | 22,0                    | 0,570 | 4,35                                  | 1,08                                  | 0,999 | ±1,4      |
| Lepljiva žalfija<br>( <i>Salvia glutinosa</i> L.) | Etanol<br>(70 %) | 10,6                    | 0,523 | 4,65                                  | 2,39                                  | 1,000 | ±0,5      |
|   | Voda             | 18,30                   | 0,629 | 6,03                                  | 2,68                                  | 1,000 | ±1,9      |

<sup>a</sup> Veličković i sar. (2006).

Dva modela, model pseudo-prvog reda i model zasnovan na trenutnom ispiranju koje je praćeno difuzijom su, takođe, analizirani u cilju poređenja sa fenomenološkim modelom. Parametri ovih modela su predstavljeni u tabeli 4.18. Model zasnovan na trenutnom ispiranju praćenom difuzijom ima relativno visoku vrednost  $R^2$  i relativno malu vrednost za  $MRPD$  (tabela 4.15), nezavisno od ekstrakcione tehnike i temperature. To znači da ovaj model može biti adekvatan za opisivanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*. Međutim, ovaj model se odlikuje manjim vrednostima za  $R^2$  i većim vrednostima za  $MRPD$  nego fenomenološki model za istu tehniku ekstrakcije (tabela 4.15). Model pseudo-prvog reda ima malu vrednost  $R^2$  i relativno veliku vrednost za  $MRPD$  (tabela 4.18), nezavisno od ekstrakcione tehnike i temperature. To znači da ovaj model nije adekvatan za opisivanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*. Prema tome, fenomenološki model, koji bolje opisuje promenu prinosa rezinoida u toku ekstrakcije u odnosu na druga dva, jednostavnija modela, može se preporučiti za modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida.

Tabela 4.18 Parametri modela pseudo-prvog reda i modela zasnovanog na trenutnom ispiranju i difuziji za prinose rezinoida i mineralnih materija

| Ekstraktivna materija | Temperatura (°C) | Maceracija  |       |               |  |   |       |               | Ultrazvučna ekstrakcija                           |       |               |  |   |       |               |
|-----------------------|------------------|---|-------|---------------|--|---|-------|---------------|---|-------|---------------|--|---|-------|---------------|
|                       |                  | Model pseudo prvog reda                           |       |               | Model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji |   |       |               | Model pseudo prvog reda                           |       |               | Model zasnovan na trenutnom ispiranju i difuziji |   |       |               |
|                       |                  | $k_2$ ,<br>$\times 10^2$<br>( $\text{min}^{-1}$ ) | $R^2$ | $MRPD$ ,<br>% | $f$  | $k_2$ ,<br>$\times 10^2$<br>( $\text{min}^{-1}$ ) | $R^2$ | $MRPD$ ,<br>% | $k_2$ ,<br>$\times 10^2$<br>( $\text{min}^{-1}$ ) | $R^2$ | $MRPD$ ,<br>% | $f$  | $k_2$ ,<br>$\times 10^2$<br>( $\text{min}^{-1}$ ) | $R^2$ | $MRPD$ ,<br>% |
| Rezinoid              | 23               | 0,357   | 0,482 | ±28,43        | 0,613  | 0,223   | 0,969 | ±4,0          | 7,70  | 0,573 | ±15,90        | 0,811  | 4,17  | 0,956 | ±6,7          |
|                       | 50               | 2,499   | 0,572 | ±21,18        | 0,830  | 1,18  | 0,784 | ±7,4          | 10,96   | 0,152 | ±13,91        | 0,917  | 5,37  | 0,759 | ±1,4          |
|                       | 65               | 2,470   | 0,122 | ±24,57        | 0,794  | 1,26  | 0,891 | ±3,6          | 8,88  | 0,405 | ±15,99        | 0,818  | 5,21  | 0,952 | ±1,0          |
|                       | 80               | 2,596   | 0,245 | ±24,72        | 0,805  | 1,66  | 0,827 | ±2,0          | 10,42   | 0,179 | ±13,67        | 0,883  | 5,31  | 0,752 | ±1,8          |
| Kalijum               | 23               | 0,301   | 0,723 | ±21,25        | 0,223  | 1,070   | 0,961 | ±7,0          | 0,381   | 0,981 | ±5,15         | 0,893  | 5,855   | 0,890 | ±0,9          |
|                       | 50               | 0,119   | 0,931 | ±3,42         | 0,748  | 1,958   | 0,945 | ±1,6          | 0,181   | 0,958 | ±1,21         | 0,822  | 3,149   | 0,860 | ±2,1          |
|                       | 65               | 0,043   | 0,679 | ±1,61         | 0,925  | 1,817   | 0,943 | ±0,8          | 0,310   | 0,623 | ±4,89         | 0,853  | 5,486   | 0,795 | ±2,0          |
|                       | 80               | 0,135   | 0,801 | ±5,68         | 0,881  | 2,227   | 0,829 | ±2,0          | 0,116   | 0,918 | ±0,85         | 0,880  | 6,597   | 0,920 | ±0,8          |
| Kalcijum              | 23               | 0,061   | 0,503 | ±19,83        | 0,817  | 0,119   | 0,413 | ±4,8          | 0,366   | 0,804 | ±3,80         | 0,674  | 5,585   | 0,697 | ±3,2          |
|                       | 50               | 0,162   | 0,850 | ±4,66         | 0,629  | 2,137   | 0,935 | ±2,1          | 0,281   | 0,947 | ±1,25         | 0,714  | 4,179   | 0,852 | ±3,2          |
|                       | 65               | 0,054   | 0,884 | ±1,09         | 0,805  | 2,086   | 0,878 | ±2,2          | 0,578   | 0,768 | ±7,89         | 0,692  | 5,287   | 0,909 | ±2,7          |
|                       | 80               | 0,099   | 0,884 | ±2,40         | 0,773  | 1,888   | 0,927 | ±1,7          | 0,319   | 0,685 | ±23,96        | 0,767  | 5,929   | 0,859 | ±1,6          |
| Magnezijum            | 23               | 0,055   | 0,885 | ±10,14        | 0,703  | 0,275   | 0,980 | ±3,6          | 0,506   | 0,974 | ±2,48         | 0,689  | 3,149   | 0,895 | ±2,0          |
|                       | 50               | 0,204   | 0,927 | ±4,79         | 0,565  | 1,942   | 0,967 | ±3,1          | 0,643   | 0,928 | ±11,87        | 0,508  | 5,252   | 0,984 | ±2,3          |
|                       | 65               | 0,206   | 0,694 | ±9,89         | 0,751  | 3,092   | 0,792 | ±1,8          | 0,741   | 0,962 | ±14,70        | 0,385  | 5,640   | 0,968 | ±5,3          |
|                       | 80               | 0,260   | 0,752 | ±11,37        | 0,711  | 2,483   | 0,845 | ±2,6          | 0,462   | 0,786 | ±8,96         | 0,682  | 4,598   | 0,937 | ±1,7          |

## 4.5. Termodinamička analiza ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija

Ovaj odeljak se bavi termodinamičkom analizom procesa maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija (kalijum, kalcijum i magnezijum) rastvorom etanola (50 % vol.). Najpre su izračunate vrednosti koeficijenta raspodele rezinoida i mineralnih materija, a zatim vrednosti promena entalpije, entropije i Gibbs-ove slobodne energije. Na kraju, izračunate su vrednosti temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta za rezinoid i mineralne materije. Ovo je prvi pokušaj termodinamičke analize procesa ekstrakcije ekstraktivnih materija (rezinoida i mineralnih materija) u odsustvu i prisustvu ultrazvuka.

Koeficijent raspodele je izračunat na osnovu sastava čvrste i tečne faze ekstrakcionog sistema u stanju ravnoteže, koristeći sledeću jednačinu (Attah i Ibemesi, 1990):

$$K = \frac{q_{\infty}}{q_s} = \frac{q_{\infty}}{q_o - q_{\infty}} \quad (4.7)$$

gde je:  $K$  – koeficijent raspodele,  $q_{\infty}$  – prinos rezinoida ili mineralnih materija u stanju ravnoteže sistema,  $q_s$  - sadržaj rezinoida ili mineralnih materija u iscrpljenom biljnom materijalu u stanju ravnoteže sistema i  $q_o$  – sadržaj rezinoida ili mineralnih materija u originalnom biljnom materijalu (sve tri veličine u g/100 g suvog biljnog materijala). Vrednosti  $q_o$  i  $q_{\infty}$  se određuju eksperimentalno, dok se  $q_s$  izračunava iz bilansa mase rezinoida ili mineralnih materija:

$$q_s = q_o - q_{\infty} \quad (4.8)$$

Promene entalpije i entropije su izračunate pomoću Vant Hoff-ove jednačine:

$$\ln K = -\frac{\Delta H^{\circ}}{RT} + \frac{\Delta S^{\circ}}{R} \quad (4.9)$$

gde je:  $K$  – koeficijent raspodele,  $R$  – univerzalna gasna konstanta,  $T$  – apsolutna temperatura,  $\Delta H^{\circ}$  – promena entalpije i  $\Delta S^{\circ}$  – promena entropije.

Promena Gibbs-ove slobodne energije je izračunata pomoću sledeće jednačine:

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T \cdot \Delta S^{\circ} \quad (4.10)$$

gde je:  $\Delta G^{\circ}$  – promena Gibbs-ove slobodne energije.

Temperaturni ekstrakcioni koeficijent pokazuje povećanje prinosa rezinoida i mineralnih materija za svakih 10 °C povećanja temperature ekstrakcije, a definisan je sledećom jednačinom (Attah i Ibemesi, 1990):

$$y_T = y_{T_0} \cdot \gamma^{T/10} \quad (4.11)$$

gde je:  $\gamma$  – temperaturni ekstrakcioni koeficijent, i  $q_T$  i  $q_{T_0}$  – prinos rezinoida ili mineralnih materija na temperaturama  $T$  i  $T_0$  (u °C), respektivno. Za izračunavanje temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta koristi se linearizovani oblik jednačine (4.11):

$$\ln y_T = \ln y_{T_0} + \frac{T}{10} \ln \gamma \quad (4.12)$$

#### 4.5.1. Koeficijent raspodele rezinoida i mineralnih materija

Vrednosti prinosa rezinoida ili mineralnih materija i sadržaja rezinoida ili mineralnih materija u iscrpljenom biljnom materijalu u stanju ravnoteže sistema date su u tabeli 4.19. Na osnovu ovih vrednosti, korišćenjem jednačine (4.7), izračunate su vrednosti koeficijenta raspodele, koje su, takođe, date u tabeli 4.19. Slika 4.21 pokazuje zavisnost  $\ln K$  od  $1/T$  za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija. Vrednosti koeficijenta korelacije  $R$  su bliske jedinici, što potvrđuje lineranu zavisnost  $\ln K$  od  $1/T$ . Student-ovim  $t$ -testom je dokazano da su sve  $R$ -vrednosti statistički značajne na nivou  $p < 0,001$ .

I za maceraciju i za ultrazvučnu ekstrakciju, vrednosti koeficijenata raspodele rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa povećanjem temperature kao rezultat povećanja ravnotežnih prinosa rezinoida i mineralnih materija. Međutim, vrednosti koeficijenata raspodele rezinoida i mineralnih materija su veće za ultrazvučnu ekstrakciju nego za maceraciju, čak i na nižoj temperaturi, što ukazuje na pozitivan uticaj ultrazvuka. Pri istim ostalim uslovima, vrednost koeficijenta raspodele kalijuma je veća od vrednosti koeficijenta raspodele kalcijuma i magnezijuma, koje se međusobno slične.

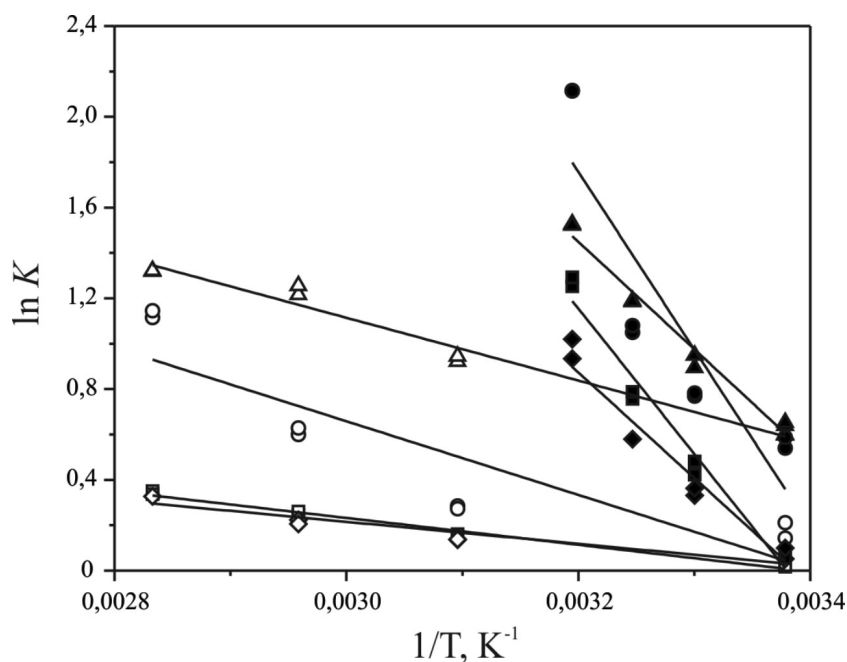
Tabela 4.19 Prinos ekstraktivnih materija i sadržaj ekstraktivnih materija koje zaostaju u iscrpljenom biljnom materijalu u stanju ravnoteže sistema, kao i koeficijent raspodele

| Ekstraktivna materija | Ekstrakciona tehnika    | $T$<br>°C | $q_{\infty}^a$<br>g/100 g | $q_s^a$<br>g/100 g | $K^a$     |
|-----------------------|-------------------------|-----------|---------------------------|--------------------|-----------|
| Rezinoid              | Maceracija              | 23        | 15,56±0,34                | 13,03±0,34         | 1,19±0,06 |
|                       |                         | 50        | 16,27±0,06                | 12,32±0,06         | 1,32±0,01 |
|                       |                         | 65        | 18,55±0,14                | 10,04±0,14         | 1,85±0,04 |
|                       |                         | 80        | 21,61±0,11                | 6,98±0,11          | 3,10±0,07 |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 18,22±0,22                | 10,37±0,22         | 1,76±0,06 |
|                       |                         | 30        | 19,57±0,06                | 9,02±0,06          | 2,17±0,02 |
|                       |                         | 35        | 21,26±0,12                | 7,33±0,12          | 2,90±0,06 |
|                       |                         | 40        | 25,51±0,00                | 3,08±0,00          | 8,29±0,01 |
| Kalijum               | Maceracija              | 23        | 1,119±0,001               | 0,615±0,001        | 1,82±0,01 |
|                       |                         | 50        | 1,245±0,006               | 0,489±0,006        | 2,54±0,04 |
|                       |                         | 65        | 1,344±0,063               | 0,390±0,008        | 3,44±0,10 |
|                       |                         | 80        | 1,369±0,008               | 0,365±0,001        | 3,75±0,01 |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 1,138±0,004               | 0,596±0,004        | 1,91±0,02 |
|                       |                         | 30        | 1,241±0,014               | 0,493±0,014        | 2,51±0,10 |
|                       |                         | 35        | 1,329±0,001               | 0,405±0,001        | 3,28±0,01 |
|                       |                         | 40        | 1,424±0,001               | 0,310±0,001        | 4,59±0,02 |
| Kalcijum              | Maceracija              | 23        | 0,073±0,000               | 0,071±0,000        | 1,02±0,01 |
|                       |                         | 50        | 0,078±0,000               | 0,066±0,000        | 1,17±0,01 |
|                       |                         | 65        | 0,081±0,000               | 0,063±0,000        | 1,29±0,10 |
|                       |                         | 80        | 0,084±0,000               | 0,060±0,000        | 1,41±0,01 |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 0,075±0,001               | 0,070±0,001        | 1,07±0,02 |
|                       |                         | 30        | 0,088±0,001               | 0,056±0,001        | 1,57±0,06 |
|                       |                         | 35        | 0,099±0,001               | 0,046±0,001        | 2,16±0,05 |
|                       |                         | 40        | 0,113±0,001               | 0,032±0,001        | 3,57±0,01 |
| Magnezijum            | Maceracija              | 23        | 0,060±0,000               | 0,057±0,000        | 1,05±0,00 |
|                       |                         | 50        | 0,063±0,000               | 0,054±0,000        | 1,15±0,00 |
|                       |                         | 65        | 0,065±0,000               | 0,052±0,000        | 1,24±0,00 |
|                       |                         | 80        | 0,068±0,000               | 0,049±0,000        | 1,39±0,00 |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23        | 0,061±0,000               | 0,056±0,000        | 1,10±0,00 |
|                       |                         | 30        | 0,069±0,000               | 0,048±0,000        | 1,41±0,03 |
|                       |                         | 35        | 0,075±0,000               | 0,042±0,000        | 1,79±0,00 |
|                       |                         | 40        | 0,086±0,000               | 0,032±0,000        | 2,66±0,16 |

<sup>a</sup>Vrednost parametra±standardna devijacija.



Ovo se objašnjava boljom rastvorljivošću i boljom dostupnošću jedinjenja kalijuma od jedinjenja kalcijuma i magnezijuma od kojih su neka, vrlo verovatno, nerastvorna u primenjenom rastvaraču. Na primer, veći deo magnezijuma iz lista i drvenastih delova, 50 % kalcijuma iz drvenastih delova i 50 % magnezijuma iz kore vrste *E. polybractea* se rastvara u vodi (Wu i sar., 2011). Dobijeni rezultati pokazuju da se prinosi kalcijuma i magnezijuma iz nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću polarnog rastvarača mogu povećati primenom ultrazvuka na 40 °C.



Slika 4.21 Zavisnost  $\ln K$  od  $1/T$  za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* (rezinoid –  $\circ, \bullet$ , kalijum –  $\Delta, \blacktriangle$ , kalcijum –  $\square, \blacksquare$  i magnezijum –  $\diamond, \blacklozenge$ ; maceracija – otvoreni simboli i ultrazvučna ekstrakcija – puni simboli)

#### 4.5.2. Promene entalpije, entropije i Gibbs-ove slobodne energije

Kao prvo, vrednosti promene entalpije i entropije ( $\Delta H^0$  i  $\Delta S^0$ ) su izračunate iz nagiba i odsečka pravolinijskih zavisnosti  $\ln K$  od  $1/T$  za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju (sl. 4.21), respektivno, a zatim su izračunate vrednosti promena Gibbs-ove slobodne energije pomoću jednačine (4.10). Izračunate vrednosti promene entalpije, entropije i Gibbs-ove slobodne energije za rezinoid i mineralne materije su date u tabeli 4.20.

Tabela 4.20 Termodinamičke veličine procesa ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija

| Ekstraktivna materija | Ekstrakciona tehnika    | $T$<br>(°C) | $\Delta S^o$<br>(J/mol<br>K) | $\Delta H^o$<br>(kJ/mol) | $\Delta G^o$<br>(kJ/mol) | $R$                |
|-----------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|
| Rezinoid              | Maceracija              | 23          | 45,96                        | 13,50                    | -0,11                    | 0,883 <sup>a</sup> |
|                       |                         | 50          |                              |                          | -1,35                    |                    |
|                       |                         | 65          |                              |                          | -2,04                    |                    |
|                       |                         | 80          |                              |                          | -2,73                    |                    |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23          | 223,24                       | 65,20                    | -0,88                    | 0,893 <sup>a</sup> |
|                       |                         | 30          |                              |                          | -2,45                    |                    |
|                       |                         | 35          |                              |                          | -3,56                    |                    |
|                       |                         | 40          |                              |                          | -4,68                    |                    |
| Kalijum               | Maceracija              | 23          | 43,27                        | 11,50                    | -1,31                    | 0,988 <sup>b</sup> |
|                       |                         | 50          |                              |                          | -2,48                    |                    |
|                       |                         | 65          |                              |                          | -3,13                    |                    |
|                       |                         | 80          |                              |                          | -3,77                    |                    |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23          | 138,18                       | 9,36                     | -1,54                    | 0,988 <sup>b</sup> |
|                       |                         | 30          |                              |                          | -2,51                    |                    |
|                       |                         | 35          |                              |                          | -3,20                    |                    |
|                       |                         | 40          |                              |                          | -3,89                    |                    |
| Kalcijum              | Maceracija              | 23          | 16,68                        | 4,92                     | -0,02                    | 0,993 <sup>b</sup> |
|                       |                         | 50          |                              |                          | -0,47                    |                    |
|                       |                         | 65          |                              |                          | -0,72                    |                    |
|                       |                         | 80          |                              |                          | -0,97                    |                    |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23          | 180,16                       | 53,30                    | -0,03                    | 0,985 <sup>*</sup> |
|                       |                         | 30          |                              |                          | -1,29                    |                    |
|                       |                         | 35          |                              |                          | -2,19                    |                    |
|                       |                         | 40          |                              |                          | -3,09                    |                    |
| Magnezijum            | Maceracija              | 23          | 13,85                        | 4,02                     | -0,08                    | 0,964 <sup>b</sup> |
|                       |                         | 50          |                              |                          | -0,45                    |                    |
|                       |                         | 65          |                              |                          | -0,66                    |                    |
|                       |                         | 80          |                              |                          | -0,87                    |                    |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 23          | 135,93                       | 40,21                    | -0,09                    | 0,975 <sup>b</sup> |
|                       |                         | 30          |                              |                          | -1,02                    |                    |
|                       |                         | 35          |                              |                          | -1,67                    |                    |
|                       |                         | 40          |                              |                          | -2,33                    |                    |

<sup>a</sup> $p < 0,005$ . <sup>b</sup> $p < 0,001$ .

Promena entalpije i promena entropije za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola (50 % vol.) su pozitivne za obe ekstrakcione tehnike u primenjenim opsezima temperature (maceracija: 23-80 °C; ultrazvučna ekstrakcija: 23-40 °C). Prema tome, ekstrakcija rezinoida i mineralnih materija u odsustvu i prisustvu ultrazvuka je endotermni i nepovratni proces. Isti rezultat je ranije objavljen za ekstrakciju puerarina iz *Puerarin lobata* (Willd.) Ohwi (Chen i sar., 2012), gosipola iz odmašćenog samlevenog pamukovog semena (Saxena i sar., 2012), kao i ulja iz suncokretovog semena (Topallar i Gecgel, 2000), pogače iz prerade maslina (Meziane i Kadi, 2008), soje (Rodrigues i sar., 2010) i pamukovog semena (Saxena i sar., 2011). Vrednosti promene entalpije za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija ukazuju na količinu energije koju sistem rastvarač-biljni materijal treba da apsorbuje da bi proces mogao da se odigra. Poređenjem vrednosti promena entalpije za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju, zaključuje se da ispitivani sistem apsorbuje veću količinu energije u prisustvu ultrazvuka, pri čemu se ultrazvučna energija transformiše u toplotu.

Za vreme ekstrakcije, molekuli ekstraktivnih materija, uključujući mineralne materije, ekstrahuju se iz biljnog materijala i time povećavaju entropiju ekstrakcionog sistema (Meziane i Kadi, 2008). Termodinamička analiza maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola (50 % vol.) pokazuje da je promena entropije u prisustvu ultrazvuka veća nego u njegovom odsustvu zbog većeg stepena ekstrakcije, što povećava entropiju ekstrakcionog sistema.

Promena Gibbs-ove slobodne energije za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola (50 % vol.) je negativna, što znači da su oba procesa ekstrakcije spontana. Pošto je vrednost promene Gibbs-ove slobodne energije negativnija na višim temperaturama maceracije i ultrazvučne ekstrakcije, spontanost ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija je favorizovana povećanjem temperature. Vrednosti promene Gibbs-ove slobodne energije za ultrazvučnu ekstrakciju kalcijuma i magnezijuma na 40 °C su negativnije od vrednosti za njihovu ekstrakciju maceracijom na 80 °C, što znači da je prvi proces spontaniji od drugog. U slučaju kalijuma, nema razlike između vrednosti promene Gibbs-ove slobodne energije za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju. Uočene pojave se objašnjavaju boljom rastvorljivošću jedinjenja kalijuma i pozitivnim uticajem ultrazvuka na dostupnost kalcijuma i magnezijuma za ekstrakciju.

Dosadašnje termodinamičke analize ekstrakcije ukupnih ekstraktivnih materija i pojedinačnih jedinjenja iz biljnih materijala odnose se samo na maceraciju. Kao što se može zaključiti na osnovu tabele 4.21, ovaj proces je spontan, nepovratan i endoterman.

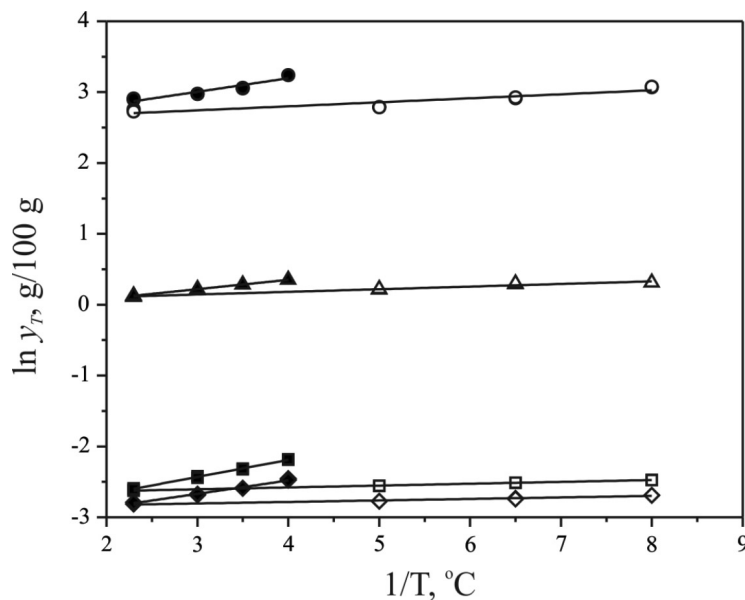
Tabela 4.21 Termodinamička analiza procesa maceracije za različite biljne materijale

| Biljni materijal                  | Ekstraktivna materija | $T$ (°C) | $\Delta H^\circ$ (kJ/mol) | $\Delta S^\circ$ (J/mol K) | $\Delta G^\circ$ (kJ/mol) | Referenca                |
|-----------------------------------|-----------------------|----------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>G. mollugo</i>                 | Kalijum               | 23 - 80  | 11,5                      | 43,3                       | -3,8 do -1,3              | Ovaj rad                 |
|                                   | Kalcijum              |          | 4,9                       | 16,7                       | -0,97 do -0,02            |                          |
|                                   | Magnezijum            |          | 4,0                       | 13,9                       | -0,87 do -0,08            |                          |
|                                   | Rezinoid <sup>a</sup> |          | 13,3                      | 45,3                       | -2,7 do -0,1              |                          |
| <i>P. lobata</i> (Willd.) Ohwi    | Puerarin              | 40 - 60  | 58,8                      | 224,5                      | -13,7                     | Chen i sar. (2012)       |
| Odmašćeno brašno pamukovog semena | Gosipol               | 15 - 45  | 27,8 - 32,6               | 122,7 - 139,5              | -12,12 do -7,55           | Saxena i sar. (2012)     |
| Suncokretovo seme                 | Ulje                  | 30 - 60  | 11,2                      | 36,75 - 39,60              | -1,1 do -0,8              | Topallar i Gecgel (2000) |
| Pogača iz prerade maslina         | Ulje                  | 20 - 50  | 12,9                      | 59,3                       | -6,3 do -4,5              | Meziane i Kadi (2008)    |
| Soja                              | Ulje                  | 50 - 100 | 48,2 - 95,4               | 137 - 296                  | -10 do 4                  | Rodrigues i sar. (2010)  |
| Pamukovo seme                     | Ulje                  | 15 - 45  | 43,2 - 85,8               | 190,9 - 331,3              | -21,0 do -10,4            | Saxena i sar. (2011)     |

Vrednosti promena entalpije i entropije za ekstrakciju rezinoida su slične vrednostima za ekstrakciju suncokretovog i maslinovog ulja, ali su mnogo manje od onih za ekstrakciju sojinog i pamukovog ulja. Vrednost promene Gibbs-ove slobodne energije za ekstrakciju rezinoida iz *G. mollugo* je slična vrednostima za ekstrakciju suncokretovog ulja, ali su veće od vrednosti za ekstrakciju maslinovog i pamukovog ulja. Vrednosti promena entalpije i entropije za ekstrakciju mineralnih materija iz *G. mollugo* su mnogo manje od vrednosti za ekstrakciju organskih jedinjenja (puerarin i gosipol), koja ima i manju vrednost promene Gibbs-ove slobodne energije.

### 4.5.3. Temperaturni ekstrakcioni koeficijent

Slika 4.22 pokazuje da je zavisnost  $\ln \gamma$  od  $T/10$  pravolinijska, sa malom vrednošću koeficijenta pravca. Linearne zavisnosti su potvrđene vrednostima  $R$  koje su bliske jedinici ( $R > 0,91$ ), pri čemu su sve vrednosti  $R$  statistički značajne na nivou  $p < 0,001$  ili  $0,01$ . Vrednosti temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta  $\gamma$  su izračunate iz nagiba pravolinijskih zavisnosti, koristeći jednačinu (4.12). Dobro predviđanje vrednosti temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta jednačinom (4.11) potvrđuju male *MRPD* vrednosti (tabela 4.21).



Slika 4.22 Zavisnost  $\ln \gamma$  od  $T/10$  za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* (rezinoid –  $\circ, \bullet$ , kalijum –  $\Delta, \blacktriangle$ , kalcijum –  $\square, \blacksquare$  i magnezijum –  $\diamond, \blacklozenge$ ; maceracija – otvoreni simboli i ultrazvučna ekstrakcija – puni simboli)

Tabela 4.21 Temperaturni ekstrakcioni koeficijent za rezinoid i mineralne materije

| Ekstraktivna materija | Ekstrakciona tehnika    |      | <i>R</i>           | <i>MRPD</i><br>(%) |
|-----------------------|-------------------------|------|--------------------|--------------------|
| Rezinoid              | Maceracija              | 1,06 | 0,914 <sup>b</sup> | ±4,8               |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 1,22 | 0,947 <sup>a</sup> | ±8,2               |
| Kalijum               | Maceracija              | 1,04 | 0,984 <sup>a</sup> | ±1,1               |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 1,14 | 0,998 <sup>a</sup> | ±0,7               |
| Kalcijum              | Maceracija              | 1,02 | 0,998 <sup>a</sup> | ±0,3               |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 1,27 | 0,998 <sup>a</sup> | ±1,5               |
| Magnezijum            | Maceracija              | 1,02 | 0,989 <sup>a</sup> | ±0,8               |
|                       | Ultrazvučna ekstrakcija | 1,20 | 0,992 <sup>a</sup> | ±2,6               |

<sup>a</sup> $p < 0,001$ . <sup>b</sup> $p < 0,01$ .

Prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa svakih 10 °C povećanja temperature za faktor 1,02-1,06 i 1,14-1,27 u odsustvu i prisustvu ultrazvuka, respektivno. Vrednosti temperaturnog ekstrakcionog koeficijenta za maceraciju iz *G. mollugo* se slažu sa vrednostima (1,02-1,14) koje su ranije objavili Meziane i Kadi (2008). Do sada, nema publikovane vrednosti za temperaturni ekstrakcioni koeficijent za ultrazvučnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala.

## 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog doktorskog rada ispitivana je ekstrakcija ukupnih ekstraktivnih materija (rezinoid) i nekih mineralnih materija (kalijum, kalcijum i magnezijum) iz samlevenih, suvih nadzemnih delova *G. mollugo* pomoću vodenog rastvora etanola pri odnosu rastvarač-biljna sirovina 20 g/g, na različitim temperaturama (od sobne do temperature ključanja tečnog ekstrakta) primenom maceracije i indirektno ultrazvučne ekstrakcije. Realizovanim istraživanjima ostvareni su svi postavljeni ciljevi doktorskog rada u pogledu mehanizma, optimizacije, kinetike i termodinamičke analize procesa ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz *G. mollugo*, sa i bez uticaja ultrazvučnog zračenja.

Preliminarnim ispitivanjima ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* utvrđeno je da se maksimalni prinos rezinoida postiže sa rastvorom etanola koncentracije 10 %, kao i da je najveća selektivnost ekstrakcije kalijuma ostvarena sa rastvorom etanola koncentracije 40-45 %. Na osnovu ovog rezultata, rastvor etanola koncentracije 50 % vol. (42,4 %) je izabran kao rastvarač za ekstrakciju rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo*. Analizom mineralnog sastava utvrđeno je da ekstrakti *G. mollugo* dobijeni rastvorom etanola (50 % vol.) sadrže kalijum, kalcijum i magnezijum, a da su koncentracije drugih mineralnih materija ispod granice detekcije korišćenih analitičkih tehnika.

Ekstrakcija rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* rastvorom etanola u odsustvu i prisustvu ultrazvuka uključuje dva istovremena procesa, i to: ispiranje i difuziju ekstraktivnih materija, koja su ranije uočena kod ekstrakcije ekstraktivnih materija iz različitog biljnog materijala. Ovaj mehanizam je korišćen za modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija u odsustvu i prisustvu ultrazvuka.

Za modelovanje zavisnosti prinosa rezinoida i mineralnih materija od temperature i vremena ekstrakcije u svrhu optimizacije procesnih uslova korišćene su metoda površine odziva u obliku polinoma drugog reda i metoda veštačke neuronske mreže. Oba modela su prihvatljiva za predviđanje prinosa rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom u opsegu temperature 23-80 °C i 23-40 °C, respektivno. Model veštačke neuronske mreže ima veću vrednost  $R^2$  i manju vrednost *MRPD* od odgovarajućeg modela polinoma drugog reda, ali je drugi model pouzdaniji za predviđanje prinosa unutar temperaturnog intervala. Metodom površine odziva je utvrđeno da i temperatura i vreme imaju statistički značajan uticaj (sa nivoom poverenja od 95 %) na prinose rezinoida i mineralnih materija maceracijom i ultrazvučnom ekstrakcijom, pri čemu je temperatura značajniji faktor od vremena. Za obe tehnike ekstrakcije, prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa povećanjem temperature ekstrakcije i vremena trajanja ekstrakcije.

Operativni uslovi ekstrakcije u cilju dobijanja najvećeg prinosa rezinoida ili mineralnih materija su optimizovani pomoću modela polinoma drugog reda i kombinacijom modela veštačke neuronske mreže i genetičkog algoritma. Vrednosti maksimalnih prinosa rezinoida i mineralnih materija koje predviđaju dva modela su međusobno vrlo bliske, a slažu se i sa aktuelnim vrednostima prinosa ekstraktivnih materija. Takođe, oba modela ukazuju na vrlo slične optimalne uslove maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija.

Prema modelu veštačke neuronske mreže i genetičkom algoritmu optimalni uslovi maceracije (80 °C i oko 190 min) i ultrazvučne ekstrakcije (40°C i 56 min) osiguravaju maksimalni prinos rezinoida od 21,3 i 26,0 g/100 g, koji se slaže sa ekeperimentalnim prinosima (20,8 i 25,7 g/100 g), respektivno pri približno istim uslovima ekstrakcije. Optimalni uslovi ekstrakcije i maksimalni prinosi mineralnih materija zavise od vrste mineralnih materija i tehnike ekstrakcije. Veći prinos mineralnih materija postiže se na višoj temperaturi i u prisustvu ultrazvuka. Međutim, za obe tehnike ekstrakcije, selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se smanjuje sa povećanjem temperature. Na istoj temperaturi (23 °C), veća selektivnost ekstrakcije mineralnih materija se postiže maceracijom nego ultrazvučnom ekstrakcijom.

Promena prinosa rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* sa napredovanjem maceracije i ultrazvučne ekstrakcije se najbolje opisuju fenomenološkim modelom, koji pretpostavlja istovremeno odigravanje ispiranja i difuzije. Modeli za rezinoid i mineralne materije se odlikuju  $R^2$ -vrednošću bliskoj jedinici i malom *MRPD*-vrednošću, što ukazuje na njihovu pouzdanost i tačnost u predstavljanju (simulaciji) promena prinosa rezinoida i mineralnih materija sa vremenom na različitim temperaturama u odsustvu i prisustvu ultrazvuka. Ovaj model je potvrđen i za maceraciju i ultrazvučnu ekstrakciju rezinoida iz obične (*S. officinalis*) i lepljive (*S. glutinosa*) žalfije vodom i rastvorom etanola (70 %). Parametri modela zavise od tehnike ekstrakcije, temperature, vrste biljnog materijala i vrste ekstraktivnih materija. Ultrazvuk ima uticaja na ispiranje rezinoida i mineralnih materija, ali ne i na difuziju ekstraktivnih materija kroz biljne čestice. Konstante brzine ispiranja i frakcije ispranih rezinoida i mineralnih materija se povećavaju pod dejstvom ultrazvuka usled pozitivnih efekata kolapsa kavitacionih mehurova. Konstante brzine ispiranja i difuzije zavise od temperature u skladu sa Arrhenius-ovom jednačinom. Frakcija ispranih rezinoida se povećava sa povećanjem temperature maceracije, dok ne zavisi od temperature ultrazvučne ekstrakcije. Frakcija ispranog kalijuma ne zavisi od temperature i dejstva ultrazvuka, a frakcije ispranih kalcijuma i magnezijuma ne zavise od temperature, ali se malo povećavaju pod dejstvom ultrazvuka. Ravnotežni prinosi rezinoida i mineralnih materija rastu sa povećanjem ekstrakcione temperature i pod dejstvom ultrazvuka.



Termodinamička analiza maceracije i ultrazvučne ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz nadzemnih delova *G. mollugo* je pokazala da su oba procesa spontana, nepovratna i endotermna. Spontanost ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija je favorizovana povećanjem temperature. Veći stepen ekstrakcije u prisustvu nego u odsustvu ultrazvuka objašnjava se većom promenom entropije ekstrakcionog sistema. Ispitivani ekstrakcioni sistem apsorbuje veću količinu energije u prisustvu ultrazvuka zbog transformacije ultrazvučne energije u toplotu. Prinosi rezinoida i mineralnih materija se povećavaju sa svakih 10 °C povećanja temperature za faktor 1,02-1,06 i 1,14-1,27 u odsustvu i prisustvu ultrazvuka, respektivno. Ovo je prvi put da se predstavljaju vrednosti za temperaturni ekstrakcioni koeficijent za ultrazvučnu ekstrakciju ekstraktivnih materija iz biljnog materijala.

Kod izbora ekstrakcione tehnike i operativnih uslova treba razmotriti veći broj kriterijuma, od kojih su najvažniji sledeći: tehnika ekstrakcije, vrsta rastvarača, vrsta biljnog materijala, stepen usitnjenosti biljnog materijala, odnos rastvarač-biljni materijal, prinos i selektivnost ekstrakcije željene ekstraktivne materije, vreme trajanja procesa, vrsta i stepen čistoće željenog proizvoda, energetske zahteve, ulaganje u opremu, pouzdanost povećanja razmere procesa i opreme i dr. Poznavanje procesa i opreme i raspoloživost validnim podacima igraju, takođe, važnu ulogu u izboru, razvoju i primeni konkretnog ekstrakcionog procesa. Ovaj doktorski rad pruža podatke samo za neke od navedenih kriterijuma. Za dati sistem rastvarač-biljna sirovina, tj. vodeni rastvor etanola i samleveni suvi nadzemni delovi *G. mollugo*, utvrđeno je da se ultrazvučnom ekstrakcijom ostvaruje veći prinos rezinoida i mineralnih materija za mnogo kraće vreme i na nižoj temperaturi nego maceracijom. Zbog niže operativne temperature, zahtevi za toplotnom energijom su manji nego kod maceracija na povišenoj temperaturi, ali su energetske troškovi uvećani potrošnjom električne energije za rad ultrazvučnih generatora. Na osnovu samo kriterijuma koji su praktično razmatrani u okviru ovog doktorskog rada (prinos, vreme i temperatura), jasno je da je ultrazvučna ekstrakcija povoljniji proces od maceracije. Međutim, ultrazvučna ekstrakcija ima manju selektivnost ekstrakcije mineralnih materija od maceracije. Takođe, poznato je da rezinoid dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom ima manju antioksidativnu aktivnost nego rezinoid dobijen maceracijom na sobnoj ili temperaturi ključanja. Pored toga, oprema za ultrazvučnu ekstrakciju je složenija i skuplja nego oprema za maceraciju, a prisutan je inženjerski problem povećanja veličine ultrazvučnih ekstraktora, koji nije dovoljno istražen. Zbog navedenih argumenata za i protiv izbora određene tehnike ekstrakcije i nedostatka svih potrebnih relevantnih podataka teško je u ovom trenutku doneti konačnu odluku o izboru optimalne tehnike ekstrakcije. Da bi se došlo do optimalne tehnike, potrebna su dalja istraživanja procesa ekstrakcije na različitim nivoima i tehnoeкономska analiza procesa.

# LITERATURA

Ahmad J., Yusup S., Bokhari A., Kamil R.N.M., 2014. Study of fuel properties of rubber seed oil based biodiesel, *Energ. Convers. Manage.* 78, 266–275.

Alupului A., Lavric V., 2008. Ultrasound extraction of active principles with hypoglycaemic activity from medicinal plants, *Chem. Eng. Transact.* 14, 83–90.

Anderson M.J., Whitcomb P.J., 2005. RSM simplified: optimizing processes using response surface methods for design of experiments. Productivity Press, New York, NY, USA.

Ashraf M., Hayat M.Q., Mumtaz A.S., 2010. A study on elemental contents of medicinally important species of *Artemisia L. (Asteraceae)* found in Pakistan, *J. Med. Plants Res.* 4, 2256-2263.

Attah J.C., Ibemesi J.A., 1990. Temperature effects on the extraction of rubber and melon seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67, 443–445.

Banthorpe D.V., White J.J., 1995. Novel anthraquinones from undifferentiated cell cultures of *Galium verum*, *Phytochemistry* 38, 107–111.

Bas D., Boyaci I.H., 2007. Modeling and optimization. I. Usability of response surface methodology, *J. Food Eng.* 78, 836–845.

Bashir M.J.K., Aziz H.A., Yusoff M.S., Adlan M.N., 2010. Application of response surface methodology (RSM) for optimization of ammoniacal nitrogen removal from semi-aerobic landfill leachate using ion exchange resin, *Desalination* 254, 154–161

Bauer B., 2006. Optimiranje parametara laserskog zavarivanja čelika za poboljšavanje, doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb.

Ben Amor B., Allaf K., 2009. Impact of texturing using instant pressure drop treatment prior to solvent extraction of anthocyanins from Malaysian roselle (*Hibiscus sabdariffa*), *Food Chem.* 115, 820–825.

Bisset N.G., Wichtl M., 2001. Herbal drugs and phytopharmaceuticals, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington D.C.

Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessiere J., 2005. Comparative study of the kinetics extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation, *Récents Progrès en Génie des Procédés* (Lavoisier, Paris, France) 92.

Box G.E.P., Drapper N.R., 1987. Empirical model-building and response surfaces. Wiley, New York.

Buchholz P., Müller D., Thümmle, A., 2005. Optimization of process chain models with the response surface methodology and the ProC/B-toolset. In: Supply chains management and logistik (Lünther, H.G., Mattfield, D., Sul, L., eds.), Physica Verlag, Heidelberg, pp. 553–573

Cárcel J.A., García-Pérez J.V., Mulet A., Rodríguez L., Riera E., 2010. Ultrasonically assisted antioxidant extraction from grape stalks and olive leaves. *Phys. Procedia* 3, 147–152.

Chen X., Wei T., Peng M., Tong Z., 2012. Optimization, kinetics, and thermodynamics in the extraction process of puerarin by decompressing inner ebullition. *Ind. Eng. Chem. Res.* 51, 6841–6846.

Chevallier A., 1996, *The encyclopedia of medicinal plants*, DK Pub., New York, p. 112.

Cissé M., Bohuon P., Sambe F., Kane C., Sakho M., Dornier M., 2012. Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: experimental kinetics and modeling, *J. Food Eng.* 109, 16–21.

Coulson J. M. Richardson J.F., Backhurst J. R., Harker J. H, 1991. *Chemical engineering*, Vol.2, 4<sup>th</sup> ed.; Particle technology and separation processes, Pergamon Press, Oxford.

Crank J., 1975. *The mathematics of diffusion*, Oxford University Press, Oxford,

Crossley J.I., Aguilera J.M., 2001. Modeling the effect of microstructure on food extraction, *J. Food Process. Eng.* 24, 161–177.

Cui F.-J., Zhao H.-X., Sun W.-J., Wei Z., Yu S.-L., Zhou Q., Dong Y., 2013. Ultrasound-assisted lipase-catalyzed synthesis of D-isoascorbyl palmitate: process optimization and kinetic evaluation, *Chem. Cent. J.* 7:180, 1-10.

De Rosa S., Iodice C., Mitova M., Handjieva N., Popov S., Anchev, M., 2000. Triterpene saponins and iridoid glucosides from *Galium rivale*, *Phytochemistry* 54, 751–756.

Demirel M. Kayan B., 2012. Application of response surface methodology and central composite design for the optimization of textile dye degradation by wet air oxidation, *Int. J. Ind. Chem.* 3:24, 1-10.

Demirezer L.Ö., Gürbüz F., Güvenalp Z., Ströch K., Zeeck A., 2006. Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from *Galium verum* subsp. *verum*, *Turk. J. Chem.* 30, 525-534.

Desai K.M., Survase S.A., Saudagar P.S., Lele S.S., Singhal R.S., 2008. Comparison of artificial neural network (ANN) and response surface methodology (RSM) in fermentation media optimization: case study of fermentative production of scleroglucan, *Biochem. Eng. J.* 41, 266–273

Du L., Wang G., Lu W., Zhao H., 2010. Diosmetin substituent in *Galium verum* L. acting on venous thrombosis, 2010. 4th International conference on bioinformatics and biomedical engineering (iCBBE 2010), Paper 40275, June 18-20, 2010, Chengdu, China.

Endut Z., Hamdi M., Basirun W.J., 2013. Optimization and functionalization of anodized titania nanotubes for redox supercapacitor, *Thin Solid Films* 549, 306–312.

Franco D., Pinelo M., Sineiro J., Núñez M.J., 2007a. Processing of *Rosa rubiginosa*: extraction of oil and antioxidant substances, *Bioresour. Technol.* 98, 3506–3512.

Franco D., Sineiro J., Pinelo M., Núñez M.J., 2007b. Ethanolic extraction of *Rosa rubiginosa* soluble substances: oil solubility equilibria and kinetic studies, *J. Food Eng.* 79, 150–157.

Gajić M., Rubiaceae B. Jusl., 1973. U: Flora Srbije, Vol. V, Josifović M., ured., SANU, Beograd, str. 463-499.

Galonde N., Brostaux Y., Richard G., Nott K., Jérôme C., Fauconnier M.-L., 2013. Use of response surface methodology for the optimization of the lipase-catalyzed synthesis of mannosyl myristate in pure ionic liquid, *Process Biochem.* 48, 1914–1920.

Gong Y., Hou Z., Gao Y., Xue Y., Liu X., Liu G., 2012. Optimization of extraction parameters of bioactive components from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue using response surface methodology, *Food Bioprod. Proces.* 90, 9–16.

Güvenalp Z., Kilic N., Kazaz C., Kaya Y., Demirezer L. Ö., 2006. Chemical constituents of *Galium tortumense*, *Turk J. Chem.* 30, 515-523

Hamdzah M., Ujang Z., Nasef M.M., Hadibarata T., Olsson G., Hassan H., Rusl N.M., 2013. Optimization of parameters affecting adsorption of nickel (II), zinc (II) and lead (II) on Dowex 50 W resin using a response surface methodology approach, *J. Environ. Sci. Technol.* 6, 106-118.

Hemwimol S., Pavasant P., Shotipruk A., 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*, *Ultrason. Sonochem.* 13, 543-548.

Herodež Š.S., Hadolin M., Škerget M., Knez, Ž., 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chem.* 80, 275–282.

Hojnik M., Skerget M., Knez Z., 2008. Extraction of lutein from marigold flower petals – experimental kinetics and modelling, *LWT – Food Sci. Technol.* 41, 2008–2016.

Hromádková Z., Ebringerová A., Valachovič P., 1999. Comparison of classical and ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Ultrason. Sonochem.* 5, 163-168.

Huang Y., Yuan Y., Zhou Z., Liang J., Chen Z., Li G., 2013. Optimization and evaluation of chelerythrine nanoparticles composed of magnetic multiwalled carbon nanotubes by response surface methodology, *Appl. Surface Sci.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.11.148>.

Il'ina T.V., Kovaleva A.M., Goryachaya O.V., 2009. Essential oil from *Galium verum* flowers, *Chem. Nat. Compd.* 45, 587–588.

Karabegovic I., Nikolova M., Velickovic D., Stojicevic S., Veljkovic V., Lazic M., 2011. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques, *Chin. J. Chem. Eng.* 19, 504–511.

Kim H.-K., Do J.-R., Lim T.-S., Akram K., Yoone S.-R., Kwon J.-H., 2012. Optimization of microwave-assisted extraction for functional properties of *Vitis*

*coignetiae* extract by response surface methodology, J. Sci. Food Agric., <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5546>.

Kitanović S., Milenović D., Veljković V.B., 2008. Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). Biochem. Eng. J. 41, 1–11.

Kleijnen J. P. C., 1998. Experimental design for sensitivity analysis, optimization, and validation of simulation models. In: Handbook of simulation: principles, methodology, advances, applications and practice, J. Banks, ed., John Wiley & Sons New York, pp. 173–223.

Kobyłański J.R., Pérez O.E., Pilosof A.M.R., 2004. Thermal transitions of gluten-free doughs as affected by water, egg white and hydroxypropylmethylcellulose, Thermochim. Acta 411, 81-89.

Kostić M.D., Joković N.M., Stamenković O.S., Rajković K.M., Milić P.S., Veljković V.B., 2013. Optimization of hempseed oil extraction by *n*-hexane, Ind. Crops Prod. 48, 133–143.

Kostić M.D., Joković N.M., Stamenković O.S., Rajković K.M., Milić P.S., Veljković V.B., 2014. The kinetics and thermodynamics of hempseed oil extraction by *n*-hexane, Ind. Crops Prod. 52, 679– 686.

Lakić N.S., Mimica-Dukić N.M., Isak J.M., Božin B.N., 2010. Antioxidant properties of *Galium verum* L. (Rubiaceae) extracts, Cent. Eur. J. Biol. 5, 331–337.

Ley S., 1989. Ultrasound in synthesis, Springer–Verlag, Berlin–Heidelberg.

Li H., Deng Z., Wu T., Liu R., Loewen S., Tsao R., 2012a. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, Food Chem. 130, 928–936.

Li T., Qu X.-Y., Zhang Q.-A., Wang Z.-Z., 2012b. Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort, Ind. Crops Prod. 35, 98–104.

Lim C.H., Rahim R.A., Ho Y.W., Arbakariya B.A., 2007. Optimization of growth medium for efficient cultivation of *Lactobacillus salivarius* i24 using response surface method, Malaysian J. Microbiol 3, 41-47.

Lundstedt T., Seifert E., Abramo L., Thelin B., Nyström Å., Pettersen J., Bergman R., 1998. Experimental design and optimization, *Chemometr. Intell. Lab.* 42, 3–40.

Ma Y.-Q., Chen J.-C., Liu D.-H., Ye X.-Q., 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: effect of ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* 16, 57–62.

Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R., 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chem.* 100, 1409–1418.

Marchitana N., Cojocarub C., Mereutaa A., Ducac G., Cretescud I., Gonta M., 2010. Modeling and optimization of tartaric acid reactive extraction from aqueous solutions: a comparison between response surface methodology and artificial neural network, *Sep. Purif. Technol.* 75, 273–285.

Martínez K.D., Pilosof A.M.R., 2012. Relative viscoelasticity of soy protein hydrolysate and polysaccharides mixtures at cooling conditions analyzed by response surface methodology. *Food Hydrocolloid.* 26, 318-322.

Mavi A., Terzi Z., Özgen U., Yildirim A., Coşkun M., 2004. Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae), *Biol. Pharm. Bull.* 27(5) 702-705.

Meziane S., Kadi H., 2008. Kinetics and thermodynamics of oil extraction from olive cake, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85, 391–396.

Milenović D., Veljković V.B., Todorović B., Stankovi M., 2002. Extraction of resinoids from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). I. Efficiency and optimization of extraction, *Hem. Ind.* 56, 54–59.

Milenović D., Veljković V., 2002. Analiza ekstrakcije rezinoida kantariona (*Hypericum perforatum* L.). I. Efikasnost i optimizacija ekstrakcije, *Hem. ind.* 56, 54-59.

Milić P.S., Stanojević Lj., Rajković K.M., Milić S.M., Nikolić V.V., Nikolić Lj., Veljković V.B., 2013. Antioxidant activity of *Galium mollugo* L. extracts obtained by different recovery techniques. *Hem. Ind.* 67, 89–94.

Mircea V., 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrason. Sonochem.* 8, 303–313.

Mitra P., Barman P.C., Chang K.S., 2011. Coumarin extraction from *Cuscuta reflexa* using supercritical fluid carbon dioxide and development of an artificial neural network model to predict the coumarin yield, *Food Bioprocess Technol.* 4, 737–744.

Moubarik A., El-Belghiti K., Vorobiev E., 2011. Kinetic model of solute aqueous extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*) treated by pulsed electric field, electrical discharges and ultrasonic irradiations, *Food Bioprod. Process.* 89, 356–361.

Murwan K.S.E., Murwa A.M., 2010. Chemical composition, minerals, protein fractionation, and antinutrition factors in leaf of hargel plant (*Solenostemma argel*), *Eur. J. Sci. Res.* 43, 430-434.

Myers R.H., Montgomery D.C., 2002. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, NY.

Neis, U. 2002. Intensification of biological and chemical processes by ultrasound. In: *Ultrasound in environmental engineering II. Reports on Sanitary Engineering 35.* Technical University Hamburg-Harburg, GFEU-Verlag, Germany, pp. 79–90.

Nikolić V., Sigunov A., Diklić N., 1986. Appendix of the Flora of Serbia by new data for distribution plant species, In: Sarić M., ed., *Flora of Serbia, Vol. X*, Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, pp. 257-336

Oh S.J., Rheem S.S., Sim J.H., Kim, S.K., 1995. Optimization condition for the growth of *Lactobacillus casei* YIT 9018 in tryptone-yeast extract-glucose medium by using response surface methodology, *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 3809–3814.

Pan G., Yu G., Zhu C., Qiao J., 2012a. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS), *Ultrason. Sonochem.* 19, 486–490.



Pan Z., Qu W., Ma H., Atungulu G.G., McHugh T.H., 2012b. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel, *Ultrason. Sonochem.* 19, 365–372.

Paniwnyk L., Beaufoy E., Lorimer J.P., Mason T.J., 2001. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*, *Ultrason. Sonochem.* 8, 299–301.

Patricelli A., Assogna A., Casalaina A., Emmi E., Sodini G., 1979. Fattori che influenzano l'estrazione dei lipidi da semi decorticati di girasole. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 56, 136–142.

Pekić B., Stojanović D., Lepojević Ž., Tolić A., 1988. Investigation of extraction kinetics of glycosides from leaves of *Digitalis lanata* Ehrh., *Pharm. Ind.* 50, 984-986.

Peleg M., 1988. An empirical model for the description of moisture sorption curves, *J. Food Sci.* 53, 1216–1219.

Perez E.E., Carelli A.A., Crapiste G.H., 2011. Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane, *J. Food Eng.* 105, 180–185.

Ponomarev V. D., 1976. Ekstragirovanie lekarstvennogo syrja, *Medicina*, Moskva.

Qu W., Pan Z., Ma H., 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc, *J. Food Eng.* 99, 16–23.

Rafaëly L., Héron S., Nowik W., Tchaplà A., 2008. Optimisation of ESI-MS detection for the HPLC of anthraquinone dyes, *Dyes Pigments* 77, 191-203.

Rajakumar S., Muralidharan C., Balasubramanian V., 2010. Establishing empirical relationships to predict grain size and tensile strength of friction stir welded AA 6061-T6 aluminium alloy joints, *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* 20, 1863–1872.

Rajasimman M., Murugaiyan K., 2011. Sorption of nickel by *Hypnea valentiae*: application of response surface methodology, *World Acad. Sci., Eng. Technol.* 49, 7-12.

Rajasimman M., Murugaiyan K., 2012. Application of the statistical design for the sorption of lead by *Hypnea valentiae*, J. Adv. Chem. Eng. 2, Article ID A110402, 7 pages

Rajendra M., Jena P.C., Raheman H., 2009. Prediction of optimized pretreatment process parameters for biodiesel production using ANN and GA, Fuel 88, 868–875.

Rakotondramasy-Rabesiaka L., Havet J.-L., Porte C., Fauduet, H., 2007. Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L. – Analysis determination, kinetic reaction and model building, Sep. Purif. Technol. 54, 253–261.

Rakotondramasy-Rabesiaka L., Havet J.-L., Porte C., Fauduet H., 2010. Estimation of effective diffusion and transfer rate during the protopine extraction process from *Fumaria officinalis* L., Sep. Purif. Technol. 76, 126–131.

Ražić S., Đogo S., Slavković L., 2006. Inorganic analysis of herbal drugs. Part II. Plant and soil analysis – diverse bioavailability and uptake of essential and toxic elements, J. Serb. Chem. Soc. 71, 1095–1105.

Rodrigues C.E.C., Aracava K.K., Abreu F.N., 2010. Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. Food Sci. Technol. Int. 45, 2407–2414.

Romdhane M., Gourdon C., 2002. Investigation in solid–liquid extraction: influence of ultrasound, Chem. Eng. J. 87, 11–19.

Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C., 2009. Development of fibre-enriched gluten-free bread: a response surface methodology study, Int. J. Food Sci. Nutr. 60(Suppl.4), 174–190

Saldaña-Roblesa A., Guerra-Sánchez R., Maldonado-Rubio M.I., Peralta-Hernández J.M., 2013. Optimization of the operating parameters using RSM for the Fenton oxidation process and adsorption on vegetal carbon of MO solutions, J. Ind. Eng. Chem. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.06.015>

Sališová M., Toma Š., Mason T.J., 1997. Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*, Ultrason. Sonochem. 4, 131–134.

Saxena D.K., Sharma S.K., Sambhi S.S., 2011. Kinetics and thermodynamics of cottonseed oil extraction, Grasas Aceites 62, 198–205.

Saxena D.K., Sharma S.K., Sambhi S.S., 2012. Kinetics and thermodynamics of gossypol extraction from defatted cottonseed meal by ethanol, Pol. J. Chem. Tech. 14, 29-34.

Schepers A.W., Thibault J. Lacroix, C., 2002. *Lactobacillus helveticus* growth and lactic acid production during pH-controlled batch cultures in whey permeate/yeast extract medium. Part I. Multiple factor kinetic analysis, Enzyme Microb. Technol. 30, 176 – 186.

Shafaghat A., Salimi F., Aslaniyan N., Shoaee Z., 2010. Flavonoids and an ester derivative isolated from *Galium verum* L. World Appl. Sci. J. 11, 473–477.

Sheng Z.-L., Wan P.-F., Dong C.-L., Li Y.-H., 2013. Optimization of total flavonoids content extracted from *Flos populi* using response surface methodology, Ind. Crops Prod. 43, 778–786.

Shokria A., Hatamib T., Khamforoush M., 2011. Near critical carbon dioxide extraction of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed: mathematical and artificial neural network modeling, J. Supercrit. Fluid. 58, 49–57.

So G.C., Macdonald D.G., 1986. Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed), Can. J. Chem. Eng. 64, 80-86.

Spigno, G., De Faveri, D.M., 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study, J. Food Eng. 93, 210–217.

Stanisavljević I., Lakićević S., Veličković D., Lazić M., Veljković V., 2007a, The extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds, Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 13, 41–50.

Stanisavljević I.T., Lazić M.L., Veljković V.B., 2007b. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. Ultrason. Sonochem. 14, 646–652.

Stanisavljević I., Stojicević S., Velicković D., Lazić M., Veljković V.B., 2008. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from plantain (*Plantago major* L.) leaves, Sep. Sci. Technol. 43, 3652–3662.

Stanković M.Z., Cakić M.D., Cvetković D.M., Veljković V.B., 1994. Kinetics of extraction of resinoids from overground parts of sweet clover (*Melilotus officinalis* L.), J. Serb. Chem. Soc, 59, 735-741.

Stanković M.Z., Stojanović N.Z., Nikolić N.Č., Novković V.M., 2004. The extraction of total lipids from parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex. A.W.), Hem. Ind. 58 (2004) 563–568.

Stanojević Lj., Stanković M., Nikolić V., Nikolić Lj., 2008. Antioxidative and antimicrobial activities of *Hieracium pilosella* L. extracts, J. Serb. Chem. Soc. 73, 531–540.

Subha B., Muthukumar M., 2012. Optimization of ozonation process for the reduction of excess sludge production from activated sludge process of sago industry wastewater using central composite design, Sci. World J. Article ID 239271, 8 pages

Tabaraki R., Heidarizadi E., Benvidi A., 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology, Sep. Purif. Technol. 98, 16–23.

Tabaraki R., Nateghi A., 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology, Ultrason. Sonochem. 18, 1279–1286

Tămas M., Stana D., Timis S., 2006. Comparative phytochemical research of *Galium verum* L. and *Gallium mollugo* L., Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 34, 18-20.

Tanyildizi M.Ş., Bulut Ş., Selen V., Özer D., 2012. Optimization of lactic acid production with immobilized *Rhizopus oryzae*, Afr. J. Biotechnol. 11, 8546-8552.

Temizer A., Sayin F., Ergun F., Temizer H., Sener, B., 1996. Determination of total flavonoid in various *Galium* species by differential pulse polarography, Gazi Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi (J. Fac. Pharm. Gazi Univ.) 13, 97-103.

Toma M., Vinatoru M., Paniwnyk L., Mason T.J., 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction, Ultrason. Sonochem. 8, 137–142.

Topallar H., Gecgel U., 2000. Kinetics and thermodynamics of oil extraction from sunflower seeds in the presence of aqueous acidic hexane solutions. Turk J. Chem. 24, 247-253.

Treybal R.E., 1981. Mass transfer operations, 3d ed., McGraw Hill, Singapore.

Trinh T.K., Kang L.S. 2010. Application of response surface method as an experimental design to optimize coagulation test, *Environ. Eng. Res.* 15, 63–70.

Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R., Alipieva K., 2011. Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp L. *Food Bioprod. Process.* 89, 273–280.

Tsochatzidis A.N., Guiraud P., Wilhelm M.A., Delmas H., 2001, Determination of velocity, size and concentration of ultrasonic cavitation bubbles by the phase-Doppler technique, *Chem. Eng. Sci.* 56, 1831-1840.

Tucakov J., 2006. *Lečenje biljem*, Rad, Belgrade.

Valachovič P., Pechova A., Mason T.J., 2001. Towards the industrial production of medicinal tincture by ultrasound assisted axtraction, *Ultrason. Sonochem.* 8, 111.

Veličković D.T., Milenović D.M., Ristić M.S., Veljković V.B., 2006. Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage, *Ultrason. Sonochem.* 13, 150–156.

Velickovic D.T., Milenovic D.M., Ristic M.S., Veljkovic, V.B., 2008. Ultrasonic extraction of waste solid residues from the *Salvia* sp. essential oil hydrodistillation. *Biochem. Eng. J.* 42, 97–104.

Veljković V.B., Milenović D.M., 2002. Extraction of resinoids from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L). II. Modeling of extraction kinetics. *Hem. Ind.* 56, 60–67.

Vinatoru M., Toma M., Mason T.J., 1999. Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from plants andtheir constituents, *Adv. Sonochem.* 5, 209-247.

Vinatoru M., Toma M., Radu O., Filip P.I., Lazurca D., Mason T.J., 1997. The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials, *Ultrason. Sonochem.* 4, 135–139.

Wang H., Liu Y., Wei S., Yan Z., 2012. Application of response surface methodology to optimize supercritical carbon dioxide extraction of essential oil from *Cyperus rotundus* Linn, *Food Chem.* 132, 582–587.

Wichtl M., Bisset N. G., ed., 1994, *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*, Medpharm Sci. Publ., Stuttgart, Germany.

Wu H., Hendrawinata W., Yu Y., Gao X., Li Y., Bartle J., Grayling P., 2011. Effect of hydrodistillation on 1,8-cineole extraction from mallee leaf and the fuel properties of spent biomass, *Ind. Eng. Chem. Res.* 50, 11280–11287.

Xu H.-N., Huang W.-N., He C.-H., 2008. Modeling for extraction of isoflavones from stem of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi using *n*-butanol/water two-phase solvent system, *Sep. Purif. Technol.* 62, 590–595.

Xu H.-N., Huang W.-N., He C.-H., 2008. Modeling for extraction of isoflavones from stem of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi using *n*-butanol/water two-phase solvent system, *Sep. Purif. Technol.* 62, 590–595.

Xu M., Yin P., Liu X., Tang Q., Qu R., Xu Q., 2013. Utilization of rice husks modified by organomultiphosponic acids as low-cost biosorbents for enhanced adsorption of heavy metal ions, *Bioresource Technol.* 149, 420–424.

Yim H.S, Chye F.Y, Koo S.M, Matanjun, How S.E., Ho C.W, 2012. Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*, *Food Bioprod. Process.* 90, 235-242.

Yusoff Azudin N., Mashitah M.D., Abd Shukor S.R., 2013. Optimization of isoamyl acetate production in a solvent-free system, *J. Food Qual.* 36, 441–446.

Zahedi G., Azarpour A., 2011. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of *Passiflora* seed oil, *J. Supercrit. Fluid.* 58, 40–48.

Zhao C., Shao J., Cao D., Zhang Y., Li X., 2009. Chemical constituents of *Galium verum*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 34, 2761.

Zhao C.C., Shao J.H., Li X., Kang X.D., Zhang Y.W., Meng D.L., Li N., 2008. Flavonoids from *Galium verum* L., *J. Asian Nat. Prod. Res.* 10, 611-615.

Zhao C.C., Shao J.H., Li X., Xu J., Wang J.H., 2006. A new anthraquinone from *Galium verum* L, *Nat. Prod. Res.* 20, 981-984.

Zhu A., 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Ottelia Acuminata* (Gagnep.) Dandy using RSM, *Adv. Mater. Res.* 396–398, 292–296.

# BIOGRAFIJA

Petar S. Milić je rođen 12. maja 1966. godine u Leskovcu, gde je završio osnovnu i srednju školu. Osnovne studije na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu (biohemijski odsek, prehrambeni smer) upisao je šk. 1985/1986. godine, a završio ih je 1990. godine. Osnovne studije na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu (smer diplomirani farmaceut), upisao je šk. 1994/1995. godine, a završio 2000. godine. Na istom fakultetu upisao je 2006. godine specijalističke studije (oblast Farmakoeconomija i farmaceutska legislativa), koje je završio 2007. godine. Postdiplomske magistarske akademske studije na Fakultetu za turizam i hotelijerstvo u Kotoru Univerziteta Crne Gore završio je 2009. godine. Specijalističke studije iz Kozmetologije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisao je 2009. godine. Doktorske studije na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu, studijski program Tehnološko inženjerstvo, upisao je školske 2010/2011. godine. Položio je sve ispite predviđene planom i programom. Bio je učesnik dva međunarodna projekta. Radi kao predavač na Visokoj medicinskoj školi strukovnih studija u Čupriji (predmeti: Farmaceutska botanika, Farmaceutska hemija, OTC preparati, Farmaceutska praksa, Medicinski proizvodi, Farmaceutske vode i Medicinski pakovni materijal), kao i na Visokoj hemijsko-tehnološkoj školi strukovnih studija u Kruševcu (predmeti: Tehnologija farmaceutskih proizvoda I i II i Kozmetologija). Rezultati njegovog istraživačkog rada su objavljeni u međunarodnim časopisima (10 radova, po 5 radova kategorije M21 i M23) i na skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja značaja (6 radova štampana u izvodu, po 3 rada kategorije M34 i M64).



---

Prilog 1.

## IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem da je doktorska disertacija, pod naslovom:

Optimizacija i modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida  
i mineralnih materija iz belog ivanjskog cveća  
(*Galium mollugo* L.)

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija, ni u celini, ni u delovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome, prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisu kršena autorska prava, niti zloupotrebljena intelektualna svojina drugih lica

U Nišu, 10.03.2014. god.

Autor disertacije: Petar S. Milić

Potpis doktoranda:

---





---

Prilog 2.

## IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKE DISERTACIJE

Ime i prezime autora: Petar S. Milić

Studijski program: Tehnološko inženjerstvo

Naslov rada: Optimizacija i modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz belog ivanjskog cveća (*Galium mollugo* L.)

Mentor: dr Vlada Veljković, red. prof.

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji, koju sam predao za unošenje u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci, koji su u vezi sa dobijanjem akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada, i to u katalogu Biblioteke, Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Nišu, kao i u publikacijama Univerziteta u Nišu.

U Nišu, 10.03.2014. god.

Autor disertacije: Petar S. Milić

Potpis doktoranda:

---



---

Prilog 3.

## IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku “Nikola Tesla” da, u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu, unese moju doktorsku disertaciju, pod naslovom:

**Optimizacija i modelovanje kinetike ekstrakcije rezinoida i mineralnih materija iz belog ivanjskog cveća (*Galium mollugo* L.)**

koja je moje autosko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu, pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju, unetu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Nišu, mogu koristiti svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons), za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da podvučete samo jednu od šest podvučenih licenci, kratak opis licenci je u nastavku teksta).

U Nišu, 10.03.2014. god.

Autor disertacije: Petar S. Milić

Potpis doktoranda:

---

## ТИПОВИ ЛИЦЕНЦИ

1. Ауторство. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци (CC BY 3.0).

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела (CC BY-NC 3.0).

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе вашег дела у делима других аутора, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела (CC BY-NC-ND 3.0).

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прераде (CC BY-NC-SA 3.0).

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе вашег дела у делима других аутора, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела (CC BY-ND 3.0).

6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода (CC BY-SA 3.0).