



UNIVERZITET U  
Kragujevcu  
AGRONOMSKI FAKULTET U  
Čačku



UNIVERSITY OF  
Kragujevac  
FACULTY OF  
AGRONOMY  
Čačak

---

# XXIII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNIK RADOVA -



---

Čačak, 9 - 10. Mart 2018. godine

# **XXIII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI**

**sa međunarodnim učešćem**

**- Zbornik radova -**

## **ORGANIZATOR I IZDAVAČ**

**Univerzitet u Kragujevcu,  
Agronomski fakultet u Čačku**

### **Organizacioni odbor**

dr Vladimir Kurćubić, dr Ljiljana Bošković Rakočević, dr Nemanja Miletić,  
dr Vladimir Dosković, Radmila Ilić, dipl. inž., Srđan Bošković

### **Programski odbor**

dr Leka Mandić, dr Vladeta Stevović, dr Snežana Bogosavljević-Bošković,  
dr Tomo Milošević, dr Radojica Đoković, dr Milomirka Madić, dr Goran  
Dugalić, dr Gordana Šekularac, dr Biljana Veljković, dr Nikola Bokan, dr  
Vladimir Kurćubić, dr Goran Marković, dr Gorica Paunović, dr Snežana  
Tanasković, dr Nemanja Miletić, dr Milan Nikolić, dr Igor Đurović, dr  
Milevica Bojović, dr Branko Čupina, dr Zora Dajić, dr Sanja Vasiljević, dr  
Aleksandra Stanojković Sebić, dr Milan M. Petrović, dr Jasmina Zdravković,  
dr Zoran Lugić, dr Zoran Jovović, dr Vesna Milić, dr Nikola Mičić, dr Milan  
Lukić, dr Desimir Knežević, dr Nebojša Ilić, dr Đoko Bunevski, dr Vera  
Đekić, dr Slavica Vesković

### **Tehnički urednici**

dr Nemanja Miletić, dipl. inž. Dušan Marković

**Tiraž:** 160 primeraka

### **Štampa**

*Grafička radnja štamparija Bajić, V. Ignjatovića 12, Trbušani, Čačak*

## **Sekcija: Prehrambena tehnologija**

<i>Edina Avdović, Dejan Milenković, Svetlana Jeremić, Jelena Đorović, Nenad Vuković, Zana Dolićanin, Srećko Trifunović, Zoran Marković: LIGAND-PROTEIN INTERAKCIJE 3-(1-(3-HIDROKSIPROPILAMINO)ETILIDEN)HROMAN-2,4-DIONA SA HUMANIM C REATIVNIM PROTEINOM .....</i>	403
<i>Edina Avdović, Svetlana Jeremić, Ana Amić, Marijana Pirković, Dejan Milenković, Jelena Đorović, Zoran Marković: ANTIOKSIDATIVNA I INHIBITORSKA AKTIVNOST ALIZARIN-2-GLIKOZIDA .....</i>	409
<i>Biljana Bojović, Dragana Jakovljević, Milan Stanković, Marina Topuzović: EFEKAT FORMI I KONCENTRACIJA AZOTA NA RASTENJE I SADRŽAJ PIGMENATA <i>Ocimum basilicum</i> L. U KULTURI <i>IN VITRO</i> .....</i>	415
<i>Igor Đurović, Slađana Đorđević, Slavko Radenković: AROMATICITY OF ROESKY'S KETONE .....</i>	421
<i>Amir Ganić, Munevera Begić, Enver Karahmet, Saud Hamidović: KARAKTERIZACIJA KVALITATIVNIH PARAMETARA „VISOČKOG SUDŽUKA“ U CILJU ZAŠTITE NA NACIONALNOM NIVOU .....</i>	427
<i>Darja Husejnagić, Snježana Hodžić, Aldijana Avdić, Suad Širanović, Vildana Hadžić: MIKROFLORA SVIJEŽEG KRAVLJEG SIRA TRADICIONALNO PROIZVEDENOG NA PODRUČJU TUZLANSKOG KANTONA .....</i>	433
<i>Enver Karahmet, Saud Hamidović, Amir Ganić, Senita Salkić, Almir Toroman, Munevera Begić: MIKROBIOLOŠKI KVALITET MESNIH PRERAĐEVINA I ANALIZA RADNIH POVRŠINA .....</i>	439
<i>Zoran Kukrić, Ivan Samelak, Goran Vučić, Ladislav Vasilištin, Novak Kukrić: KORELACIJA SADRŽAJA UKUPNIH FENOLA SA ANTIOKSIDATIVNOM AKTIVNOŠĆU CRVENIH VINA SA PODRUČJA REGIJE BANJA LUKA .....</i>	445
<i>Vladimir Kurčubić, Pavle Mašković: HEMIJSKE KARAKTERISTIKE ANALOGA SIRA SA DODATKOM BILJNIH MASTI I MLEČNIH PROTEINA .....</i>	451
<i>Srboljub Đurić, Jovana Maričić: DOZIRANJE MIKROELEMENATA I KOREKCIJA pH VREDNOSTI U OBLASTI ZALIVNIH SISTEMA; TEHNIČKO-TEHNOLOŠKO REŠENJE .....</i>	457
<i>Nevena Mihailović, Tijana Maksimović, Andrija Ćirić, Ljubinka Joksović: OPTIMIZACIJA USLOVA MIKROTALASNE EKSTRAKCIJE FENOLNIH JEDINJENJA PLODA DIVLJE TREŠNJE (<i>PRUNUS AVIUM</i> L.) .....</i>	463
<i>Milan Mitić, Pavle Mašković, Nemanja Miletić, Snežana Mitić, Gordana Kocić: KINETIKA EKSTRAKCIJE VANILINSKE KISELINE IZ SEMENA BUNDEVE .....</i>	469
<i>Marko Petković, Duška Dimitrijević, Vladimir Filipović, Jelena Filipović: UTICAJ PRIRODNOG EKSTRAKTA RUZMARINA NA OKSIDATIVNU STABILNOST PRŽENOG KUKURUZNOG ČIPSA .....</i>	475
<i>Aleksandra Petrović, Slobodanka Stanojević-Nikolić, Milan Nikolić: UTICAJ TERMIČKOG TRETMAŃA NA HIGIJENSKI KVALITET MLEKA .....</i>	481
<i>Vladimir Radovanović, Dejan Stefanović, Aleksandra Radovanović, Jelena Mladenović, Ljiljana Gojković Bukarica: QUALITY RED WINES: CHANGING THE CONTENT OF ANTHOCYANINS IN THE PROCESS OF RIPENING GRAPES .....</i>	487
<i>Nikola Srećković, Jelena Katanić, Violeta Ninković, Vladimir Mihailović: ANTIMIKROBNA AKTIVNOST I FENOLNISASTAV EKSTRAKTA BILJKE <i>SALVIA VERTICILLATA</i> L. ....</i>	493

## KINETIKA EKSTRAKCIJE VANILINSKE KISELINE IZ SEMENA BUNDEVE

*Milan Mitić<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>, Nemanja Miletić<sup>2</sup>, Snežana Mitić<sup>1</sup>,  
Gordana Kocić<sup>3</sup>*

**Izvod:** U ovom radu proučena je ekstrakcija vanilinske kiseline iz semena bundeve primenom postupka meceracije. Ispitan je uticaj temperature (25-45°C) i vremena (10-100 min) ekstrakcije na sadržaj vanilinske kiseline u ekstraktima. Na osnovu eksperimentalnih rezultata kinetike ekstrakcije izvešeno je modelovanje ekstrakcionog sistema seme bundeve-40% etanol (v/v) primenom hiperbolnog modela. Takođe, na osnovu srednjih vrednosti RMS, SD i  $R^2$  modelovanih i eksperimentalnih vrednosti sadržaja vanilinske kiseline, utvrđeno je da hiperbolni model pokazuje prihvatljivo slaganje.

**Ključne reči:** kinetika ekstrakcije, seme bundeve, vanilinska kiselina, hiperbolni model

### Uvod

Pod pojmom ekstrakcija rastvaračem podrazumeva se preuzimanje neke supstance iz jedne faze u kojoj je ona rastvorena ili suspendovana u drugu, tečnu fazu. Ovom tehnološkom operacijom se rastvorljivi sastojak čvrste ili tečne faze izoluje rastvaračem. Ukoliko se rastvorljiva supstanca ekstrahuje iz čvrstog materijala, govori se o ekstrakciji čvrsto-tečno (Ponomarev, 1976).

Klasična ekstrakcija ili maceracija se najčešće primenjuje za dobijanje preparata prirodnih jedinjenja. Ona se izvodi šaržno, tako što se biljni material potapa u rastvarač, pri određenoj temperaturi i odnosu biljni material-rastvarač (Ponomarev, 1976). U novije vreme, ekstrakti se sve više dobijaju primenom nekonvencionalnih tehnika ekstrakcije, kao što su: super- i sub-kritična ekstrakcija ili ekstrakcija pod dejstvom električne energije, povišenog pritiska, mikrotalasa i ultrazvuka (Vinatoru, 2001).

Na kinetiku i efikasnost ekstrakcije utiču mnogi faktori: osobine i kvalitet biljnog materijala (geografsko poreklo, sadržaj vlage, stepen usitnjenosti, poroznost biljne sirovine), rastvarač, tehnika ekstrakcije, temperature, vreme procesa ekstrakcije i dr. (Kitanović i sar., 2008)

Cilj ovog rada bio je da se analizira uticaj temperature i vremena ekstrakcije na efikasnost ekstrakcije vanilinske kiseline iz semena bundeve, kao i da se ispita primenljivost hiperbolne jednačine za modelovanje kinetike ekstrakcije.

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Višegradska 33, Niš, Srbija (milanmitic83@yahoo.com)

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (pavlemaskovic@yahoo.com);

<sup>3</sup>Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bulevar dr Zorana Đinđića 81, Niš, Srbija

## Materijal i metode rada

*Biljni materijal:* Za analizu su korišćene semenke bundeve kupljene u prodavnici zdrave hrane u Nišu, koje su sušene na sobnoj temperaturi i neposredno pre eksperimenta samlevene električnim blenderom.

*Ekstrakcija:* Ekstrakcija je vršena vodenim rastvorom etanola koncentracije 40% (v/v), pri hidromodulu 20 cm<sup>3</sup>/g na temperaturama 25, 35 i 45°C.

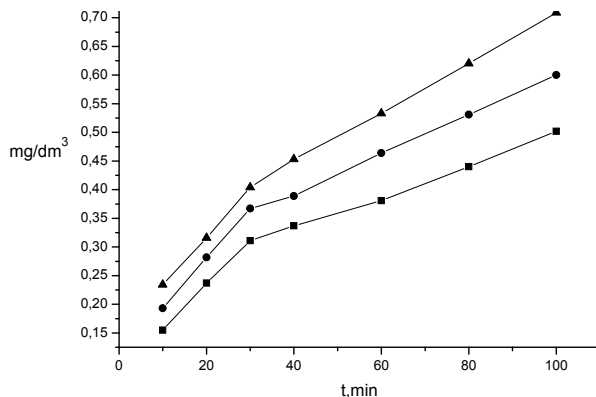
*Inicijalni sadržaj vanilinske kiseline u semenima tikve ( $q_0$ ):* Biljni materijal (2 g) se u erlenmajeru od 250 cm<sup>3</sup> prelije sa 100 cm<sup>3</sup> ekstrakcionog rastvarača (40 % etanol). Ekstrakcija je vršena postupkom maceracije u toku 120 minuta. Ekstrakti su odvojeni od ostatka filtriranjem kroz Whatman No. 1 filter papir. Nakon filtriranja, iscrpljena biljna sirovina se prelije sa istom zapreminom istog rastvarača, i macerira još 30 minuta, a zatim se filtrira i ispire sa 20 cm<sup>3</sup> rastvarača. Ekstrakti se spoje i uparavaju, a zatim i suše pod vakuumom na 45 °C do konstantne mase. Osušeni, suvi i koncentrovani ekstrakti su rastvoreni u ekstrakcionom rastvaraču neposredno pre analize. Osušeni ekstrakti su pripremljeni tri puta, a rezultat je izražen kao srednja vrednost.

*HPLC analiza etanolnih ekstrakata semena bundeve:* Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: A – (H<sub>2</sub>O + 5% HCOOH) i B – (80% HCN + 5% HCOOH + H<sub>2</sub>O). Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0-28 min, 0% B; 28-35 min, 25% B; 35-40 min, 50% B; 40-45 min, 80% B, i na kraju poslednjih 10 min ponovo 0% B. Protok mobilne faze je iznosio 0,8 ml/min. Injektovano je 5 µL rastvora uzorka, automatski, korišćenjem autosampler-a. Kolona je termostatirana na temperaturi od 30 °C. Vanilinska kiselina prisutna u ekstraktima je identifikovana poređenjem retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenom i spektrom standarda za vanilinsku kiselinu.

Kvantifikacija vanilinske kiseline je izvršena metodom spoljašnjeg standarda. Pripremljen je osnovni rastvor standarda masene koncentracije 1,0 mg/cm<sup>3</sup>, rastvaranjem u metanolu. Od ovog rastvora je pripremljena serija razblaženih rastvora standarda odgovarajućih masenih koncentracija. Konstruisana je kalibraciona kriva na osnovu dobijenih površina pikova u zavisnosti od masene koncentracije standarda. Iz dobijene jednačine linearne zavisnosti izračunate su masene koncentracije komponenti u ekstraktima.

## Rezultati istraživanja i diskusija

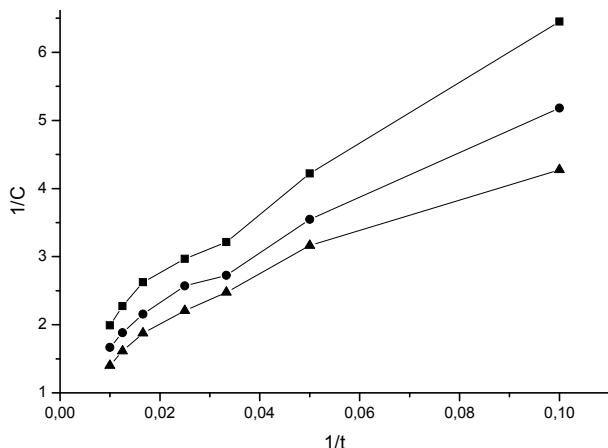
Rezultati određivanja sadržaja vanilinske kiseline u ekstraktima semena bundeve dobijenih ekstrakcijom 40% etanolom pri različitim temperaturama i vremenima ekstrakcije prikazani su na Slici 1. Prikazane zavisnosti pokazuju da se proces ekstrakcije odvija u dve faze. Na početku vanilinska kiselina koja se nalazi na površini čestica semena bundeve rastvara se u kratkom vremenskom periodu (za dvadesetak minuta), i ova faza je poznata kao ispiranje ili brza ekstrakcija. U drugoj fazi, poznatoj kao spora ekstrakcija, koncentracija vanilinske kiseline sve sporije raste i rezultat je difuzija vanilinske kiseline iz unutrašnjosti čestica semena bundeve.



Slika 1. Promena koncentracije vanilinske kiseline u toku ekstrakcije sa vodenim rastvorom etanola 40% (temperatura: ■-25°C; ●-35°C; ▲-45°C;)

Figure 1. Change of the vanilic acid concentration with time during extraction with aqueous 40% ethanol (temperatura: ■-25°C; ●-35°C; ▲-45°C;)

Modelovanje kinetike ekstrakcije vanilinske kiseline iz semena bundeve izvršeno je primenom hiperbolnog modela, koji se može predstaviti hiperbolnom funkcijom:  $c=c_{\max}(t/K_s+t)$ , gde je  $c$ -koncentracija vanilinske kiseline u ekstraktu u trenutku  $t$ ,  $c_{\max}$ -maksimalna koncentracija vanilinske kiseline koja se može postići pri datim uslovima ekstrakcije iz semena bundeve, a  $K_s$ -vreme posle kojeg koncentracija vanilinske kiseline u ekstraktu dostiže vrednost  $c_{\max}/2$ . Vrednosti kinetičkih parametara  $c_{\max}$  i  $K_s$  mogu se izračunati iz linearnog oblika jednačine  $1/c=K_s/c_{\max} \cdot 1/t + 1/c_{\max}$ . Ova jednačina je više puta uspešno korišćena kod modelovanja kinetike ekstrakcije iz biljnog materijala (Menkiti i sar., 2015; Racketondramasy i sar., 2007). Slika 2 prikazuje zavisnost  $1/c$  od  $1/t$  za slučaj ekstrakcije vanilinske kiseline iz semena bundeve na 25, 35 i 45°C. Za izračunavanje parametara empirijskog modela zasnovanog na hiperbolnoj jednačini korišćeni su eksperimentalni podaci od 10 do 80 min, a izračunavanje je vršeno pomoću metode linearne regresije.



Slika 2. Zavisnost  $1/C$  od  $1/t$  za ekstrakciju vanilinske kiseline (vodeni rastvor etanola 40%; hidromodul  $20\text{ cm}^3/\text{g}$ ; temperatura: (temperatura: ■-25°C; ●-35°C; ▲-45°C;)  
 Figure 2. Plot of  $1/C$  versus  $1/t$  for the extraction of vanilic acid (aqueous solution of ethanol 40%; hydromodul  $20\text{ cm}^3/\text{g}$ ; temperature: (temperature: ■-25°C; ●-35°C; ▲-45°C;)

Vrednosti parametara dati su u Tabeli 1. Maksimalna koncentracija vanilinske kiseline iz semena bundeve ( $0,710\text{ g}/\text{dm}^3$ ) izračunata prema modelu zasnovanom na hiperbolnoj jednačini dobijena je pri ekstrakciji 40% (v/v) etanolom pri 45°C. Takođe, najveće skraćenje vremena potrebnog da koncentracija ekstrahovane vanilinske kiseline dostigne polovinu svoje maksimalne vrednosti zabeleženo je u slučaju ekstrakcije 40% (v/v) etanolom pri 45°C.

Tabela 1. Vrednosti koeficijenata  $c_{\max}$  i  $K_s$  u jednačinama kinetike ekstrakcije vanilinske kiseline

Table 1. The value of  $c_{\max}$  and  $K_s$  coefficients in the equations of extraction kinetics of vanilic acid

	$c_{\max}, \text{g}/\text{dm}^3$	$K_s, \text{min}$
25°C	0,569	26,83
35°C	0,647	23,94
45°C	0,710	20,90

Prihvatljivost kinetičkog modela je ocenjena na osnovu slaganja kinetičkih jednačina sa eksperimentalnim podacima, odnosno na osnovu vrednosti koeficijenata linearne korelacije ( $R^2$ ), vrednosti standardne devijacije (SD) i na osnovu vrednosti korena kvadratnog srednjeg odstupanja (RMS) izračunatih od eksperimentalnih vrednosti koncentracija vanilinske kiseline. Usvojeno je da je model prihvatljiv ukoliko je srednja vrednost odstupanja izračunatih od eksperimentalnih vrednosti sadržaja ekstraktivnih supstanci manja od  $\pm 10\%$ .

Tabela 2. Procentne vrednosti RMS, SD i R<sup>2</sup> za različite temperature  
 Table 2. Percentage RMS, SD and R<sup>2</sup> for different temperatures

	% RMS	% SD	% R <sup>2</sup>
25°C	5,07	5,03	97,84
35°C	3,60	3,93	98,42
45°C	5,77	6,30	96,58

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 2 može se zaključiti da su jednačine hiperbolnog modela primenljive za opisivanje kinetike ekstrakcije vanilinske kiseline iz semena bundeve u periodu i brze i spore ekstrakcije.

### Zaključak

Ispitivanjem kinetike ekstrakcije utvrđeno je da postoje brzi i spori process ekstrakcije. Sadržaj vanilinske kiseline određen je HPLC metodom. Najveći sadržaj vanilinske kiseline pokazao je ekstrakt dobijen na 45°C u vremenu od 100 minuta. Za modelovanje kinetike ekstrakcije vanilinske kiseline iz semena bundeve maceracijom primenjen je hiperbolni model koji je pokazao dobro slaganje sa ekperimentalnim podacima.

### Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta TR 31060 koji finansira ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja republike Srbije.

### Literatura

- Ponomaryov V.D. (1976). Medicinal Herbs Extraction, Medicina, Moscow
- Vinatoru M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrasonic Sonochemistry. 8 (3): 303-313.
- 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.). Biochemical Engineering Journal. 41: 1-11.
- Menkity M.C., Agu C.M., Udeigwe T.K. (2015). Extraction of oil from *Terminalia catappa* L.: Process parameter impacts, kinetics, and thermodynamics. Industrial Crops and Products. 77: 713-723.
- Rackotondramasy R.L., Haret J.L., Porte C., Faudet H. (2007). Solid-liquid extraction of protopiine from *Fumaria officinalis* L-analysis determination, kinetic reaction and model builing. Sep. Purif. Technol. 54: 253-261.



## KINETICS OF EXTRACTION OF VANILLIC ACID FROM PUMPKIN SEEDS

*Milan Mitić<sup>1</sup>, Pavle Mašković<sup>2</sup>, Nemanja Miletić<sup>2</sup>, Snežana Mitić<sup>1</sup>,  
Gordana Kocić<sup>3</sup>*

### Abstract

In this study, the extraction of vanillic acid from pumpkin seeds, using the maceration process, were investigated. The influence of temperature (25-45°C) and time (10-100 min) on the content of vanillic acid in extracts was confirmed. Based on the experimental results of the extraction of kinetics, a modeling of pumpkin seeds-40% ethanol (v/v) extraction system was performed using hyperbolic model. Also, based on the average values of the RMS, SD and R<sup>2</sup>, it was found that the hyperbolic model show acceptable agreement.

**Key words:** kinetic of extraction, pumpkin seeds, vanilic acid, hyperbolic model

---

<sup>1</sup>University of Niš, Faculty of Science and Mathematics, Višegradska 33, Niš, Serbia (milanmitic83@yahoo.com)

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (pavlemaskovic@yahoo.com)

<sup>3</sup>University of Niš, Faculty of Medicine, dr Zorana Đinđića 81, Niš, Serbia

CIP- Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије

63(082)

60(082)

**САВЕТОВАЊЕ о биотехнологији са међународним учешћем (23 ; 2018 ; Чачак)**

Zbornik radova / XXIII savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 9-10. mart 2018. godine ; [organizator] Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku = [organized by] University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak. - Čačak : Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, 2018 (Čačak : Bajić). - 615 str. : ilustr. ; 25 cm

Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 160. - Napomene i bibliografske reference uz radove. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-87611-55-9

1. Агрономски факултет (Чачак)

a) Пољопривреда - Зборници

b) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 258772236