# Optimizacija procesa proizvodnje lješnjakovog ulja

**Rot, Tomislav**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:738932

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

*Repository / Repozitorij:*

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
**PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Tomislav Rot**

# OPTIMIZACIJA PROCESA PROIZVODNJE LJEŠNJAKOVOG ULJA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, svibanj 2015.

**TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**DIPLOMSKI RAD**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**
**Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**
**Zavod za procesno inženjerstvo**
**Katedra za projektiranje tehnoloških procesa i konstrukcijske materijale**
**Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek, Hrvatska**

| | |
|---|---|
| **Znanstveno područje:** | Biotehničke znanosti |
| **Znanstveno polje:** | Prehrambena tehnologija |
| **Nastavni predmet:** | Optimizacija i projektiranje industrijskih procesa |
| **Tema rada** | je prihvaćena na IV. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta održanoj 25. 3. 2014. godine. |
| **Mentor:** | doc. dr. sc. *Stela Jokić* |
| **Komentor:** | izv. prof. dr .sc. *Tihomir Moslavac* |
| **Pomoć pri izradi:** | dr. sc. *Krunoslav Aladić* |

## OPTIMIRANJE PROCESA PROIZVODNJE LJEŠNJAKOVOG ULJA

Tomislav Rot, 171/DI

**Sažetak:**

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih parametara ekstrakcije ulja iz lješnjaka procesom hladnog prešanja, nakon čega je provedena ekstrakcija zaostalog ulja unutar pogače pomoću superkritičnog $CO_2$. U eksperimentima prešanja korištena je metoda odzivnih površina (RSM) pomoću koje je ispitan utjecaj temperature zagrijavanja glave preše (70, 85, 100°C), frekvencije elektromotora (20, 30, 40 Hz) i veličine otvora (8, 10, 12 mm) na kvalitetu i iskorištenje ulja. Optimalni parametri za dobivanje najvećeg iskorištenja i najbolje kvalitete ulja su sljedeći: temperatura zagrijavanja glave preše 70°C, frekvencija elektromotora 30 Hz i otvor glave pužne preše 9 mm. Pogača dobivena pri optimalnim uvjetima prešanja podvrgnuta je ekstrakciji na novokonstruiranom uređaju za superkritičnu ekstrakciju. Ovim postupkom količina zaostalog ulja u pogači gotovo je u potpunosti ekstrahirana sa superkritičnim $CO_2$.

**Ključne riječi:** Lješnjak, lješnjakovo ulje, hladno prešanje ulja, ekstrakcija superkritičnim $CO_2$, metoda odzivnih površina

**Rad sadrži:**
49 stranica
20 slika
12 tablica
0 priloga
43 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

| | | |
|---|---|---|
| 1. | izv. prof. dr. sc. *Darko Velić* | predsjednik |
| 2. | doc. dr. sc. *Stela Jokić* | član-mentor |
| 3. | izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac* | član |
| 4. | prof. dr. sc. *Mate Bilić* | zamjena člana |

**Datum obrane:** 21. svibnja 2015.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

**MASTER THESIS**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**
**Faculty of Food Technology Osijek**
**Department of Process Engineering**
**Sub-department of Process Design and Construction Materials**

**Scientific area:** Biotechnical sciences
**Scientific field:** Food technology
**Course title:** Optimization and industry process design
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. IV held on 25. 3. 2014.
**Supervisor:** *Stela Jokić*, PhD, assistant prof.
**Co-supervisor:** *Tihomir Moslavac, PhD,* associate prof.
**Technical assistance:** *Krunoslav Aladić*, PhD

# OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION OF HAZELNUT OIL

*Tomislav Rot, 171/DI*

**Summary:**

The aim of this research was to evaluate the effects of different process parameters of hazelnut oil extraction with screw pressing followed by extraction with supercritical $CO_2$. In pressing experiments, the response surface methodology (RSM) was conducted in order to study the effects of temperature head presses (70, 85, 100°C), frequency (20, 30, 40 Hz) and nozzle size (8, 10, 12 mm) on oil yield and quality. The optimal condition for obtaining the highest yield and the best oil quality within the experimental range of the variables studied was at temperature 70°C, frequency of 30 Hz and using nozzle size of ID 9 mm. The cake resulting from optimal pressing condition was used in further research in a newly designed and built supercritical fluid extraction system. With this procedure, the residual oil in the pressed cake was almost totally extracted with supercritical $CO_2$.

**Key words:** Hazelnut, hazelnut oil, screw pressing, supercritical $CO_2$ extraction, response surface methodology

**Thesis contains:** 48 pages
20 figures
12 tables
0 supplement
43 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

1. *Darko Velić*, PhD, associate prof. — chair person
2. *Stela Jokić*, PhD, assistant prof. — supervisor
3. *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof. — member
4. *Mate Bilić,* PhD, full prof. — stand in

**Defense date:** May 21st 2015

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Steli Jokić na pomoći tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela i sugestijama pri pisanju ovog rada.

Također, zahvaljujem se i komentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslaveu te izv. prof. dr. sc. Darku Velić na sugestijama tijekom pisanja diplomskog rada.

Veliko hvala tehničarki Danijeli Paulik i dr. sc. Krunoslavu Aladiću na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Hvala i mojim prijateljima: mag. ing. techn. aliment. Jeleni Panak na slikama eksperimentalnog dijela rada te podršci i prijateljstvu tijekom cijeloga studija te mag. educ. inf. Maji Horvat na pomoći oko tehničkih dijelova pisanja rada.

Najveće hvala upućujem svojim roditeljima, Vinki i Vladimiru, na ljubavi i financijskoj potpori te sestrični mag. ing. techn. aliment. Ani Roth na prijateljstvu i savjetima tijekom cijeloga studija.

# SADRŽAJ:

1. UVOD ..... 6
2. TEORIJSKI DIO ..... 2
2.1. Lješnjak ..... 2
2.2. Lješnjakovo ulje ..... 3
2.3. Proces hladnog prešanja ulja ..... 5
2.4. Ekstrakcija superkritičnim fluidima ..... 9
2.5. Optimiranje procesnih parametara metodom odzivnih površina ..... 17
3. EKSPERIMENTALNI DIO ..... 23
3.1. Zadatak ..... 23
3.2. Materijali ..... 23
3.2.1. Jezgra lješnjaka ..... 23
3.2.2. Reagensi ..... 24
3.2.3. Uređaji ..... 24
3.3. Metode rada ..... 25
3.3.1. Hladno prešanje ..... 25
3.3.2. Određivanje udjela vlage u lješnjaku ..... 26
3.3.3. Određivanje udjela ulja u lješnjaku ..... 26
3.3.4. Određivanje parametara kvalitete lješnjakovog ulja ..... 27
3.3.4.1. Određivanje volumena i temperature prešanog ulja ..... 27
3.3.4.2. Određivanje peroksidnog broja (Pbr) ..... 27
3.3.4.3. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina (SMK) ..... 28
3.3.4.4. Određivanje udjela netopljivih nečistoća ..... 29
3.3.4.5. Određivanje udjela vlage u ulju ..... 29
3.3.4.6. Određivanje udjela ulja u pogači ..... 30
3.3.5. Optimiranje procesa prešanja lješnjakovog ulja primjenom metode odzivnih površina ..... 30
3.3.6. Ekstrakcija zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog $CO_2$ ..... 31
4. REZULTATI I RASPRAVA ..... 35
4.1. Utjecaj procesnih parametara hladnog prešanja na iskorištenje i kvalitetu lješnjakovog ulja ..... 35
4.2. Optimiranje procesa prešanja lješnjakovog ulja primjenom metode odzivnih površina ..... 37
4.3. Ekstrakcija ostatka ulja iz pogače superkritičnim $CO_2$ ..... 44
5. ZAKLJUČCI ..... 46
6. POPIS LITERATURE ..... 46

# 1. UVOD

U posljednje vrijeme, u svijetu raste svijest ljudi o utjecaju prehrambenih proizvoda ili pojedinih sastojaka tih proizvoda na ljudsko zdravlje, koje je narušeno nepravilnom i nezdravom prehranom. Također, raste i svijest o važnosti zaštite okoliša te proizvodnji proizvoda sa što manje otpada. U skupinu proizvoda koji povoljno utječu na ljudsko zdravlje spadaju i visokokvalitetna hladno prešana biljna ulja, koja sadržavaju esencijalne masne kiseline, vitamine, fenole, tokoferole i dr. Lipidi su vrlo bitni u svim stanicama, jer su gradivna komponenta. Također, znanstveno je utvrđeno kako visoka razina mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina te sterola i tokoferola ima važnu ulogu u prevenciji bolesti, pogotovo kardiovaskularnih, jer doprinose nižoj razini LDL kolesterola (*engl. low density lipoprotein cholesterol*). Većinu masnih kiselina koje se nalaze u lješnjakovom ulju čine oleinska (C18:1) (76-80%) i linolna kiselina (C18:2) (6-14%). Lješnjakovo ulje bogato je tokoferolima, koji mu daju posebnu nutritivnu vrijednost. Tijekom konzumiranja samo se manji dio vitamina E troši za zaštitu mononezasićenih masnih kiselina, dok se veći dio zadržava u organizmu i služi kao zaštitni faktor u raznim oksidativnim procesima (Bernardo i sur., 2002).

Ulje potrebno za istraživanje u ovome radu dobiveno je procesom hladnog prešanja pomoću kontinuirane pužne preše, bez postupka zagrijavanja i upotrebe organskih otapala. Zbog nižih temperatura, u ulju se zadržavaju brojne komponente poput esencijalnih masnih kiselina, fenola, tokoferola i flavonoida. Pogača, koja nastaje kao nusprodukt prešanja, sadrži određenu količinu zaostalog ulja koje se ne uspijeva istisnuti tijekom procesa prešanja. Također, pogača je vrlo bogata proteinima, vlaknima te mineralnim tvarima (Zubr, 1997).

Zbog što većeg iskorištenja ulja iz pogače, u radu je korištena i ekstrakcija superkritičnim ugljikovim dioksidom. Otkrićem superkritičnih otapala dolazi do postepenog zamjenjivanja ekološki neprihvatljivih i toksičnih organskih otapala. Superkritična ekstrakcija je inovativna tehnologija koja ima brojne prednosti u usporedbi s klasičnom ekstrakcijom, poput bolje difuzije, niže viskoznosti te manje površinske napetosti superkritičnog otapala, čime se omogućuje bolje prodiranje u materijal iz kojega želimo ekstrahirati određenu tvar. $CO_2$ kao otapalo je vrlo siguran za upotrebu u proizvodnji i preradi hrane, što dokazuje i njegova oznaka GRAS (*engl. Generally recognised as safe*) (Jokić, 2011).

Cilj ovoga rada bio je istražiti utjecaj različitih procesnih parametara hladnog prešanja na kvalitetu i iskorištenje lješnjakovog ulja, nakon čega je provedena ekstrakcija zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritične ekstrakcije.

# 2. TEORIJSKI DIO

## 2.1. Lješnjak

Drvo običnog europskog lješnjaka (lat. *Corylus avellana* L.), koje pripada porodici *Betulaceae*, daje plod sa vrlo visokim sadržajem ulja. Najveći svjetski proizvođači lješnjaka, koji osiguravaju gotovo cjelokupnu količinu lješnjaka na svjetskom tržištu su Turska, Španjolska i Italija. U Turskoj se godišnje proizvede preko 500 000 t lješnjaka. Plodovi lješnjaka se sakupljaju ručno, dok se ljuska odvaja pomoću za to predviđenog stroja. Ljuska se prerađuje te se može koristiti kao gorivo, za proizvodnju furfurala, za bojanje vina te za proizvodnju drvenog ugljena. Jezgra lješnjaka namijenjena je za prehrambene svrhe i vrlo je bogat izvor makro- i mikronutrijenata poput proteina, ulja, vitamina, minerala itd. Zbog svoga doprinosa boljem zdravstvenom statusu organizma, zaštite od mnogih bolesti, poput ateroskleroze i raka, poboljšavanja imunološkog sustava, posebno se preporučuje kao komponenta zdrave ishrane. Brojni pozitivni zdravstveni učinci lješnjaka, utvrđeni dosadašnjim istraživanjima, pripisuju se aminokiselinskom sastavu proteina (visoki udio arginina), specifičnom sastavu masnih kiselina ulja i visokom sadržaju minornih komponenti poput β-sitosterola, tokoferola (vitamin E), piridoksina (vitamin $B_6$), kao i magnezija, željeza, bakra, selena itd. Osnovni kemijski sastav jezgre lješnjaka prikazan je u **Tablici 1** (Dimić, 2005).

**Tablica 1** Osnovni kemijski sastav lješnjakove jezgre

| Komponenta | Srednja vrijednost (%) | Interval variranja |
|---|---|---|
| Voda | 4,8 | 3,8 – 5,7 |
| Proteini | 14,1 | 11,6 – 15,7 |
| Ulje | 61,5 | 53,7 – 66,3 |
| Bezdušične tvari | 17,6 | 13,9 – 18,6 |
| Pepeo | 2,0 | 1,7 – 2,4 |

Najviše lješnjaka proizvodi se u Turskim obalnim područjima uz Crno more, južnoj Europi (Italiji, Španjolskoj, Portugalu i Francuskoj) te u pojedinim dijelovima Sjedinjenih Država (Oregon i Washington). Također, uzgaja se i drugim zemljama poput Novog Zelanda, Kine, Azerbeiđana, Čilea, Irana, Gruzije itd. Turska je najveći svjetski proizvođač lješnjaka, doprinoseći sa oko 74% ukupne svjetske proizvodnje. Slijedi ju Italija sa 16%, SAD (4%) i Španjolska (3%). Ostale zemlje zajedno doprinose sa oko 3% ukupnoj proizvodnji. Lješnjak je najpopularnije orašasto drvo u Europi, a na tržištu je zastupljeno nekoliko vrsta. Svaka vrsta lješnjaka ima vlastiti nutritivni sastav, karakterističan okus i aromu (Alasalvar, 2008).

Zbog visoke nutritivne vrijednosti lješnjaka i vrlo ugodne arome, a osobito zbog potrošača koji se sve više orijentiraju na konditorske proizvode u kojima dolaze lješnjaci, u svijetu se bilježi veliko povećanje potrošnje i potražnje lješnjaka, pa se na tržištu postižu vrlo dobri ekonomski učinci. Plodovi lješnjaka sadrže 55 do 70,3% masnoće, koja se pretežno sastoji od nezasićenih masnih kiselina (oleinska 82% i linolinska 11%), glicerida masnih kiselina (stearinska 4%, palmitinska 3% i miristinska) i mješovitih glicerida navedenih masnih kiselina (Miljković, 1991). Ovaj omjer nisko zasićenih masnih kiselina prema visoko nezasićenim masnim kiselinama također pridonosi povoljnom utjecaju na zdravlje čovjeka, posebice na lipide plazme (Kole, 2011). Proteina ima od 12 do 18%, a prevladavaju konilin i glutein te u manjoj mjeri albumin i prolamin. Hidrolizom proteina nastaju aminokiseline, a posebno esencijalne. Ugljikohidrata ima do 14%, od čega je 4 do 10% šećera. Slijede mineralne tvari koje najvećim djelom uključuju kalcij, fosfor, magnezij i kalij (Miljković, 1991).

## 2.2. Lješnjakovo ulje

Lješnjakovo ulje je zlatnožute boje, ugodnog mirisa i slatkastog okusa. Koristi se u kulinarstvu kao obično rafinirano ulje u zemljama sa velikom proizvodnjom lješnjaka, dok se u zemljama koje lješnjak uvoze uglavnom koristi kao nerafinirano začinsko ulje. Također, koristi se i u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji te kao sredstvo za podmazivanje vrlo delikatnih i preciznih instrumenata. Osnovne fizikalno – kemijske karakteristike ulje lješnjaka prikazane su u **Tablici 2**, a u **Tablici 3** prikazan je sastav masnih kiselina.

**Tablica 2** Osnovne fizikalno – kemijske karakteristike lješnjakovog ulja prema nekim autorima

| **Pokazatelj** | (Karleskind, 1996.) | (Hui, 1996.) |
|---|---|---|
| Relativna zapreminska masa (t °C/voda t °C) | t = 20 °C<br>0,912 – 0,915 | t = 40 °C<br>0,899 – 0,904 |
| Indeks refrakcije ($n^t_D$) | t = 20 °C<br>1,470 – 1,471 | t = 40 °C<br>1,462 – 1,463 |
| Viskozitet (cP); 20 °C | 66 - 67 | - |
| Jodni broj (g/100g) | 85 - 95 | 84 – 90 |
| Saponifikacijski broj (mg KOH/g) | 190 - 195 | - |
| Točka učvršćivanja (°C) | -18 do -20 | -18 do -20 |

**Tablica 3** Sastav masnih kiselina lješnjakovog ulja (% m/m) prema nekim autorima

| **Masna kiselina** | (Wetherilt i Pala) | (Karleskind, 1996.) | (Commissione Technika, 1988.) | (Zlatanov i Antova, 1998.) |
|---|---|---|---|---|
| Palmitinska (16:0) | 5,9 – 7,4 | 5 – 9 | 4,5 – 7,5 | 8,6 |
| Stearinska (18:0) | 2,1 – 3,6 | 1 – 4 | 1,8 – 3,2 | 1,8 |
| Oleinska (18:1) | 72,3 – 80 | 66 – 83 | 77 – 84 | 83,2 |
| Linolna (18:2) | 9,8 – 17,7 | 8 – 25 | 6 – 14 | 1,5 |

Prema sastavu masnih kiselina, lješnjakovo ulje pripada oleinskom tipu ulja. Ulje je bogato mononezasićenim masnim kiselinama, posebno oleinskom (75-80%) i manjim udjelom linolne kiseline. Uz industrijsku primjenu, lješnjakovo ulje koje je sastavom vrlo slično maslinovom ulju, može igrati veliku ulogu u ljudskoj prehrani (Kole, 2011). Sadržaj mononezasićenih masnih kiselina u prosjeku je oko 75%, dok je sadržaj zasićenih masnih kiselina 8 – 9%. Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari lješnjakovog ulja prikazan je u **Tablici 4** (Dimić, 2005).

**Tablica 4** Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari lješnjakovog ulja

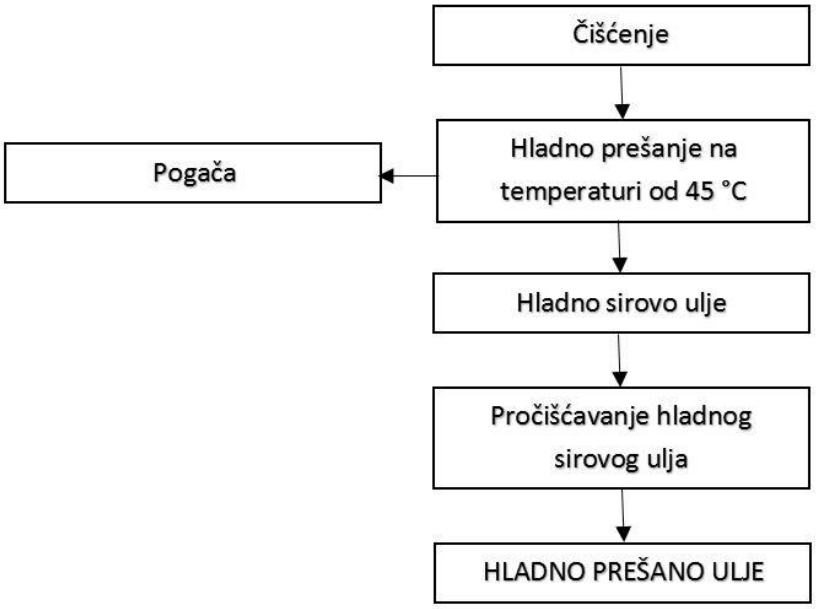
| **Pokazatelj** | (Karleskind, 1996.) | (Zlatanov i Antova, 1998.) |
|---|---|---|
| Sadržaj neosapunjivih materijala (g/kg) | 3 – 7 | 7 |
| Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg) | 750 – 1950 | 3000 |
| Sastav sterola: (% od ukupnih sterola) | | |
| Campesterol | 4 – 7 | - |
| β-Sitosterol | 82 – 88 | - |
| Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg) | 300 – 550 | 761 |
| Sastav tokoferola: (izražen u %) | | |
| α-tokoferol | 79 – 98 | 61,7 |
| γ-tokoferol | 2 – 19 | 34,3 |
| Triterpen alkoholi (mg/100g) | 15 – 17 | - |

Lješnjakovo ulje ima specifičan sastav neosapunjivih materijala. Sadrži ukupno 24 minerala, esencijalnih i neesencijalnih, a najviše kalija, kao i vitamina topivih u mastima, A, E i K, te vitamina topivih u vodi, tiamina, riboflavina, niacina, pantotenske kiseline, folata i ostalih. Plod je izrazito bogat vitaminom E, biotinom i folatima, što se pripisuje njihovom povoljnom učinku na zdravlje (Kole, 2011). Održivost ulja lješnjaka je vrlo dobra, zahvaljujući niskom sadržaju polinezasićenih masnih kiselina i visokog udjela tokoferola. Visoki sadržaj tokoferola ulju daje posebnu nutritivnu vrijednost. Zbog toga se, tijekom konzumiranja samo manji dio

vitamina E troši za zaštitu mononezasićenih masnih kiselina, dok se veći dio zadržava u organizmu i služi kao zaštitni faktor u raznim oksidativnim procesima. Pogača koja zaostaje tijekom prešanja ulja iz jezgre lješnjaka je vrlo vrijedan nusproizvod. U Turskoj se melje u brašno te se koristi u konditorskoj i pekarskoj industriji, a dodaje se i u stočnu hranu (Dimić, 2005).

## 2.3. Proces hladnog prešanja ulja

Prešanje ulja je tehnološki postupak u kojem se isključivo mehaničkim pritiskom iz određene uljarice izdvaja ili cijedi sirovo ulje. Ovaj postupak sastoji se od dvije faze, pripreme sirovina za izdvajanje ulja te izdvajanje ulja mehaničkim putem (Dimić, 2005). Prešanje je najstariji način proizvodnje ulja. Hladno prešana ulja dobivena su prešanjem sirovina na temperaturi do 50 °C. Nakon postupka prešanja može se provesti i postupak čišćenja te bistrenja ulja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (Moslavac, 2013). Na **Slici 1** prikazan je tehnološki proces proizvodnje jestivih hladno prešanih i nerafiniranih ulja iz sjemenki uljarica i drugih sirovina.




**Slika 1** Blok shema proizvodnje hladno prešanih biljnih ulja

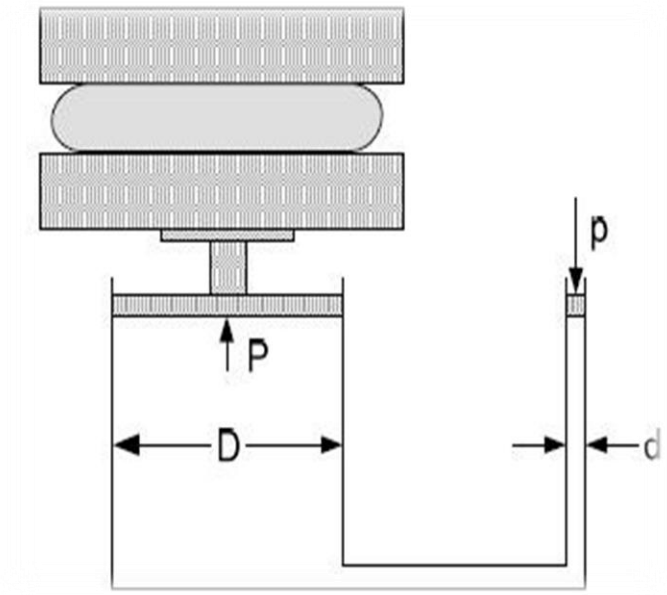
Potrebno je osigurati da ulje nakon prešanja zadrži svoja prirodna svojstva, da ima što manje nepoželjnih sastojaka te da je ulje dobre kvalitete, ugodnog mirisa i okusa karakterističnog za sirovinu (Moslavac, 2013). Sirovina mora biti pripremljena na način koji osigurava što lakše izdvajanje ulja, a zbog odsustva procesa rafinacije, ulje mora biti što bolje kvalitete. Sama priprema sirovine za prešanje uključuje čišćenje, sušenje, ljuštenje i mljevenje, a ovisno o vrsti sirovine, ona se može prešati i bez ljuštenja i mljevenja (Dimić, 2005). Najvažniji čimbenici koji utječu na uspješnost procesa prešanja su:

- Priprema materijala, granulometrijski sastav i uvjeti kondicioniranja (temperatura, vrijeme i vlaga),
- Konstrukcija kondicionera i preše,
- Procesni parametri prešanja (temperatura, tlak i vrijeme trajanja) (Moslavac, 2013).

Dva najčešća načina prešanja su:

- Hidrauličko prešanje,
- Pužno prešanje (Dimić, 2005).

Hidrauličke preše (**Slika 2**) prve su strojne preše industrijskog tipa koje su otvorile put razvoju industrije ulja (Moslavac, 2013).




**Slika 2** Princip rada hidrauličke preše (Rac, 1964)

(p) Sila koja djeluje na mali stap, (P) Sila koja djeluje na veliki stap,

(d) Promjer uže cijevi, (D) Promjer šire cijevi

Rade diskontinuirano, a najčešće se upotrebljavaju za proizvodnju maslinovog i bučinog ulja (Rac, 1964). Prema načinu slaganja materijala mogu biti:

- Otvorene hidrauličke preše koje se koriste u proizvodnji maslinovog ulja:

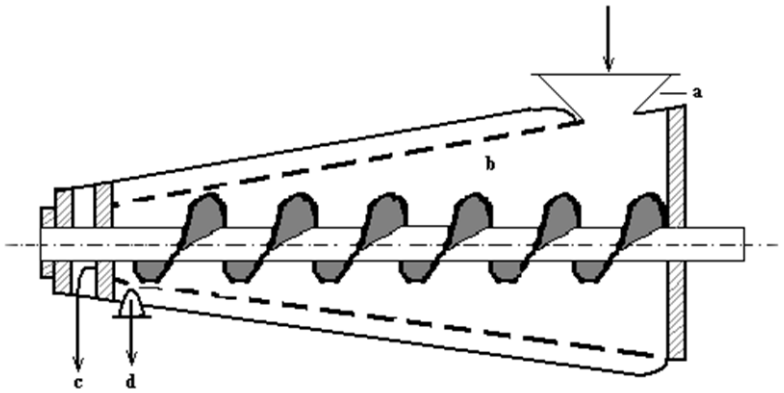
  Prve preše ovog tipa radile su tako da se pripremljena sirovina stavljala u tekstilne vreće, a između njih su dolazile čelične ploče (slojnice). Razvijao se tlak od 300 do 500 atm, pri čemu se iz vreće istiskivalo ulje, a u vreći zaostajala pogača. To je stara tehnologija. Danas se koriste moderne otvorene hidrauličke preše za proizvodnju maslinovog ulja. Na slojnice se stavlja maslinovo tijesto iz kojeg se istiskuje ulje.

- Zatvorene hidrauličke preše koje se koriste u proizvodnji bučinog ulja:

  Između stapa i protustapne glave imaju porozni cilindar gdje se stavlja materijal koji se raspoređuje u tankom sloju na sito, a na njega ide čelična ploča. Između materijala i ploče stavlja se uložak od tekstila (Moslavac, 2013).

Rad hidrauličkih preša zasniva se na Pascalovom zakonu, gdje se pomoću malih sila dobivaju veliki tlakovi, a tlak u tekućinama se širi na sve strane jednako (Rac, 1964).

Pošto je proces prešanja pomoću hidrauličkih preša diskontinuiran, danas se u industrijama ulja najčešće vrši prešanje kontinuiranim postupkom, gdje najveću primjenu imaju kontinuirane pužne preše (**Slika 3**). Princip rada pužne preše je taj da pužnica unutar preše gura sjemenje iz većeg slobodnog zatvorenog prostora u manji, dolazi do porasta tlaka te se iz sirovine cijedi sirovo ulje (Moslavac, 2013). Glavni dijelovi ovih preša su vodoravni puž na glavnoj osovini, perforirano konusni koš koji se nalazi oko puža, uređaj za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače, zupčani prijenosnik i kućište preše. Puž, koji se nalazi na ravnoj osovini, potiskuje materijal iz većeg u manji zatvoreni prostor, pri čemu se materijal sabija, dolazi do porasta tlaka te cijeđenja ulja. U slučaju kvara ili istrošenosti, puž se može skinuti i zamijeniti. Odgovarajućom konstrukcijom izlaznog konusa, moguće je regulirati debljinu pogače koja izlazi iz preše (Rac, 1964). Kontinuirane pužne preše mogu se koristiti kao predpreše ili za završno prešanje. U predprešama vrši se djelomično prešanje, u pogači zaostaje 12 do 20% ulja, a primjenjuje se kod dvostrukog prešanja ili u kombinaciji prešanje – ekstrakcija organskim otapalom. Završnim prešanjem uklanja se gotovo cjelokupna količina ulja, a zaostaje pogača sa vrlo malim udjelom ulja, oko 5% (Dimić, 2005).




**Slika 3** Shema kontinuirane pužne preše (Rac, 1964)

a – ulaz materijala, b – perforirano konusno kućište s pužnom osovinom,

c – izlaz isprešane pogače, d – izlaz sirovog ulja

Prema temperaturi prešanja sirovine, proizvedena ulja možemo podijeliti na toplo i hladno prešana. Kod toplo prešanih ulja smjesa se često prvo termički obradi (kondicionira), dok se kod hladno prešanih ulja masa zdrobljenih sjemenki i plodova preša bez dodatka topline na temperaturi do maksimalno 50 °C te se odmah filtrira i puni u boce. Hladno prešana ulja imaju intenzivniji okus, boju i miris, a dobiva ih se manje iz iste količine sirovine nego toplo prešanih ulja. Razlog tome je viša temperatura prešanja toplo prešanih ulja tijekom kojega se gubi dosta arome, ali moguće je iscijediti više ulja. Zbog niže temperature prešanja sirovine, kod proizvedenog hladno prešanog ulja ne dolazi do oštećenja molekula te se smanjuje prinos ulja, a troškovi proizvodnje su veći, zbog čega je i cijena ovakvih ulja viša (Rac, 1964). Iz sirovog ulja se nakon prešanja moraju izdvojiti razne primjese (krute čestice) koje nepovoljno utječu na senzorska svojstva ulja različitim postupcima poput taloženja, filtracije i centrifugiranja.

## 2.4. Ekstrakcija superkritičnim fluidima

Ekstrakcija je jedan od temeljnih separacijskih procesa u pojedinim granama prehrambene industrije, a definira se kao proces izdvajanja neke tvari iz čvrste ili tekuće smjese prikladnim otapalom u kojem je ta tvar topljiva ili ima bolju topljivost od preostalih sastojaka smjese. Princip ekstrakcije sadržan je u pojavi molekulske difuzije, koju karakterizira izjednačavanje koncentracija otopljenih tvari u sustavima koji dođu u međusobni dodir. Matematički se opisuje Fickovim zakonom:

$$N = -D\frac{dc}{dx} \tag{1}$$

gdje je *N* (kg/s ili kmol/s) brzina prijelaza mase, *c* (kg/m$^3$ ili kmol/m$^3$) masena ili molna koncentracija, *x* (m) udaljednost, a *D* (m$^2$/s) koeficijent difuzije ili difuzivnost (Lovrić, 2003).

Procesi ekstrakcije mogu se provesti diskontinuirano (šaržno), pseudokontinuirano i kontinuirano. U diskontinuiranim postupcima koristi se jedan uređaj za ekstrakciju, difuzer, dok se međusobnim povezivanjem određenog broja takvih uređaja u bateriju postiže proces koji ima značajke kontinuiranog procesa, a naziva se pseudokontinuiranim procesom. Proces ekstrakcije se u suvremenim tehnologijama danas najčešće provodi u kontinuiranim uređajima prilagođenim specifičnim zahtjevima u pogledu svojstava sirovina, načinu pripreme, kapacitetu i sl. Primjere specifičnih postrojenja za ekstrakciju nalazimo u industriji ulja i šećera (Lovrić, 2003).

Otapalo koje se koristi u procesu ekstrakcije mora biti selektivno, učinkovito (koriste se manje količine otapala), kemijski inertno prema prisutnim tvarima, nekorozivno, netoksično, nezapaljivo, dostupno i jeftino, ekološki prihvatljivo, mora imati nižu viskoznost, nižu površinsku napetost otapala i niže vrelište. Najčešće upotrebljivana otapala u prehrambenoj industriji su voda, organska otapala (heksan, heptan, cikloheksan, petroleter itd.) te superkritični fluidi (ugljikov dioksid, propan, butan) (Bucić-Kojić, 2011).

U novije vrijeme koristi se ekstrakcija superkritičnim fluidima koja, za razliku od hladnog prešanja te klasičnog postupka ekstrakcije, iziskuje veća investicijska ulaganja u kapitalnu opremu i tehnički zahtjevniji inženjerski pristup uzimajući u obzir da se radi o relativno visokim tlakovima pri kojima se provodi sam proces (Carr, 1997). Prednost u odnosu

na tradicionalna (organska) otapala, od kojih su poneka toksična, upravo je u netoksičnosti fluida, odnosno plinova koji se upotrebljavaju za ekstrakciju. Ovakva vrsta esktrakcije primjenjiva je kako na krutinama tako i na tekućinama (Lovrić, 2003).

U ovom procesu otapalo je plin u uvjetima temperature i tlaka pri kojima ne dolazi do kondenzacije odabranog plina u kapljevinu. Naime, pojedini plinovi posjeduju pojačanu sposobnost otapanja kada su komprimirani iznad kritične točke (temperature i tlaka). U tim uvjetima plin ima gustoću približno kao kapljevina, iako nije u kapljevitom stanju, neovisno o tlaku. Osim toga, topljivost topljivih tvari je vrlo velika, skoro kao u kapljevini. To znači da je, primjenom superkritičnih fluida, moguće uspješno provesti ekstrakciju tipa kruto-tekuće. Topljivost tvari koje se ekstrahiraju superkritičnim fluidima u velikoj je mjeri zavisna o primjenjenom tlaku (Lovrić, 2003).

Superkritični fluid je bilo koja tvar koja se nalazi, pri uvjetima tlaka i temperature, iznad svoje kritične temperature ($T_K$) i kritičnog tlaka ($P_K$). Kritična temperatura i kritični tlak odnosno kritična gustoća definiraju kritičnu točku neke čiste tvari koja predstavlja krajnju točku razdvajanja plinske i tekuće faze. Iznad kritične točke ne mogu zasebno postojati ni tekuća ni plinovita faza, zbog čega superkritični fluidi imaju svojstva i plinova i tekućina (Mukhopadhyay, 2000; Brunner, 2005). Superkritični fluidi pogodni su kao zamjena za organska otapala, u rasponu od industrijskih do laboratorijskih procesa (Martinez, 2007).

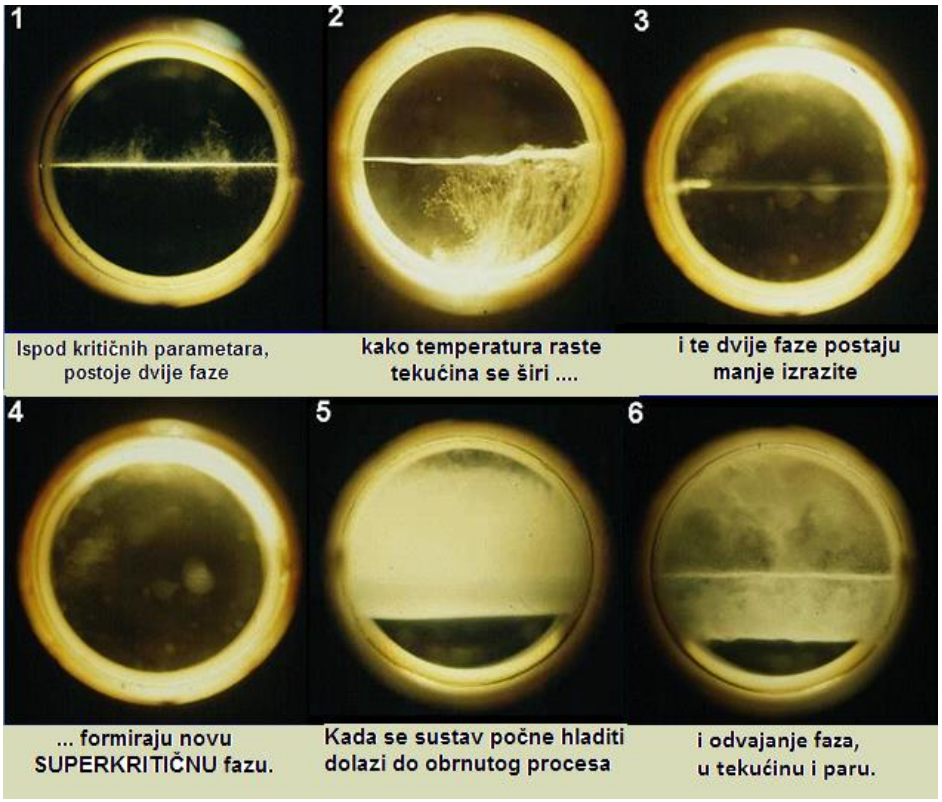
Superkritični fluidi imaju karakteristike i plinova i tekućina. Uspoređujući s tekućim otapalima, ekstrakcija superkritičnim fluidima ima nekoliko značajnih prednosti (Wang i sur., 2006; Jokić, 2011.):

- Snaga otapanja superkritičnih fluida ovisi o njihovoj gustoći, koja se može vrlo lagano prilagoditi mijenjanjem tlaka i/ili temperature.
- Superkritični fluidi imaju višu difuzivnost te nižu viskoznost i površinsku napetost nego tekuća otapala, što dovodi do povoljnijeg prijenosa mase.
- Izdvajanje otapala od ekstrakta vrlo je lako i brzo zbog mogućnosti reguliranja topljivosti komponenata promjenom tlaka i/ili temperature.
- Otapala korištena u ovom obliku ekstrakcije su jeftina i sigurna za okoliš. Troškovi odlaganja su niski, a moguće je i recikliranje otapala u industrijskim procesima.
- Minimalna deformacija termolabilnih komponenti tijekom ekstrakcije.

- Ekstrakcija superkritičnim fluidima može se primijeniti na sustave različitog kapaciteta, od analitičkih, preparativnih, poluindustrijskih do velikih industrijskih postrojenja.

Osnovna prednost superkritične ekstrakcije, u odnosu na druge separacijske tehnike, je ta što se ona provodi pri nižim temperaturama te se kao takva može primijeniti na separaciju slabo isparljivih i termički nestabilnih spojeva. Stoga je ovaj način ekstrakcije od posebnog značaja za prehrambenu i farmaceutsku industriju (Pavić, 2011).

Pri tlakovima u intervalu od 5 do 7,4 MPa i odgovarajućim temperaturama od -55 do 31 °C, $CO_2$ se nalazi u tekućem stanju. Promjenom tlaka i temperature (promjena gustoće i dielektrične konstante) mijenja se sposobnost otapanja $CO_2$ u širokim granicama (**Slika 4 i Slika 5**) (Pavić, 2011).




**Slika 4** Mehanizam superkritičnih fluida (Pavić, 2011)

Proces superkritične ekstrakcije odvija se u pet uzastopnih faza (Jokić, 2011):

1. Difuzija superkritičnog fluida do površine čestice kroz film fluida koji je okružuje;



2. Prodiranje i difuzija superkritičnog fluida kroz vanjski sloj sfernog omotača, krutog, inertnog materijala;



3. Kontakt superkritičnog fluida s otopljenom tvari na površini neizreagirane jezgre i ekstrakcija otopljene tvari;

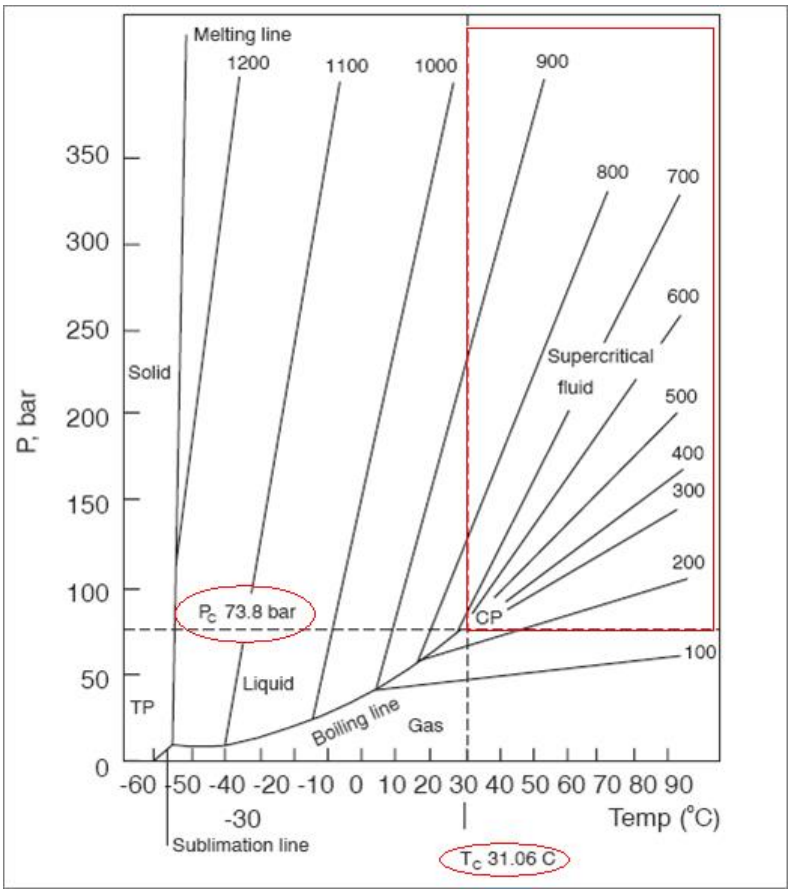


4. Difuzija otopljene tvari (ulja) u superkritičnom fluidu kroz sloj vanjskog sfernog omotača krutog inertnog materijala na vanjsku površinu čestice;



5. Difuzija otopljene tvari (ulja) u superkritičnom fluidu kroz film superkritičnog fluida koji okružuje česticu u glavnu struju fluida.

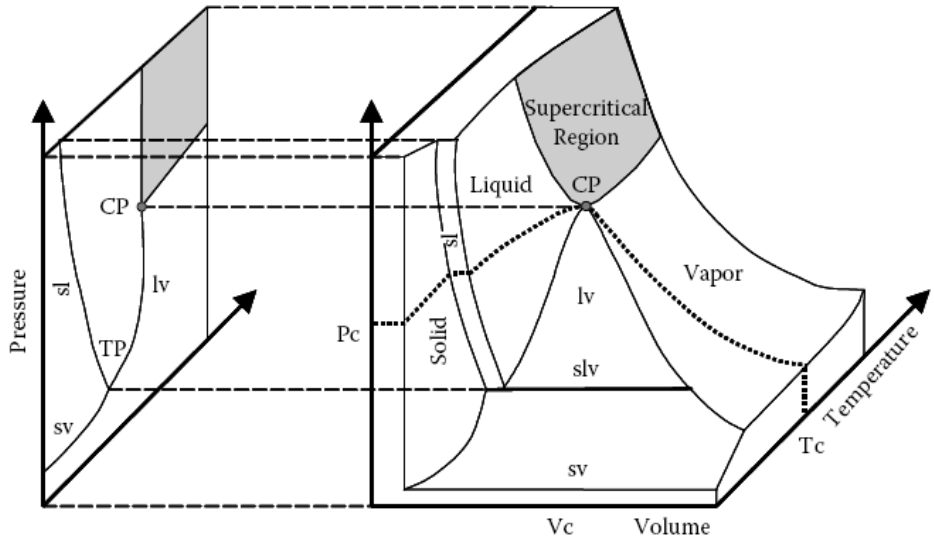





**Slika 5** P-T dijagram za $CO_2$ (Pavić, 2011)

Stanja čiste tvari mogu biti predočena trodimenzionalnim dijagramom tlak – volumen – temperatura (PVT), kao što je pikazano na **Slici 6**. Površine predstavljaju različita stanja tvari, koja odgovaraju određenoj vrijednosti tlaka i temperature (Martinez, 2007).

Linija tekućina – para predstavljena je krivuljom tlaka para koja počinje od trojne točke (engl. *triple point*, TP) i završava u kritičnoj točki (engl. *critical point*, CP). Prirodu CP možemo objasniti pomoću krivulje tlaka para nakon promjene svojstva fluida. Povećanjem vrijednosti temperature, gustoća tekuće faze se smanjuje, a povećava se gustoća pare zbog većeg tlaka para. Na kraju, obje gustoće konvergiraju u CP te razlike tekućeg ili parnog stanja iznad kritične temperature više nisu moguće. Kada su vrijednosti temperature i tlaka iznad kritične vrijednosti, smatra se da je sustav u superkritičnom području (Martinez, 2007).




**Slika 6** Fazni dijagram $CO_2$ (Martinez, 2007)

Superkritična otapala mogu biti klasificirana kao:

a) otapala nisko kritične temperature (low-$T_c$) i

b) otapala visoko kritične temperature (high-$T_c$).

Neki plinovi koje se mogu kondenzirati, poput ugljikova dioksida ($CO_2$), etana i propana smatraju se otapalima niske kritične temperature, dok se dugolančani alkani, metanol i voda mogu smatrati otapalima visoko kritične temperature.

Fizikalna svojstva superkritičnih fluida su između plinovitog i tekućeg stanja. Karakteristične vrijednosti različitih fizikalnih svojstava za pojedine fluide navedene su u **Tablici 5**. Gustoća i viskoznost superkritičnih fluida niže su od fluida koji nisu u superkritičnom stanju, ali su im difuzivnosti veće. Toplinske provodljivosti su relativno visoke u superkritičnom stanju i imaju vrlo velike vrijednosti blizu kritične točke. Površinske napetosti su blizu nule u kritičnom području (Martinez, 2007).

**Tablica 5** Kritične vrijednosti nekih superkritičnih otapala

| **Superkritična otapala** | **Kritična temperatura $T_c$ [K]** | **Kritični tlak $P_c$ [MPa]** | **Kritični molarni volumen $V_c$ [$cm^3$/mol]** |
|---|---|---|---|
| $CO_2$ | 304,12 | 7,37 | 94,07 |
| Etan | 305,3 | 4,87 | 145,5 |
| Propan | 369,8 | 4,25 | 200,0 |
| Voda | 647,1 | 22,06 | 55,95 |
| Amonijak | 405,4 | 11,35 | 72,47 |
| *n*-Heksan | 507,5 | 3,02 | 368,0 |
| Metanol | 512,6 | 8,09 | 118,0 |

Veliki je broj komponenti koje se mogu koristiti kao fluidi u superkritičnoj ekstrakciji, ali do sada je najkorišteniji ugljikov dioksid. Što se tiče proizvodnje hrane, nutrijenata i farmaceutskih proizvoda, $CO_2$ je dobro otapalo, jer je netoksično, nezapaljivo, nije skupo, lako se uklanja iz krajnjeg proizvoda, a njegova kritična temperatura i tlak su relativno niski ($T_c$ = 31,3 °C, $p_c$ = 72,9 bar). Vrlo je važan za pripremu hrane i prirodnih proizvoda, jer se koristi na niskim temperaturama, što omogućuje ekstrakciju termolabilnih i lako oksidirajućih spojeva. Prihvatljiv je za okoliš i prepoznat kao siguran od strane FDA (engl. *Food and Drug Administration*) i EFSA (engl. *European Food Safety Authority*). Ova svojstva čine ga pogodnim za ekstrakciju, na primjer, termolabilnih i nepolarnih bioaktivnih spojeva, ali zbog njegove nepolarnosti, ne može se koristiti za otapanje polarnih molekula. Topivost polarnih spojeva i selektivnost procesa može se povećati dodavanjem malih količina drugih otapala, poput etanola, nazvanih kootapala ili modifikatori (Abbas i sur., 2008).

Korištenje superkritičnog $CO_2$ visoke čistoće nije obvezujuće, ali i najmanju nečistoću i vlagu u industrijskom mjerilu $CO_2$ može akumulirati te može doći do interferencije u daljnjim analitičkim operacijama poput plinske i tekućinske kromatografije. Važan nedostatak

superkritičnog $CO_2$ i većine ostalih superkritičnih fluida je da su pretežno nepolarni ekstrakcijski fluidi. Razna istraživanja se provode kako bi se proširio opseg djelovanja superkritične ekstrakcije, tj. nove tehnike za smanjivanje polarnosti uzorka kako bi ga se učinilo bolje topivim u nepolarnom superkritičnom fluidu. Ostali nedostaci su i rad na relativno visokim tlakovima i složena regeneracija korištenih otapala, što zahtjeva znatne energetske troškove. Također, za ekstrakciju superkritičnim fluidima potrebni su veliki investicijski troškovi za procesnu opremu. Snaga otapanja superkritičnog $CO_2$ može se sažeti u nekoliko pravila:

- Otapa nepolarne i slabo polarne spojeve.
- Snaga otapanja za spojeve male molekulske mase (alkani, alkeni, terpeni) je visoka i opada povećanjem molekulske mase.
- Slobodne masne kiseline i njihovi gliceridi su slabo topivi.
- Pigmenti se vrlo slabo otapaju.
- Voda ima nisku topivost na temperaturama ispod 100 °C.
- Proteini, polisaharidi, šećeri i mineralne soli su netopivi.
- Superkritični $CO_2$ je sposoban separirati spojeve koji su manje hlapivi, imaju veću molekulsku masu i/ili su više polarni porastom tlaka (Abbas i sur., 2008).

Detaljniji pregled topljivosti pojedinih tvari u superkritičnom $CO_2$ prikazan je u **Tablici 6**.

Primjenom ekstrakcije superkritičnim $CO_2$ biljnog materijala moguće je dobiti ekstrakte prirodnog sastava, bez tragova organskih otapala u svom originalnom sastavu. Sastav ekstrakta najčešće se mijenja u slučaju primjene klasičnih postupaka ekstrakcije, jer pri povišenoj temperaturi dolazi do djelovanja organskih otapala. Stoga, ekstrakcija superkritičnim fluidima, prije svega ugljikovim dioksidom, omogućuje da se iz biljnog materijala dobiju eterična i masna ulja te aromatične komponente, kao i komponente s antioksidacijskim, antibakterijskim i farmakološki aktivnim djelovanjem. Investicijski troškovi za procese superkritične ekstrakcije viši su u odnosu na konvencionalne tipove ekstrakcije, ali su zato operativni (pogonski) troškovi znatno niži zahvaljujući jednostavnoj regeneraciji otapala (Pavić, 2011).

**Tablica 6** Topljivost pojedinih supstanci u superkritičnom $CO_2$ (NATEX, 2009)

| Lako topljive | Slabo topljive | Netopljive |
|---|---|---|
| esteri, alkoholi | jestiva ulja iz uljarica | šećeri |
| aldehidi, ketoni | voskovi | voćne kiseline |
| hlapljiva ulja | polifenoli | škrob |
| arome | | proteini |
| mono i seskviterpeni | | mineralne soli |
| | | glikozidi |

U većini suvremenih komercijaliziranih postupaka ekstrakcije prirodnih proizvoda superkritičnim fluidima, ekstrakt se dobiva iz nasutog sloja krutog materijala u ekstraktoru. Mnogobrojni čimbenici (Reverchon i De Marco, 2006; Wang i Weller, 2006; Pourmortazavi i Hajimirsadeghi, 2007; Martinez, 2008) utječu na proces ekstrakcije, a najznačajniji među njima su:

- tlak, temperatura, vrijeme ekstrakcije te protok otapala;
- gustoća, viskoznost i difuzivnost otapala i supstance koja se ekstrahira;
- interakcije između molekula otapala, topljive supstance i netopljivog dijela krutog materijala (matriksa) u kome se nalazi topljiva supstanca, koje utječu na faznu ravnotežu i koeficijente difuzije;
- dodatak različitih kootapala;
- oblik, veličina i raspodjela veličina čestica materijala u sloju, poroznost čestica i
- poroznost sloja.

## 2.5. Optimiranje procesnih parametara metodom odzivnih površina

Metoda odzivnih površina, RSM (engl. *Response surface methodology*) je skup matematičkih i statističkih tehnika koje se koriste pri modeliranju i analizi procesa, gdje na odziv koji promatramo utječe nekoliko varijabli, a cilj je optimizacija tog odziva. (Montgomery, 2003).

Pojam optimizacije, koji se često primjenjuje u analitičkoj kemiji, definira se kao sredstvo otkrivanja i poboljšavanja uvjeta i parametara nekog procesa kako bi se postigao maksimalni prinos (odziv). U analitičkoj kemiji optimizacija se tradicionalno provodila zbog praćenja utjecaja jednog parametra u vremenu na eksperimentalni odziv, gdje bi jedan faktor bio podložan promjeni, a drugi konstantan (Bezzerra, 2008).

Metoda odzivnih površina uspješno se koristi za modeliranje i optimiranje biokemijskih i biotehničkih procesa povezanih s hranom, uključujući ekstrakciju fenolnih spojeva iz bobičastog voća, antocijanina iz crnog ribiza i ljuske suncokreta, vitamina E iz pšeničnih klica itd.

Pošto veliki dio tehnoloških procesa ne ovisi samo o jednom, nego o više procesnih parametara, praćenjem i reguliranjem jednog parametra uz ostale konstantne parametre nemoguće je uvidjeti stvarni utjecaj parametara na promatrani proces. Općenito, optimizacija procesa može se postići empirijskim ili statističkim metodama. Empirijski pristup optimizaciji zahtjeva puno vremena i veliki broj eksperimenata, dok zanemaruje interakcije među parametrima procesa. Za razliku od nje, multivarijantna statistička tehnika optimizacije omogućuje razmatranje interakcije ispitivanih procesnih parametara te se sve više koristi u optimizaciji procesa (Liyana-Pathirana, 2005).

Među najčešće korištene postupke za statističko planiranje eksperimenata spada metoda odzivnih površina. Ova metoda, u cilju poboljšanja, razvoja i optimiranja procesa, predstavlja skup statističkih i matematičkih tehnika koje se mogu koristiti u definiranju odnosa između odziva i nezavisnih varijabli. Također, određuje utjecaj nezavisnih varijabli, samih ili u kombinaciji s drugim varijablama, na procese (Baş i Boyacı, 2007). Metoda odzivnih površina najčešće se koristi u industriji, pogotovo u situacijama u kojima nekoliko ulaznih varijabli potencijalno utječu na svojstva i kvalitetu proizvoda ili procesa. Upravo ta svojstva i karakteristike kvalitete predstavljaju odziv.

Primjena metode odzivnih površina kao tehnike optimizacije procesnih parametara uključuje sljedeće osnovne korake (Bezerra, 2008):

- određivanje nezavisnih varijabli s definiranim rasponom ispitivanih parametara koje značajno utječu na promatrani proces,
- odabir plana pokusa te provođenje eksperimenta prema predloženoj shemi kombinacije parametara,
- aproksimacija eksperimentalnih podataka matematičkim modelom primjenom matematičko-statističkih metoda,
- evaluacija prikladnosti modela,
- određivanje optimalnih vrijednosti ispitivanih varijabli.

Cilj korištenja ove metode je dobiti odnos nezavisnih varijabli na odziv (zavisnu varijablu) te odrediti način na koji ulazni parametri utječu na promatrani odziv. Prije same primjene metode, potrebno je odabrati plan pokusa kojim se definiraju eksperimenti koje je potrebno provesti iz ispitivanog eksperimentalnog područja. Pokus se provodi u svim kombinacijama određenim planom pokusa, koji predstavlja matricu plana pokusa, nakon čega se dobiva konturna ploha koja spaja visine izmjerenih vrijednosti. Ta ploha se naziva odzivna ploha. Funkcija kojom se opisuje odzivna ploha naziva se odzivna funkcija, a prikazuje ovisnost zavisne varijable o ispitivanim nezavisnim varijablama te interakcije među njima. Svakoj odzivnoj funkciji pridružuje se odgovarajući polinom te je moguće proračunati koeficijente jednadžbe.

Plan pokusa odabiremo ovisno o očekivanoj odzivnoj funkciji. U slučajevima kada eksperimentalni podaci ne tvore krivulje i kada se mogu aproksimirati linearnom funkcijom koristi se plan pokusa za modele prvog reda. Dobivena aproksimacijska funkcija za modele prvoga reda je:

$$\gamma = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots + \beta_k \cdot x_k + \varepsilon \tag{2}$$

Za aproksimaciju eksperimentalnih podataka koji se ne mogu opisati linearnom funkcijom koristi se plan pokusa za kvadratni odziv površine. Aproksimacijska funkcija je za modele drugog reda te dobivamo kvadratni polinom:

$$\gamma = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i<j} \sum_{i=2} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3)$$

gdje je:

$\gamma$ – odzivna funkcija zadana modelom,

$\beta_0$ – konstanta jednadžbe odzivnog polinoma,

$\beta_i$ – koeficijent linearnog člana jednadžbe odzivnog polinoma,

$\beta_{ii}$ – koeficijent kvadratnog člana jednadžbe odzivnog polinoma,

$\beta_{ij}$ – koeficijent člana interakcije jednadžbe odzivnog polinoma,

$x_{i,j}$ – ispitivane nezavisne varijable (Bezzera, 2008; Montgomery, 2003).

Mnogi problemi vezani uz metodu odzivnih površina koriste jedan ili oba, ovdje navedena, aproksimacijska polinoma. Naravno, malo je vjerojatno da će model polinoma dati razumnu aproksimaciju točnog funkcijskog odnosa svih nezavisnih varijabli, ali za relativno mali dio često daje dobre rezultate (Montgomery, 2003). Navedeni modeli daju funkcionalnu ovisnost zavisne varijable o ispitivanim, nezavisnim varijablama te njihovoj interakciji. Također, daju informaciju i o minimumu i maksimumu funkcije kod kvadratnog polinoma. Planovi pokusa razlikuju se prema broju potrebnih pokusa, eksperimentalnim točkama te razini ispitivanih varijabli. Najčešće korišteni planovi pokusa su sljedeći (Bezzera, 2008):

- Centralno kompozitni plan pokusa (engl. *Central composite design,* CCD)
- Plošno centrirani kompozitni plan pokusa (engl. *Face centred composite design,* CCF)
- Box-Behnkenov plan pokusa (engl. *Box-Behnken design,* BBD)
- Puni faktorski plan pokusa (engl. *Full factorial design,* FFD)

Prednost nad ostalim planovima pokusa ima Box-Behnkenov plan pokusa zbog odnosa između broja koeficijenata koji se javljaju u odabranom modelu i broja eksperimenata koje je potrebno izvesti, što ga čini vrlo efikasnim te predstavlja bitnu alternativu centralno kompozitnom planu pokusa. Razvili su ga Box i Behnken 1960. godine. Ovaj plan pokusa

predlaže kako odabrati točke eksperimenta kada se ispituje utjecaj više faktora na tri razine (**Tablica 7**) uz mogućnost efikasne procjene koeficijenata matematičkih modela prvog i drugog reda. Ovim planom pokusa moguće je ispitati veći broj varijabli, od 3 do 10 (Myers i sur., 2009; Edwards i Jutan, 1997).

**Tablica 7** Primjer ispitivanja utjecaja faktora na tri razine (Myers i sur., 2009)

| | **Razina** | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| **Faktor 1** | X | X | |
| **Faktor 2** | X | | X |
| **Faktor 3** | | X | X |

Osnovne karakteristike Box-Behnkenovog plana pokusa:

- Izvođenje određenog proja pokusa prema sljedećem izrazu:

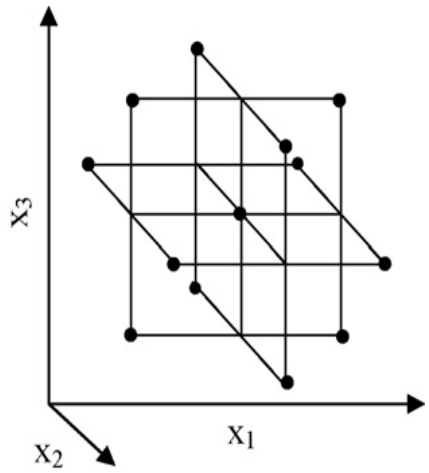
$$N = 2^k(k-1) + c_p, \tag{4}$$

gdje je:

$k$ – broj faktora,

$c_p$ – broj ponavljanja eksperimenata u centralnoj točki.

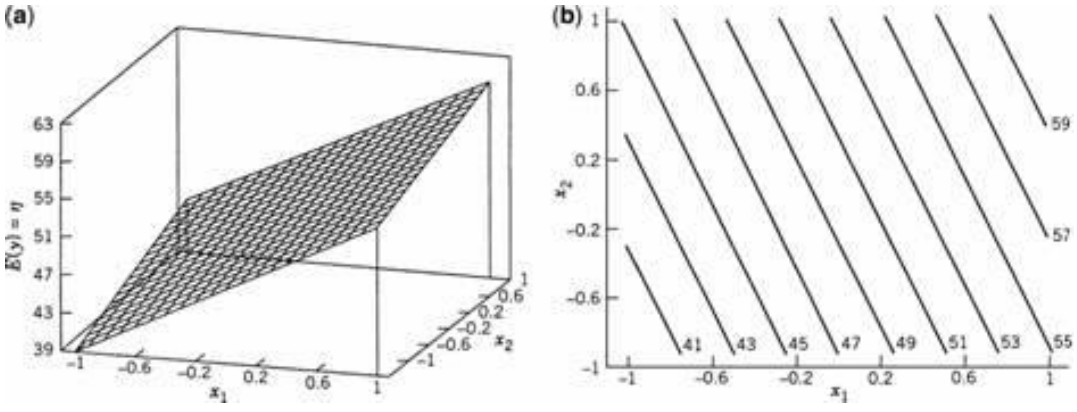
- Potrebno je svesti sve razine faktora na tri razine (-1, 0, 1) s jednakim intervalom između razina



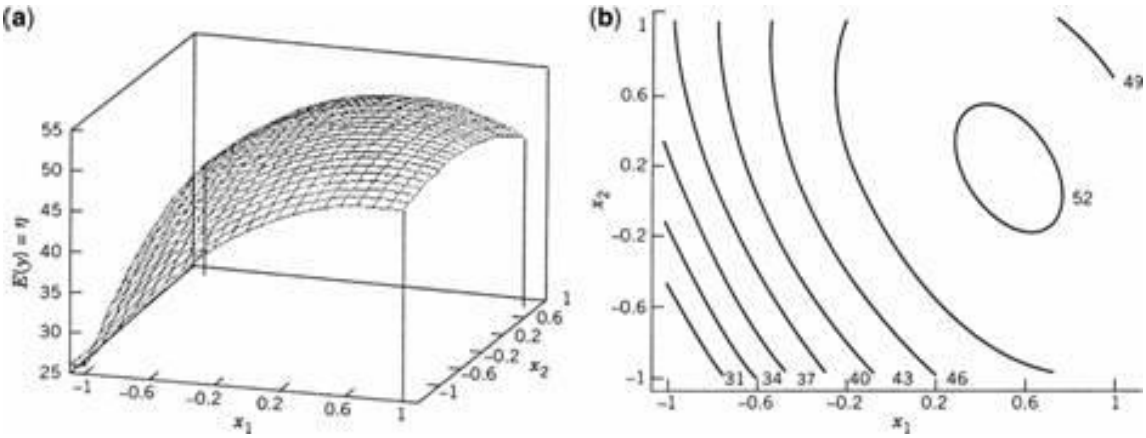

**Slika 8** Box-Behnkenov plan pokusa za tri varijable sa 13 eksperimentalnih točaka (Bezzera, 2008)

Dobiveni odziv, dobiven kao rezultat promatranog procesa, može se opisati i grafički, pomoću odzivne površine. Ove površine moguće je prikazati u cijelom eksperimentalnom području na dva načina, definirane s dvije dimenzije, kao konturne površine (**Slika 9b**) ili tri dimenzije pomoću 3D dijagrama (**Slika 9a**) (Cox i Reid, 2000; Montgomery i Runger, 2003).

Konture odzivne površine, tj. linije konstantnog odziva prikazuju se konturnim dijagramom. Konture se crtaju u $x_1$ i $x_2$ ravnini te svaka odgovara određenoj vrijednosti odziva.

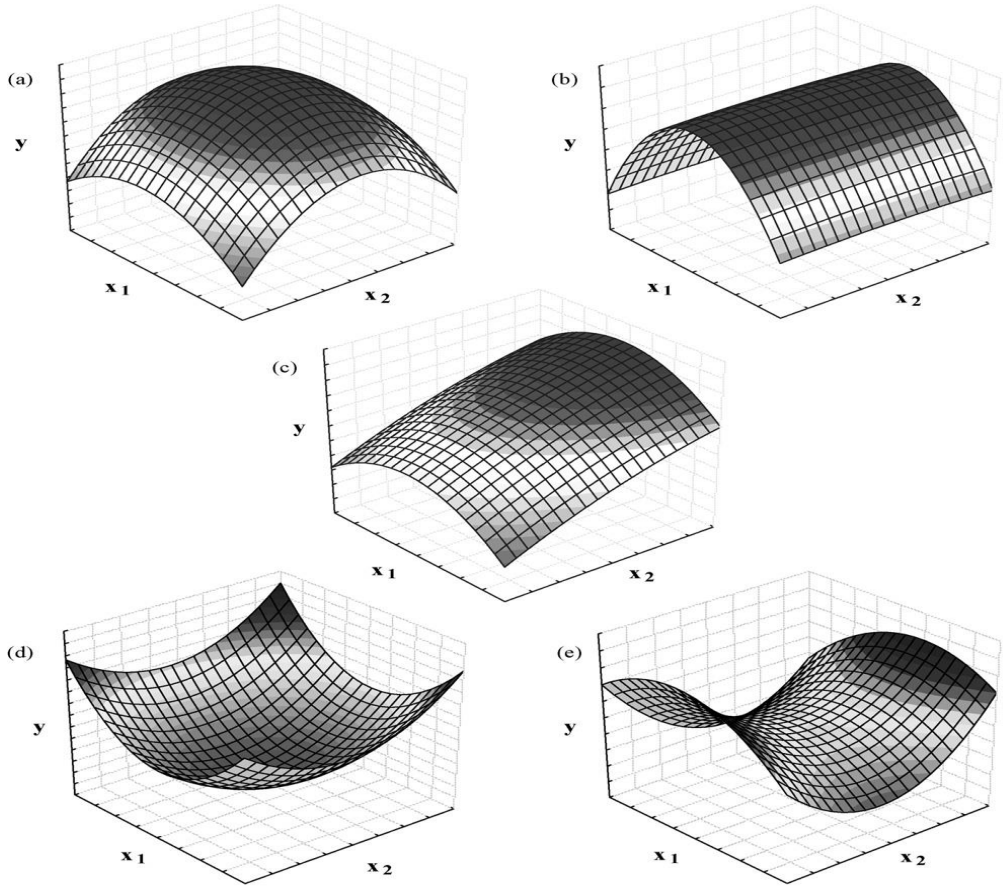



**Slika 9 (a)** Primjer odzivne površine za modele prvog reda (3D); **(b)** Primjer odzivne površine prikazane konturnim dijagramom za modele prvog reda (2D) (Myers i sur., 2009)




**Slika 10 (a)** Primjer odzivne površine za modele drugog reda (3D); **(b)** Primjer odzivne površine prikazane konturnim dijagramom za modele drugog reda (2D) (Myers i sur., 2009)

Mijenjanje razina nezavisnih varijabli $x_1$ i $x_2$ rezultira promjenom oblika ili visine promatranog odziva pri čemu nastaju različiti oblici odzivnih površina. Veza između odziva (y) i nezavisnih varijabli ($x_1$ i $x_2$) opisuje se linearnom ili nelinearnom funkcijom različitih oblika (sedlasta, oblik visoravni, sa lokalnim minimumom ili lokalnim maksimumom i dr.).




**Slika 11** Mogući oblici odzivnih površina (Bezerra, 2008)

# 3. EKSPERIMENTALNI DIO

Eksperimentalni dio ovoga diplomskog rada realiziran je na Katedri za prehrambeno inženjerstvo te na Katedri za projektiranje tehnoloških procesa i konstrukcijske materijale na Prehrambeno – tehnološkom fakultetu u Osijeku.

## 3.1. Zadatak

Zadatak ovoga rada bio je:

1. Ispitivanje utjecaja procesnih parametara hladnog prešanja na iskorištenje i kvalitetu lješnjakovog ulja;
2. Provođenje ekstrakcije zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog $CO_2$ na novo dizajniranom i izrađenom uređaju za ekstrakciju superkritičnim fluidima;
3. Optimiranje procesa hladnog prešanja primjenom programa *Design Expert®, v.9.0.3.1,* metodom odzivnih površina (engl. *Response surface methodology* - RSM) na osnovi eksperimentalnih podataka dobivenih prema Box-Behnkenovom planu pokusa.

## 3.2. Materijali

### 3.2.1. Jezgra lješnjaka

U ovom diplomskom radu korišten je oljušteni lješnjak (**Slika 12**) dobiven iz PP Orahovica, uzgojen 2013. godine. Dobiveno lješnjakovo ulje proizvedeno je laboratorijskim postupkom hladnog prešanja, primjenom različitih procesnih parametara.



**Slika 12** Plod lješnjaka

### 3.2.2. Reagensi

U provedbi istraživanja korišteni su sljedeći reagensi i otapala:

- Petroleter ($T_v$ = 40-60°C);
- *n*-heksan ($T_v$ = 40-60°C);
- Kvarcni pijesak;
- 0,1 M vodena otopina natrijeva hidroksida;
- Neutralizirana smjesa etiletera i 96%-tnog etanola (1:1);
- 1%-tna otopina fenoftaleina u 96%-tnom etanolu;
- Smjesa ledene octene kiseline i kloroforma (3:2);
- Hladno zasićena otopina kalijeva jodida (14 g KI otopi se u 10 $cm^3$ svježe prokuhane i ohlađene vode);
- Otopina natrijeva tiosulfata;
- 1%-tna otopina škroba;
- Destilirana voda;
- $CO_2$ čistoće 99,97% proizvođača Messer Croatia Plin (Osijek, Hrvatska).

### 3.2.3. Uređaji

U provedbi istraživanja korišteni su sljedeći uređaji:

- Analitička vaga (Kern 572);
- Mlin (ANKE & KUNKEL, IKA labortechnik);
- Pužna preša (SPU 20, Senta, Srbija);
- Centrifuga (Sigma 2-16, Njemačka);
- Soxhlet aparatura;
- Uređaj za ekstrakciju superkritičnim $CO_2$ (Osijek, Hrvatska).

## 3.3. Metode rada

### 3.3.1. Hladno prešanje

Laboratorijskim postupkom hladnog prešanja iz jezgre lješnjaka proizvedeno je ulje. Pri tome je korištena pužna preša tipa SPU 20 (ElektroMotor-Šimun d.o.o., Senta, Srbija).

Kroz lijevak na pužnoj preši postepeno se doziraju sjemenke ili plodovi uljarica, kako bi se izbjegao prazan hod preše te spriječilo začepljenje glave preše. Osnovne dijelove preše čine vodoravni puž na glavnoj osovini, prijenosni mehanizam, elektromotor za pokretanje preše, perforirani koš oko puža, uređaj za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače (može biti različitih promjera, od 6, 8, 9, 10 i 12 mm) te kućište preše. Prema navodima proizvođača, kapacitet preše iznosi oko 20 – 25 kg/h, što zavisi o vrsti materijala te stanju i udjelu vode u materijalu koji se preša. Postupak prešanja provodio se u sedamnaest eksperimenata s različitim početnim parametrima kao što su veličina otvora glave preše (8, 10 i 12 mm), temperatura zagrijavanja glave preše (70, 85 i 100 °C) i frekvencija elektromotora (20, 30 i 40 Hz). U svakom eksperimentu korišteno je 500 g jezgre lješnjaka za prešanje. Dobiveno sirovo ulje je sakupljano u posebno pripremljene posude, dok su pogače sušene na zraku i skladištene u hladnjaku. Zbog bistrenja sirovog ulja, tj. odvajanja taloga od bistrog dijela ulja, nakon postupka hladnog prešanja ulje se dva tjedna prirodno taložilo te je proveden postupak vakuum filtracije preko Büchnerova lijevka. Izbistreno ulje dalje je čuvano u zatvorenim posudama.



**Slika 13** Postupak hladnog prešanja jezgre lješnjaka i proizvodnja ulja

### 3.3.2. Određivanje udjela vlage u lješnjaku

Udio vlage u lješnjaku određivao se prema standardnoj AOAC metodi. U prethodno osušenu, u eksikatoru ohlađenu i odvaganu aluminijsku posudicu stavljeno je 5 g uzorka. Poklopac posudice se skinuo i zajedno s posudom stavio u sušionik na 103 °C. Nakon 2 sata sušenja, posuda se još u sušioniku pokrila poklopcem, stavila u eksikator te nakon hlađenja izvagala. Ponovno se stavila u sušionik, sušila s podignutim poklopcem još 1 sat te nakon toga ohladila i izvagala. Sušenje se ponavljalo do konstantne mase, odnosno dok je razlika između dva uzastopna mjerenja bila manja od 0,005 g (0,1% originalne mase). Udio vode u uzorku računao se prema sljedećem izrazu:

$$udio\ vode\ V = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \tag{5}$$

gdje je:

$m_0$ – masa prazne posude (g),

$m_1$ – masa posude s uzorkom prije sušenja (g),

$m_2$ – masa posude s uzorkom nakon sušenja (g).

Kao rezultat uzeta je srednja vrijednost dva paralelna ponavljanja.

### 3.3.3. Određivanje udjela ulja u lješnjaku

Udio ulja u lješnjaku određen je u aparaturi po Soxhlet-u, ekstrakcijom organskim otapalima (*n*-heksan). Aparatura je sastavljena od tikvice, ekstraktora i hladila. U odmašćeni tuljak za ekstrakciju odvagano je na analitičkoj vagi 5 g uzorka. Tikvica po Soxhlet-u s nekoliko kuglica za vrenje prethodno je osušena na temperaturi od 100 – 102 °C jedan sat, a zatim se hladila u ekstraktoru 30 min te se nakon toga vagala na analitičkoj vagi. Osušeni tuljak stavljen je u ekstraktor aparata po Soxhletu, spojila se tikvica te se dodalo oko 150 mL *n*-heksana. Potrebno vrijeme trajanja ekstrakcije je oko 4 sata, tijekom kojeg se ekstraktor barem 30 puta isprazni. Otapalo se nakon toga predestiliralo, ostatak se ispario na vodenoj kupelji, a tikvica se sušila u sušioniku na temperaturi od 105 °C jedan sat. Tikvica se ohladila u eksikatoru te je izvagana na analitičkoj vagi. Nakon toga, ponovo se sušila do konstantne mase. Udio ulja računao se prema sljedećem izrazu:

$$udio\ ulja = \frac{(a-b)}{c} \cdot 100 \quad (6)$$

gdje je:

*a* – masa tikvice s uljem (g),

*b* – masa prazne tikvice (g),

*c* – masa ispitivanog uzorka (g).

### 3.3.4. Određivanje parametara kvalitete lješnjakovog ulja

Nakon hladnog prešanja jezgre lješnjaka i proizvodnje ulja proveden je postupak ispitivanja kvalitete dobivenog ulja. Ispitivani parametri kvalitete bili su sljedeći:

- volumen i temperatura ulja,
- peroksidni broj,
- udio slobodnih masnih kiselina,
- udio vlage u ulju,
- udio netopljivih nečistoća u ulju,
- udio ulja u pogači.

#### 3.3.4.1. Određivanje volumena i temperature prešanog ulja

Odmah nakon prešanja vršilo se mjerenje volumena i temperature sirovog prešanog ulja pomoću menzure odnosno termometra. Sirovo ulje lješnjaka je nakon toga prirodno taložilo dva tjedna te je odvojeno od taloga uz pomoć Büchnerova lijevka. Pomoću menzure izmjeren je volumen bistrog ulja.

#### 3.3.4.2. Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Perkosidnim brojem određuju se primarni produkti oksidacije ulja te je kao takav direktni pokazatelj užeglosti ulja. Određuje se standardnom metodom, jodometrijskim određivanjem točke završetka prema zahtjevima norme HRN EN ISO 3960 (HZN, 2007). Metoda se zasniva na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalijeva jodida, koji se zatim određuje titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata.

Oko 1 g uzorka odvagao se u Erlenmayer-ovu tikvicu od 100 $cm^3$ s točnošću od $\pm$ 5 mg. Nakon toga dodano je 10 $cm^3$ ledene octene kiseline i kloroforma te se sadržaj promiješao, a

iz birete je dodano 0,2 $cm^3$ otopine kalijeva jodida. Zatim se tikvica mućkala oko 1 minutu nakon čega je dodano 20 $cm^3$ prethodno prokuhane i ohlađene destilirane vode i 0,5 $cm^3$ otopine škroba kao indikatora te je odmah titrirano sa 0,1 M otopinom $Na_2S_2O_3$. Rezultat je izražen kao broj mmol aktivnog kisika koji potječe od nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol $O_2$/kg) te se izračunao prema sljedećem izrazu:

$$Pbr\ \left(mmol\frac{O_2}{kg}\right) = \frac{(a-b)\cdot 5}{c} \tag{7}$$

gdje je:

*a* – $cm^3$ 0,01 M $Na_2S_2O_3$ utrošeni za glavnu probu,

*b* – $cm^3$ 0,01 M $Na_2S_2O_3$ utrošeni na slijepu probu,

*c* – masa uzorka (g).

**3.3.4.3. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina (SMK)**

U mastima i uljima može se pronaći određeni udio slobodnih masnih kiselina. One nastaju hidrolitičkim djelovanjem lipolitičkih enzima na estersku vezu u molekuli triacilglicerola. Udio slobodnih masnih kiselina u ulju ovisi o raznim čimbenicima poput sirovine, načina prerade i uvjeta skladištenja, a izražava se kao kiselinski broj, kiselinski stupanj i postotak SMK (% oleinske kiseline).

Kiselinski broj izražava se kao broj mg KOH (NaOH) potrebnih za neutralizaciju SMK u 1 g ulja ili masti. Postotak oleinske kiseline je maseni udio oleinske kiseline u ulju ili masti (g OLAC/ 100 g ulja ili masti).

Udio slobodnih masnih kiselina u uzorcima proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja određivan je prema standardnoj metodi AOCS 940.28 (1999). U Erlenmayerovu tikvicu od 300 $cm^3$ odvagano je 5 g ulja, a zatim je dodano 50 $cm^3$ neutralne smjese etera i etanola te se sadržaj promućkao. Nakon toga dodano je nekoliko kapi fenolftaleina te se vršila titracija 0,1 %-tnom otopinom NaOH do promjene boje. Udio slobodnih masnih kiselina u ulju izražen je kao postotak oleinske kiseline. Udio oleinske kiseline izračunao se prema sljedećem izrazu:

$$SMK\ (\%\ oleinske\ kiseline) = \frac{V \cdot c \cdot M}{10 \cdot m} \tag{8}$$

gdje je:

*V* – utrošak vodene otopine NaOH za titraciju uzorka (mL),

*c* – koncentracija NaOH za titraciju, c(NaOH) = 0,1 mol/L,

*M* – molekulska masa oleinske kiseline, M = 282 g/mol,

*m* – masa uzorka za ispitivanje (g).

**3.3.4.4. Određivanje udjela netopljivih nečistoća**

Netopljive nečistoće u ulju najčešće uključuju mehaničke nečistoće koje mogu biti mineralne tvari ili organski sastojci (dijelovi uljarica). Određivanje netopivih nečistoća u uzorcima ulja određeno je metodom ISO 663 (1992).

U Erlenmayerovu tikvicu od 250 mL s brušenim grlom i čepom izvagano je 20 g uzorka sirovog ulja te je dodano 100 mL otapala petroletera. Zatvorena Erlenmayerova tikvica dobro se promućkala i ostavila da stoji 20 – 30 min na temperaturi od 20 °C. Nastala otopina je profiltrirana kroz stakleni filter lijevak sa sinteriranim dnom tijekom čega je vršeno ispiranje taloga istim otapalom. Stakleni filter lijevak ostavljen je na zraku kako bi otparilo zaostalo organsko otapalo, nakon čega je stavljen u sušionik na 103 °C. Nakon sušenja filter lijevak se hladio u eksikatoru te izvagao. Ovaj postupak sušenja i hlađenja ponavljao se do postizanja konstantne mase. Udio netopljivih nečistoća računao se prema sljedećem izrazu:

$$\%\ netopljivih\ nečistoća = \left(\frac{m_2 - m_1}{m_0}\right) \cdot 100 \tag{9}$$

gdje je:

$m_0$ – masa uzorka (g),

$m_1$ – masa osušenog filter lijevka (g),

$m_2$ – masa filter lijevka s nečistoćama nakon sušenja (g).

**3.3.4.5. Određivanje udjela vlage u ulju**

Važan pokazatelj kvalitete hladno prešanih, nerafiniranih i rafiniranih biljnih ulja je i količina vlage te hlapljivih tvari. Pri određenim uvjetima, uslijed prisustva vlage u ulju, može doći do hidrolitičkih promjena što uzrokuje povećanu kiselost ulja. Osim toga, može doći i do

zamućivanja ulja te samim time smanjene estetske vrijednosti ulja. Udio vlage (vode) u ulju određen je metodom AOCS 940.28 (1999).

U prethodno osušenu, ohlađenu u eksikatoru i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem izvagano je 5 g uzorka za ispitivanje. Posudica s uzorkom stavljena je u sušionik na 2 h pri 103 °C te se nakon toga ohladila u eksikatoru na sobnu temperaturu i izvagala. Ovaj postupak sušenja i hlađenja ponavljao se sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,002 g. Udio vlage i hlapivih sastojaka računao se prema sljedećem izrazu:

$$\%\ vlage\ i\ hlapljivih\ tvari = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0}\right) \cdot 100 \tag{10}$$

gdje je:

$m_0$ – masa staklene posudice (g),

$m_1$ – masa staklene posudice i uzorka prije sušenja (g),

$m_2$ – masa staklene posudice i uzorka nakon sušenja (g).

#### 3.3.4.6. Određivanje udjela ulja u pogači

Udio ulja u pogačama određen je ekstrakcijom organskim otapalom (*n*-heksan) u aparaturi po *Soxhlet*-u. Udio ulja računao se prema sljedećem izrazu:

$$\%\ ulja\ u\ pogači = \frac{(a - b) \cdot 100}{c}\ (\%) \tag{11}$$

gdje je:

*a* – masa tikvice s uljem (g),

*b* – masa prazne tikvice (g),

*c* – masa ispitivanog uzorka (g).

### 3.3.5. Optimiranje procesa prešanja lješnjakovog ulja primjenom metode odzivnih površina

Tijekom izrade ovoga rada korišten je Box-Behnken-ov plan pokusa za procjenu utjecaja procesnih parametara prešanja ulja (temperatura zagrijavanja glave preše, frekvencija elektromotora i veličina otvora pužne preše) na iskorištenje i kvalitetu ulja tj. na

volumen dobivenog sirovog ulja, temperaturu sirovog ulja, volumen ulja nakon centrifugiranja, peroksidni broj, udio slobodnih masnih kiselina u ulju, udio vlage i netopljivih nečistoća u ulju te količinu ulja zaostalog u pogači.

Odabrane su tri različite nezavisne varijable:

- $X_1$ – veličina otvora glave pužne preše,
- $X_2$ – temperatura glave preše,
- $X_3$ – frekvencija okretaja pužnice.

**Tablica 8** Nekodirane i kodirane razine nezavisnih varijabli korištenih u RSM dizajnu

| | | Razina | | |
|---|---|---|---|---|
| **Nezavisne varijable** | **Oznaka** | Donja (-1) | Centralna (0) | Gornja (1) |
| Otvor pužne preše (mm) | $X_1$ | 8 | 10 | 12 |
| Temperatura (°C) | $X_2$ | 70 | 85 | 100 |
| Frekvencija (Hz) | $X_3$ | 20 | 30 | 40 |

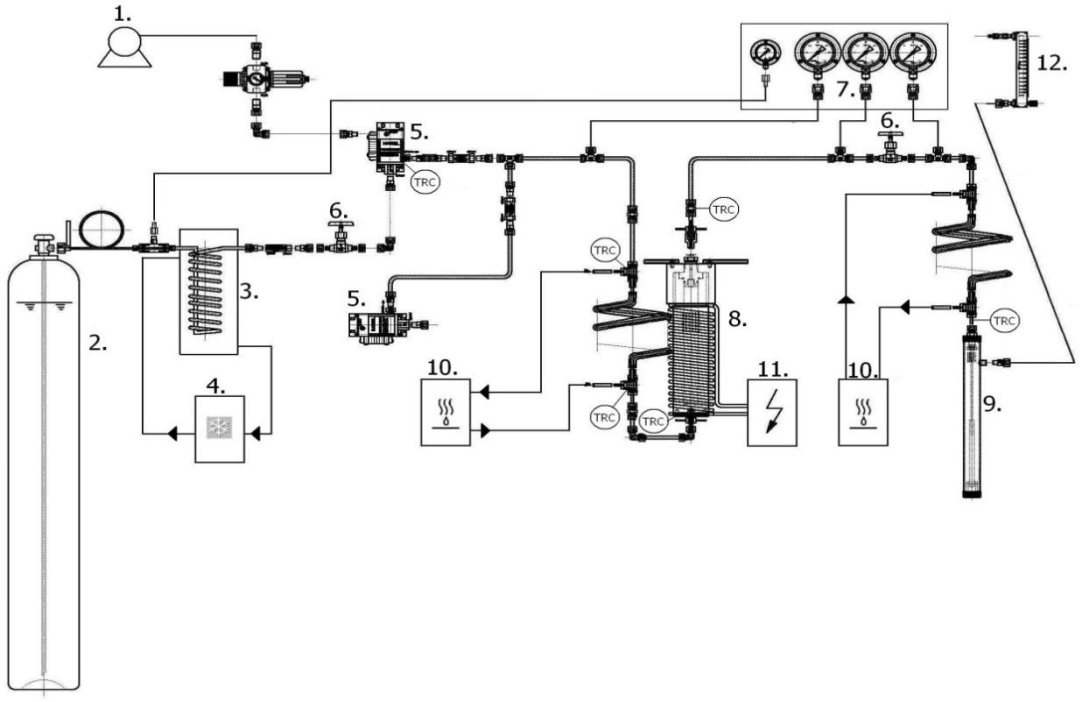
Na temelju dobivenog matematičkog modela prema jednadžbi (3) konstruirana je odzivna površina koja prikazuje utjecaj ispitivanih parametara na promatrane procese, a može se prikazati kao površina u 3D prostoru ili pomoću kontura odzivnih površina.

Procjena koeficijenata modela nelinearnom regresijskom analizom, statistička analiza (ANOVA) značajnosti ispitivanih parametara na promatrane procese te numerička optimizacija ispitivanih procesnih parametara provedena je primjenom računalnog programa *Design-Expert*®, v.9.0.3.1 (Stat Ease, Inc., Minneapolis, USA). Prednost ovoga programa je mogućnost rada s kodiranim i nekodiranim varijablama.

### 3.3.6. Ekstrakcija zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog $CO_2$

Na novo projektiranom i izrađenom uređaju za ekstrakciju superkritičnim fluidima (**Slike 14 i 15**) ekstrahirano je ulje iz pogače dobivene pri optimalnim uvjetima prešanja (T = 70 °C, N = 9 mm, Fr = 30 Hz). 100 g pogače smješteno je u posudu ekstraktora kako bi se izdvojilo zaostalo ulje unutar pogače. Tijekom procesa ekstrakt je sakupljan u prethodno izvaganu staklenu posudu. Količina ekstrakta prikupljena u određenim vremenskim intervalima (**Slika 16**) određena je pomoću laboratorijske vage sa preciznošću od ±0,0001 g. Proces ekstrakcije se odvijao pri tlaku od 30 MPa, temperaturi 40 °C i protoku $CO_2$ od 1,73

kg/h. U separatoru se odvijao proces separacije ili razdvajanja $CO_2$ i ekstrakta pri tlaku od 1,5 MPa i temperaturi 25 °C.




**Slika 14** Procesna shema uređaja za ekstrakciju superkritičnim $CO_2$

1. Kompresor; 2. Spremnik $CO_2$; 3. Izmjenjivač topline izrađen od nehrđajućeg čelika; 4. Rashladna kupelj; 5. Zrakom pogonjena pumpa Haskel MS-71; 6. Ventili (B-HV); 7. Manometri; 8. Ekstraktor; 9. Separator; 10. Vodena kupelj; 11. Centralizirani sustav grijača od staklenih vlakana; 12. Mjerač protoka.



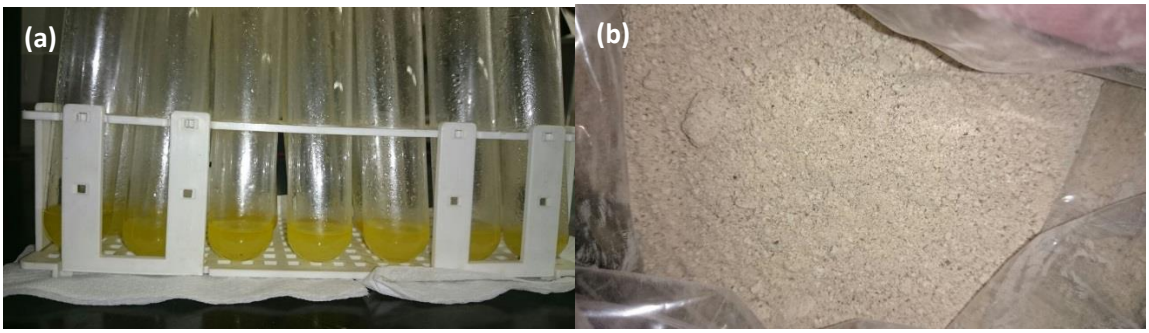
**Slika 15** Uređaj za superkritičnu ekstrakciju

Ekstraktor je izrađen od nehrđajuće čelične šipke (AISI 304) O.D. 100 mm i visine 500 mm. Šipka je izbrušena s Ø 40 mm svrdlom u dužini 400 mm. Radi što boljeg brtvljenja, gornji dio unutrašnjeg dijela ekstraktora dobro je ispoliran, dok je kapa ekstraktora dizajnirana tako da zadrži čep te je pomoću trapeznog navoja povezana s ekstraktorom. Čep je patentiran od strane tvrtke koja je sastavila ekstrakcijski uređaj te brtvi na dva mjesta pomoću O-prstena. Također, izbušen je i donji dio ekstraktora te pripremljen za brzu vezu s R ½“ priključkom sa O-prstenom brtvom.

Separator je izrađen od bešavnih cijevi od nehrđajućeg čelika (AISI 304) Ø 50 x 5 mm. Sastoji se od dva čepa, na gornjoj i na donjoj strani, koji su zabrtvljeni O-prstenima kako bi se osigurala plino-nepropusnost. Donji čep je izrađen kao nositelj kivete za prikupljanje uzorka ulja, dok je na gornjoj strani dijela separatora priključak ¼“ NTP, koji vodi do mjerača protoka. U čepu ekstraktora nalazi se filter, čija je glavna uloga sprječavanje povlačenja materijala. Filterski element može filtrirati čestice veličine od 2 µm nominalno i 10 µm apsolutno (Norman Ultraporous 4202T-6T-2M). Visokotlačne bešavne cijevi (VTBC) su dimenzija 10 x 2 i 6 x 1 mm, a povezane su međusobno Ermeto spojnicama (ravna, koljena, T-komadi). Korišteni visokotlačni ventili dobavljeni su od iste tvrtke koja je omogućila Ermeto spojnice (Model B-HV).

Tlak u ekstraktoru kontroliran je s dva WIKA manometra (model 212.20) od 60 MPa i jednim WIKA manometrom (model 212.20) od 4 MPa za kontrolu tlaka u separatoru. Protok $CO_2$ kontroliran je preko Matheson FM-1050 (E800) mjerača protoka. Grijanje ekstraktora vrši se električnim grijačem od staklenih vlakana kontroliranih centraliziranim sustavom. Kontrola temperature postiže se pomoću PID regulatora s „lag delay“ kompenzacijom, s obzirom na veliku masu ekstraktora. Mjerenje i regulacija temperature ekstraktora vrši se pomoću integriranog senzora temperature unutar ekstraktora i dodatnog senzora temperature koji mjeri temperaturu izlaznog plina. Ulaz linije $CO_2$ u ekstraktor zagrijava se izmjenjivačem topline, omogućen sustavom za grijanje vode. Temperatura ulaznog plina regulirana je mjerenjem tri temperature: temperature vode zajedno na termokupelji, ulazne temperature vode u izmjenjivaču topline te izlazne temperature $CO_2$ koji izlazi iz izmjenjivača topline. Regulacija temperature izvodi se pomoću PID regulatora, uzimajući u obzir diferencijalne temperature ulazne vode i izlaznog plina, dok se regulacija tlaka u separatoru obavlja putem

elektromehaničkog rješenja za kontrolu tlačnog ventila, sa senzorom tlaka, radi povratne informacije o tlaku.




**Slika 16 (a)** Ekstrahirano lješnjakovo ulje iz pogače pomoću superkritičnog $CO_2$;
**(b)** Odmašćena pogača nakon superkritične ekstrakcije

Pumpa koja se koristi za tlačenje tekućeg $CO_2$ je Haskel ®MS-71. Tekući $CO_2$ pothlađen je na temperaturu od -18 °C kroz zavojnicu, koja je uronjena u rashladnu kupelj smjese etilen glikola i etanola. Pumpa ima sposobnost tlačiti tekućine do 60 MPa. Maksimalni radni tlak je 40 MPa. Nakon pumpe smješten je nepovratni ventil kojim se sprječava mogući poremećaj protoka $CO_2$. Nakon ekstraktora visoki tlak se snižava pomoću visokotlačnog ventila (B-HV) na željeni pritisak (1,5 MPa) i odvodi se do separatora. Ventil i cijevi pokraj separatora zagrijavaju se na temperaturu od 0 °C uslijed velikog pada tlaka (Aladić, 2015).

# 4. REZULTATI I RASPRAVA

## 4.1. Utjecaj procesnih parametara hladnog prešanja na iskorištenje i kvalitetu lješnjakovog ulja

Prije provođenja procesa hladnog prešanja određen je udio vlage u lješnjaku prema izrazu (5). Parametri poput udjela ulja i vlage u jezgri lješnjaka vrlo su važni zbog daljnjeg ispitivanja iskorištenja i kvalitete ulja. Mjerenje je odrađeno u dva ponavljanja, a krajnji rezultat izražen je kao srednja vrijednost te je iznosio 4,08%. Uz određivanje udjela vlage, određen je i udio ulja u jezgri lješnjaka prema izrazu (6) standardnom metodom, a mjerenje je također odrađeno u dva ponavljanja. Rezultat je prikazan kao srednja vrijednost i iznosio je 58%.

Nakon ispitivanja karakteristika plodova lješnjaka uslijedila je operacija hladnog prešanja lješnjaka na pužnoj preši. Prema Box-Behnken-ovom planu pokusa provedeno je sedamnaest različitih eksperimenata prešanja (500 g lješnjaka po eksperimentu) kao što je vidljivo u **Tablici 9**. Tijekom eksperimenta praćen je utjecaj temperature zagrijavanja glave preše (70, 85, 100 °C), veličine otvora pužne preše (8, 10, 12 mm) i frekvencije elektromotora koji pokreće pužnu prešu (20, 30, 40 Hz) na volumen i temperaturu dobivenog sirovog ulja (mL), volumen finalnog ulja nakon procesa centrifugiranja (mL), peroksidni broj (mmol $O_2$/kg), udio slobodnih masnih kiselina (%), netopljivih nečistoća (%), udio vlage u ulju (%), masu dobivene pogače (g) te udio zaostalog ulja u pogači (%).

U svih sedamnaest eksperimenata utvrđen je vrlo mali udio vlage u dobivenome ulju. Srednja vrijednost dobivenih rezultata za udio vlage iznosila je 0,045%. Prisutnost vode u ulju dovodi do hidrolitičke razgradnje triacilglicerola tijekom procesa prerade, što dovodi do nastanka slobodnih masnih kiselina i glicerola. Samim time i sadržaj slobodnih masnih kiselina u ispitivanim uzorcima nije bio visok. Srednja vrijednost izmjerenog sadržaja slobodnih masnih kiselina iznosila je 0,23% oleinske kiseline. Niskim sadržajem vlage i slobodnih masnih kiselina u ulju doprinosi se većoj održivosti i vijeku trajanja proizvoda (Teh i Birch, 2013). Temperatura isprešanog sirovog ulja u svih sedamnaest eksperimenata bila je u granicama između 30 °C i 54 °C, dok je udio netopljivih nečistoća iznosio u prosjeku 0,42 %. Peroksidni broj je još jedan pokazatelj kvalitete ulja te ako mu je vrijednost niža, to je bolja kvaliteta ulja. Peroksidni broj dobivenoga ulja lješnjaka u ovome istraživanju iznosio je 0 mmol $O_2$/kg. Ova vrijednost peroksidnog broja nam ukazuje na izvrsnu kvalitetu polazne sirovine koja utječe i na kvalitetu dobivenoga ulja, što je vrlo bitno zbog toga što takvo ulje nije potrebno dodatno rafinirati.

**Tablica 9** Eksperimentalna matrica i srednje vrijednosti promatranih odziva

| Broj eksperimenata | Veličina otvora (mm) | Temperatura (°C) | Frekvencija (Hz) | Volumen centrifugiranog ulja (mL/500g) | Iskorištenje ulja (g/500g) | Iskorištenje (% od ukupno dobivenog ulja) | Temperatura dobivenog ulja (°C) | Udio ulja u pogači (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | 12 | 85 | 40 | 240 | 230,40 | 72,82 | 53 | 15,92 |
| **2** | 8 | 100 | 30 | 270 | 259,20 | 81,92 | 52 | 15,43 |
| **3** | 10 | 70 | 20 | 195 | 187,20 | 59,17 | 41 | 9,79 |
| **4** | 12 | 70 | 30 | 255 | 244,80 | 77,37 | 42 | 13,53 |
| **5** | 10 | 85 | 30 | 295 | 283,20 | 89,51 | 41 | 12,83 |
| **6** | 8 | 70 | 30 | 245 | 235,20 | 74,34 | 38 | 12,32 |
| **7** | 10 | 85 | 30 | 285 | 273,60 | 86,47 | 45 | 12,08 |
| **8** | 12 | 100 | 30 | 270 | 259,20 | 81,92 | 52 | 15,94 |
| **9** | 10 | 85 | 30 | 260 | 249,60 | 78,89 | 43 | 15,05 |
| **10** | 10 | 85 | 30 | 275 | 264,00 | 83,44 | 46 | 13,23 |
| **11** | 10 | 85 | 30 | 280 | 268,80 | 84,96 | 45 | 14,33 |
| **12** | 12 | 85 | 20 | 225 | 216,00 | 68,27 | 45 | 15,08 |
| **13** | 10 | 70 | 40 | 270 | 259,20 | 81,92 | 46 | 13,18 |
| **14** | 8 | 85 | 40 | 265 | 254,40 | 80,40 | 54 | 14,06 |
| **15** | 10 | 100 | 40 | 220 | 211,20 | 66,75 | 50 | 13,20 |
| **16** | 8 | 85 | 20 | 265 | 254,40 | 80,40 | 47 | 14,32 |
| **17** | 10 | 100 | 20 | 245 | 235,20 | 74,34 | 50 | 15,53 |

## 4.2. Optimiranje procesa prešanja lješnjakovog ulja primjenom metode odzivnih površina

Kao vrlo koristan alat u razvoju, poboljšanju i optimiranju procesa pokazala se metoda odzivnih površina. Ova metoda je skup matematičkih i statističkih tehnika te koristi smanjen broj potrebnih eksperimenata. Prema Carley i sur. (2004), planiranje pokusa izvršava se tako da se provedu samo određeni eksperimenti s određenim kombinacijama procesnih parametara pomoću kojih je moguće odrediti optimalne parametre procesa koji osiguravaju ekonomsku i energetsku uštedu. Tijekom ovoga rada, za planiranje pokusa i statističku obradu podataka te određivanje optimalnih parametara, korišten je programski paket *Design-Expert*®, v.9.0.3.1 te Box-Behnken-ov plan pokusa.

Kako bi se ispitao utjecaj nezavisnih varijabli procesa prešanja ulja (temperature zagrijavanja glave preše, frekvencije elektromotora i veličine otvora preše) na zavisne varijable te kako bi se ispitala prikladnost primijenjenog plana pokusa u modeliranju i optimiranju procesa prešanja, provedena je aproksimacija eksperimentalnih podataka matematičkim modelom tj. polinomom drugog reda navedenom u izrazu (3). Model i njegovi koeficijenti dobiveni su statističkom metodom nelinearne regresije eksperimentalnih podataka, a model daje funkcionalnu ovisnost između zavisnih i nezavisnih varijabli, tj. zavisnost mjernih varijabli o ispitivanim nezavisnim varijablama te njihovoj interakciji pa prema tome može biti linearan, kvadratni i srednja vrijednost ukoliko nema značajnog utjecaja istraživanih faktora. Regresijski koeficijenti dobiveni odgovarajućim eksperimentalnim podacima polinomom drugog reda za odabrane ispitivane odzive prikazani su u **Tablici 10.**

**Tablica 10** Procijenjeni koeficijenti polinoma jednadžbe drugog reda

| Naziv | Koeficijent[a] | Udio sirovog ulja | Temperatura dobivenoga ulja | Udio ulja u pogači |
|---|---|---|---|---|
| **Odsječak** | | | | |
| | $\beta_0$ | 279,00* | 44,00* | 13,50* |
| $X_1$ | $\beta_1$ | -6,88 | 0,13 | 0,54 |
| $X_2$ | $\beta_2$ | 5,00 | 4,63* | 1,41* |
| $X_3$ | $\beta_3$ | 8,13 | 2,50* | 0,21 |
| $X_1^2$ | $\beta_{11}$ | -1,38 | 2,50 | 1,36* |
| $X_2^2$ | $\beta_{22}$ | -17,62 | -0,50 | -0,56 |
| $X_3^2$ | $\beta_{33}$ | -28,88* | 3,25* | -0,020 |
| $X_1 X_2$ | $\beta_{12}$ | -2,50 | -1,00 | -0,18 |
| $X_1 X_3$ | $\beta_{13}$ | 3,75 | 0,25 | 0,28 |
| $X_2 X_3$ | $\beta_{23}$ | -25,00* | -1,25 | -1,43* |

[a] $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$

$X_1$ – veličina otvora; $X_2$ – temperatura prešanja; $X_3$ – frekvencija

*Utjecaj faktora je statistički značajan uz $p \leq 0,05$

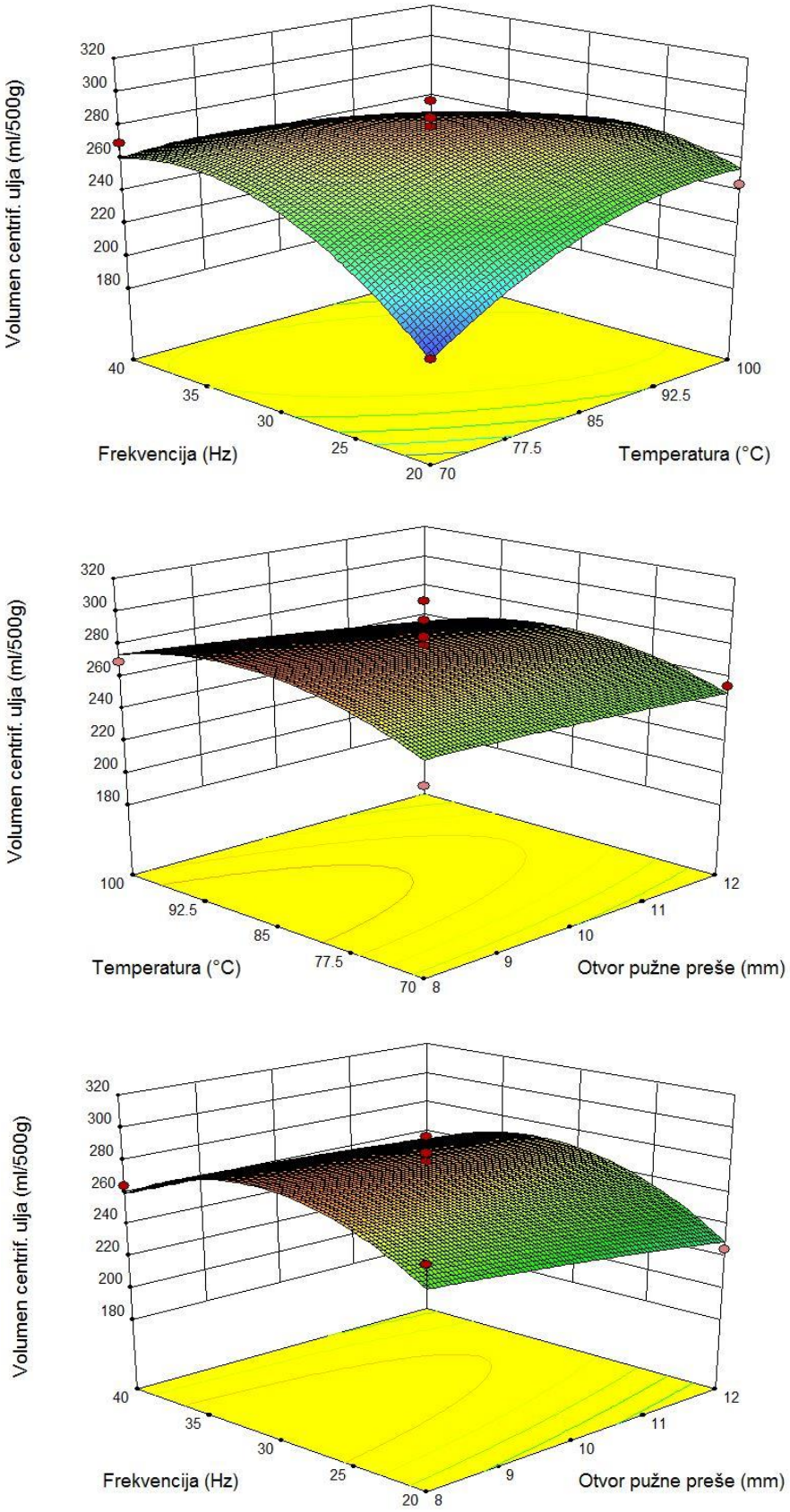
Temperatura zagrijavanja glave preše ($X_2$) ima statistički značajan utjecaj ($p < 0,05$) na temperaturu dobivenog ulja te na udio ulja u pogači. Frekvencija elektromotora pužne preše ($X_3$) ima značajan utjecaj na temperaturu dobivenog ulja. Kvadratna vrijednost veličine otvora pužne preše ($X_1^2$) ima značajan utjecaj na udio ulja u pogači, dok kvadratna vrijednost frekvencije elektromotora pužne preše ($X_3^2$) ima značajan utjecaj na količinu i temperaturu dobivenoga ulja. Interakcija između temperature prešanja i frekvencije elektromotora ($X_2X_3$) ima značajan utjecaj na udio dobivenoga ulja te udio ulja zaostalog u pogači. Ostale promatrane interakcije nisu statistički značajne ($p > 0,05$) i nemaju utjecaj na promatrane odzive.

U **Tablici 11** prikazana je analiza varijance (ANOVA) na temelju koje se preciznije može utvrditi opravdanost primjenjivosti odabranog modela.

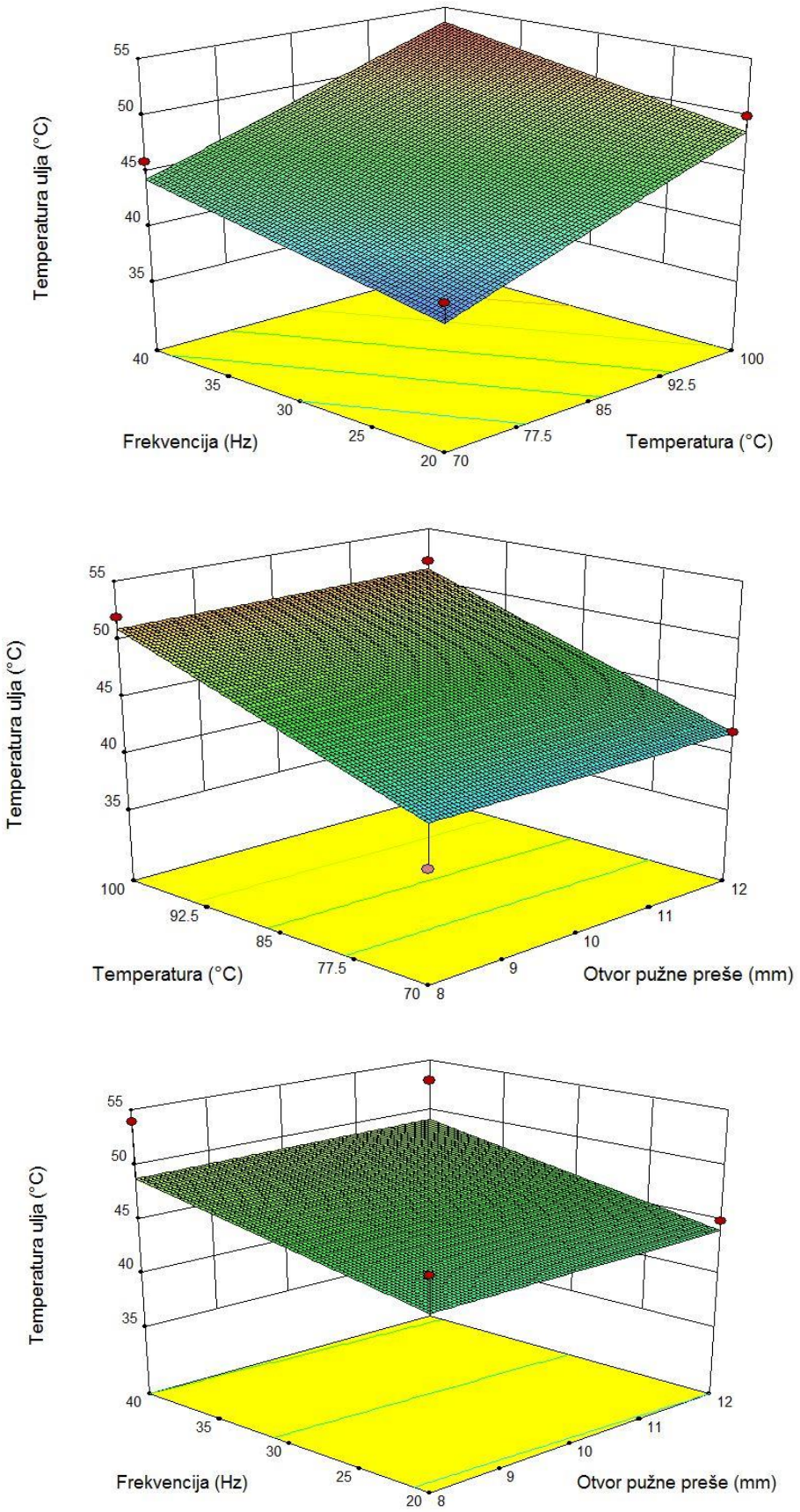
**Tablica 11** Analiza varijance (ANOVA) modeliranih odziva

| Izvor varijabilnosti | Suma kvadratnih odstupanja (SS) | Stupnjevi slobode (n-1) | Varijanca - MS | *F* vrijednost | Prob>*F* (p < 0,05) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Volumen centrifugiranog ulja** | | | | | |
| Model | 8811,99 | 9 | 979,11 | 3,97 | 0,00413 |
| Ostatak | 1726,25 | 7 | 246,61 | | |
| Nedostatak modela | 1056,25 | 3 | 352,08 | 2,10 | 0,2427 |
| Pogreška | 670,00 | 4 | 167,50 | | |
| Ukupno | 10538,24 | 16 | | | |
| $R^2$ | 0,8362 | | | | |
| **Temperatura ulja** | | | | | |
| Model | 306,49 | 9 | 34,05 | 4,79 | 0,0254 |
| Ostatak | 49,75 | 7 | 7,11 | | |
| Nedostatak modela | 33,75 | 3 | 11,25 | 2,81 | 0,1717 |
| Pogreška | 16,00 | 4 | 4,00 | | |
| Ukupno | 356,24 | 16 | | | |
| $R^2$ | 0,6211 | | | | |
| **Udio ulja u pogači** | | | | | |
| Model | 36,00 | 9 | 4,00 | 4,86 | 0,0246 |
| Ostatak | 5,77 | 7 | 0,82 | | |
| Nedostatak modela | 0,14 | 3 | 0,046 | 0,033 | 0,9910 |
| Pogreška | 5,63 | 4 | 1,41 | | |
| Ukupno | 41,77 | 16 | | | |
| $R^2$ | 0,8619 | | | | |

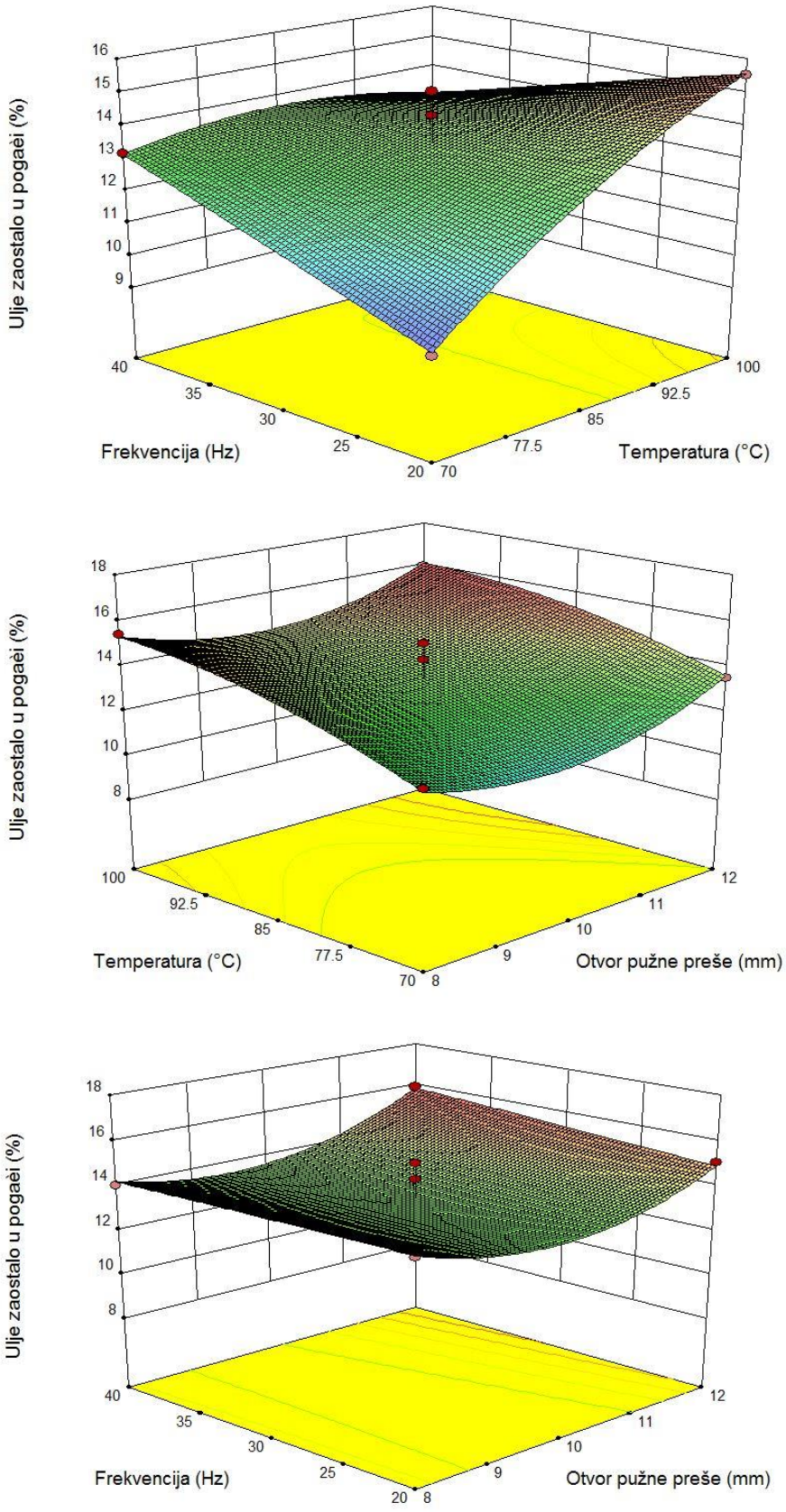
Pomoću koeficijenta korelacije procjenjuje se stupanj i smjer slaganja varijabli, a koeficijent korelacije $R^2$ pokazatelj je slaganja eksperimentalnih i modelom predviđenih podataka. U idealnom slučaju iznosi 1 (Knezović, 2014; Pejić, 2010). Za dobar model vrijednost koeficijenta korelacije treba biti najmanje 0,80 (Joglekar i May, 1987). U ovome istraživanju, vrijednost $R^2$ za promatrane odzive volumen centrifugiranog ulja i ulja zaostalog u pogači je veća od 0,80 dok je vrijednost $R^2$ za odziv temperature ulja nešto niža od 0,80. Iz ovoga možemo zaključiti da je primijenjeni regresijski model odgovarao eksperimentalno predviđenim podacima. U **Tablici 11** prikazan je statistički test modela (F-test i test vjerojatnosti) iskorištenja i karakteristike ulja. Vjerojatnost, prikazana pomoću p-vrijednosti, kod svih je regresijskih vrijednosti modela niža od 0,05. To nam dokazuje da je veza između nezavisnih varijabli i odzivnih varijabli statistički značajna.




**Slika 17** Trodimenzionalni dijagrami odzivne površine dobivenog volumena centrifugiranog ulja u ovisnosti o temperaturi, frekvenciji i veličini otvora pužne preše




**Slika 18** Trodimenzionalni dijagrami odzivne površine temperature dobivenog ulja u ovisnosti o temperaturi, frekvenciji i veličini otvora pužne preše




**Slika 19** Trodimenzionalni dijagrami odzivne površine ulja zaostalog u pogači u ovisnosti o temperaturi, frekvenciji i veličini otvora pužne preše

Pomoću trodimenzionalnih dijagrama najbolje se mogu prikazati utjecaji procesnih parametara na iskorištenje ulja. Na **Slici 17** može se vidjeti kako se volumen dobivenog hladno prešanog ulja povećava povišenjem temperature prešanja, a maksimalnu vrijednost postiže na frekvenciji između 30 i 35 Hz. Povećavanjem otvora glave preše, volumen dobivenog ulja se smanjuje. Također, udio ulja zaostalog u pogači (**Slika 19**) povećava se povećanjem veličine otvora preše od 10 do 12 mm te se povećava povišenjem temperature i frekvencije. Temperatura dobivenog sirovog ulja (**Slika 18**) povisuje se povišenjem temperature prešanja te se blago povisuje povišenjem frekvencije, dok veličina otvora glave pužne preše nema značajan utjecaj na temperaturu ulja.

Posljednji korak tijekom korištenja metode odzivnih površina je postupak optimizacije, a razvijeni model koristi se za simulaciju i optimizaciju. Optimiranje se provodi tako da se promatrani odzivi (*y*) prevode u individualne željene funkcije čije se vrijednosti kreću od 0 do 1. Vrijednost individualne željene funkcije 0 predstavlja najlošiju, dok 1 predstavlja najbolju vrijednost za promatrani odziv. Dobiveno je više mogućih rješenja odnosno kombinacija ispitivanih nezavisnih varijabli, no kao najbolje rješenje odabrani su oni procesni uvjeti kod kojih je poželjnost (engl. *Desirability*) bila najveća. Primjenom funkcionalne metode (engl. *desirability function method*) (Cojocaru i sur., 2009), optimalni uvjeti prešanja pri kojima je dobivena najveća količina i najbolja kvaliteta ulja prikazani su na **Tablici 12**.

Zadani uvjeti optimiranja procesa hladnog prešanja lješnjakovog ulja bili su:

- Što veće iskorištenje ulja;
- Što manji udio ulja u pogači;
- Što niža temperatura sirovog ulja.

**Tablica 12** Optimalni procesni parametri prešanja i izračunati promatrani odzivi

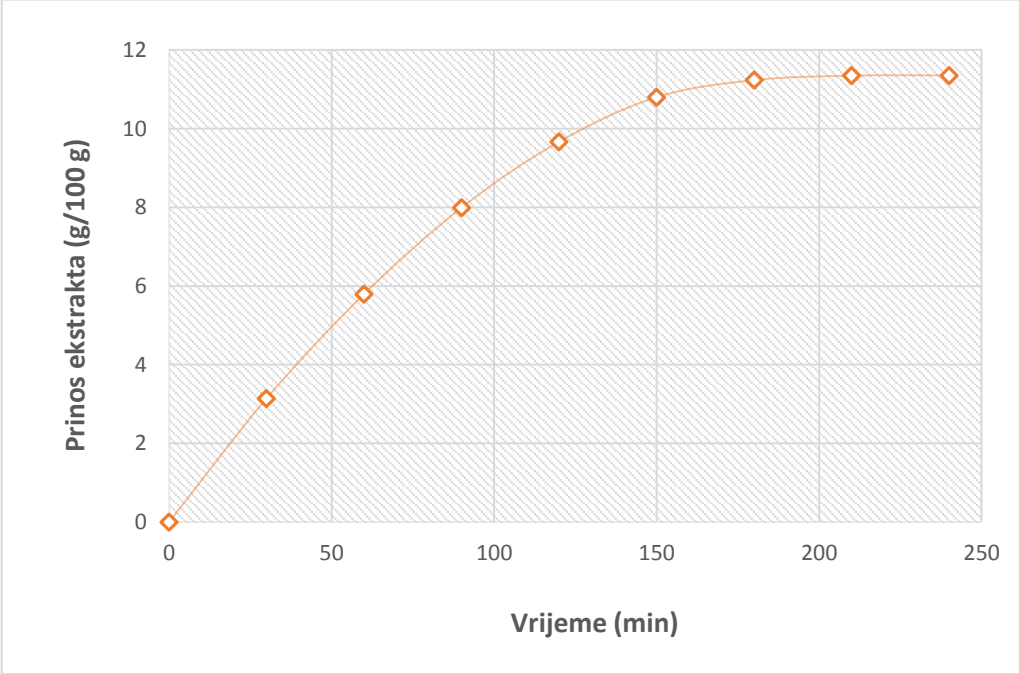
| Procesni parametri | Volumen sirovog ulja (mL) | Temperatura ulja (°C) | Udio ulja u pogači (%) |
|---|---|---|---|
| T = 70 °C<br>N = 9 mm<br>Fr = 30 Hz | 256,8 | 41,7 | 11,4 |

Iz **Tablice 12** vidljivo je da su primjenom metode odzivnih površina dobiveni optimalni uvjeti hladnog prešanja: temperatura glave preše 70 °C, frekvencija 30 Hz i veličina otvora glave preše 9 mm. Pri tim uvjetima izračunate optimalne vrijednosti parametara su sljedeće:

volumen hladno prešanog ulja 256,8 mL, temperatura ulja 41, 7 °C te zaostalo ulje u pogači 11,4 %, što se slaže s eksperimentalno dobivenim podacima.

## 4.3. Ekstrakcija ostatka ulja iz pogače superkritičnim $CO_2$

Iz pogače koja je dobivena kao nusprodukt prešanja pri optimalnim uvjetima prešanja (temperaturi prešanja od 70 °C, frekvenciji elektromotora pužnice od 30 Hz i otvora glave pužne preše od 9 mm) ekstrahirano je zaostalo ulje na uređaju za superkritičnu ekstrakciju. Prije procesa superkritične ekstrakcije, u pogači je nakon prešanja pri optimalnim uvjetima određena količina zaostalog ulja standardnom metodom po *Soxhlet*-u te je iznosila 11,81%. **Slika 20** prikazuje proces ekstrakcije pomoću superkritičnog $CO_2$ tijekom 4 h (na tlaku od 30 MPa, temperaturi od 40 °C i masenom protoku $CO_2$ od 1,73 kg/h) tijekom kojega je ekstrahirana gotovo sva količina ulja iz pogače.




**Slika 20** Ekstrakcija zaostalog ulja iz pogače superkritičnim $CO_2$

Prema krivulji ekstrakcije, proces ekstrakcije podijeljen je u tri perioda i to brzi period, prijelazni period te usporeni period ekstrakcije. Tijekom prvoga perioda uočava se konstantni period ekstrakcije (brzi period) u kojemu je konvekcija dominantni period ekstrakcije. Količina dobivenog ekstrahiranog ulja uvjetovana je topljivošću ulja u superkritičnom $CO_2$. Drugi period

predstavlja prijelazni period u kojemu se uočava smanjena brzina ekstrakcije, a mehanizam ekstrakcije je kombinacija konvekcije i difuzije. Treći period ekstrakcije je period difuzije, a ekstrakcija je spora. U ovome periodu difuzija je glavni mehanizam prijenosa tvari (Sovova, 1994).

# 5. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja dobivenih u ovome radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Ispitivani uzorci lješnjaka sadrže 58% ulja te 4,08% vlage;
- Rezultati pokazuju da različiti parametri hladnog prešanja (temperatura zagrijavanja glave pužne preše, frekvencija elektromotora, veličina otvora glave pužne preše) imaju značajan utjecaj na iskorištenje i kvalitetu dobivenog ulja;
- Dobiveno lješnjakovo ulje pokazuje visoku kvalitetu, jer sadrži malu količinu vlage, netopivih nečistoća i slobodnih masnih kiselina, dok nam vrijednost peroksidnog broja od 0 mmol $O_2$/kg ukazuje na to da u ulju nije započeo proces oksidacije;
- Metoda odzivnih površina pokazala se vrlo učinkovitom u modeliranju i optimiranju procesa hladnog prešanja;
- Optimalni uvjeti prešanja prema kojima se dobiva najveće iskorištenje te najbolja kvaliteta lješnjakovog ulja, određeni metodom odzivnih površina su: temperatura zagrijavanja glave pužne preše 70 °C, veličina otvora glave pužne preše 9 mm i frekvencija elektromotora pužne preše 30 Hz;
- Primjenom suvremene metode ekstrakcije superkritičnim $CO_2$ moguće je potpuno ekstrahirati zaostalo ulje iz pogače nakon procesa prešanja što je iznimno važno u industrijskoj proizvodnji ulja, jer se time postiže gotovo potpuno iskorištenje sirovine i ostvaruju se minimalni gubici u proizvodnom procesu;
- Značenje predloženog istraživanja ogleda se u proizvodnji visokokvalitetnog hladno prešanog ulja, maksimalnom iskorištenju ulja iz nusproizvoda i u dobivanju odmašćene pogače koja se dalje može koristi u druge svrhe, čime je proces proizvodnje hrane zaokružen i ne stvara se velika količina organskog otpada koji danas predstavlja ogromni ekološki i financijski teret u gotovo svim granama prehrambene industrije.

# 6. POPIS LITERATURE

**Abbas KA, Mohamed A, Abdulamir AS, Abas HA:** A review on supercritical fluid extraction as new analytical method, American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 4:345-353, 2008.

**Aladić K:** Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (Cannabis sativa L.) ulja superkritičnim $CO_2$ iz pogače nakon hladnog prešanja, Doktorska disertacija, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek, 2015.

**Alasalvar C, Shahidi F:** Tree nuts: Composition, Phytochemicals and Health Effects, Tylor & Francis Group, Boca Raton, 2009.

**AOAC:** Official Methods of Analysis, seventeenth edition, Association of Analytical Chemists, Washington, USA, 2000.

**AOAC:** Official Methods of Analysis, sixteenth edition, AOAC International, Gaithersburg, 1999.

**Baş D, Boyacı IH:** Modeling and optimisation 1: Usability of response surface methodology, Journal of Food Engineering, 78:836-845, 2007.

**Bernarno – Gill MG, Grenha J, Santos J, Cardoso P:** Supercritical fluid extraction and characterisation of oil from hazelnut, European Journal of Lipid Science and Technology, 104:402-409, 2002.

**Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaliera LA:** Response surface methodology (RSM) as tool for optimisation in analytical chemistry, Talanta, 76:965-977, 2008.

**Brunner G:** Supercritical fluids: technology and application of food processing, Journal of Food Engineering, 67:21-33, 2005.

**Bucić – Kojić A:** Materijali s predavanja na kolegiju „Prijenos tvari i energije“, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2011.

**Carley KM, Kamneva NY, Reminga J:** Response surface methodology, U CASOS Technical Report, Carnegie Mellon Niversity, 2004.

**Carr RA:** Oilseeds Processing, Technology and Solvents for Extracting Oilseeds and Nonpetroleum Oils, AOCS Press, Champaign, IL, 109-112. 1997.

**Cojocaru C, Khayet M, Zakrzewska – Trznodel G, Jaworska A:** Modeling and multi – response optimisation of pervaporation of organic aqueous solutions using desirability function approach, Journal of Hazardous Materials, 167:52-63, 2009.

**Cox DR, Reid N:** The theory of the design of experiments, Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC, 2000.

**Dimić E:** Hladno ceđena ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 99-101, 2005.

**Edwards IM, Jutan A:** Optimisation and control using response surface methods, Computers and Chemical Engineering, 21:411-453, 1997.

**Hui YH:** Bailey's industrial oil & fat products, Volume 2, Edible oils and fat products: Oils and oil seeds, Fifth edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.

**ISO 3960:** Animal and vegetables fats and oils – determination of peroxide value, 1998.

**ISO 663:** Animal and vegetable fats and oils – determination of insoluble impurities content, 1992.

**Joglekar AM, May AT:** Product excellence through design of experiments, Cereal Foods World, 32:857-868, 1987.

**Jokić S:** Matematičko modeliranje ekstrakcije ulja iz zrna soje superkritičnim $CO_2$, Doktorski rad, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek, 2011.

**Karleskind A:** Oils and fats Manual, Volume 1, Intercept Ltd, Andover, Hampshire, UK, 1996.

**Knezović Z:** Biometrika, Sveučilišni udžbenik, Mostar, 2014.

**Kole C:** Wild Crops Relatives: Genomic and Breeding Resources, Forest Trees, Springer-Verlang Berlin Heidelberg, 2011.

**Liyana – Pathirana C, Shahidi F:** Optimisation of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology, Food Chemistry, 93:-56, 2005.

**Lovrić T:** Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb, 2003.

**Martinez J, Rosa FTV, Meireles MAA:** Extraction of clove and vetiver oils with supercritical carbon dioxide: modeling and simulation, The Open Chemical Engineering Journal, 1:1-7, 2007.

**Martinez JL:** Supercritical fluid extraction od naturaceuticals and bioactive compounds, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2008.

**Miljković I:** Suvremeno voćarstvo, Nakladni zavod „Znanje“, Zagreb, 1991.

**Montgomery DC, Runger GC:** Applied Statistics and Probability for Engineers, Student Solutions Manual 4$^{th}$ Edition, Wiley, New York, 2003.

**Moslavac T:** Materijali s predavanja na kolegiju „Tehnologija masti i ulja“, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2013.

**Mukhopadhyay M:** Natural extracts using supercritical carbon dioxide, CRC Press, Boca Raton, 2000.

**Myers RH, Montgomery DC, Anderson – Cook CM:** Response surface methodology: Process and Product Optimisation Using Designed Experiments, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2009.

**NATEX:** Supercritical Fluid Extraction, Socrates Life Long Learning Intensive Course: Supercritical Fluids-Green Solvents in Chemical Engineering (Benadda, B., Bertucco, A., Bourne, R., Busch, M., Cocero, M. J., Erkey, C., Fages, J., Gamse, T., Harröd, M., Kikic, I., de

Loos, T., Kleintjens, L., Knez, Ž., Lack, E., Nunes da Ponte, M., Panayiotou, C., Recasens, F., Schaschke, C.J., Simandi, B., Skala, D., Sovova, H., Schlücker, E., Zetzl, C.), Istambul, 2009.

**Pejić M:** Utjecaj uvjeta sušenja i ekstrakcije na sadržaj fenolnih tvari u ekstraktima ploda divlje ruže (*Rosa canina* L.), Diplomski rad, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2010.

**Pourmortazavi SM, Hajimirsadeghi SS:** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis, Journal of Chromatography A, 1163:2-24, 2007.

**Propisi tehničke komisije:** Commissione Technika, Italija, 1988.

**Rac M:** Ulja i masti (sirovine, kemija i tehnologija jestivih ulja i masti), Privredni pregled, Beograd, 1964.

**Reverchon E, De Marco I:** Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter, The Journal of Supercritical Fluids, 38:146-166, 2006.

**Sovová H:** Rate of the vegetable oil extraction with supercritical $CO_2$ – I. Modeling of Extraction curves, Chemical Engineering Science, 49:409-414, 1994.

**Teh SS, Birch J:** Physicochemical and quality characteristics of cold-pressedhemp, flax and canola seed oils, Journal of Food Composition and Analysis, 30:26-31, 2013.

**Wang L, Weller CL:** Recent advances in extraction of naturaceuticals from plants, Trend sin Food Science & Technology, 17:300-312, 2006.

**Weatherilt H, Pala M:** Composition of hazelnuts and possible implications on health, paper in press

**Zlatanov MD, Antova GA:** Lipid composition of nuts from almond, hazelnut and walnut, Scientific Works HIFFI – Plovdiv, Vol. XLIII, Jubilee Scientific conference „DFSTT-98“, 1-5, 1998.

**Zubr J:** Oil – seed Crop: Camelina Sativa, Industrial Crops and Products, 6:113-119, 1997.