

Istraživanje mogućnosti optimizacije tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi

Jukić, Zvonimir

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:223022>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ISTRAŽIVANJE MOGUĆNOSTI OPTIMIZACIJE
TEHNOLOŠKOG PROCESA PROIZVODNJE BIOSTIMULATORA
NA BILJNOJ BAZI

DIPLOMSKI RAD

ZVONIMIR JUKIĆ

Matični broj: 271

Split, svibanj 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
ZAŠTITA OKOLIŠA

**ISTRAŽIVANJE MOGUĆNOSTI OPTIMIZACIJE TEHNOLOŠKOG
PROCESA PROIZVODNJE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI**

DIPLOMSKI RAD

ZVONIMIR JUKIĆ

Matični broj: 271

Split, svibanj 2021.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
ENVIRONMENTAL PROTECTION**

**RESEARCH OF OPTIMIZATION POSSIBILITIES OF TECHNOLOGICAL
PROCESS OF PRODUCTION OF PLANT-BASED BIOSTIMULATORS**

DIPLOMA THESIS

ZVONIMIR JUKIĆ

Parent number: 271

Split, May 2021

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Diplomski studij kemijske tehnologije, smjer: Zaštita okoliša

Znanstveno područje: Tehničke znanosti

Znanstveno polje: Kemijско inženjerstvo

Tema rada je prihvaćena na 6. elektroničkoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta održanoj 15. i 16. prosinca 2020.

Mentor: doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek

Pomoć pri izradi:

ISTRAŽIVANJE MOGUĆNOSTI OPTIMIZACIJE TEHNOLOŠKOG PROCESA PROIZVODNJE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI

Zvonimir Jukić, 271

Sažetak: U ovom diplomskom radu ispitana je mogućnost optimizacije tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi s ciljem povećanja brzine procesa i prinosa bioaktivnih tvari. Biostimulatori su pripremljeni dodavanjem mješavine odabranog osušenog biljnog materijala (korijen gaveza, list koprive, poljska preslica te list sljeza) i vodovodne vode kao otapala u šaržni reaktor. Optimizacija je provedena jednovarijantnom tehnikom „jedna varijabla u vremenu“ pri čemu se ispitivao utjecaj temperature, miješanja, omjera sirovina/otapalo i režima aeracije na brzinu procesa i količinu prinosa u vremenu od 7 dana. Za temperaturu su odabrane vrijednosti 20, 25, 35 i 45 °C, za miješanje broj okretaja 250, 500 i 750 o min⁻¹, za omjer sirovina/otapalo 15, 20, 25, 30 i 35 g L⁻¹, a za aeraciju protok zraka od 0,1; 0,3 i 0,5 L min⁻¹. Nakon provedenog niza eksperimenata utvrdilo se da su za ovaj tip procesa optimalne vrijednosti parametara sljedeće: temperatura smjese od 35 °C, brzina miješanja od 250 o min⁻¹, omjer sirovina/otapalo od 30 g L⁻¹ te aeracijski režim od 0,3 L min⁻¹. Također, ispitana je i mogućnost optimizacije izvedbe reaktora za provedbu procesa ekstrakcije gdje se pokazalo da izvedba reaktora sa ugrađenim dvjema perforiranim pliticama postavljenim na 20% i 80% visine reaktora povećavaju učinkovitost procesa u odnosu na referentni proces. Kao referentni proces koristio se proces proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi na OPG Vedran Pezelj u Trilju čiji se biostimulatori nalaze na tržištu od 2018. godine.

Ključne riječi: biostimulatori na biljnoj bazi, bioaktivne tvari, ekstrakcija kruto-tekuće, optimizacija tehnološkog procesa, dizajn reaktora

Rad sadrži: 53 stranice, 29 slika, 8 tablica, 67 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | |
|---------------------------------------|----------------|
| 1. Izv. prof. dr. sc. Sandra Svilović | - predsjednica |
| 2. Doc. dr. sc. Franko Burčul | - član |
| 3. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek | - član-mentor |

Datum obrane: 27. svibnja 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study of Chemical technology, Orientation: Environmental Protection

Scientific area: Tehnical sciences

Scientific field: Chemical engineering

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, electronic session no. 6. (December 15th and 16th, 2020)

Mentor: Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

Technical assistance:

RESEARCH OF OPTIMIZATION POSSIBILITIES OF TECHNOLOGICAL PROCESS OF PRODUCTION OF PLANT-BASED BIOSTIMULATORS

Zvonimir Jukić, 271

Abstract: In this diploma thesis, the possibility of optimizing the technological process of plant-based biostimulator production with the aim of increasing the process kinetic and yield of bioactive substances was investigated. Biostimulators were prepared by adding a mixture of selected dried plant material (comfrey root, nettle leaf, horsetail and marshmallow leaf) and tap water as solvent into the batch reactor. The optimization was performed using a single-variant "one time variable" technique, investigating the influence of the temperature, mixing, raw material/solvent ratio and aeration regime on the process kinetic and yield over time of 7 days. Values of 20, 25, 35 and 45 ° C were selected for the temperature, 250, 500 and 750 rpm for mixing, 15, 20, 25, 30 and 35 g L⁻¹ for the raw material/solvent ratio, and for aeration the flow of air at 0.1; 0.3 and 0.5 L min⁻¹. After a set of experiments, it was determined that for this type of process the optimal parameter values are as follows: mixture temperature of 35 ° C, mixing speed of 250 rpm, raw material/solvent ratio of 30 g L⁻¹ and aeration regime of 0.3 L min⁻¹. Also, the possibility of optimizing the reactor design for the extraction process was investigated, where it was shown that the design of the reactor with two perforated trays installed at 20% and 80% of the reactor height increases the process efficiency compared to the reference process. The process of plant-based biostimulator production at the Vedran Pezelj family farm in Trilj was used as a reference process, whose biostimulators have been on the market since 2018.

Keywords: plant-based biostimulators, bioactive substances, solid-liquid extraction, technological process optimization, reactor design

Thesis contains: 53 pages, 29 pictures, 8 tables, 67 literary references

Original in: Croatian

Defence Committee:

1. Sandra Svilović, PhD, associate professor	chair person
2. Franko Burčul, PhD, assistant professor	member
3. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor	supervisor

Defence date: May, 27th 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Marija Nikole Mužeka u razdoblju od listopada 2020. do ožujka 2021. godine.

Želim se zahvaliti mentoru doc. dr. sc. Mariju Nikoli Mužeku na posvećenom vremenu, strpljenju, stručnom vođenju i prenesenom znanju te činjenici da je bio mentor u punom smislu riječi - ne samo za vrijeme izrade diplomskog rada, a prije i završnog rada, već kroz cijelo moje školovanje na Kemijsko-tehnološkom fakultetu tijekom kojeg me je usmjeravao u pravom smjeru i pomogao da se razvijem kao mladi istraživač i inženjer.

Također, želim se zahvaliti i OPG-u Pezelj, posebno Vedranu, na krasnoj suradnji tijekom koje su imali strpljenja i povjerenja u moj rad te činjenici da su sva moja znanja i istraživanja iz područja biostimulatora i procesnog inženjerstva primijenili kod sebe, u realnom procesu i stvarnoj proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

- Izvršiti analizu sirovine.
- Definirati eksperimentalnu domenu i razine ulaznih varijabli.
- Pripremiti otopine biostimulatora na biljnoj bazi prema do sada razrađenoj metodologiji.
- Ispitati utjecaj vođenih varijabli na vrijednosti izlaznih varijabli (prinos i brzine procesa).
- Analizom izmjerenih izlaznih varijabli odrediti optimalne vođene varijable (reakcijske uvjete).
- Na temelju dobivenih rezultata pretpostaviti dizajn eksperimentalnog šaržnog reaktora.
- Procijeniti moguće ekonomske i ekološke učinke provedene optimizacije pripreme biostimulatora na biljnoj bazi.

SAŽETAK

U ovom diplomskom radu ispitana je mogućnost optimizacije tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi s ciljem povećanja brzine procesa i prinosa bioaktivnih tvari. Biostimulatori su pripremljeni dodavanjem mješavine odabranog osušenog biljnog materijala (korijen gaveza, list koprive, poljska preslica te list sljeza) i vodovodne vode kao otapala u šaržni reaktor. Optimizacija je provedena jednovarijantnom tehnikom „jedna varijabla u vremenu“ pri čemu se ispitivao utjecaj temperature, miješanja, omjera sirovina/otapalo i režima aeracije na brzinu procesa i količinu prinosa u vremenu od 7 dana. Za temperaturu su odabrane vrijednosti 20, 25, 35 i 45 °C, za miješanje broj okretaja 250, 500 i 750 o min⁻¹, za omjer sirovina/otapalo 15, 20, 25, 30 i 35 g L⁻¹, a za aeraciju protok zraka od 0,1; 0,3 i 0,5 L min⁻¹. Nakon provedenog niza eksperimenata utvrdilo se da su za ovaj tip procesa optimalne vrijednosti parametara sljedeće: temperatura smjese od 35 °C, brzina miješanja od 250 o min⁻¹, omjer sirovina/otapalo od 30 g L⁻¹ te aeracijski režim od 0,3 L min⁻¹. Također, ispitana je i mogućnost optimizacije izvedbe reaktora za provedbu procesa ekstrakcije gdje se pokazalo da izvedba reaktora sa ugrađenim dvjema perforiranim pliticama postavljenim na 20% i 80% visine reaktora povećavaju učinkovitost procesa u odnosu na referentni proces. Kao referentni proces koristio se proces proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi na OPG Vedran Pezelj u Trilju čiji se biostimulatori nalaze na tržištu od 2018. godine.

Ključne riječi: biostimulatori na biljnoj bazi, bioaktivne tvari, ekstrakcija kruto-tekuće, optimizacija tehnološkog procesa, dizajn reaktora

SUMMARY

In this diploma thesis, the possibility of optimizing the technological process of plant-based biostimulator production with the aim of increasing the process kinetic and yield of bioactive substances was investigated. Biostimulators were prepared by adding a mixture of selected dried plant material (comfrey root, nettle leaf, horsetail and marshmallow leaf) and tap water as solvent into the batch reactor. The optimization was performed using a single-variant "one time variable" technique, investigating the influence of the temperature, mixing, raw material/solvent ratio and aeration regime on the process kinetic and yield over time of 7 days. Values of 20, 25, 35 and 45 ° C were selected for the temperature, 250, 500 and 750 rpm for mixing, 15, 20, 25, 30 and 35 g L⁻¹ for the raw material/solvent ratio, and for aeration the flow of air at 0.1; 0.3 and 0.5 L min⁻¹. After a set of experiments, it was determined that for this type of process the optimal parameter values are as follows: mixture temperature of 35 ° C, mixing speed of 250 rpm, raw material/solvent ratio of 30 g L⁻¹ and aeration regime of 0.3 L min⁻¹. Also, the possibility of optimizing the reactor design for the extraction process was investigated, where it was shown that the design of the reactor with two perforated trays installed at 20% and 80% of the reactor height increases the process efficiency compared to the reference process. The process of plant-based biostimulator production at the Vedran Pezelj family farm in Trilj was used as a reference process, whose biostimulators have been on the market since 2018.

Keywords: plant-based biostimulators, bioactive substances, solid-liquid extraction, technological process optimization, reactor design

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	3
1.1. BIOSTIMULATORI NA BILJNOJ BAZI.....	4
1.1.1. OSNOVNE ZNAČAJKE I SVOJSTVA BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI.....	4
1.1.2. ODABIR SIROVINE I UTJECAJ NA KAKVOĆU KONAČNOG PROIZVODA.....	5
1.1.3. PODRUČJA PRIMJENE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI.....	9
1.2. KARAKTERIZACIJA PROCESA PROIZVODNJE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI.....	12
1.2.1. TEHNOLOŠKI PROCES I PROIZVODNJA.....	12
1.2.2. TEHNOLOŠKA OPERACIJA U PROIZVODNOJ JEDINICI.....	13
1.2.3. MEHANIZAM PRIJENOSA TVARI.....	15
1.2.4. PARAMETRIZACIJA I VOĐENJE PROCESA.....	18
1.3. OPTIMIZACIJA PROCESA.....	20
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	21
2.1. MATERIJALI.....	22
2.2. INSTRUMENTI.....	24
2.3. METODOLOGIJA I DIZAJN EKSPERIMENTA.....	28
2.3.1. ODREĐIVANJE VELIČINE I RASPODJELE VELIČINA ČESTICA BILJNOG MATERIJALA.....	28
2.3.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA TEŠKIH METALA.....	28
2.3.3. PRIPREMA BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI.....	29
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	32
3.1. ANALIZA SIROVINE.....	33
3.2. UTJECAJ VRIJEDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA PRINOS I TRAJANJE PROCESA.....	35
3.3. PRETPOSTAVKE O DIZAJNU I NAČINU IZRADE ODGOVARAJUĆEG MODELA REAKTORA ZA PROIZVODNJU BIOSTIMULATORA.....	41
3.4. MOGUĆI EKONOMSKI I EKOLOŠKI UČINCI OPTIMIZACIJE PROCESA.....	43
4. ZAKLJUČAK.....	46
5. LITERATURA.....	48

UVOD

Biostimulatori na biljnoj bazi danas predstavljaju vrijednu alternativu i/ili dodatak proizvodnji umjetnih (mineralnih) gnojiva, s naglaskom na ekološki aspekt i zaštitu okoliša. Naime, masovnom primjenom mineralnih gnojiva i pesticida, bez prethodnog planiranja i izračuna potrebe za istima, dolazi do smanjenja plodnosti tla jer mikroorganizmi ubrzano razgrađuju organsku tvar u tlu, što dugoročno iscrpljuje tlo. Pri tome sekundarni elementi izazivaju ekološke probleme zbog gubitaka ispiranjem pa se često kao rezultat javlja onečišćenje voda fosfatima i nitratima. Proizvodnja i industrija umjetnih gnojiva su veliki onečišćivači zraka (emisija štetnih plinova – NO_x, NH₃, H₂S, SO_x, HF, HCl) i voda (ispuštanje amonijaka, uree, fluorida i fosfora).¹

S druge strane, biostimulatori na biljnoj bazi omogućavaju ravnomjeran i brz prijenos hranjivih elemenata do biljaka, a ujedno su i jak stimulans rastu i razvoju bilja kroz dulji period. S ekološke strane, ne zagađuju tlo i podzemne vode, povećavaju biološku aktivnost tla te pospješuju proizvodnju zdravstveno ispravne hrane. Proizvodnja navedenih biostimulatora temelji se na ekstrakciji kruto-tekuće koristeći polarno i netoksično otapalo – vodu. Ovaj način proizvodnje omogućuje da konačni proizvod ima višefunkcionalan karakter. Pri ekstrakciji biljnog materijala u vodenom otapalu oslobađaju se aktivne tvari kao što su fenolni spojevi koji imaju dobra baktericidna i dezinfekcijska svojstva pri čemu koaguliraju stanične bjelančevine. Uz to, fenolni spojevi koji se unose pri tretiranju poljoprivrednih kultura imaju brojne fiziološke i ekološke prednosti: djeluju kao signalni spojevi te utječu na sadržaj i protok anorganskih i organskih hranidbenih tvari, omogućuju antifungalnu zaštitu i induciraju otpornost biljke prema bolestima. Dakle, dobiveni proizvod ima zaštitnu ulogu na bakterijskoj i gljivičnoj razini. Kako tijekom procesa dolazi i do oksidacije i raspadanja biljne sirovine, dolazi i do otpuštanja makro- i mikroelemenata važnih za ishranu biljnih kultura. Obzirom na statičnost sustava, ovaj način ekstrakcije temelji se na principima molekulske difuzije te je ekstrakcija aktivnih tvari izrazito spora. Iako je ovaj tip ekstrakcije jedan od jednostavnijih, nedostatak ovog načina proizvodnje su dugo vrijeme trajanja procesa i nastanak velike količine organskog otpada kojeg je potrebno adekvatno zbrinuti.²

Stoga je cilj istraživanja ovog diplomskog rada bio utvrditi optimalne vrijednosti procesnih parametara kao što su temperatura smjese, omjer smjese sirovina/otapalo, brzina miješanja smjese, režim aeracije te utjecaj izvedbe šaržnog reaktora, a koji utječu na trajanje procesa te konverziju sirovine i prinos aktivnih tvari u konačnom proizvodu te na taj način optimizirati proces proizvodnje.

1. OPĆI DIO

1.1. BIOSTIMULATORI NA BILJNOJ BAZI

1.1.1. OSNOVNE ZNAČAJKE I SVOJSTVA BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI

Biostimulatori na biljnoj bazi mogu se definirati kao kompleksi prirodnih biljnih ekstrakata koji sadrže široku paletu biološki i fiziološki aktivnih tvari. Primjenom u tretiranom bilju stimuliraju fiziološki razvoj na najpovoljniji način, a ujedno podižu i razinu njihove otpornosti na stres.³ Aktivne komponente simultano i sinergijski djeluju na sustav tlo – korijen – biljka. Time indirektno utječu na povećanje prinosa, ali tek u uvjetima kada biljke imaju dovoljno raspoloživih hranjiva u supstratu, odnosno tlu u kojem se uzgajaju. Općenito, biostimulatori mogu biti prirodni ili umjetni. Umjetni nastaju kao rezultat kemijske sinteze, dok se biostimulatori na biljnoj bazi, odnosno na bazi biljnih ekstrakata ubrajaju u prirodne biostimulatore.⁴

Primjena biostimulatora danas je sve šira, ali je nedovoljna informiranost o istoj. Danas je tržište bogato raznim biološkim preparatima iako postojeća zakonska regulativa u Hrvatskoj zasebno ne regulira takve preparate. Trenutno je na snazi Zakon o gnojivima i poboljšivačima tla (NN 163/03, NN 40/07, NN 81/13 i NN 14/14) koji u samo jednoj stavci spominje takve preparate kao tvari dodane u tlo s osnovnom namjenom poboljšanja fizikalnih i/ili kemijskih svojstava i/ili biološke aktivnosti tla. U Zakonu nije naveden utjecaj biostimulatora na samu fiziologiju bilja.⁵

Današnji trendovi u hortikulturi, u što se ubrajaju povrtlarstvo, voćarstvo i cvjećarstvo, usklađuju se s ciljevima održivog razvoja te se teži optimizirati gnojidbu kao najvažniju agrotehničku mjeru, pogotovo kada su u pitanju dušična i fosforna gnojiva. Na tom polju značajnu ulogu imaju biostimulatori na biljnoj bazi koji pomažu u boljem usvajanju i povećanju učinkovitosti hranjiva dodanih kroz gnojidbu.⁶ Primjerice, ako u tlu postoji dovoljno dušika, biostimulator na biljnoj bazi će potaknuti fiziološke procese rasta i razvoja, što će utjecati na bolju iskoristivost tog raspoloživog elementa. Bez obzira na ovu funkciju i činjenicu da se u biostimulatorima nalazi i određeni sadržaj hranjiva u obliku makroelemenata i mikroelemenata, ovi pripravci nisu zamjena za klasična organska ili mineralna gnojiva, već samo učinkovita nadopuna.⁷

Biostimulatori na biljnoj bazi imaju aktivan utjecaj na sljedeće procese u biljkama:⁸

- povećavaju otpornost na stresne uvjete
- potiču sve fiziološke procese (rast, cvatnju, oplodnju)

- povećavaju učinkovitost gnojidbe kroz bolje usvajanje hranjiva
- povećavaju kvalitetu i visinu prinosa poljoprivrednih kultura.

U sastavu biostimulatora mogu se pronaći fiziološki aktivne organske i anorganske komponente, zatim aminokiseline, peptidi, proteini, vitamini, polisaharidi i hranjiva.⁹ Povoljno utječu na razvoj korijena, poboljšavaju usvajanje i iskorištenje hranjiva te povećavaju otpornost na različite vrste abiotskog stresa, naročito u fazi presađivanja mladih biljaka. Prednost ovih prirodnih stimulatora rasta je da nemaju negativnih sporednih učinaka, za razliku od sintetskih preparata dobivenih kemijskim putem ili preparata životinjskog podrijetla.^{6,7,9}

Opće karakteristike biostimulatora na biljnoj bazi u primjeni su:¹⁰

- poboljšavaju rast biljaka
- povećavaju otpornost na smrzavanje i suše
- povećavaju toleranciju na abiotska i biotska naprezanja
- povećavaju otpornost na gljivice, bakterije i viruse
- povećavaju fotosintetsku aktivnost
- poboljšavaju prinose i produktivnost mnogih usjeva.

1.1.2. ODABIR SIROVINE I UTJECAJ NA KAKVOĆU KONAČNOG PROIZVODA

U proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi, kao polazna sirovina odabire se bilje odgovarajućih karakteristika koje se zatim odgovarajućom tehnološkom operacijom prevodi u konačni proizvod zadanih karakteristika. Naime, u osmišljavanju i provedbi proizvodnog procesa vodi se mišlju da se biološki i fiziološki aktivne tvari prevedu iz sirovine u konačni proizvod bez provođenja dodatnih sinteza i reakcija koje bi izmijenile prvotnu strukturu ciljanih aktivnih tvari. Dakle, aktivne tvari koje se nalaze u polaznoj sirovini nalaze se i u konačnom proizvodu, pri čemu njihov sadržaj, odnosno koncentracija ovise o izvedbi i učinkovitosti tehnološke operacije.

Biostimulatori (slika 1.1.) se razlikuju od klasičnih gnojiva, jer oni prvenstveno djeluju na metabolizam biljaka čime se izravno utječe na više čimbenika; od iskorištenja hranjivih tvari unesenih u tlo klasičnom gnojidbom do obavljanja svih vitalnih funkcija koje omogućavaju kvalitetan i visok prinos. Također, utječu na ublažavanje biotskih i abiotskih čimbenika stresa.¹¹

S obzirom da se primjenom biostimulatora ne stavlja naglasak na unos hranjiva i ishranu bilja, koncentracija hranjivih tvari je niža nego u klasičnim gnojivima. To se nadovezuje na prethodno navedenu tvrdnju da biostimulatori nisu zamjena za gnojiva već kvalitetna nadopuna.^{3,6,12}



Slika 1.1. Komercijalni biostimulatori proizvođača OPG Pezelj Trilj

U proizvodnji biostimulatora naglasak pri odabiru sirovine stavlja se na sadržaj što većeg broja biološki aktivnih tvari i njihovoj što većoj koncentraciji. Biološki aktivne tvari u literaturi se često spominju kao fiziološke tvari jer ih biljka usvaja i koristi u svojoj fiziologiji i metaboličkim procesima.¹³

Biološki aktivne tvari koje se mogu pronaći u biljnoj sirovini dijele se na nutritivne i nenutritivne tvari.¹⁴ U nutritivne tvari ubrajaju se vitamini, vlakna, minerali, aminokiseline, masne kiseline i ugljikohidrati. Neki od najvažnijih skupina biološki aktivnih tvari su polifenoli (flavonoidi, antocijani, tanini, fenolne kiseline, kumarini, lignini), klorofil, izotiocijanati, glikozidi, steroli, eterična ulja, itd.¹⁵

Ugljikohidrati služe kao spremište energije i glavno su metaboličko gorivo u biljkama. Minerali su kemijski elementi esencijalni za normalno funkcioniranje organizma u kojem se pojavljuju kao slobodni ioni ili kao sastavni dio određenih organskih spojeva (hormona, enzima).¹⁶ Svaki mineral ima specifično djelovanje, a prijeko su potrebni u mnogim biokemijskim procesima. To su kalij, kalcij, bakar, magnezij, fosfor, natrij, mangan, cink i željezo. Vitamini su organske tvari raznovrsne strukture i kemijskih svojstava, a esencijalni su za normalno funkcioniranje biljaka (rast, razvitak, reprodukciju). Aminokiseline kao sastavni dio proteina imaju vrlo važnu ulogu kako u izgradnji stanice, tako i u procesima u biljnoj stanici. Postoji 20 aminokiselina koje sudjeluju u biološkim ciklusima biljke te svaka od njih ima svoju specifičnu funkciju: neke sudjeluju u vodenom balansu, neke pojačavaju staničnu stjenku, neke pomažu u

formiranju biljnih tkiva, neke stimuliraju fotosintezu, neke usporavaju proces starenja, a zajednička uloga im je pozitivan utjecaj na fiziološke aktivnosti i snagu biljke.¹⁷

Uloga polifenola u biljkama je višestruka. Polifenolni spojevi biljku štite od štetnog UV zračenja, služe kao signalni spojevi i utječu na protok hranjivih tvari u biljci, potiču oprašivanje i rasprostranjivanje utječući na boju cvjetova, razvijaju zaštitne mehanizme biljke djelujući antifungalno i inducirajući otpornost prema bolestima.¹⁸ Klorofil je biljni pigment nužan u procesu fotosinteze, a smješten je u kloroplastima, u svim zelenim dijelovima biljke.¹⁹ Eterična ulja imaju važnu ulogu u prilagođavanju biljke okolini i komuniciranju s njom. Biljke eteričnim uljima privlače kukce radi oprašivanja, mogu zaštititi biljku od infekcija, stvarati oko nje parama zasićenu atmosferu koja sprječava prekomjerno gubljenje vlage, mogu zaštititi biljku od biljojeda ili djelovati poput herbicida stvarajući oko biljke područje na kome stanovite biljke ne mogu uspijevati.²⁰

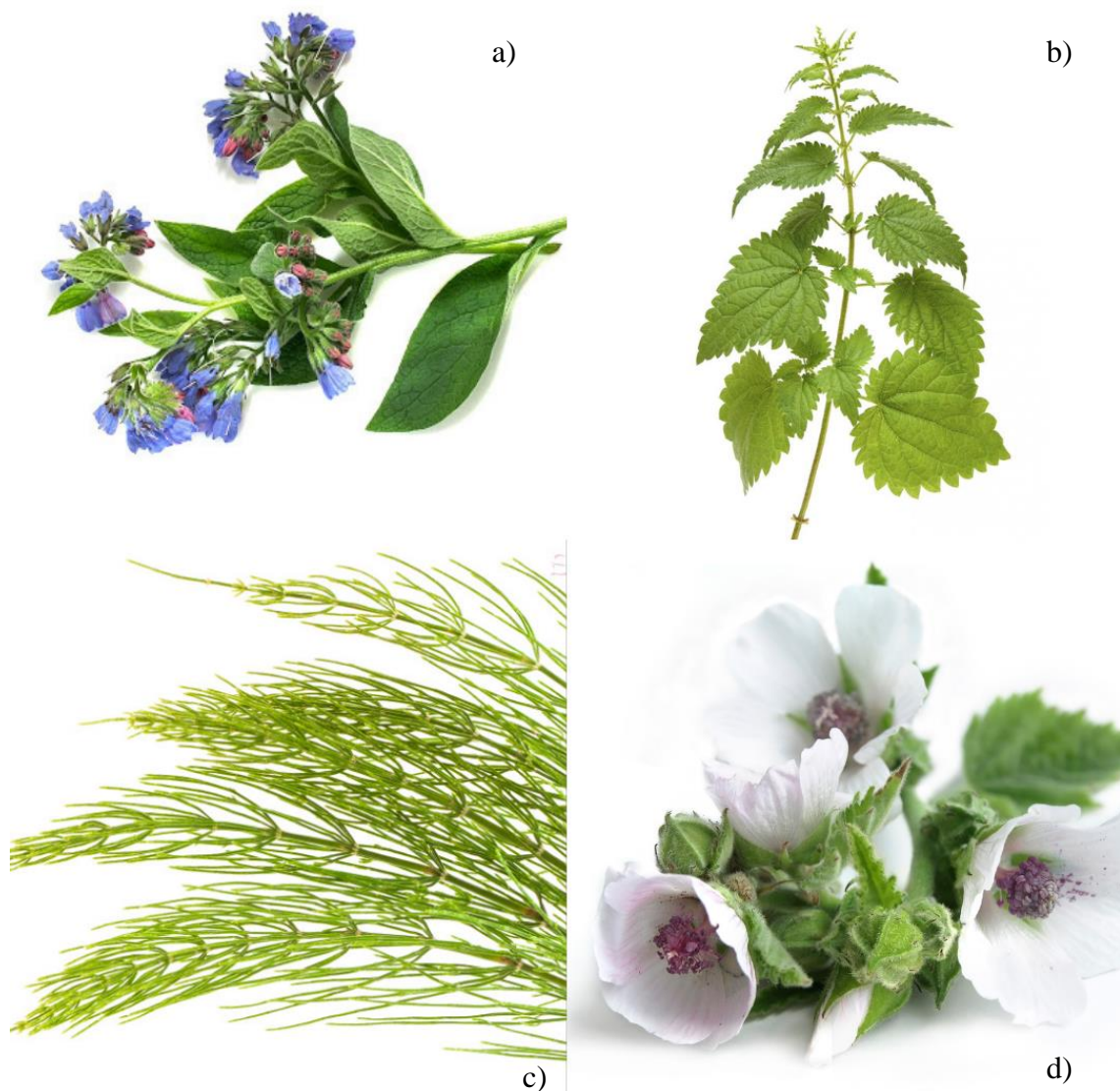
Ljekovito i aromatično bilje je bilje koje se pokazalo kao bogat izvor biološki aktivnih tvari i intenzivno se eksploatira u farmakološkoj industriji uz sve veću upotrebu i u industriji agrokemikalija. Čak oko 12 000 biljnih vrsta sadrži bioaktivne tvari koje se mogu koristiti u ljekovite svrhe, za arome, itd.²¹

Ljekovite biljne vrste mogu biti samonikle ili kultivirane. Biološki aktivne tvari mogu biti pohranjene u raznim biljnim dijelovima (u listu, korijenu, cvijetu, plodu, sjemenu, kori, itd.) što ovisi od kulture do kulture. Čimbenici koji utječu na količinu i kakvoću aktivnih sastojaka ljekovitih biljnih vrsta su okolna ekologija, temperatura, svjetlost, voda, tlo, vrijeme i način sjetve te način i vrijeme sabiranja.²²

Neke vrste ljekovitih biljnih vrsta koje se koriste kao sirovina u proizvodnji su:

- BOSILJAK (*Ocimum basilicum* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- BUHAČ (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch. Bip., porodica Asteraceae, glavočike)
- BIJELI SLJEZ (*Althaea officinalis* L., porodica Malvaceae, sljezovke) (slika 1.2.)
- GAVEZ (*Symphytum officinale* L., porodica Boraginaceae, porečnice) (slika 1.2.)
- GOSPINA TRAVA (*Hypericum perforatum* L., porodica Clusiaceae, pljuskavice)
- KADULJA (*Salvia officinalis* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- KAMILICA (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, porodica Asteraceae, glavočike)
- KOPRIVA (*Urtica dioica* L., porodica Urticaceae, koprivnjače) (slika 1.2.)
- LAVANDA (*Lavandula angustifolia* Mill., porodica Lamiaceae, usnače)

- MAŽURAN (*Origanum majorana* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- MAJČINA DUŠICA (*Thymus serpyllum* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- MILODUH (*Hyssopus officinalis* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- PELIN (*Artemisia absinthium* L., porodica Asteraceae, glavočike)
- POLJSKA PRESLICA (*Equisetum arvense* L., porodica Equisetaceae, preslice)
(slika 1.2.)
- RUŽMARIN (*Rosmarinus officinalis* L., porodica Lamiaceae, usnače)
- SMILJE (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, porodica Asteraceae, glavočike)
- STOLISNIK (*Achillea millefolium* L., porodica Asteraceae, glavočike)
- TIMIJAN (*Thymus vulgaris* L., porodica Lamiaceae, usnače)



Slika 1.2. Izgled a) gaveza, b) koprive, c) preslice, d) sljeza²³

1.1.3. PODRUČJA PRIMJENE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI

Biostimulatori na biljnoj bazi pronalaze primjenu u svim granama hortikulture te u svim fazama vegetacijskog razvoja biljaka.^{3,6,9}

U uzgoju poljoprivrednih kultura može se naići na mnoge oblike stresa (slika 1.3.) koji izravno utječu na kvalitetu i količinu prinosa te se mogu kategorizirati u tri kategorije:⁸

1. agroklimatski stres:

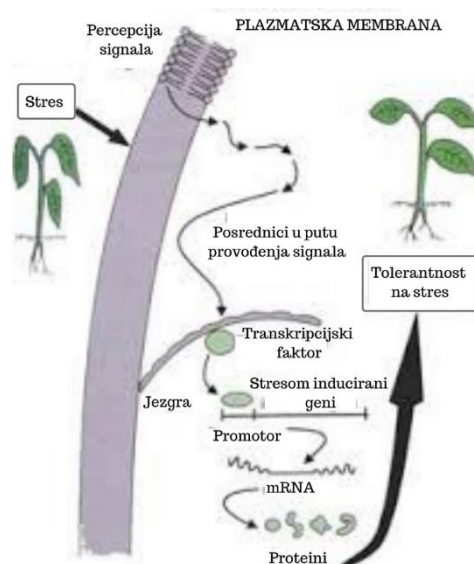
- nedostatak vode
- nedostatak svjetla
- visoka količina soli
- neodgovarajuća količina soli
- neodgovarajuća pH vrijednost tla
- visoka/niska temperatura
- teški metali
- visoka koncentracija hranjiva
- zagađivači različitog porijekla

2. vegetacijski stres:

- sadnja
- rezidba
- cvatnja
- rast plodova
- dozrijevanje plodova

3. ostale izvore stresa:

- oštećenje biljke
- fitotoksičnost nakon primjene pesticida
- oštećenje uzrokovano gljivicama, oblicima, insektima, itd.



Slika 1.3. Fiziologija stresa²⁴

Biostimulator koji sadrži huminske kiseline, aminokiseline, proteine, peptide, polisaharide i vitaminski kompleks aktivno pomaže kod razvoja korijena presadnice i povećava otpornost korijena u slučaju kad je tlo tretirano pesticidima ili ako se presađuje na zaslanjeno tlo.^{9,12}

Folijarni biostimulatori na bazi aminokiselina (prolin i triptofan) pojačavaju fotosintetsku aktivnost biljke pomažući brzo prevladavanje usporenog rasta presadnice koji je uzrokovan nepovoljnim uvjetima okoline.⁸

Biostimulatori koji sadrže glukozide (energetski faktori rasta) i aminokiseline (arginin i asparagin) su aktivne tvari koje stimuliraju razvoj korijena (rizogenezu). Ti biostimulatori imaju poseban značaj, što se može primijeniti od faze sjetve pa do prije presađivanja i poslije presađivanja, tablica 1.1.²⁵

S obzirom da je najveća opasnost od propadanja biljke tijekom njezina presađivanja, biostimulatori potiču stvaranje novih izdanaka korijena i korjenovih dlačica te pomažu pri bržem oporavku biljaka od stresa izazvanog samim presađivanjem.^{9,12,26}

Dokazano je da se primjenom biostimulatora povećava ukupan sadržaj dušika u listu i intenzitet fotosinteze te se povećava koncentracija biljnih pigmenata. Primjena biostimulatora utječe na povećanje klijavosti i vigora starijeg sjemena, kako je dokazano kod kukuruza i soje, celera, peršina, salate i poriluka. Primjena biostimulatora, također, ima pozitivan učinak i kod grahorica. Tako su pojedini znanstvenici utvrdili veći prinos zrna i proteina u zrnu kod grahorica, a posljedica je veća hranidbena vrijednost kulture.²⁷

Tablica 1.1. Vrijeme primjene biostimulatora kod nekih poljoprivrednih kultura⁸

Poljoprivredna kultura	Vrijeme primjene
Strne (ozime) žitarice	Kraj zimskog mirovanja
	Cvatnja
	Nalijevanje zrna
Drvenaste kulture	Kretanje vegetacije u rano proljeće
	Cvatnja i oplodnja
	Ljetni period rasta ploda
Maslina	Kraj zimskog mirovanja
	Cvatnja
	Ljetni period visokih temperatura i nedostatka vode u tlu
	Sinteza ulja u plodovima
Povrće	Uzgoj presadnica
	Sadnja presadnica
	Cvatnja
	Rast plodova
	Dozrijevanje plodova
Jagoda	Početak vegetacije u proljeće
	Cvatnja
	Dozrijevanje plodova
Salata	Sadnja presadnica
	Rast lisne mase

1.2. KARAKTERIZACIJA PROCESA PROIZVODNJE BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI

1.2.1. TEHNOLOŠKI PROCES I PROIZVODNJA

Tehnološki proces predstavlja slijed normiranih postupaka koji rezultiraju određenom tvorevinom. Obuhvaća redoslijed i način obavljanja pojedinih dijelova složenoga ili radnoga procesa za dobivanje proizvoda određenih svojstava.²⁸ Određivanje tehnološkog procesa je polazna faza za organizaciju i planiranje proizvodnje, za određivanje trajanja pojedinih radova, kao i građevine ukupno, a pogotovo kod matematičkih metoda planiranja. Stoga se u tehnološkom procesu točno određuje redoslijed svih operacija, procesni uvjeti pri kojima se operacije izvode i pri kojima se iz polazne sirovine određenim alatima i napravama u određenom vremenu dobiva konačni proizvod.²⁹ Prema zakonu tehnologije slijedi da će promjena tehnološkog procesa utjecati na konačni rezultat pa je zato nužno pridržavati se propisanog tehnološkog procesa.³⁰

Tehnološki proces je važan dio proizvodnog procesa (slika 1.4.) jer se odnosi na promjenu izgleda, oblika, dimenzija i svojstava u vidu kvalitativne promjene fizikalnih i kemijskih svojstava polaznog materijala, odnosno sirovine.³¹ Tehnološki proces zajedno s transportnim procesima, procesima organizacije i procesima tijekom informacija čini proizvodni proces, odnosno, osnovu svake industrijske proizvodnje koja rezultira konverzijom ulaznih materijala (sirovina i poluproizvoda) u gotov proizvod.³²

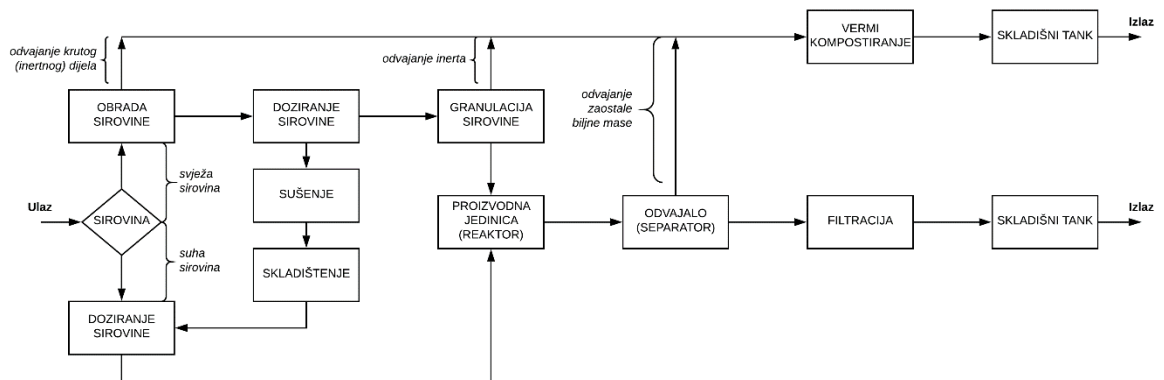


Slika 1.4. Opći prikaz proizvodnog procesa³³

U širem kontekstu, osnovni cilj proizvodnje je ostvarenje planiranih količina proizvoda iz proizvodnog procesa sa svim tehnološkim i proizvodnim karakteristikama, i to:³¹

- propisane kvalitete
- u planiranim rokovima
- po zadovoljavajućoj cijeni koštanja.

U proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi, tehnološki proces obuhvaća sve postupke i operacije od ulaza sirovine u pogon do izlaza gotovog proizvoda na tržište, slika 1.5. Tako su obuhvaćene operacije kao što su skladištenje sirovine i ambalaže, obrada sirovine, usitnjavanje, doziranje, proizvodnja u odgovarajućoj proizvodnoj jedinici, separacija gotovog proizvoda od nusproizvoda, filtracija proizvoda, skladištenje proizvoda i punjenje u odgovarajuću ambalažu te zbrinjavanje i obrada nusproizvoda.



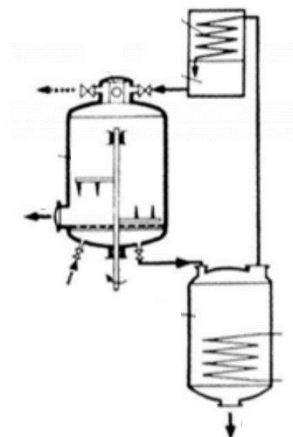
Slika 1.5. Primjer blok sheme tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi

1.2.2. TEHNOLOŠKA OPERACIJA U PROIZVODNOJ JEDINICI

Tehnološka operacija na kojoj se temelji proizvodnja biostimulatora na biljnoj bazi je ekstrakcija, i to ekstrakcija kruto-tekuće, pri čemu se aktivne tvari prevode iz krute matrice (bilja) u tekući medij. Pri tome se otapalo ne odvaja već je konačni proizvod u tekućem agregatnom stanju, a zaostala biljna masa se odvodi dalje na obradu i zbrinjavanje.

Ekstrakcija predstavlja tehnološku operaciju potpunog ili djelomičnog izdvajanja neke tvari iz krute ili tekuće smjese koristeći odgovarajuća otapala, temeljem razlike topljivosti tvari u različitim otapalima.³⁴ Prema agregatnom stanju faza, postoje dva tipa ekstrakcije: ekstrakcija tekuće-tekuće i ekstrakcija kruto-tekuće. Ekstrakcijom je moguće izolirati i koncentrirati različite aktivne tvari iz svih biljnih organa ili pak životinjskih tkiva.³⁵ Ekstrakcija kao tehnološka operacija može se provoditi na više načina: diskontinuirano (šaržno) (slika 1.6.) kada se koristi samo jedan uređaj za ekstrakciju (difuzer ili ekstraktor), polukontinuirano ili pseudokontinuirano te kontinuirano kada se više uređaja za ekstrakciju međusobno povezuje u “bateriju”.³⁶ U ekstrakciji je važan odabir odgovarajućeg otapala. Otapala koja se najviše koriste pri ekstrakciji su voda koja je

najpolarnija, zatim etanol, metanol, aceton, etil-acetat, biljna ulja i n-heksan.³⁷ Jedan od glavnih kriterija pri odabiru otapala je polarnost aktivne komponente koju je potrebno izdvojiti.³⁸



Slika 1.6. Shematski prikaz uređaja za diskontinuiranu ekstrakciju³⁶

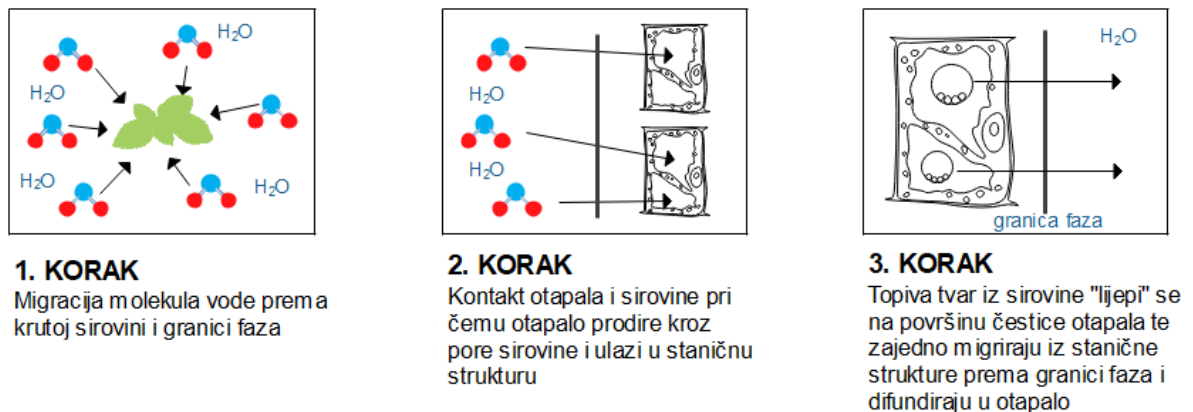
U idealnom slučaju postupak ekstrakcije trebao bi biti jednostavan, brz, jeftin, trebao bi dati kvantitativne analitičke rezultate bez gubitaka ili razgradnje analita i trebao bi dati otopinu analita koja je dovoljno koncentrirana da se može izravno mjeriti bez potrebe za koncentriranjem. Izbor metode ekstrakcije ovisi o strukturi, molekulskim masama, polarnosti, topljivosti i drugim vrijednostima komponenti koje se žele izolirati ili razdvojiti.³⁹ Metode ekstrakcije se dijele na:⁴⁰

- ekstrakcija čvrsto-tekuće
- ekstrakcija tekuće-tekuće
- ekstrakcija čvrstom fazom
- ekstrakcija fluidom pri superkritičnim uvjetima
- ekstrakcija mikrovalovima
- Soxhlet ekstrakcija
- ekstrakcija ultrazvukom.

1.2.2.1. Ekstrakcija čvrsto-tekuće

Proces proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi temelji se na ekstrakciji čvrsto-tekuće koja podrazumijeva ekstrakciju topljive krute komponente iz sirovine pomoću odgovarajućeg otapala. Ovaj tip ekstrakcije jedan je od najčešće korištenih operacija za izolaciju aktivnih komponenti iz biljnog materijala. Najčešće se provodi u suspenziji, kao

šaržni proces, tako da se čvrsti biljni materijal dovodi u kontakt s otapalom potapanjem. Pri tome, sirovina koja se podvrgava ovom tipu ekstrakcije mora biti fino usitnjena.⁴¹ Proces ekstrakcije čvrsto-tekuće sastoji se od nekoliko stupnjeva: ulaska otapala u krutu tvar, otapanja aktivnih komponenti, transporta otapala s otopljenom tvari s površine krute tvari u masu otopine, razdvajanja dobivenog tekućeg ekstrakta i krutog ostatka sirovine te filtracije tekućeg ekstrakta.⁴² Uslijed razlike koncentracija između dvije faze koje su u kontaktu, dolazi do prijenosa tvari koji se odvija u smjeru uspostavljanja ravnoteže. Pretpostavlja se da pri kontaktu neke tvari ili čestice s otapalom dolazi do stvaranja sloja zasićene otopine na njegovoj površini. Kada se taj sloj ne bi uklonio prestalo bi daljnje otapanje, a time i ekstrakcija. Uklanjanje topljivog materijala iz graničnog sloja u glavnu masu otopine zbiva se redovito kombinacijom molekulske i konvekcijske difuzije.⁴³ Na slici 1.7. prikazan je mehanizam molekulske difuzije.



Slika 1.7. Mehanizam molekulske difuzije

1.2.3. MEHANIZAM PRIJENOSA TVARI

Princip ekstrakcije čvrsto-tekuće temelji se na molekulskoj difuziji za koju je karakteristično izjednačavanje koncentracija otopljenih tvari u sustavima koji dođu u međusobni dodir, a matematički se opisuje prvim Fickovim zakonom:⁴⁴

$$N = -D \frac{dc}{dx} \quad (1.1)$$

gdje su:

- N - brzina prijelaza mase (kg s^{-1} ili kmol s^{-1})
- c - masena ili molna koncentracija (kg m^{-3} ili kmol m^{-3})
- x - udaljenost (m)
- D - koeficijent difuzije ili difuzivnost ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

Pri molekularnoj difuziji dolazi do slučajnog i spontanog gibanja pojedinačnih molekula u fluidu ili čvrstoj tvari kao rezultat toplinskog gibanja. Prijenos tvari difuzijom podrazumijeva prijenos različitih komponenti u suprotnim smjerovima. Na ukupnu brzinu prijenosa tvari utječe i gibanje mase fluida - konvekcija.⁴⁵ U usporedbi s ostalim oblicima difuzije, molekularna difuzija je vrlo spora. Iz tog se razloga u industrijskim procesima uvodi miješanje u svrhu povećanja površine izmjene.⁴⁵

Veličina difuzijskog koeficijenta D ovisi o sustavu, temperaturi, tlaku i koncentraciji tvari (osim kod plinova). Zbog složenosti prijenosa tvari, difuzijski koeficijent se određuje eksperimentalno.⁴⁶ U tablici 1.2. prikazane su približne vrijednosti difuzijskog koeficijenta za različite sustave.

Tablica 1.2. Približne vrijednosti difuzijskog koeficijenta za različite sustave⁴⁶

Sustav	$D, \text{m}^2\text{s}^{-1}$
Plin – plin	$10^{-6} - 10^{-5}$
Kapljevina – kapljevina	$10^{-10} - 10^{-9}$
Kapljevina – krutina	$10^{-11} - 10^{-9}$
Plin – krutina	$10^{-14} - 10^{-11}$
Krutina – krutina	$10^{-34} - 10^{-19}$

Općenito, neki proces može biti kontroliran na dva načina: kinetički - brzinom prijenosa tvari, ili termodinamički - uspostavom fazne ravnoteže. Ono što je zajedničko je činjenica da se velikim brzinama prijenosa tvari ostvaruje brzo postizanje stanja ravnoteže.⁴⁷

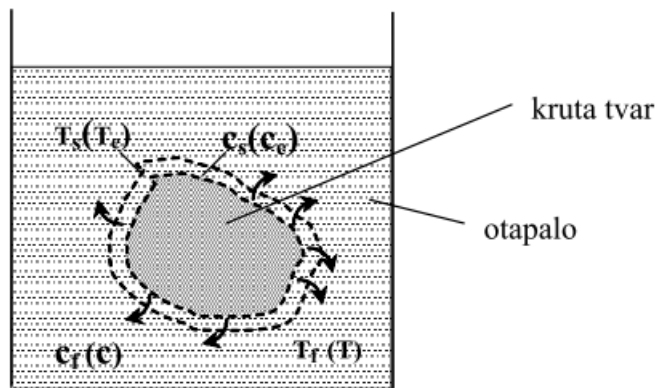
U realnim procesima nikad se ne događa prijenos tvari isključivo difuzijom ili isključivo konvekcijom, već se ova dva mehanizma nadopunjuju. Primjerice, čistu difuziju ne može se naći ni u tekućinama koje nisu miješane, jer uslijed različite specifične mase otapala i otopine, kao i razlike temperatura u graničnom sloju i otopini, uvijek nastaju konveksijska strujanja.⁴⁸

Općenito se uzima da je difuzivnost u tekućoj fazi približno obrnuto proporcionalna promjeru čestica. Značajno se povećava povećanjem temperature te se ova veza opisuje Stokes-Einsteinovim izrazom prema kojem difuzivnost (D) ovisi o temperaturi (T) i viskoznosti (μ):^{45,46}

$$D = k \frac{T}{\mu} \quad (1.2)$$

Također, povišenjem temperature, osim pospješivanja difuzije, dolazi i do smanjenja viskoznosti fluida.⁴⁹

Prijenos tvari, odnosno mase, odvija se uslijed razlike koncentracije između dvije faze koje su u kontaktu, a odvija se u smjeru uspostavljanja ravnoteže. Granični sloj, u vidu sloja zasićene otopine na površini krute tvari, nastaje kada kruta tvar dođe u kontakt s nekim otapalom (slika 1.8.). Otapanje tvari prestaje ako otopljena tvar ne difundira iz graničnog sloja. Zbog razlike koncentracija između graničnog sloja i ostatka otapala postoji koncentracijski gradijent uslijed kojeg topljiva tvar stalno prelazi u ostatak otapala.⁴⁵⁻⁴⁷



Slika 1.8. Otapanje krute tvari u otapalu⁴⁸

Ovaj kontinuirani proces odvija se difuzijom i konvekcijom. Brzina prijenosa mase iz krute tvari u otapalo može se izraziti formulom:⁵⁰

$$\frac{w}{t} = K \cdot A \cdot (c_s - c) \quad (1.3)$$

gdje su:

- w/t - brzina prijenosa mase u otapalo (kg s^{-1})
- A - dodirna površina (međufaza) između tekućine i krute čestice (m^2)
- c_s - masena koncentracija zasićene otopine u graničnom sloju (kg m^{-3})
- c - masena koncentracija otopine u glavnoj masi otopine (kg m^{-3})
- K - koeficijent prijenosa mase (m s^{-1}).

1.2.4. PARAMETRIZACIJA I VOĐENJE PROCESA

Kao i u svakom realnom tehnološkom procesu, tako i u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi postoje mnogi čimbenici koji utječu na djelotvornost i brzinu procesa. U ovom slučaju, djelotvornost i brzina provođenja tehnološkog procesa ovise o tehnološkoj (jediničnoj) operaciji u proizvodnoj jedinici. Tehnološka operacija u proizvodnoj jedinici je ekstrakcija kruto-tekuće te se shodno tome i sama proizvodna jedinica naziva ekstraktor. Čimbenici koji utječu na djelotvornost i brzinu ekstrakcije kruto-tekuće su:⁵¹

- veličina čestica sirovine na ulazu u ekstraktor (μm)
- vrsta i polarnost otapala
- omjer sirovina/otapalo (g L^{-1})
- temperatura suspenzije ($^{\circ}\text{C}$)
- režim miješanja suspenzije (min^{-1})
- topljivost krute tvari u otapalu.

Ekstrakcija kruto-tekuće može se voditi na dva načina:⁵²

- šaržno
- polušaržno.

Šaržnim procesom kruta sirovina dovodi se u izravni kontakt s otapalom uz kontinuirano miješanje, dok se kod polušaržnog procesa postavlja nepokretni sloj čvrstog materijala kroz koji kontinuirano protječe otapalo. Izbor metode vođenja procesa i izvedbe ekstraktora ovisi prvenstveno o karakteristikama sirovine na ulazu. Ako je sirovina fino usitnjena, proces se odvija šaržno, a ako je sirovina iz komadnog materijala, proces se odvija polušaržno.^{50,51}

Promjenom veličine čestica sirovine mijenja se kontaktna površina između krute i tekuće faze (otapala). Usitnjavanjem materijala povećava se kontaktna površina što dovodi do povećanja brzine prijenosa tvari između dviju faza, što opet rezultira bržim procesom u konačnici. Kako se pri ekstrakciji odvija i otapanje, površina krute tvari postaje sve manja i na kraju procesa jednaka je nuli. To opet ovisi i o karakteristikama sirovine, postoje li dijelovi netopljivi u odabranom otapalu. Dakle, manje čestice ubrzavaju otapanje jer se ubrzava difuzija iz krutine u otopinu.^{48,50}

Najčešće korištena otapala pri ekstrakciji su voda, organska otapala i superkritični fluidi (CO_2 , propan, butan). Na početku procesa otapalo je relativno čisto, a s napredovanjem

ekstrakcije raste koncentracija otopljene tvari te se brzina ekstrakcije smanjuje. Do smanjenja brzine dolazi zbog povećanja koncentracije otopljenih tvari, a nakon toga zbog povećanja viskoziteta otopine. Pri odabiru otapala u procesu, bitno je voditi računa o sljedećim karakteristikama: dobra topljivost ključnih komponenti, velika selektivnost, nemješljivost s dodatnim otapalima, jednostavna regeneracija, velika razlika gustoća, odgovarajuća površinska napetost, mala viskoznost, niski tlak para, toplinska i kemijska stabilnost, korozivnost i utjecaj na konstrukciju, dostupnost i cijena te toksičnost i sigurnost rada.^{41,42,52}

Podošavanjem omjera sirovina/otapalo većinom se utječe na ekonomičnost procesa, a optimalnim omjerom utječe se na koncentraciju ekstrahirane komponente te na vrijeme ekstrakcije.^{41,53}

Povećanjem temperature ekstrakcije u većini situacija ubrzava se proces jer se povećava brzina otapanja krute tvari, kao i brzina difuzije u volumen otapala. S druge strane, mora se voditi računa i o termolabilnosti aktivnih komponenti da ne dođe do degradacije.^{48,50}

1.3. OPTIMIZACIJA PROCESA

Optimizacija predstavlja traženje uvjeta pri kojima će se dobiti željeni proizvod zadovoljavajuće kvalitete, uz što niže investicijske i proizvodne troškove te uz maksimalnu sigurnost procesa, kao i zaštitu zdravlja ljudi i okoliša.⁵⁴ Da bi se provela optimizacija, nužno je traženje kompromisa između suprotstavljenih ciljeva. Ne može se promatrati tehničko rješenje u procesnom postrojenju odvojeno od ekonomskog pa je u općem slučaju optimalno rješenje kada su investicijski troškovi što niži uz istovremeno niže troškove proizvodnje. Dakle, iz različitih procesnih alternativa, odabire se optimalno rješenje u odnosu na:⁵⁵

- učinkovito korištenje materijala i energije
- zaštitu okoliša
- zadovoljenja koncepta održivog razvoja
- profesionalne etičnosti.

Optimizacija proizvodnje u smislu procesa ili optimizacija samog postrojenja u svakom proizvodnom poduzeću trebala bi biti jedan od imperativa s ciljem postizanja što konkurentnije proizvodne cijene.⁵⁶

Proizvodni proces obuhvaća različite vrste aktivnosti kojima se mijenja fizikalni oblik resursa (preradom), mjesto korištenja resursa (prijevoz) ili vrijeme korištenja resursa (skladištenje).⁵⁷

Iz ekonomskog aspekta, optimizacija proizvodnog procesa provodi se zbog povećanja proizvodnih kapaciteta što dovodi do većeg opsega proizvodnje u istom vremenskom razdoblju, zatim radi smanjenja broja radnih sati za isti opseg proizvodnje što implicira manji utrošak rada po jedinici proizvoda te zbog smanjenja utroška energenata po proizvodnoj jedinici zbog boljih karakteristika energetske potrošnje, većeg opsega proizvodnje u istom vremenu, a time i bolje iskoristivosti materijalnih inputa što direktno utječe na proizvodnu cijenu.⁵⁶⁻⁵⁸

Iz ekološkog aspekta, optimizacija se provodi prvenstveno zbog smanjenja štetnih i otpadnih emisija u okoliš prvenstveno emisije štetnih plinova iz proizvodnih jedinica i procesne opreme, smanjivanja količine tehnološke vode u procesima, uporabe i recikliranja otpadne tehnološke vode, smanjivanja količine otpadnog nusproizvoda i njegovog recikliranja.⁵⁹

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. MATERIJALI

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su sljedeći materijali (svi materijali su usitnjeni nakon sušenja):

- suhi korijen gaveza (*Symphytum officinale* L.) (slika 2.1.) odvojen od ubranog gaveza.



Slika 2.1. Suhi korijen gaveza

- Suhi list koprive (*Urtica dioica* L.) (slika 2.2.).



Slika 2.2. Suhi list koprive

- Suhi nadzemni dio poljske preslice (*Equisetum arvense* L.) (slika 2.3.).



Slika 2.3. Suha poljska preslica

- Suhi list bijelog sljeza (*Althaea officinalis* L.) (slika 2.4.).



Slika 2.4. Suhi list bijelog sljeza

Materijal korišten u eksperimentalnom radu pribavljen je od komercijalnog dobavljača MB Travar iz Bjelovara.

2.2. INSTRUMENTI

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su sljedeći instrumenti:

- Vodena kupelj BioSan WB-4MS (slika 2.5.)



Slika 2.5. Vodena kupelj

- Zračni kompresor Oase sa ventilima i rotametrima (slika 2.6.)



Slika 2.6. Zračni kompresor sa ventilima i rotametrima

- Elektromagnetske miješalice Cimaron i Tehtnica MM-540 (slika 2.7.)



Slika 2.7. Elektromagnetske miješalice

- Štapni termometar TP101 (slika 2.8.)



Slika 2.8. Štapni termometar

- Tehničke vage MH 200 i Ohaus CS (slika 2.9.)



Slika 2.9. Tehničke vage

- Testeri pH vrijednosti, električne vodljivosti i koncentracije različitih proizvođača (slika 2.10.)



Slika 2.10. Testeri pH vrijednosti, električne vodljivosti i koncentracije različitih proizvođača

- Tresilica Analysette 3 Spartan Fritsch s pripadajućim Retsch sitima (slika 2.11.)



Slika 2.11. Tresilica sa sitima

- Atomski apsorpcijski spektrometar (AAS) PerkinElmer AAnalyst 600 (slika 2.12.)



Slika 2.12. AAnalyst 600

2.3. METODOLOGIJA I DIZAJN EKSPERIMENTA

Prije postavljanja eksperimenata izvršena je analiza biljne sirovine:

- određena je veličina i raspodjela veličina čestica analizom pomoću sita, odnosno metodom separacije količine čestica unutar određenih granica veličina čestica
- analiza sadržaja teških metala.

2.3.1. ODREĐIVANJE VELIČINE I RASPODJELE VELIČINA ČESTICA BILJNOG MATERIJALA

Biljni materijal je prosijan kroz seriju standardnih Retsch sita različitih veličina čestica (4000, 1000 i 500 μm) na laboratorijskoj tresilici Analysette 3 Spartan Fritsch amplitude 3 mm kako bi se mogla odrediti veličina i raspodjela veličina čestica biljnog materijala. Funkcija gustoće raspodjele ukazuje koliki je udio čestica određene veličine x_i u uzorku, a određuje se prema jednadžbi:⁶⁰

$$q_r(x_i) = \frac{\frac{m(x_i)}{m_{uk}}}{\Delta x_i} \quad (2.1)$$

Kumulativna funkcija raspodjele ukazuje koliki je udio čestica manjih od oznake finoće (veličine) x_i u analiziranom uzorku, a određuje se prema jednadžbi:⁶⁰

$$Q_r(x_i) = \sum_{i=1}^n \frac{m(x_i)}{m_{uk}} \quad (2.2)$$

Međusobni odnos navedenih funkcija može se prikazati sljedećom ovisnošću:⁶⁰

$$q_r(x_i) = \frac{dQ_r(x)}{dx} \Leftrightarrow Q_r(x) = \int_{x_{min}}^{x_i} q_r(x) dx \quad (2.3)$$

2.3.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA TEŠKIH METALA

Po 1 g prethodno na zraku osušenog biljnog materijala (korijen gaveza, list koprive, preslica i list bijelog sljeza) se premjesti u lončice za žarenje te prenese u peć za žarenje. Uzorci se u peći spale na temperaturi od 500 °C u trajanju od 8 sati (slika 2.13.).



Slika 2.13. Uzorci pripremljeni za žarenje u peći na 500 °C

Nakon toga uzorci se ohlade, izvade iz peći te ih je potrebno otopiti u 5 mL 20 % HCl. Nastala otopina se filtrira preko filter papira, prikupljeni filtrat u odmjerne tikvici od 50 mL nadopuni do oznake ultračistom vodom te dobro promiješa. Pripremljene otopine su spremne za određivanje koncentracija teških metala u njima.

Koncentracije metala u tragovima (željezo, nikal, kadmij, kobalt, krom, bakar, cink i olovo) određene su pomoću atomske apsorpcijske spektrometrije.

2.3.3. PRIPREMA BIOSTIMULATORA NA BILJNOJ BAZI

U pripravi uzoraka biostimulatora korištena je do sada ustaljena metodologija iz prakse pri čemu se u 1 litru vode kao otapala, smještena u reaktor od 2 L, dodaje 30 g suhog biljnog materijala. Kao kontrolni uzorak uzet je onaj kojem su vođene varijable definirane tablicom 2.1., a koji se proizvodi ustaljenim postupkom na OPG-u Pezelj.

Tablica 2.1. Ulazne varijable kontrolnog uzorka

Referentni uzorak	Procesni parametri				
	T (°C)	srednja veličina čestica (mm)	N (o min ⁻¹)	Q_{zraka} (L min ⁻¹)	S/O (g L ⁻¹)
	20	1	0	0	30

Q_{zraka} (L min⁻¹) - aeracija

S/O (g L⁻¹) - omjer sirovina/otapalo.

S obzirom da se proces proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi temelji na procesu ekstrakcije kruto-tekuće, pri dizajniranju eksperimenta određene su vođene varijable (procesni parametri) koji će se ispitivati, definirane su eksperimentalne domene i razine za svaku ulaznu varijablu. U dizajnu eksperimenta korištena je jednovarijantna tehnika “jedna varijabla u vremenu” jer je cilj bio odrediti utjecaj svake pojedine ulazne varijable na vrijednost praćenih izlaznih varijabli. Stoga ova tehnika u izvođenju zahtjeva veliki broj eksperimenta. U slučaju kada se ispituje međusobni utjecaj više ulaznih varijabli na proces, pri optimiranju se između ostalog koristi i multivarijantna tehnika poznata kao metoda odzivnih površina (engl. *Responce surface methodology*, RSM).⁶¹

S obzirom da sirovinu čini smjesa četiri biljne vrste, a svaka sadrži specifične bioaktivne spojeve, u definiranju eksperimentalnih domena trebala se uzeti u obzir i specifičnost svake biljne vrste. Primjerice, pri definiranju domene temperature kao ulazne varijable, bilo je potrebno napraviti presjek temperatura pri kojima se ekstrahiraju ciljane bioaktivne komponente te odabrati domenu u kojoj se tvari izdvajaju, a da ne dođe do njihove degradacije, jer su neke tvari termolabilne. Kod definiranja domene za aeraciju javlja se sličan problem jer pojedine tvari pri određenoj koncentraciji kisika oksidiraju i gube svoja prvotna svojstva.

Dizajn eksperimenta prikazan je u tablici 2.2., a cilj provođenja je optimiranje odziva, tj. vrijednosti izlaznih varijabli. Optimiranjem se želi postići optimalna brzina procesa (skratiti vrijeme procesa u procesnoj jedinici) i maksimizirati prinos i iskorištenje sirovine.

Pri provođenju eksperimenata, kao vrijeme trajanja procesa zadano je trajanje od 7 dana unutar kojih se na dnevnoj razini pratila i određivala vrijednost prinosa u vidu promjene koncentracije otopljene tvari u otopini. S obzirom na dosadašnje iskustvo u istraživanju, vrijeme završetka procesa predstavlja trenutak uspostavljanja ravnoteže između otapala i sirovine, nakon koje se ustalila dnevna vrijednost prinosa.

Mjerenja su se vršila “ex situ” - od matične otopine uzimao bi se manji uzorak koji bi se filtrirao te nakon mjerenja vratio u matičnu otopinu. To je bilo potrebno iz dva razloga:

- sirovina unutar procesne jedinice utječe na odziv mjernog instrumenta i točnost mjerenja
- miješanje otopine uzrokuje smetnje u mjerenju (ne može doći do ustaljenja mjerenih vrijednosti).

Ispitivao se je i utjecaj izvedbe reaktora na prinos. Kao ulazne varijable korištene su prethodno određene optimalne vrijednosti. U reaktor su postavljene dvije perforirane plitice; jedna je plitica postavljena na 20% visine reaktora, dok je druga postavljena na 80% visine reaktora. Promjer svake plitice iznosi 16 cm. Broj otvora na pliticama iznosi 220, dok promjer pojedinog otvora na pliticama iznosi 0,5 cm.

Tablica 2.2. Dizajn eksperimenta

Dizajn eksperimenta					
Redoslijed izvođenja	Dizajn reaktora	Ulazne varijable	Ekperimentalna domena	Razine	Odziv
1.		Temperatura (°C)	20 - 45	20, 25, 35, 45	
2.	Šaržni reaktor	Omjer sirovina/otapalo (g L ⁻¹)	15 - 35	15, 20, 25, 30, 35	
3.	volumena 2 L	Miješanje (o min ⁻¹)	250 - 750	250, 500, 750	
4.		Aeracija	0,1 - 0,5	0,1; 0,3; 0,5	<i>t</i> (dan)
5.		Kombinacija varijabli	prethodno određene optimalne vrijednosti		<i>c</i> (mg L ⁻¹)
6.	Šaržni reaktor volumena 2 L s pliticama	Kombinacija varijabli	prethodno određene optimalne vrijednosti		

3. REZULTATI I RASPRAVA

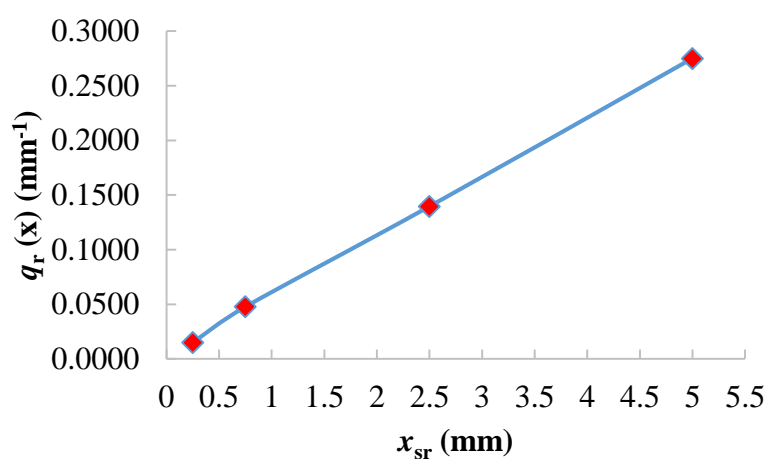
3.1. ANALIZA SIROVINE

Prije postavljanja eksperimenta, unutar korištenog materijala, tj. biljne sirovine, određena je veličina i raspodjela veličina čestica analizom pomoću sita, odnosno metodom separacije količine čestica unutar određenih granica veličina čestica. U tablici 3.1. prikazane su veličine sita te raspodjela veličina čestica za svaku komponentu biljne sirovine.

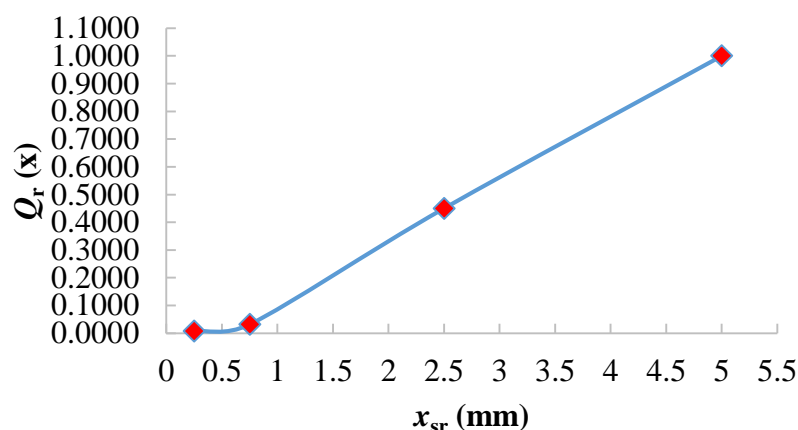
Tablica 3.1. Veličine sita te raspodjela veličina čestica za svaku komponentu biljne sirovine

Biljni materijal	Ukupna masa m (g)	4 mm m (g)	1 mm m (g)	0,5 mm m (g)	Tava m (g)
Gavez	339,87	220,17	110,60	8,10	1,00
Kopriva	19,80	2,10	15,90	1,30	0,50
Sljez	19,90	10,30	9,40	0,10	0,10
Preslica	43,50	0,10	41,20	0,60	1,60
Ukupno	423,07	232,67	177,10	10,10	3,20

Navedena raspodjela čestica može se prikazati grafički pomoću funkcije gustoće raspodjele $q_r(x_i)$ (slika 3.1.) i kumulativne funkcije raspodjele $Q_r(x_i)$ (slika 3.2.).



Slika 3.1. Krivulja gustoće raspodjele čestica



Slika 3.2. Krivulja kumulativne raspodjele čestica

Raspodjela čestica u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi je važna jer ukazuje u kojim veličinama su čestice zastupljene budući da veličina čestica direktno utječe na senzorske odzive pri mjerenjima te brzinu prijenosa tvari i samog procesa općenito.

Također, važan je i sadržaj teških metala u biljnoj sirovini (tablica 3.2.) koja se koristi u pripravi biostimulatora jer, bez obzira na sadržaj bioaktivnih tvari, ako se pokaže da se u sirovini nalaze teški metali u koncentraciji iznad maksimalno dopuštene koncentracije onda pripremljeni biostimulatori nisu upotrebljivi u praksi.

Tablica 3.2. Sadržaj teških metala u korištenoj biljnoj sirovini

Biljka	Preslica	Kopriva	Sljez	Gavez
Metal (ppm)				
Fe	63,66	221,08	100,39	350,86
Ni	0,92	0,79	2,34	0,90
Cd	0,01	0,02	0,25	0,04
Co	0,11	< g.d.	0,01	0,10
Cr	0,22	0,26	0,47	0,29
Cu	0,38	2,13	4,38	5,77
Zn	19,89	163,71	205,30	159,10
Pb	0,01	< g.d.	< g.d.	0,01

g.d. - granica detekcije

Iz tablice 3.2. vidljivo je da je sadržaj teških metala u biljnoj sirovini unutar dopuštenih vrijednosti definiranih Pravilnikom o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja⁶² te se navedena sirovina može upotrijebiti za pripravu biostimulatora.

3.2. UTJECAJ VRIJEDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA PRINOS I TRAJANJE PROCESA

3.2.1. OPTIMIRANJE TEMPERATURE SMJESE

U tablici 3.3. prikazani su rezultati optimiranja temperature smjese dobiveni pripremom biostimulatora pri različitim temperaturama smjese bez miješanja i aeracije, a uz omjer smjese od 30 g L⁻¹.

Tablica 3.3. Optimiranje temperature smjese

<i>t</i> (dan)	<i>Cotopljene tvari (mg L⁻¹)</i>							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
20 °C	1350	1694	1882	1840	1951	2013	2019	2018
25 °C	1469	1772	2001	2156	2289	2295	2292	2293
35 °C	1538	2018	2097	2206	2487	2461	2484	2469
45 °C	1561	1716	1954	2138	2201	2308	2310	2309

Kako je brzina difuzije neke tvari prema 1. Fickovom zakonu difuzije u danom smjeru proporcionalna njezinom koncentracijskom gradijentu, a općenito se povećava s porastom temperature jer se čestice gibaju brže⁶³, potrebno je ugoditi vrijednost parametra temperature smjese unutar reaktora na osnovu kojeg će se postići najveći prinos aktivnih tvari u najkraćem vremenu. Pri tome se treba voditi činjenicom da svaka aktivna tvar ima svoju gornju temperaturnu granicu iznad koje dolazi do razgradnje, odnosno pojedini biološki aktivni spojevi koji daju proizvodu funkciju zaštitnog sredstva su termolabilni.⁶⁴ Povećanjem temperature smjese pri ekstrakciji povećava se topljivost sirovine, smanjuje viskoznost i površinska napetost. Tako se omogućava otapalu da lakše dođe do matrice sirovine te dolazi do povećanja brzine ekstrakcije. Međutim, prevelika temperatura dovodi do oksidacije fenolnih spojeva⁶⁵ i smanjenja prinosa. Eksperimentalno su ispitani prinosi aktivnih tvari pri temperaturama od 20, 25, 35 i 45 °C te uspoređeni s referentnim uzorkom pripremljenim pri 20 °C. U tablici 3.3. su prikazane ostvarene vrijednosti prinosa proizvoda (ukupne koncentracije otopljene tvari) tijekom 7 dana. Cilj je postići što veći maksimum koncentracije otopljene tvari u što je moguće kraćem vremenu. Prema dobivenim eksperimentalnim vrijednostima, optimalna vrijednost parametra temperature

smjese u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi iznosi 35 °C pri čemu se postigao maksimum koncentracije otopljene tvari od 2487 mg L⁻¹ za vrijeme od 4 dana pri odabranim eksperimentalnim uvjetima rada.

3.2.2. OPTIMIRANJE OMJERA SIROVINA/OTAPALO U SMJESI

U tablici 3.4. prikazani su rezultati optimiranja omjera sirovina/otapalo u smjesi dobiveni pripremom biostimulatora pri različitim masenim koncentracijama smjese bez miješanja i aeracije, a pri temperaturi od 35 °C.

Tablica 3.4. Optimiranje omjera sirovina/otapalo u smjesi

<i>t</i> (dan)	<i>Cotopljene tvari (mg L⁻¹)</i>							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
15 g L⁻¹	769	826	1050	1077	1096	1127	1125	1127
20 g L⁻¹	998	1048	1286	1304	1368	1403	1405	1402
25 g L⁻¹	1115	1378	1529	1589	1625	1709	1709	1706
30 g L⁻¹	1552	2024	2101	2213	2497	2495	2496	2497
35 g L⁻¹	1507	1744	2041	2210	2335	2328	2330	2331

Određivanje optimalnog omjera sirovina/otapalo ima dvojak karakter. Prvi je ekonomske prirode gdje se promatra ekonomičnost proizvodnje i utrošak sirovine po jedinici volumena proizvodne jedinice. Naime, utrošak sirovine direktno utječe na cijenu konačnog proizvoda. S druge strane, iz procesnog aspekta omjer sirovina/otapalo utječe i na iskorištenje same sirovine. Ako je omjer previsok, uzevši u obzir i moć otapanja vode kao procesnog medija, može se dogoditi situacija da ekstrakcija ide sporo i nepotpuno jer proces ide do uspostavljanja ravnoteže. Stoga, pri visokim omjerima sirovine i otapala potrebno je uvoditi nova rješenja kao što su recirkulacija otapala te korištenje drugih otapala koji zahtijevaju regeneraciju što sve dovodi do visokih investicijskih troškova. Prema dobivenim eksperimentalnim vrijednostima, optimalan omjer sirovina/otapalo u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi pri odabranim uvjetima provedbe eksperimenta iznosi 30 g L⁻¹ pri čemu se postigao maksimum koncentracije otopljene tvari od 2497 mg L⁻¹ za vrijeme od 4 dana.

3.2.3. OPTIMIRANJE MIJEŠANJA SMJESE

U tablici 3.5. prikazani su rezultati optimiranja miješanja smjese za pripravu biostimulatora pri omjeru sirovina/otapalo u smjesi od 30 g L⁻¹, temperaturi smjese od 35 °C, ali bez aeracije.

Tablica 3.5. Optimiranje miješanja smjese

<i>t</i> (dan)	<i>C</i> otopljene tvari (mg L ⁻¹)							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
250 o min⁻¹	1612	1738	1964	2155	2190	2189	2190	2188
500 o min⁻¹	1638	1828	1979	2020	2041	2067	2085	2080
750 o min⁻¹	1588	1811	1858	1899	1948	1950	1949	1950

Brzina miješanja kao procesni parametar ima bitnu ulogu. Miješanjem u procesu ekstrakcije postiže se homogenizacija između krutine i kapljevine. Pri velikim brzinama miješanja dolazi do dodatnog usitnjavanja biljnog materijala koji sada već kao fino usitnjeni materijal stvara kašu i počinje stvarati otpor prolazu otopine do preostalog biljnog materijala. Pretpostavka je da upravo iz ovog razloga pri najvišoj odabranoj brzini miješanja od 750 o min⁻¹ dolazi do smanjenja koncentracije otopljenje tvari.

Miješanjem se ne povećava samo kontaktna površina, nego njime uzrokovano gibanje kontinuirane faze smanjuje debljinu laminarnog sloja na granici faza, što dovodi do povećanja koeficijenta prijenosa mase, a posljedično i povećanja brzine procesa. Također, ubrzava se i prijenos topline unutar mase smjese jer se cijela smjesa homogenizira.³⁶ Prema dobivenim eksperimentalnim vrijednostima, optimalna brzina miješanja u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi iznosi 250 o min⁻¹ za odabrane uvjete provedbe eksperimenta pri čemu se postigao maksimum koncentracije otopljenje tvari od 2190 mg L⁻¹ za vrijeme od 4 dana.

3.2.4. OPTIMIRANJE AERACIJSKOG REŽIMA

U tablici 3.6. prikazani su rezultati optimiranja aeracijskog režima smjese za pripravu biostimulatora pri različitim protocima zraka te pri sljedećim eksperimentalnim uvjetima rada: bez miješanja, a pri omjeru sirovina/otapalo u smjesi od 30 g L⁻¹ i temperaturi smjese od 35 °C.

Tablica 3.6. Optimiranje aeracijskog režima smjese

t (dan)	Cotopljene tvari (mg L ⁻¹)							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
0,1 L min ⁻¹	1537	1707	1777	1832	1878	1877	1875	1878
0,3 L min ⁻¹	1586	1734	1803	1865	1982	1993	1995	1994
0,5 L min ⁻¹	1541	1682	1764	1829	1841	1843	1842	1843

Izvedba eksperimentalnog reaktora s aeracijom suspenzije uz miješanje zračnim mjehurićima predstavlja alternativu za klasično miješanje lopaticama jer je ovakav način miješanja dovoljan za ubrzavanje difuzije te homogenizaciju zasićenog i svježeg otapala, a istovremeno se u reakcijsku smjesu uvode nove količine kisika koji je potreban iz aspekta prinosa hranjivih elemenata u proizvodu.⁶⁶ Naime, osim što se u reaktoru ekstrahiraju aktivne tvari iz biljne sirovine, istovremeno dolazi do razgradnje i oksidacije organske tvari iz sirovine uz potrošnju kisika iz otapala pri čemu se u smjesu otpuštaju dušik, fosfor, kalij te mikroelementi. Uvođenje kisika kroz svježi zrak osigurava potpunu oksidaciju sirovine te prevođenje dušika u nitratni oblik, fosfora u fosfatni oblik, a kalija u superoksid.⁶⁷ S druge strane, negativna pojava ove izvedbe je moguća oksidacija fenolnih spojeva i gubitak njihovih bioaktivnih svojstava.⁶⁵ Eksperimentalno su ispitani prinosi aktivnih tvari pri protocima zraka od 0,1; 0,3 i 0,5 L min⁻¹ te uspoređeni s referentnim uzorkom pripremljenim bez aeracije. U tablici 3.6. prikazane su ostvarene vrijednosti prinosa proizvoda (ukupne koncentracije otopljene tvari) tijekom 7 dana. Prema dobivenim eksperimentalnim vrijednostima, optimalna vrijednost parametra aeracije smjese u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi iznosi 0,3 L min⁻¹ za odabrane uvjete provedbe eksperimenta pri čemu se postigao maksimum koncentracije otopljene tvari od 1995 mg L⁻¹ za vrijeme od 6 dana.

3.2.5. KOMBINACIJA OPTIMALNIH PARAMETARA

U tablici 3.7. prikazani su rezultati dobiveni primjenom optimalnih vođenih varijabli za konverziju smjese u biostimulatore (temperatura od 35 C, omjer sirovina/otapalo od 30 g L⁻¹, miješanje od 250 o min⁻¹ te aeracija smjese protokom zraka od 0,3 L min⁻¹).

Tablica 3.7. *Primjena optimalnih parametara u proizvodnji biostimulatora*

t (dan)	Cotopljene tvari (mg L⁻¹)							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
35 °C								
30 g L⁻¹								
250 o min⁻¹	1678	1956	2239	2584	2863	2863	2862	2863
0,3 L min⁻¹								

Prema vrijednostima prikazanim u tablici 3.7., kad su se kao procesni parametri koristile dobivene optimalne vrijednosti, može se uočiti kako se ostvario maksimum koncentracije otopljene tvari od 2863 mg L⁻¹ u vremenu od 4 dana.

3.2.6. UTJECAJ IZVEDBE REAKTORA NA PRINOS I TRAJANJE PROCESA

U tablici 3.8. prikazani su rezultati dobiveni primjenom optimalnih parametara za konverziju smjese u biostimulatore (temperatura od 35 C, omjer sirovina/otapalo od 30 g L⁻¹, miješanje od 250 o min⁻¹ te aeracija smjese protokom od 0,3 L min⁻¹) uz modificiranu izvedbu šaržnog reaktora.

Tablica 3.8. *Utjecaj izvedbe reaktora na prinos i trajanje procesa*

t (dan)	Cotopljene tvari (mg L⁻¹)							
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
35 °C								
30 g L⁻¹								
250 o min⁻¹	1792	2003	2287	2612	2923	2922	2924	2922
0,3 L min⁻¹								

U procesu proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi koristi se šaržni reaktor. Najveće izazove u ovom procesu predstavljaju iskorištenje sirovine i separacija zaostale biljne mase iz procesa. Naime, suho bilje kao sirovina ima nižu gustoću od vode kao otapala pa u početku procesa teži isplivavanju na površinu, čime veliki dio sirovine ne dolazi u doticaj s otapalom. Time se smanjuju i iskorištenje sirovine i brzina procesa. S druge strane, na kraju procesa, kada se uspostavi ravnoteža, tj. kada se otapalo zasiti tvarima iz

sirovine, a brzina procesa postane beskonačno mala (što se očituje u ustaljenju koncentracije), sirovina ima gustoću veću od gustoće vode te se taloži na dnu reaktora. Navedeno otežava separaciju sirovine koja nije izreagirala, a može doći i do začepljenja filtera, pumpi, itd. Nakon provedenih eksperimenata u šaržnom reaktoru u koji su na određenoj visini postavljene plitice, izrađene pomoću 3D printera, pokazalo se da ova izvedba reaktora pozitivno utječe na prinos i trajanje procesa te se postigao maksimum koncentracije otopljene tvari od 2923 mg L^{-1} za vrijeme od 4 dana.

3.3. PRETPOSTAVKE O DIZAJNU I NAČINU IZRADE ODGOVARAJUĆEG MODELA REAKTORA ZA PROIZVODNJU BIOSTIMULATORA

Na osnovu iskustvenih spoznaja prilikom pripreve biostimulatora na biljnoj bazi izvedene su određene pretpostavke o dizajnu i načinu izrade odgovarajućeg modela reaktora koji bi bio najpogodniji za proizvodnju istih (slika 3.3.).

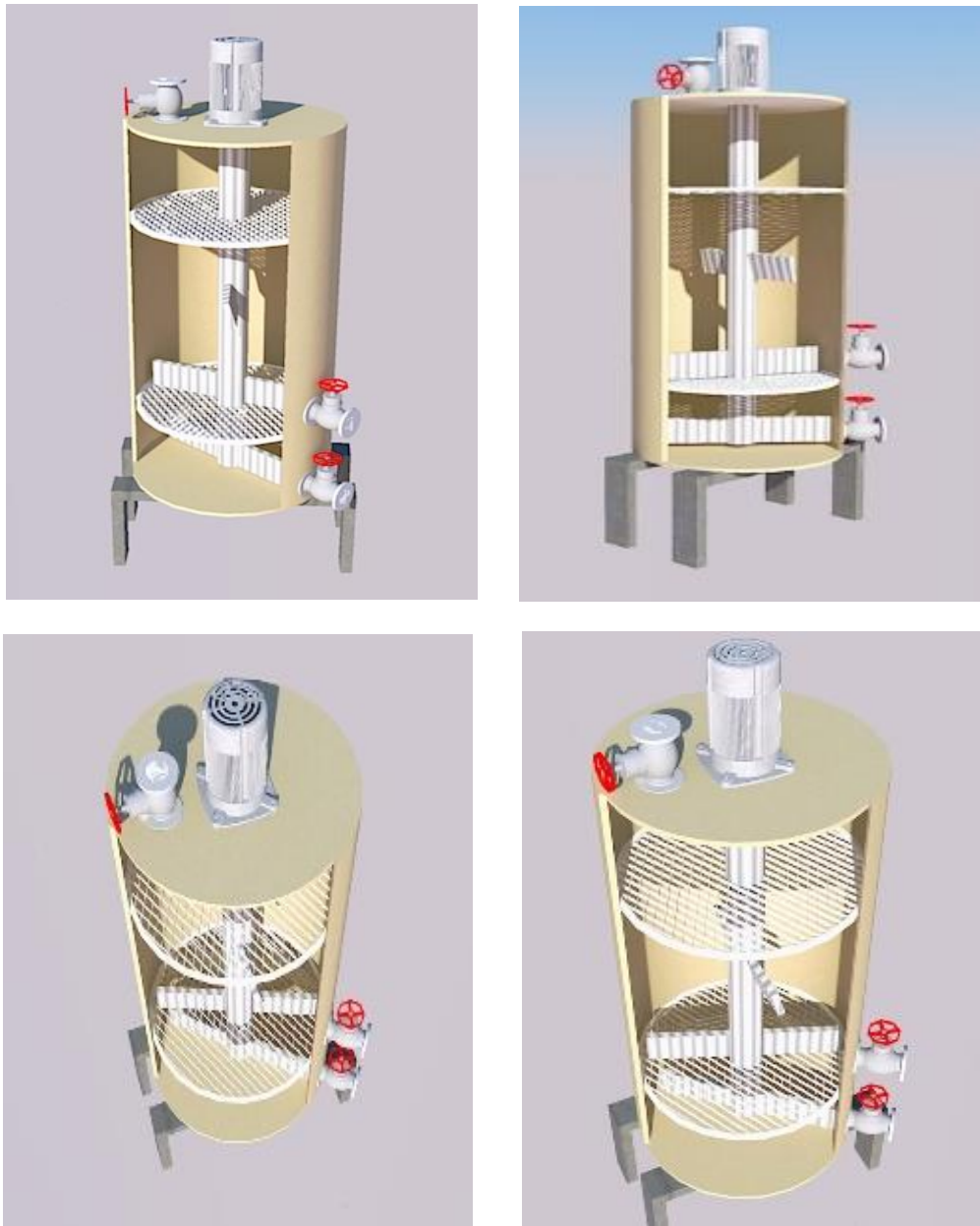
Pri dizajniranju odgovarajućeg šaržnog reaktora s pliticama, neovisno o volumenu, potrebno je uzeti u obzir nekoliko zahtjeva temeljenih na karakteristikama procesa:

1. jednostavan dotok sirovine i otapala
2. jednostavna separacija proizvoda i zaostalog, neiskorištenog biljnog materijala
3. potpuni i stalni kontakt sirovine i otapala
4. mogućnost dotoka zraka u procesnu jedinicu i smjesu
5. ravnomjerno miješanje sirovine po cijelom volumenu procesne jedinice
6. odnos visine i promjera reaktora mora biti takav da se reaktor može jednostavno integrirati s ostalom procesnom opremom i smjestiti u pogon.

Dodatni funkcionalni zahtjevi pri dizajniranju nameću se prema karakteristikama sirovine:

1. položaj plitica bi trebao biti takav da omogućava stalan kontakt sirovine s otapalom (bez isplivavanja na površinu) i onemogućava potonuće na dno procesne jedinice
2. promjer pora na gornjoj plitici trebao bi biti za 20 % manji od promjera najmanje čestice koja teži isplivavanju
3. promjer pora na donjoj plitici trebao bi biti za 20 % manji od promjera najmanje čestice koja teži taloženju na dno procesne jedinice
4. gustoća pora odnosno broj pora po jedinici površine plitice trebali bi biti takvi da omogućavaju nesmetano kretanje molekula vode po cijelom volumenu procesne jedinice
5. položaj aeracijskog prstena trebao bi biti takav da zrak ravnomjerno prolazi kroz smjesu u procesnoj jedinici
6. veličina, broj i raspored pora na aeracijskom prstenu trebali bi biti takvi da se omogući jednostavna disperzija mjehurića zraka u vodi
7. oblik, veličina i pozicija miješala trebala bi biti takva da se sirovina ravnomjerno miješa po cijelom volumenu između dviju plitica

8. udaljenost između donje plitice i donje lopatice miješala trebala biti takva da se onemogući taloženje sirovine na plitici i začepljenje pora
9. materijali koji se koriste moraju biti otporni na proces korozije
10. treba se postići optimalna debljina stjenke radi dobrog prijenosa topline pri regulaciji temperature.



Slika 3.3. Prikaz 3D modela šaržnog reaktora

3.4. MOGUĆI EKONOMSKI I EKOLOŠKI UČINCI OPTIMIZACIJE PROCESA

Optimizacija procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi provodi se s ciljem postizanja optimalnih ekonomskih i ekoloških učinaka proizvodnje. Analizom dosadašnje izvedbe procesa proizvodnje uočilo se da proces traje gotovo 4 puta duže koristeći referentnu metodologiju uz niže iskorištenje sirovine. Također, nakon procesa zaostaje neiskorištena biljna sirovina koju je potrebno zbrinuti.

Optimizacijom procesa mogle bi se postići sljedeće stvari:

- ubrzanje procesa
- povećanje iskorištenja sirovine
- zelena tehnologija proizvodnje koja se temelji na konceptu nulte emisije
- integracija proizvodnje sa srodnim procesima
- optimizacija korištenja vode kao medija (ponovna upotreba i minimizacija)

koje bi dovele do povećanja kapaciteta proizvodnje i stvaranja dodane ekonomske vrijednosti.

Prema do sada korištenoj metodologiji proizvodnje, proizvodni ciklus u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi trajao je 15 dana. Ako pogon za proizvodnju radi kontinuirano u punom opsegu, bez sezonalnog karaktera i oscilacija, dobiva se sljedeći kapacitet proizvodnje:

$$KP = N_{pc} \cdot N_{pj} \cdot V_{pj} \quad (L) \quad (3.1)$$

$$KP = \left(12 \cdot \frac{30 \text{ dana}}{t_{pc}}\right) \cdot N_{pj} \cdot V_{pj} \quad (L) \quad (3.2)$$

gdje je KP kapacitet proizvodnje pogona, N_{pc} broj proizvodnih ciklusa na razini godine, N_{pj} broj proizvodnih jedinica, a V_{pj} kapacitet proizvodne jedinice izražen u litrama proizvoda.

Optimalni kapacitet proizvodnje dobiva se nakon optimizacije procesnih parametara koji utječu na brzinu procesa i količinu prinosa po jedinici volumena:

$$KP_{opt} = \frac{t_{pc}}{t_{opt}} \cdot \left(12 \cdot \frac{30 \text{ dana}}{t_{pc}} \cdot N_{pj} \cdot V_{pj}\right) \quad (L) \quad (3.3a)$$

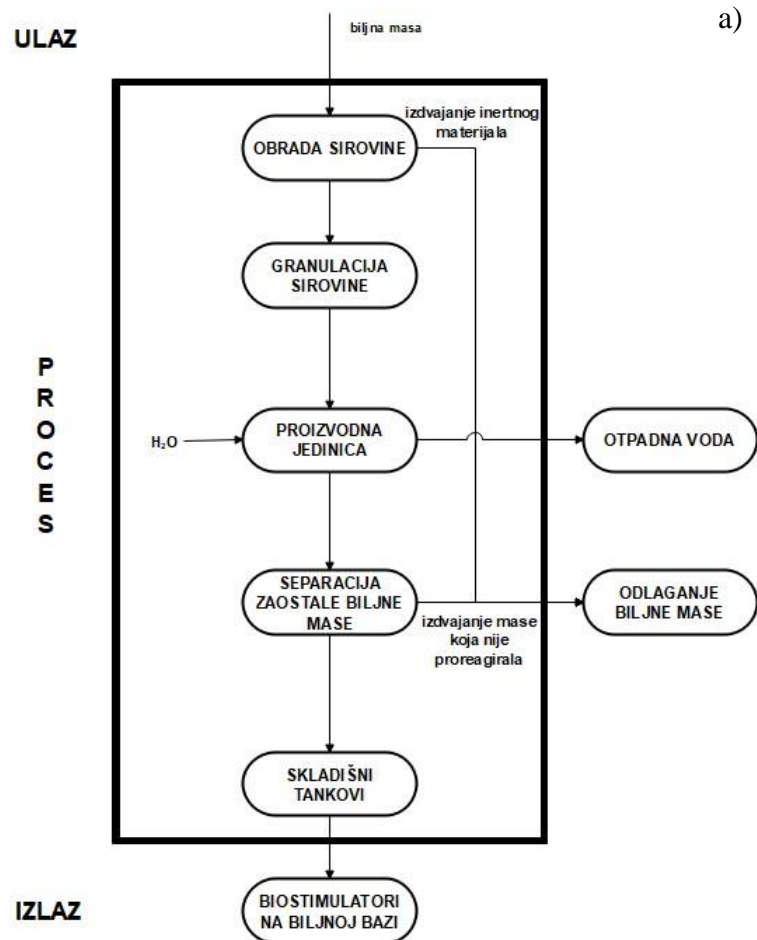
gdje je KP_{opt} kapacitet proizvodnje pogona nakon provedene optimizacije, a t_{opt} je vrijeme trajanja procesa nakon provedene optimizacije.

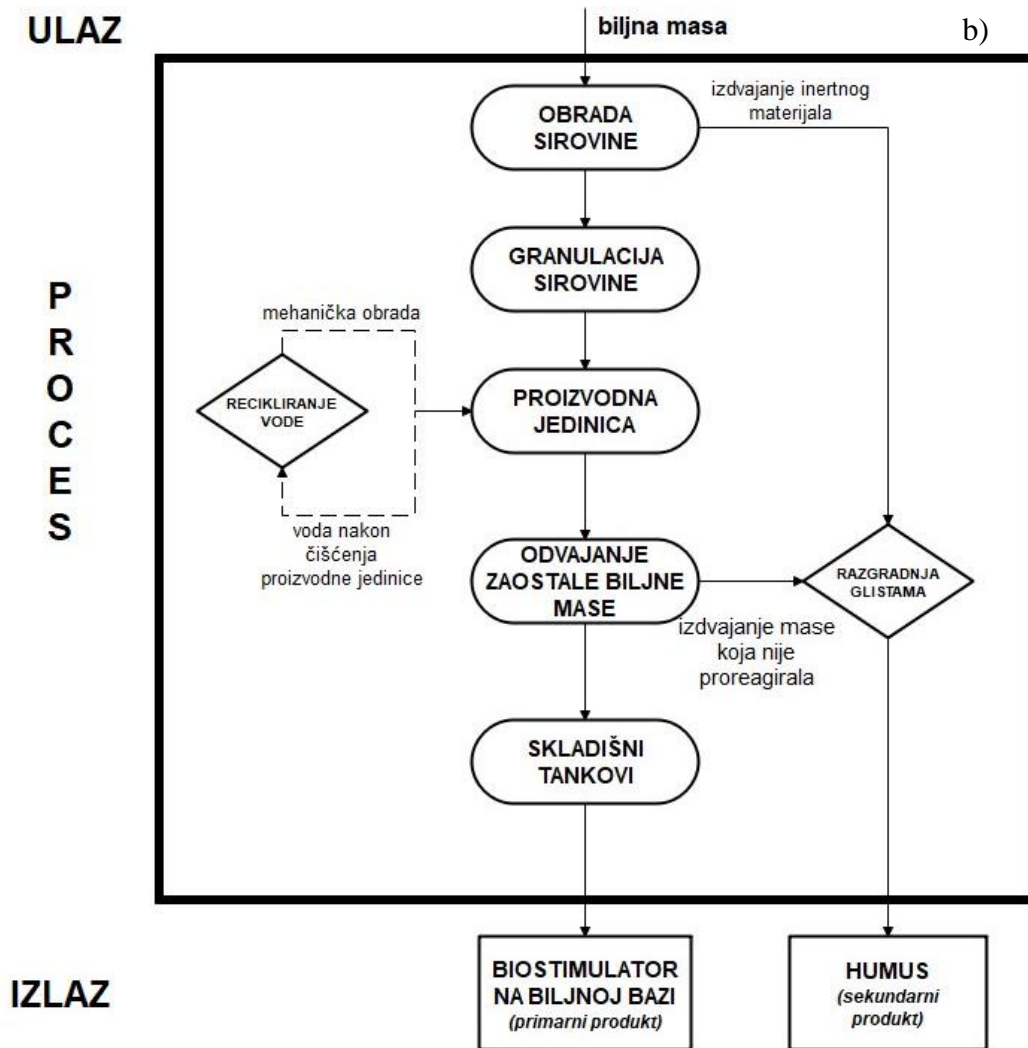
Provedenom optimizacijom s ekonomskog aspekta, vrijeme trajanja proizvodnje po proizvodnoj jedinici skratilo se s inicijalnih 15 dana na 4 dana, čime se dobio faktor ubrzanja od 3,75 što je dovelo i do povećanja kapaciteta proizvodnje za 3,75 puta:

$$KP_{opt} = \frac{15}{4} \cdot \left(12 \cdot \frac{30 \text{ dana}}{t_{pc}} \cdot N_{pj} \cdot V_{pj} \right) \quad (L) \quad (3.3b)$$

$$KP_{opt} = 3,75 \cdot \left(12 \cdot \frac{30 \text{ dana}}{t_{pc}} \cdot N_{pj} \cdot V_{pj} \right) \quad (L) \quad (3.3c)$$

Osim ekonomskih benefita, mogu se ostvariti i pozitivni ekološki učinci (slika 3.4.). Proizvodnja biostimulatora na biljnoj bazi mogla bi se integrirati sa procesom biološke obrade otpada gujavicama, pri čemu se u procesu može dobiti i sekundarni proizvod – humus. Voda koja služi za ispiranje procesnih jedinica mogla bi se tada koristiti za održavanje vlažnosti supstrata u biološkoj obradi otpada. Također, zaostala biljna masa se može koristiti kao supstrat u bazenima za biološku obradu otpada. Kako u proizvodnji biostimulatora na biljnoj bazi nema emisija štetnih plinova, cjelokupni tehnološki proces bi predstavljao tehnološki proces koji bi u potpunosti slijedio koncept nulte emisije.





Slika 3.4. Usporedba prikaza dosadašnjeg (a) i optimiziranog modela (b) tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi

4. ZAKLJUČAK

Cilj istraživanja ovog diplomskog rada bio je utvrditi optimalne vrijednosti procesnih parametara kao što su temperatura smjese, omjer smjese sirovina/otapalo, brzina miješanja smjese, režim aeracije te utjecaj izvedbe šaržnog reaktora na trajanje procesa konverzije sirovine u biostimulator na biljnoj bazi.

Provedenom optimizacijom tehnološkog procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi s mješavinom odabranog suhog biljnog materijala (korijen gaveza, list koprive, poljska preslica te list sljeza) pri odabranim eksperimentalnim uvjetima mogu se izvući sljedeći zaključci:

- optimalna temperatura smjese iznosi 35 °C
- optimalan omjer sirovina/otapalo iznosi 30 g L⁻¹
- optimalna brzina miješanja iznosi 250 o min⁻¹
- optimalan režim aeracije iznosi 0,3 L min⁻¹
- izvedba reaktora u dizajnu se modificirala te su uz miješanje uvedene plitice koje ograničavaju plutanje biljnog materijala i njegovo taloženje na dno reaktora što je dovelo do povećanja prinosa i povećanja brzine procesa
- optimizacijom procesnih uvjeta ostvareno je povećanje kapaciteta proizvodnje za 3,75 puta
- integracijom procesa proizvodnje biostimulatora na biljnoj bazi s biološkom obradom otpada u kojoj bi se kao proizvod dobivao humus postigao bi se tehnološki proces proizvodnje koji bi se temeljio na konceptu nulte emisije.

5. LITERATURA

1. *I. Jug*, Utjecaj agrokemikalija na okoliš, Nastavni materijali, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2015.
2. *K. Poljanec*, Proizvodnja biljnih ekstrakata, Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.
3. URL: <https://grama.com.hr/biljni-stimulatori-fitostimulatori/> (8.11.2020.)
4. *G. L. Kauffman, D. P. Kneivel, T. L. Watschke*, Effects of a Biostimulant on the Heat Tolerance Associated with Photosynthetic Capacity, Membrane Thermostability, and Polyphenol Production of Perennial Ryegrass, *Crop Sci.* **47** (2007.) 261–267.
5. Zakon o gnojivima i poboljšivačima tla, NN 163/03, 40/07, 81/13, 14/14, 32/19, na snazi od 6. veljače 2014.
6. URL: <https://www.agroklub.com/povrcarstvo/biostimulatori-smanjuju-stres-ali-nisu-zamjena-za-gnojivo/59221/> (8.11.2020.)
7. *J. Jakunić*, Morfološka svojstva i prinos krastavaca pod utjecajem biostimulatora, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.
8. *D. Gluhic*, Primjena biostimulatora na bazi aminokiselina u poljoprivrednoj proizvodnji, *Glasnik Zaštite bilja* **43**(3) (2020) 38–46.
9. URL: <https://gospodarski.hr/casopis/izdanja-2020-casopis/broj-6-od-01-04-2020/kako-pojacati-imunitet-povrca/> (8.11.2020.)
10. URL: <https://www.navigator-bi.hr/proizvodi/biljni-stimulatori> (8.11.2020.)
11. *D. Kolarić*, Utjecaj nepovoljnih vremenskih prilika na prinos poljoprivrednih kultura, Završni rad, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2016.
12. *R. Barači*, Primjena i uloga biostimulatora u uzgoju plodovitog povrća, Završni rad, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2018.
13. *V. Vukadinović, I. Jug, B. Đurđević*, Ekofiziologija bilja, sveučilišni udžbenik, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2014.
14. URL: <https://definicijahrane.hr/definicija/hranjive-tvari/bioloski-aktivne-tvari/> (8.11.2020.)
15. *N. Parađiković*, Ljekovito i začinsko bilje, nastavni materijali, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2014.
16. *V. Vukadinović, V. Vukadinović*, Ishrana bilja, sveučilišni udžbenik, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2011.

17. URL: <https://www.savjetodavna.hr/2015/08/20/aminokiseline-i-njihova-uloga-u-rastu-i-razvoju-biljaka/> (27.4.2021.)
18. *S. Lovrić*, Fiziološka i ekološka značajnost fenolnih spojeva u biljci, Završni rad, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2014.
19. URL: <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/biljni-pigmenti> (10.11.2020.)
20. *A. Sabljak*, Najznačajnije biljke za proizvodnju eteričnih ulja u Republici Hrvatskoj, Završni rad, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2015.
21. *S. Dudaš*, Pregled aromatičnog i ljekovitog bilja, nastavni materijali, Veleučilište Rijeka
22. *I. Kolak, Z. Šatović, H. Rukavina*, Mogućnost proizvodnje i prerade ljekovitog, aromatičnog i medonosnog bilja na hrvatskim prostorima, *Sjemenarstvo* **14**(3-4) (1997) 203–229.
23. URL: <https://www.adiva.hr/nutricionizam/ljekovito-bilje/ljekovita-moc-bijelog-sljeza-saveznik-disnog-probavnog-i-urinarnog-sustava/> (27.4.2021.)
24. *I. Jug*, Fiziologija stresa, nastavni materijali, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2014.
25. *N. Parađiković, T. Vinković, I. Vinković-Vrček, T. Teklić, R. Lončarić, R. Baličević*, Antioksidativna aktivnost i pojava vršne truleži ploda paprike pod utjecajem biostimulatora i hibrida, *Poljoprivreda* **16**(1) (2010) 20–24.
26. *I. Kesedžić*, Utjecaj upotrebe ekoloških biostimulatora na povećanje prinosa i kvalitativnih svojstava jabuke, Diplomski rad, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2020.
27. *N. Parađiković*, Opće i specijalno povrćarstvo, nastavni materijali, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
28. URL: <http://struna.ihjj.hr/naziv/tehnoloski-proces/10751/> (14.11.2020.)
29. *K. Radočaj*, Projektiranje tehnološkog procesa za „Steuerscheibe 13“-20“ Entlader, Završni rad, Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2015.
30. *E. Hozdić, E. Hozdić*, Projektiranje tehnološkog procesa obrade za fleksibilne proizvodne sisteme, *Tehnički glasnik* **7**(4) (2013) 381–390.
31. *T. Mikac, D. Blažević*, Planiranje i upravljanje proizvodnjom, Tehnički fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, 2007.
32. *T. Grladinović*, Upravljanje proizvodnim sustavima u preradi drva i proizvodnji namještaja, sveučilišni udžbenik, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 1999.

33. *D. Purgar*, Primjena ERP sustava u proizvodnji na primjeru tvrtke WAM Product, Završni rad, Sveučilište Sjever, Varaždin, 2017.
34. *V. Butorac*, Utjecaj primijenjene metode ekstrakcije na izolaciju bioaktivnih komponenti iz lavande, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2018.
35. *S. S. Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo, D. D. Rakesh*, Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plant, United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology ICS-UNIDO, Trieste, Italy, 2008.
36. *T. Lovrić*, Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb, 2003.
37. *N. Malekinušić*, Primjena eutektičkih otapala u ekstrakciji prirodnih produkata, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.
38. *N. Malatesti, A. Filošević*, Praktikum organske kemije za studente II. godine preddiplomskog studija Biotehnologija i istraživanje lijekova, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, 2017.
39. *I. Kaselj*, Ekstrakcija farmaceutika iz sedimenta ultrazvukom, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2012.
40. URL: <https://www.hgk.hr/documents/modernim-ekstrakcijama-do-funkcionalnih-bioaktivnih-komponentipptx596f21c3102e6.pdf> (21.3.2021.)
41. *D. Sibalić*, Utjecaj uvjeta kruto-tekuće ekstrakcije na ekstraktibilnost šećera iz kukuruzne silaže, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2016.
42. *I. Mujić*, Ekstrakcija i ekstraktori biljnih materijala, univerzitetski udžbenik, Biotehnički fakultet, Univerzitet u Bihaću, Bihać, 2006.
43. *Chalermchat Y, Fincan M, Dejmeek P*: Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment: Mathematical modelling of mass transfer, *J. Food Eng.* **64**(2) (2004) 229–236.
44. *Z. Herceg*, Procesi u prehrambenoj industriji, Plejada d.o.o., Zagreb, 2011.
45. URL: https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/prijenostvari.pdf (20.3.2021.)
46. *J. Prlić Kardum*, Prijenos tvari, *Kem. Ind.* **68**(1-2) (2019) 51–52.
47. URL: https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Skripta_Predavanje_The_new_one%5B2%5D.pdf (15.3.2021.)

48. URL: https://www.vup.hr/_Data/Files/140401145843670.pdf (15.3.2021.)
49. *J. Prlić Kardum*, Procesi prijenosa i separacije, nastavni materijali, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.
50. *S. Tomas, M. Planinić, A. Bucić-Kojić*, Jedinične operacije u prehrambenom i procesnom inženjerstvu. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2013.
51. *A. Jakšetić*, Optimiranje procesa kruto-tekuće ekstrakcije fenolnih tvari iz ječma metodom odzivnih površina, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2015.
52. URL: https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/ekstrakcija.pdf (1.3.2021.)
53. *A. Udovčić*, Primjena niskotemperaturnih eutektičkih otapala i nanosuspenzija u separaciji fenolnih spojeva iz komine masline, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.
54. *N. Medvidović Vukojević*, Projektiranje procesa, nastavni materijali, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2014.
55. *G. Towler, R. Sinnott*, Chemical Engineering Design: Principles, Practice and Economics of Plant and Process Design, 2nd Edition, Elsevier Inc., 2008.
56. URL: <https://www.basis-savjetovanje.hr/optimizacija-proizvodnog-kapaciteta/> (29.11.2020.)
57. *K. Buntak, N. Šuljagić*, Ekonomika logistike proizvodnje, Technical journal **9**(2) (2015) 216–221.
58. *D. Grubišić, Ž. Mateljak*, Identificiranje problema u planiranju kapaciteta i njihove posljedice, *Zbornik s interkatedarske konferencije* **1** (2011) 53.
59. *A. Vrsalović Presečki*, Uvod u ekoinženjerstvo, 1. dio, nastavni materijali, Fakultet za kemijsko inženjerstvo i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.
60. *N. Kuzmanić*, Procesno inženjerstvo u zaštiti okoliša, interni materijali, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2019.
61. *A. I. Khuri*, Response surface methodology and its applications in agricultural and food sciences, *Biom. Biostat. Int. J.* **5**(5) (2017) 155–163.
62. URL: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_07_71_1507.html (14.5.2021.)
63. *M. Šola*, Određivanje koeficijenta difuzije u hibridnom polimernom kompozitu, Završni rad, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.

64. URL: <https://apps.unizg.hr/rektorova-nagrada/javno/stari-radovi/4384/preuzmi>
(1.2.2021.)
65. *P. Lisica*, Utjecaj uvjeta ekstrakcije na izolaciju fenolnih spojeva iz organskog otpada u proizvodnji vina, Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.
66. *H. Tomić*, Obrada otpadnih voda, Diplomski rad, Rudarsko-geološko-naftni fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2019.
67. *N. Vukojević Medvidović*, Tehnologije remedijacije okoliša, nastavni materijali, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2019.