



**UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI
TEHNOLOGIE
POLITEHNICA BUCUREȘTI**
Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii
Departamentul de Inginerie Chimică și Biochimică
**ȘCOALA DOCTORALĂ DE INGINERIE CHIMICĂ
ȘI BIOTEHNOLOGII**



TEZĂ DE DOCTORAT -REZUMAT-

Doctorand: **Sorina-Laura MAHOLEA (TOPALĂ)**

Conducător științific: **Prof. dr. ing. Oana Cristina PÂRVULESCU**

2025



**UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI
TEHNOLOGIE
POLITEHNICA BUCUREȘTI**
Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii
Departamentul de Inginerie Chimică și Biochimică
**ȘCOALA DOCTORALĂ DE INGINERIE CHIMICĂ
ȘI BIOTEHNOLOGII**



**INTENSIFICAREA TRANSFERULUI DE MASĂ ÎN
PROCESUL DE EXTRAȚIE A COMPUȘILOR
BIOACTIVI**

Doctorand: **Sorina-Laura MAHOLEA (TOPALĂ)**

Conducător științific: **Prof. dr. ing. Oana Cristina PÂRVULESCU**

2025

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

MULȚUMIRI.....	5
REZUMAT	6
ABSTRACT.....	6
LISTĂ TABELE.....	7
LISTĂ FIGURI	Error! Bookmark not defined.
SCOPUL, CONTEXTUL ȘI STRUCTURA TEZEI.....	12
1. STUDIU DE LITERATURĂ	15
1.1. INTRODUCERE.....	16
1.2. EXTRAȚIA LICHID-LICHID CU MEMBRANĂ LICHIDĂ A COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN FAZĂ APOASĂ DILUATĂ	18
1.2.1. SEPARAREA CU MEMBRANE LICHIDE (LM)	18
1.2.2. TRANSFERUL DE MASĂ ÎN PROCESUL DE PERTRACTIE FACILITATĂ	18
1.2.3. TIPURI DE AGENȚI PURTĂTORI ȘI APLICAȚIILE LOR.....	19
1.2.4. SEPARAREA ACIDULUI INDOL-3-ACETIC (IAA) DIN SOLUȚII APOASE DILUATE.....	21
1.3. EXTRAȚIA SOLID-LICHID A PRINCIPIILOR ACTIVE DIN PLANTE AROMATICE ȘI MEDICINALE	26
1.3.1. METODE CONVENȚIONALE DE EXTRAȚIE.....	26
1.3.1.1. Macerarea	26
1.3.1.2. Percolarea	27
1.3.1.3. ExtracȚia Soxhlet.....	27
1.3.1.4. Hidrodistilarea (HD).....	28
1.3.2. METODE NECONVENȚIONALE DE EXTRAȚIE	28
1.3.2.1. ExtracȚia asistată de ultrasunete (UAE)	28
1.3.2.2. ExtracȚia asistată de microunde (MAE)	30
1.3.2.2.1. MAE cu solvent.....	31
1.3.2.2.2. MAE fără solvent	31
1.3.2.3. Hidrodistilarea asistată de microunde (MWHD).....	32
1.3.3. VARIABLE INDEPENDENTE ȘI DEPENDENTE ÎN PROCESUL DE EXTRAȚIE.....	33
1.3.4. EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN MENTĂ (<i>MENTHA</i> × <i>PIPERITA</i> L.)	34
1.3.5. EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN CIMBRU (<i>THYMUS</i> <i>OFFICINALIS</i> L.).....	35
2. CONTRIBUȚII ORIGINALE	37
2.1. PERTRACTIA FACILITATĂ PRIN MEMBRANE LICHIDE.....	38
2.1.1. EFECTELE FACTORILOR DE PROCES ASUPRA PERFORMANȚEI PROCESULUI DE PERTRACTIE FACILITATA.....	38
2.1.1.1. Materiale și metode.....	38
2.1.1.2. InstalaȚia experimentală și parametrii procesului	38
2.1.1.3. Modelare matematică	40
2.1.1.3.1. Modele statistice	40
2.1.1.3.2. Model bazat pe transfer de masă	41
2.1.1.4. Rezultate și discuȚii	43
2.1.1.4.1. Modele statistice	43

2.1.1.4.2.	Model bazat pe transfer de masă.....	49
2.1.1.5.	Concluzii	52
2.1.2.	CINETICA PROCESULUI DE PERTRACȚIE FACILITATĂ.....	54
2.1.2.1.	Materiale și metode.....	54
2.1.2.2.	Instalația experimentală și parametrii procesului	54
2.1.2.3.	Modelare matematică	55
2.1.2.4.	Rezultate și discuții	56
2.1.2.5.	CONCLUZII	62
2.2.	EXTRACȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN PLANTE	64
2.2.1.	OPTIMIZAREA extracției asistate de ultrasunete (UAE) și a extracției asistate de microunde (MAE) a pigmentilor de clorofilă și carotenoizi din frunzele de mentă românească (<i>Mentha × piperita</i> L.).....	64
2.2.1.1.	Materiale și metode.....	64
2.2.1.1.1.	Material vegetal.....	64
2.2.1.1.2.	Procedura de extracție.....	64
2.2.1.2.	Evaluarea activității antibacteriene a extractelor hidroalcoolice de mentă	65
2.2.1.3.	Proiectarea experimentelor, analiza statistică și optimizarea procesului de extracție	67
2.2.1.4.	Rezultate și discuții	67
2.2.1.4.1.	UAE	67
2.2.1.1.3.	MAE	70
2.2.1.5.	Comparație cu datele raportate în literatură	73
2.2.1.6.	Concluzii	77
2.2.2.	ÎMBUNĂTĂȚIREA EFICIENȚEI EXTRACȚIEI ULEIULUI ESENȚIAL DE CIMBRU PRIN UTILIZAREA COMBINATĂ A TRATAMENTULUI CU ULTRASUNETE ȘI EXTRACȚIEI ASISTATE DE MICROUNDE.....	79
2.2.2.1.	Materiale si metode	79
2.2.2.1.1.	<i>Materiale</i>	79
2.2.2.1.2.	<i>Procedura de extracție a uleiului esențial</i>	80
2.2.2.1.3.	<i>Pretratamentul cu ultrasunete al materialului vegetal</i>	81
2.2.2.1.4.	<i>Analiza GC-MS a uleiului esențial de cimbru</i>	81
2.2.2.2.	Analiza statistică	82
2.2.2.3.	Rezultate	82
2.2.2.3.1.	Hidrodistilarea asistată de microunde (MWHd) vs. Hidrodistilarea convențională (CHD)	82
2.2.2.3.2.	<i>Influența raportului solvent/plantă asupra extracției uleiului esențial de cimbru</i>	84
2.2.2.3.3.	<i>Influența echipamentului cu ultrasunete asupra extracției uleiului esențial de cimbru</i>	86
2.2.2.3.4.	<i>Influența amplitudinii ultrasunetelor asupra extracției uleiului esențial de cimbru</i>	87
2.2.2.3.5.	<i>Influența particulelor de material vegetal asupra extracției UE</i>	88
2.2.2.3.6.	<i>Analiza componentelor principale (PCA)</i>	90
2.2.1.7.	Concluzii	92
3.	CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE.....	94

LISTA DE LUCRĂRI.....	100
BIBLIOGRAFIE.....	101

SCOPUL, CONTEXTUL ȘI STRUCTURA TEZEI

În conformitate cu titlul, teza de doctorat a avut ca **obiectiv general** intensificarea transferului de masă în procesele de extracție (lichid-lichid și solid-lichid) a compușilor activi.

Obiectivele specifice ale studiilor efectuate au fost:

- evaluarea efectului factorilor de proces asupra performanței și cineticii procesului de transfer a acidului indol-3-acetic (IAA) printr-o membrană lichidă pe bază de cloroform, utilizând trioctilamina (TOA) ca agent purtător;
- optimizarea extracției asistate de ultrasunete (UAE) și microunde (MAE) a pigmentilor de clorofilă și carotenoizilor din frunzele de mentă (*Mentha × piperita* L.);
- îmbunătățirea eficienței extracției uleiului esențial de cimbru (*Thymus officinalis* L.) prin utilizarea combinată a tratamentului cu ultrasunete și hidrodistilării asistate de microunde (MWHD).

Teza cuprinde 2 părți principale, **1. STUDIU DE LITERATURĂ** și **2. CONTRIBUȚII ORIGINALE**, la care se adaugă concluziile generale și perspectivele de cercetare, lista de lucrări și bibliografia.

STUDIUL DE LITERATURĂ conține aspecte importante despre procesele de extracție lichid-lichid și solid-lichid, *e.g.*, pertracția facilitată prin membrane lichide, separarea IAA din soluții apoase, metodele de extracție convenționale și neconvenționale, compoziția, utilizările și efectele terapeutice ale mentei și cimbrului și extracția compușilor bioactivi din aceste plante.

În partea de **CONTRIBUȚII ORIGINALE** sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările proprii referitoare la pertracția facilitată prin membrane (**capitolul 2.1**), respectiv extracția compușilor bioactivi din plante (**capitolul 2.2**).

Capitolul **2.1. PERTRACȚIA FACILITATĂ PRIN MEMBRANE LICHIDE** cuprinde 2 părți principale, *i.e.*, **2.1.1. Efectele factorilor de proces asupra performanței procesului de pertracție facilitată** și **2.1.2. Cinetica procesului de pertracție facilitată**, ambele referitoare la transferul IAA printr-o membrană lichidă pe bază de cloroform, utilizând TOA ca agent purtător. Experimentele de pertracție facilitată au fost efectuate într-o celulă de transfer tip „tub-în-tub”, timp de 4 h, la temperatura mediului ambiant, cu agitare mecanică (200 rpm) a tubului interior. Tubul interior a conținut soluția de stripare cu NaOH, iar tubul exterior faza de membrană și soluția de alimentare cu IAA.

Capitolul **2.2. EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN PLANTE** cuprinde două părți, *i.e.*, **2.2.1. Optimizarea extracției asistate de ultrasunete (UAE) și a extracției asistate de microunde (MAE) a pigmentilor de clorofilă și carotenoizilor din frunzele de mentă (*Mentha × piperita* L.)** și **2.2.2. Îmbunătățirea eficienței extracției uleiului esențial din cimbru prin utilizarea combinată a tratamentului cu ultrasunete și extracției asistate de microunde.**

În subcapitolul **2.2.1.** s-au prezentat rezultatele obținute la extracția compușilor bioactivi din frunzele de mentă în prezența ultrasunetelor (UAE), respectiv a microundelor (MAE). În conformitate cu un plan experimental CCD cu doi factori și patru experimente în centrul planului, au fost efectuate câte douăsprezece experimente pentru fiecare metodă de extracție. Concentrația de clorofilă *a* (*CaC*), concentrația de clorofilă *b* (*CbC*), concentrația totală de carotenoizi (*TCC*) și activitatea antibacteriană a extractelor din frunze de mentă (evaluată prin măsurarea diametrului zonei de inhibiție (*d*)) au fost măsurate experimental și prezise la diferite niveluri ale factorilor procesului, *i.e.*, concentrația masică procentuală de etanol în solventul de extracție ($c_{et} = 44\text{--}86\%$) și raportul lichid/solid ($R_{LS} = 5,9\text{--}34,1 \text{ mL/g}$).

În subcapitolul **2.2.2.** s-au prezentat rezultatele obținute la extracția uleiului esențial (UE) din frunzele și tulpinile de cimbru. S-a studiat influența pretratamentului cu ultrasunete aplicat amestecului de extracție înainte de hidrodistilarea asistată de microunde (MWHD) asupra randamentului de extracție a UE și conținuturilor de compuși bioactivi, *i.e.*, timol, γ -terpinen, *p*-cimen, α -terpinen și β -pinen. S-au realizat și extracții comparative, fără pretratare, atât prin MWHD, cât și prin hidrodistilare convențională (CHD). S-a evaluat influența factorilor procesului, *i.e.*, raportul lichid/solid, dimensiunea particulelor de material vegetal, tipul echipamentului cu ultrasunete utilizat pentru pretratare și amplitudinea procesorului ultrasonic, asupra performanței procesului de extracție (MWHD cu pretratare, MWHD și CHD).

În capitolul **3** sunt prezentate concluziile generale ale tezei și câteva perspective de cercetare.

1.1. INTRODUCERE

Extracția solid-lichid și extracția lichid-lichid sunt procese de separare a componentelor dintr-o fază solidă sau lichidă pe baza diferenței de solubilitate într-un solvent. Eficiența procesului depinde de numeroși factori, *e.g.* (Hernández et al., 2009):

- natura și proprietățile solventului;
- compoziția inițială a fazei solide/lichide;
- suprafața de contact dintre faza solidă/lichidă și solventul de extracție;
- raportul lichid/solid;
- temperatura și presiunea de lucru;
- durata de operare;
- tipul și caracteristicile echipamentului de extracție.

Alegerea celei mai bune tehnici de extracție este esențială atât pentru studiile cantitative, cât și pentru cele calitative privind compușii bioactivi derivați din surse vegetale (Sasidharan et al., 2011; Smith, 2003; Uwineza și Waśkiewicz, 2020). În ultimii 50 de ani, au fost dezvoltate tehnici noi de extracție, mai eficiente, rapide și ecologice, *e.g.* (Gupta et al., 2012; Peng et al., 2021):

- extracția asistată de ultrasunete (UAE);
- extracția asistată de microunde (MAE);
- extracția cu fluide supercritice (SFE);
- hidrodistilarea asistată de microunde (MWHD);
- pretratamentul cu ultrasunete sau enzime înainte de extracție.

2.1. PERTRACȚIA FACILITATĂ PRIN MEMBRANE LICHIDE

2.1.1. EFECTELE FACTORILOR DE PROCES ASUPRA PERFORMANȚEI PROCESULUI DE PERTRACȚIE FACILITATĂ

Acest studiu a avut ca scop evaluarea factorilor de proces asupra performanței procesului de transfer a acidului indol-3-acetic (IAA) printr-o membrană lichidă pe bază de cloroform, utilizând trioctilamina (TOA) ca agent purtător. Datele prezentate în acest capitol sunt publicate în articolul:

Diaconu, I., Pârvulescu, O.C., **Topală, S.L.**, Dobre, T. (2021) *Effects of process factors on performances of liquid membrane-based transfer of indole-3-acetic acid*. Sci. Rep., 11(1), 23427, WOS:000727615800033 (Q1).

2.1.1.1. Materiale și metode

IAA, cloroform, TOA și NaOH, furnizate de Merck (Germania), au fost folosite ca reactivi de puritate analitică, fără purificare suplimentară.

2.1.1.2. Instalația experimentală și parametrii procesului

Schema instalației experimentale pentru studiul transferului IAA din faza de alimentare în faza de stripare este prezentată în figura 8. Instalația a constatat dintr-un tub exterior din sticlă, care a conținut soluția de alimentare în partea superioară și faza de membrană în partea inferioară, și un tub interior din sticlă, care a conținut soluția de stripare.

Diametrele tuburilor au fost:

- Tub exterior: diametru intern $D_{in} = 0,042$ m
- Tub interior: diametru extern $d = 0,021$ m și diametru intern $d_{in} = 0,019$ m

S-a presupus că fazele lichide sunt perfect amestecate, iar volumele lor au rămas constante pe durata procesului, *i.e.*:

- $V_F = 20 \times 10^{-6}$ m³
- $V_M = 50 \times 10^{-6}$ m³
- $V_S = 7 \times 10^{-6}$ m³

Procesul de transfer de masă s-a desfășurat după cum urmează:

- IAA a difuzat prin faza F către interfața dintre fazele F și M;

- TOA (L) a difuzat prin faza M către interfața F–M;
- IAA a reacționat cu L la interfața F–M, formând complexul IAA–L;
- Complexul IAA–L a difuzat prin faza M și a ajuns la interfața M–S, unde a avut loc decomplexarea;
- IAA a fost eliberat în faza S, iar L a difuzat înapoi în faza M.

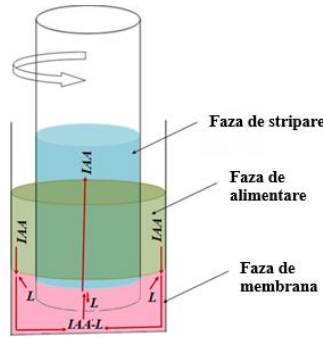


Figura 8. Schema instalației experimentale

Concentrațiile molare inițiale de IAA, TOA și NaOH în fazele j (F, M, S), *i.e.*, $c_{IAA,F0}$, $c_{L,M0}$ și $c_{NaOH,S0}$, au fost selectate ca variabile independente de proces (factori). Au fost efectuate 20 de experimente la diferite valori ale $c_{IAA,F0}$ (10^{-4} – 10^{-3} kmol/m³), $c_{L,M0}$ (10^{-2} și 10^{-1} kmol/m³) și $c_{NaOH,S0}$ (10^{-2} și 1 kmol/m³). Fiecare experiment a durat 4 h, la temperatura mediului ambiant, sub agitare mecanică a tubului interior (200 rpm).

Valorile finale (f) ale concentrației molare de IAA în soluția de alimentare ($c_{IAA,Ff,ex}$) și în soluția de stripare ($c_{IAA,Sf,ex}$), corespunzătoare timpului $\tau_f = 14400$ s, au fost determinate experimental cu un spectrofotometru LAMBDA 750 (PerkinElmer, SUA).

Eficiența extracției ($E_{F,ex}$), coeficientul de distribuție ($K_{D,ex}$) și eficiența de recuperare ($E_{R,ex}$) s-au calculat cu ecuațiile (1)–(3).

$$E_{F,ex} = 100 \frac{c_{IAA,F0} - c_{IAA,Ff,ex}}{c_{IAA,F0}} \quad (1)$$

$$K_{D,ex} = \frac{c_{IAA,F0} - c_{IAA,Ff,ex}}{c_{IAA,Ff,ex}} \quad (2)$$

$$E_{R,ex} = 100 \frac{c_{IAA,Sf,ex}}{c_{IAA,F0}} \quad (3)$$

Analiza statistică

Analiza de regresie multiplă și analiza de corelație au fost efectuate utilizând XLSTAT 2019.1 în Excel.

2.1.1.3. Modelare matematică

2.1.1.3.1. Modele statistice

Efectele factorilor procesului de pertracție ($c_{IAA,F0}$, $c_{NaOH,S0}$ și $c_{L,M0}$) asupra variabilelor dependente (răspunsurilor), *i.e.*, $c_{IAA,Ff}$, $c_{IAA,Sf}$, E_F , K_D , și E_R , au fost cuantificate utilizând modele statistice bazate pe un plan factorial 2^3 . Conform unui plan factorial 2^3 , au fost efectuate 8 experimente (1–8 în tabelul 2) la două niveluri (inferior și superior) pentru fiecare factor de proces. Valorile adimensionale ale factorilor procesului (x_1 , x_2 și x_3) au fost calculate cu ecuațiile (4)–(6), în care $c_{IAA,F0,cp} = 0,00055$ kmol/m³, $c_{NaOH,S0,cp} = 0,505$ kmol/m³ și $c_{L,M0,cp} = 0,055$ kmol/m³ reprezintă valori ale factorilor în centrul planului experimental.

$$x_1 = \frac{c_{IAA,F0} - 0,00055}{0,00045} \quad (4)$$

$$x_2 = \frac{c_{NaOH,S0} - 0,505}{0,495} \quad (5)$$

$$x_3 = \frac{c_{L,M0} - 0,055}{0,045} \quad (6)$$

Au fost efectuate suplimentar 4 experimente în centrul planului experimental (9–12 în Tabelul 2). Modelele statistice descrise de ecuația (7) cuantifică efectele factorilor adimensionali x_j ($j = 1 \dots 3$) și interacțiunilor lor (x_1x_2 , x_1x_3 , x_2x_3 , $x_1x_2x_3$) asupra răspunsurilor y_i ($i = 1 \dots 5$), *i.e.*: $y_1 = c_{IAA,Ff} \times 10^4$; $y_2 = c_{IAA,Sf} \times 10^3$; $y_3 = E_F$; $y_4 = K_D$; $y_5 = E_R$

Coeficienții de regresie β_{ki} ($k = 1 \dots 8$, $i = 1 \dots 5$) au fost determinați pe baza datelor experimentale din tabelul 2.

$$y_i = \beta_{1i} + \beta_{2i}x_1 + \beta_{3i}x_2 + \beta_{4i}x_3 + \beta_{5i}x_1x_2 + \beta_{6i}x_1x_3 + \beta_{7i}x_2x_3 + \beta_{8i}x_1x_2x_3 \quad (7)$$

2.1.1.3.2. Model bazat pe transfer de masă

Parametrii caracteristici ai procesului de transfer de masă în sistemul trifazic, *i.e.*, constanta de asociere în faza de membrană ($K_{as,M}$) și în faza de alimentare ($K_{as,F}$), constantele de repartiție ale speciilor IAA și L între membrană și soluția de alimentare ($R_{IAA,M/F}$ și $R_{L,M/F}$), constanta de repartiție

a speciei L între membrană și soluția de stripare ($R_{L,M/S}$) și constanta de extracție (K_{ext}), sunt definiți de ecuațiile (8)–(11), unde $c_{s,p}$ (kmol/m³) reprezintă concentrația molară a speciei s (IAA, L, IAA–L) în faza p (F, M, S).

$$K_{as,p} = \frac{c_{IAA-L,p}}{c_{IAA,p}c_{L,p}}, p = F, M \quad (8)$$

$$R_{IAA,M/F} = \frac{c_{IAA,M}}{c_{IAA,F}} \quad (9)$$

$$R_{L,M/p} = \frac{c_{L,M}}{c_{L,p}}, p = F, S \quad (10)$$

$$K_{ext} = \frac{c_{IAA-L,M}}{c_{IAA,F}c_{L,M}} \quad (11)$$

Bilanțul masic pentru specia L în sistemul trifazic, presupunând faze perfect amestecate, este exprimat prin ecuația (12), în care V_p (m³) este volumul fazei p (F, M, S), iar $c_{L,M0}$ (kmol/m³) concentrația molară inițială a speciei L în membrană. Împărțind termenii ecuației (12) la V_M , se obține ecuația (13), în care rapoartele volumelor $r_{M/p}$ ($p = F, S$) sunt definite de ecuația (14).

$$c_{L,M0}V_M = (c_{L,M} + c_{IAA-L,M})V_M + (c_{L,F} + c_{IAA-L,F})V_F + c_{L,S}V_S \quad (12)$$

$$c_{L,M0} = (c_{L,M} + c_{IAA-L,M}) + \frac{(c_{L,F} + c_{IAA-L,F})}{r_{M/F}} + \frac{c_{L,S}}{r_{M/S}} \quad (13)$$

$$r_{M/p} = \frac{V_M}{V_p}, p = F, S \quad (14)$$

Substituind ecuațiile (8)–(11) în ecuația (13), se obține ecuația (15), care exprimă concentrația inițială de ligand în membrană, $c_{L,M0}$. Parametrul H în ecuația (15) este definit de ecuația (16). Presupunând $H \approx 1$ ($R_{L,M/F}r_{M/F} \gg 1$ și $R_{L,M/S}r_{M/S} \gg 1$), concentrația complexului IAA–L în membrană, $c_{IAA-L,M}$, poate fi exprimată în funcție de $c_{L,M0}$, $c_{IAA,F}$ și K_{ext} prin ecuația (17).

$$c_{L,M0} = c_{IAA-L,M} \left(1 + \frac{H}{K_{ext}c_{IAA,F}} \right) \quad (15)$$

$$H = 1 + \frac{K_{as,F}c_{IAA,F}}{R_{L,M/F}r_{M/F}} + \frac{1}{R_{L,M/F}r_{M/F}} + \frac{1}{R_{L,M/S}r_{M/S}} \quad (16)$$

$$c_{IAA-L,M} = \frac{c_{L,M0}}{1 + \frac{1}{K_{ext}c_{IAA,F}}} \quad (17)$$

Fluxul molar total al IAA ($J_{IAA,tot}$) este definit de ecuația (18) ca sumă a fluxului molar al IAA liber (J_{IAA}) și a fluxului molar al IAA asociat (J_{IAA-L}). Presupunând $J_{IAA} \ll J_{IAA-L}$, $J_{IAA,tot}$ [kmol/(m²·s)] se poate calcula cu ecuația (19), în care $k_{IAA-L,M}$ (m/s) este coeficientul de transfer de masă al complexului IAA–L în faza de membrană.

Substituind ecuația (17) în ecuația (19) și considerând regim staționar cu flux mediu $J_{IAA,tot,m}$, se obține ecuația (20), în care $c_{IAA,F,m}$ reprezintă concentrația medie de IAA în faza de alimentare. Conform ecuației (20), parametrii $k_{IAA-L,M}$ și K_{ext} pot fi estimați din ordonata la origine

și panta dreptei obținute prin reprezentarea grafică a raportului $\frac{c_{L,M0}}{J_{IAA,tot,m}}$ în funcție de $\frac{1}{c_{IAA,F,m}}$.

Acești parametri au fost determinați pe baza testelor experimentale efectuate la diferite niveluri ale $c_{IAA,F0}$ (0,0001, 0,0003, 0,0006 și 0,001 kmol/m³), $c_{NaOH,S0}$ (0,01 și 1 kmol/m³) și $c_{L,M0}$ (0,01 și 0,1 kmol/m³).

$$J_{IAA,tot} = J_{IAA} + J_{IAA-L} \quad (18)$$

$$J_{IAA,tot} \approx J_{IAA-L} = k_{IAA-L,M} c_{IAA-L,M} \quad (19)$$

$$\frac{c_{L,M0}}{J_{IAA,tot,m}} = \frac{1}{k_{IAA-L,M}} + \frac{1}{k_{IAA-L,M} K_{ext}} \frac{1}{c_{IAA,F,m}} \quad (20)$$

2.1.1.4. Rezultate și discuții

2.1.1.4.1. Modele statistice

Valorile factorilor de proces (dimensionali și adimensionali) și rezultatele experimentale $c_{IAA,Ff,ex} = 0,02-1 \times 10^{-4}$ kmol/m³, $c_{IAA,Sf,ex} = 0,22-2,58 \times 10^{-3}$ kmol/m³, $E_{F,ex} = 90,0-97,9\%$, $K_{D,ex} = 9,0-46,6$ și $E_{R,ex} = 66,5-94,2\%$, sunt prezentate în tabelul 2, care evidențiază următoarele aspecte relevante:

- valori mai mici ale concentrației $c_{IAA,Ff,ex}$ la nivelul inferior al concentrației $c_{IAA,F0}$ și la nivelurile superioare ale concentrațiilor $c_{NaOH,S0}$ și $c_{L,M0}$; efectul concentrației $c_{IAA,F0}$ este de 12,5–14,3 ori mai mare;
- valori mai mari ale concentrației $c_{IAA,Sf,ex}$ la nivelurile superioare ale concentrațiilor $c_{IAA,F0}$ și $c_{NaOH,S0}$; efectul concentrației $c_{IAA,F0}$ este de 8,2–9,9 ori mai mare;
- valori mai mari ale parametrilor $E_{F,ex}$ și $K_{D,ex}$ la nivelul inferior al concentrației $c_{IAA,F0}$ și la nivelurile superioare ale concentrațiilor $c_{NaOH,S0}$ și $c_{L,M0}$;

- valori mai mari ale parametrului $E_{R,ex}$ la nivelul inferior al concentrației $C_{IAA,F0}$, la nivelul superior al concentrației $C_{NaOH,S0}$, și, cu excepția experimentelor 4 și 8, la nivelul superior al concentrației $C_{L,M0}$.

Creșterea concentrațiilor $C_{L,M0}$ și a $C_{NaOH,S0}$ determină o mărire a eficienței extracției și recuperării, precum și a coeficientului de distribuție. Un nivel mai mare al concentrației $C_{L,M0}$ determină o concentrație mai mare a complexului IAA–L în membrană, îmbunătățind transferul de masă. Pe de altă parte, un nivel mai mare al concentrației $C_{NaOH,S0}$ determină o intensificare a transferului de masă a complexului IAA–L datorită creșterii concentrației de ligand eliberat după decomplexare (Baylan, 2020; Baylan și Çehreli, 2018; Kaur și Vohra, 2010). De asemenea, s-a observat că E_F și E_R scad odată cu creșterea $C_{IAA,F0}$, în concordanță cu informațiile publicate în literatura de specialitate (Boateng et al., 2021).

Tabel 2. Matricea experimentală pentru experimentul 2^3 factorial

Exp.	$C_{IAA,F0}$ $\times 10^3$ (kmol/m ³)	$C_{NaOH,S0}$ $\times 10^3$ (kmol/m ³)	$C_{L,M0}$ $\times 10^3$ (kmol/m ³)	x_1	x_2	x_3	$C_{IAA,Ff,ex}$ $\times 10^4$ (kmol/m ³)	$C_{IAA,Sf,ex}$ $\times 10^3$ (kmol/m ³)	$E_{F,ex}$ (%)	$K_{D,ex}$	$E_{R,ex}$ (%)
1	0,1	10	10	-1	-1	-1	0,07	0,22	93,0	13,3	78,1
2	1	10	10	1	-1	-1	1,00	1,90	90,0	9,00	66,5
3	0,1	1000	10	-1	1	-1	0,03	0,26	97,0	32,3	91,0
4	1	1000	10	1	1	-1	0,42	2,58	95,8	22,8	90,2
5	0,1	10	100	-1	-1	1	0,04	0,24	96,0	24,0	85,1
6	1	10	100	1	-1	1	0,50	2,00	95,0	19,0	70,0
7	0,1	1000	100	-1	1	1	0,02	0,27	97,9	46,6	94,2
8	1	1000	100	1	1	1	0,28	2,37	97,2	34,7	83,0
9	0,55	505	55	0	0	0	0,25	1,11	95,5	21,3	70,6
10	0,55	505	55	0	0	0	0,26	1,08	95,3	20,3	68,7
11	0,55	505	55	0	0	0	0,23	1,15	95,8	22,8	73,2
12	0,55	505	55	0	0	0	0,24	1,13	95,7	22,3	71,9

Răspunsurile procesului s-au determinat în funcție de factorii adimensionali și interacțiunile acestora cu modelele statistice descrise de ecuațiile (21)–(25). Coeficienții de regresie, β_{ki} ($k = 1..8$, $i = 1..5$), care au fost determinați prin procesarea datelor experimentale prezentate în tabelul 2, împreună cu valorile corespunzătoare ale erorilor standard (SE_{ki}), statisticii t (t_{ki}) și p (p_{ki}).

Rezultatele tabelate indică faptul că datele calculate cu ecuațiile (21)–(24) sunt în bună concordanță cu datele experimentale ($R^2 \geq 0,966$, $R^2_{adj} \geq 0,906$, $RSE \leq 3,050$, $F \geq 16,13$, $p \leq 0,009$), iar datele calculate cu ecuația (25) nu sunt în bună concordanță cu datele experimentale ($R^2 =$

0,674, $R^2_{adj} = 0,104$, $RSE = 9,233$, $F = 1,182$, $p = 0,462$). De asemenea, toți factorii și interacțiunile lor binare și ternare din ecuația (25) sunt statistic nesemnificativi, *i.e.*, $p_{k5} > 0,05$ ($k = 2 \dots 8$). Ecuația de regresie (26), în care β_{k5} ($k = 1 \dots 10$) sunt coeficienții de regresie, a fost selectată pentru a exprima $y_5 = E_R$.

$$y_1 = c_{IAA,Ff} \times 10^4 = 0,278 + 0,255x_1 - 0,107x_2 - 0,085x_3 - 0,093x_1x_2 - 0,075x_1x_3 + 0,048x_2x_3 + 0,042x_1x_2x_3 \quad (21)$$

$$y_2 = c_{IAA,Sf} \times 10^3 = 1,193 + 0,982x_1 + 0,139x_2 - 0,010x_3 + 0,123x_1x_2 - 0,017x_1x_3 - 0,040x_2x_3 - 0,037x_1x_2x_3 \quad (22)$$

$$y_3 = E_F = 95,35 - 0,737x_1 + 1,738x_2 + 1,288x_3 + 0,262x_1x_2 + 0,313x_1x_3 - 0,712x_2x_3 - 0,188x_1x_2x_3 \quad (23)$$

$$y_4 = K_D = 24,04 - 3,839x_1 + 8,899x_2 + 5,863x_3 - 1,518x_1x_2 - 0,387x_1x_3 + 0,685x_2x_3 - 0,208x_1x_2x_3 \quad (24)$$

$$y_5 = E_R = 78,53 - 4,821x_1 + 7,341x_2 + 0,805x_3 + 1,829x_1x_2 - 1,733x_1x_3 - 1,820x_2x_3 - 0,834x_1x_2x_3 \quad (25)$$

$$y_5 = E_R = \beta_{15} + \beta_{25}x_1 + \beta_{35}x_2 + \beta_{45}x_3 + \beta_{55}x_1x_2 + \beta_{65}x_1x_3 + \beta_{75}x_2x_3 + \beta_{85}x_1^2 + \beta_{95}x_2^2 + \beta_{105}x_3^2 \quad (26)$$

Modelele statistice exprimate prin ecuațiile (21) și (27)–(30), obținute după eliminarea termenilor statistic nesemnificativi din ecuațiile (22)–(24) și (26), împreună cu rezultatele analizei de regresie multiplă, evidențiază următoarele aspecte:

- $c_{IAA,Ff}$ scade cu scăderea variabilelor x_1 , x_2x_3 și $x_1x_2x_3$ și cu creșterea variabilelor x_2 , x_3 , x_1x_2 și x_1x_3 ;
- $c_{IAA,Sf}$ crește cu creșterea variabilelor x_1 , x_2 și x_1x_2 ;
- E_F crește cu scăderea variabilelor x_1 și x_2x_3 și cu creșterea variabilelor x_2 și x_3 ;
- valorile mai mari ale parametrului K_D corespund valorilor mai mici ale factorului x_1 și valorilor mai mari ale factorilor x_2 și x_3 ;
- valorile mai mari ale parametrului E_R corespund valorilor mai mici ale factorului x_1 și valorilor mai mari ale variabilelor x_2 și x_2^2 ;
- factorul x_1 are cea mai semnificativă influență asupra concentrațiilor $c_{IAA,Ff}$ și $c_{IAA,Sf}$, în timp ce factorul x_2 influențează preponderent parametrii E_F , K_D și E_R ;
- datele calculate cu ecuațiile (21) și (27)–(30) sunt în bună concordanță cu datele experimentale ($R^2 \geq 0,905$, $R^2_{adj} \geq 0,870$, $RSE \leq 3,521$, $F \geq 25,47$, $p \leq 1,9 \cdot 10^{-4}$).

Ecuațiile rezultate după eliminarea termenilor nesemnificativi sunt:

$$y_2 = c_{IAA,Sf} \times 10^3 = 1,193 + 0,982x_1 + 0,139x_2 + 0,123x_1x_2 \quad (27)$$

$$y_3 = E_F = 95,35 - 0,737x_1 + 1,738x_2 + 1,288x_3 - 0,712x_2x_3 \quad (28)$$

$$y_4 = K_D = 24,04 - 3,839x_1 + 8,899x_2 + 5,863x_3 \quad (29)$$

$$y_5 = E_R = 71,11 - 4,821x_1 + 7,341x_2 + 11,13x_2^2 \quad (30)$$

2.1.1.4.2. Model bazat pe transfer de masă

Valorile experimentale ale concentrației $c_{IAA,Sf,ex}$, concentrației medii logaritmice $c_{IAA,F,m}$ calculate cu ecuația (31) și fluxului molar mediu $J_{IAA,tot,m}$ calculat cu ecuația (32) la diferite niveluri ale factorilor $c_{IAA,F0}$ (0,0001, 0,0003, 0,0006 și 0,001 kmol/m³), $c_{NaOH,S0}$ (0,01 și 1 kmol/m³) și $c_{L,M0}$ (0,01 și 0,1 kmol/m³) sunt prezentate în tabelul 14.

Tabel 14. Concentrația finală a IAA în soluția de stripare, concentrația medie logaritmică în faza de alimentare și fluxul molar mediu al IAA

No.	Exp.	$c_{IAA,F0} \times 10^3$ (kmol/m ³)	$c_{NaOH,S0} \times 10^3$ (kmol/m ³)	$c_{L,M0} \times 10^3$ (kmol/m ³)	$c_{IAA,Sf,ex} \times 10^3$ (kmol/m ³)	$c_{IAA,F,m} \times 10^3$ (kmol/m ³)	$J_{IAA,tot,m} \times 10^9$ [kmol/(m ² ·s)]
1	1	0,1	10	10	0,22	0,035	0,382
2	13	0,3	10	10	0,63	0,109	1,087
3	14	0,6	10	10	1,20	0,223	2,057
4	2	1	10	10	1,90	0,391	3,258
5	3	0,1	1000	10	0,26	0,038	0,446
6	15	0,3	1000	10	0,75	0,128	1,279
7	16	0,6	1000	10	1,42	0,281	2,439
8	4	1	1000	10	2,58	0,388	4,418
9	5	0,1	10	100	0,24	0,045	0,416
10	17	0,3	10	100	0,69	0,146	1,190
11	18	0,6	10	100	1,30	0,320	2,234
12	6	1	10	100	2,00	0,581	3,429
13	7	0,1	1000	100	0,27	0,033	0,460
14	19	0,3	1000	100	0,77	0,117	1,323
15	20	0,6	1000	100	1,51	0,249	2,586
16	8	1	1000	100	2,37	0,468	4,066

$$c_{IAA,F,m} = \frac{c_{IAA,F0} - c_{IAA,Ff,ex}}{\ln \left(\frac{c_{IAA,F0}}{c_{IAA,Ff,ex}} \right)} \quad (31)$$

$$J_{IAA,tot,m} = 4 \frac{c_{IAA,Sf,ex} V_S}{\pi d_{in}^2 \tau_f} \quad (32)$$

Conform ecuației (20), coeficientul de transfer de masă al complexului IAA–L în membrana lichidă, $k_{IAA-L,M} = 0,82 - 11,5 \times 10^{-7}$ m/s, și constanta de extracție, $K_{ext} = 1033,91 - 1779,66$ m³/kmol, au fost determinate din valorile ordonate la origine și a pantei dreptelor reprezentate în Figura 9 ($c_{L,M0}/J_{IAA,tot,m}$ în funcție de $1/c_{IAA,F,m}$). Datele din tabelul 15 indică următoarele:

- $k_{IAA-L,M}$ crește cu creșterea $c_{NaOH,S0}$ (până la 5%) și scade cu creșterea $c_{L,M0}$ (de aproximativ 14 ori);
- K_{ext} crește cu creșterea $c_{NaOH,S0}$ (până la 40%) și $c_{L,M0}$ (până la 70%);

Efectele factorilor adimensionali x_2 și x_3 asupra parametrilor $k_{IAA-L,M}$ și K_{ext} pot fi evaluate pe baza ecuațiilor (33) și (34) ($R^2 = 1$, $RSE = 0$). Ecuația (34) indică o creștere a parametrului K_{ext} cu creșterea factorilor x_2 și x_3 și a interacțiunii x_2x_3 , efectul lui x_3 fiind dominant. Ecuația (33) indică faptul că influența factorului x_3 asupra parametrului $k_{IAA-L,M,calc}$ este de peste 30 de ori mai mare decât cea a factorului x_2 și a interacțiunii x_2x_3 . Neglijând contribuția factorului x_2 și interacțiunii x_2x_3 în ecuația (33), s-a obținut ecuația (35). Conform ecuației (35), coeficientul de transfer de masă este mai mare la valori mai mici ale concentrației inițiale de TOA în faza de membrană.

$$y = k_{IAA-L,M,calc} \times 10^7 = 6,0 + 0,158x_2 - 5,2x_3 - 0,142x_2x_3 \quad (33)$$

$$K_{ext,calc} = 1281,69 + 140,21x_2 + 232,67x_3 + 125,09x_2x_3 \quad (34)$$

$$y = 6,0 - 5,2x_3 \quad (35)$$

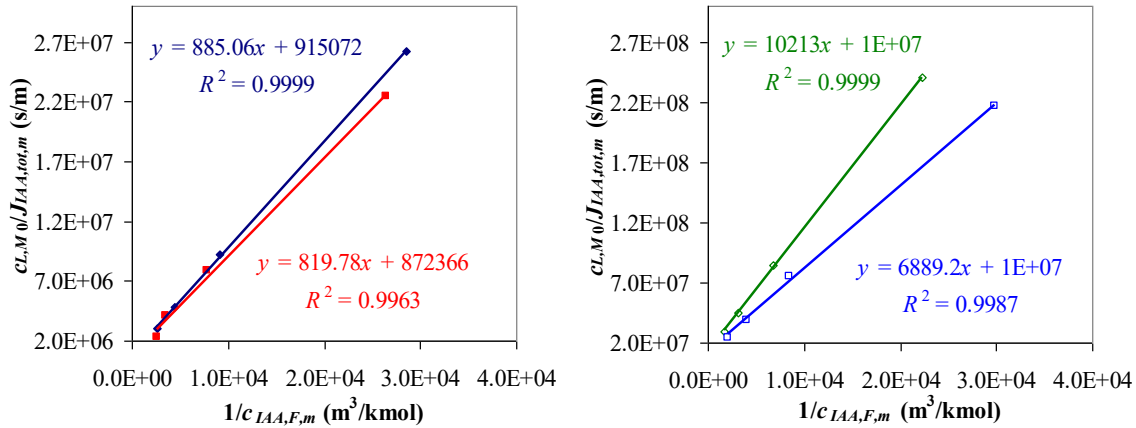


Figura 9. Variația raportului $c_{L,M0}/J_{IAA,tot,m}$ în funcție de $1/c_{IAA,F,m}$ în diferite condiții de operare:
 ♦ $c_{L,M0} = 0,01$ kmol/m³, $c_{NaOH,S0} = 0,01$ kmol/m³; ■ $c_{L,M0} = 0,01$ kmol/m³, $c_{NaOH,S0} = 1$ kmol/m³; ◇ $c_{L,M0} = 0,1$ kmol/m³, $c_{NaOH,S0} = 0,01$ kmol/m³; □ $c_{L,M0} = 0,1$ kmol/m³, $c_{NaOH,S0} = 1$ kmol/m³ ($c_{IAA,F0} = 10^{-4}$ - 10^{-3} kmol/m³, $\tau_f = 14400$ s)

Tabel 15. Valori ale coeficientului de transfer de masă al complexului IAA-L în membrana lichidă și ale constantei de extracție la diferite niveluri ale factorilor procesului

$c_{IAA,F0}$ (kmol/m ³)	$c_{NaOH,S0}$ (kmol/m ³)	$c_{L,M0}$ (kmol/m ³)	x_2	x_3	$k_{IAA-L,M} \times 10^7$ (m/s)	K_{ext} (m ³ /kmol)
10^{-4} - 10^{-3}	0,01	0,01	-1	-1	10,90	1033,91
10^{-4} - 10^{-3}	1	0,01	1	-1	11,50	1064,14
10^{-4} - 10^{-3}	0,01	0,1	-1	1	0,784	1249,06
10^{-4} - 10^{-3}	1	0,1	1	1	0,816	1779,66

2.1.1.5. Concluzii

Fiecare experiment a durat 4 h, la temperatura mediului ambiant, cu agitare mecanică (200 rpm) a tubului interior. Efectele factorilor adimensionali asupra răspunsurilor procesului, *i.e.*, valorile finale ale concentrației molare ale IAA în faza de alimentare ($c_{IAA,Ff}$) și soluția de stripare ($c_{IAA,Sf}$), eficiența de extracție (E_F), coeficientul de distribuție (K_D) și eficiența de recuperare (E_R), au fost cuantificate prin modele statistice bazate pe un plan factorial 2^3 . Valorile experimentale au fost: $c_{IAA,Ff,ex} = 0,02-1 \times 10^{-4}$ kmol/m³; $c_{IAA,Sf,ex} = 0,22-2,58 \times 10^{-3}$ kmol/m³; $E_{F,ex} = 90,0-97,9\%$; $K_{D,ex} = 9,0-46,6$; $E_{R,ex} = 66,5-94,2\%$

Luând în considerare factorii semnificativi statistic și interacțiunile acestora, rezultatele analizei de regresie au indicat următoarele aspecte:

- toți factorii și interacțiunile lor binare și terțiare au influențat semnificativ concentrația $c_{IAA,Ff}$;
- $c_{IAA,Sf}$ a crescut cu creșterea factorilor $c_{IAA,F}$, $c_{NaOH,S0}$ și a interacțiunii lor;
- valori mai mari ale parametrilor E_F și K_D au fost obținute la valori mai mici ale factorului $c_{IAA,F0}$ și valori mai mari ale factorilor $c_{L,M0}$ și $c_{NaOH,S0}$;
- valori mai mari ale eficienței E_R au fost obținute la valori mai mici ale factorului $c_{IAA,F0}$ și valori mai mari ale factorului $c_{NaOH,S0}$;
- factorul $c_{IAA,F0}$ a avut un efect pozitiv puternic asupra concentrațiilor $c_{IAA,F}$ și $c_{IAA,Sf}$, iar factorul $c_{NaOH,S0}$ a avut un efect pozitiv puternic asupra parametrilor E_F , K_D și E_R ;
- parametrii E_F și K_D au fost corelați pozitiv foarte puternic ($r = 0,95$).

Rezultatele obținute în acest studiu au demonstrat că IAA poate fi transportat eficient printr-o membrană lichidă de cloroform, utilizând TOA ca ligand. Modelele matematice dezvoltate pot fi utilizate pentru controlul și optimizarea proceselor de separare a IAA în sisteme cu membrane lichide.

2.1.2. CINETICA PROCESULUI DE PERTRACȚIE FACILITATĂ

Acest studiu a avut ca scop evaluarea factorilor de proces asupra cineticii procesului de transfer a acidului indol-3-acetic (IAA) printr-o membrană lichidă pe bază de cloroform, utilizând trioctilamina (TOA) ca agent purtător. Datele prezentate în acest capitol vor fi publicate în articolul:

Topală, S.L., Diaconu, I., Pârvulescu, O.C., Jidveian, R.S., Drăghici-Popa, A.M. (2025) *Facilitated pertraction of indole 3-acetic acid in the presence of trioctylamine as a carrier*. U.P.B. Sci. Bull. Series B 2024, 87(4) (acceptat spre publicare).

2.1.2.1. Materiale și metode

Materialele și metodele au fost prezentate în capitolul 2.1.1.1.

2.1.2.2. Instalația experimentală și parametrii procesului

Experimentele de pertracție facilitată au fost efectuate în celula de transfer tip “tub în tub” prezentată în capitolul 2.1.1.2, utilizând aceleași volume ale celor 3 faze (F, M și S). Tubul interior a conținut soluția de stripare cu NaOH, iar tubul exterior faza de membrană și soluția de alimentare cu IAA. Au fost efectuate 6 experimente, fiecare din ele având loc timp de 4 h, la temperatura mediului ambiat și la diferite valori ale concentrațiilor inițiale: $c_{IAA,F0} = 10^{-4}$ – 10^{-3} kmol/m³; $c_{L,M0} = 10^{-2}$ kmol/m³; $c_{NaOH,S0} = 10^{-2}$ – 1 kmol/m³

Concentrațiile molare ale IAA în fazele F și S la un moment t , *i.e.*, $c_{IAA,F}(t)$ și $c_{IAA,S}(t)$, au fost măsurate cu ajutorul spectrofotometrului UV1900i (Shimadzu, Kyoto, Japonia). Concentrația molară de IAA în faza M la momentul t , *i.e.*, $c_{IAA,M}(t)$, a fost calculată pe baza bilanțului de masă folosind ecuația (36).

Cantitățile specifice de IAA în fazele F, M și S la momentul t , *i.e.*, $R_F(t)$, $R_M(t)$ și $R_S(t)$, sunt definite de ecuațiile (37)–(39), iar ecuația (40) a rezultat prin substituirea acestora în ecuația (36).

$$c_{IAA,M}(t)V_M = c_{IAA,F0}V_F - c_{IAA,F}(t)V_F - c_{IAA,S}(t)V_S \quad (36)$$

$$R_F(t) = \frac{c_{IAA,F}(t)V_F}{c_{IAA,F0}V_F} = \frac{c_{IAA,F}(t)}{c_{IAA,F0}} \quad (37)$$

$$R_M(t) = \frac{c_{IAA,M}(t)V_M}{c_{IAA,F0}V_F} \quad (38)$$

$$R_S(t) = \frac{c_{IAA,S}(t)V_S}{c_{IAA,F0}V_F} \quad (39)$$

$$R_F(t) + R_M(t) + R_S(t) = 1 \quad (40)$$

2.1.2.3. Modelare matematică

Un model cinetic bazat pe reacții consecutive ireversibile de ordinul întâi (schema (41)), caracterizat de ecuațiile (42)–(44), unde k_1 și k_2 sunt constantele de reacție, a fost ales pentru a descrie procesul de transfer de masă al IAA în sistemul membranal. Variația în timp a cantităților specifice de IAA în fazele F, M și S este exprimată prin ecuațiile (45)–(47). Ecuațiile (45) și (46) au fost obținute prin integrarea ecuațiilor (42) și (43). Ecuația (47) a rezultat prin substituirea ecuațiilor (45) și (46) în ecuația (40). Valoarea maximă a funcției $R_M(t)$ definită de ecuația (46), *i.e.*, $R_{M,\max}(t_{\max})$, și timpul t corespunzător, *i.e.*, $t_{\max}$, sunt exprimate prin ecuațiile (48) și (49).



$$\frac{dR_F(t)}{dt} = -k_1 R_F(t) \quad (42)$$

$$\frac{dR_M(t)}{dt} = k_1 R_F(t) - k_2 R_M(t) \quad (43)$$

$$\frac{dR_S(t)}{dt} = k_2 R_M(t) \quad (44)$$

$$R_F(t) = e^{-k_1 t} \quad (45)$$

$$R_M(t) = \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (46)$$

$$R_S(t) = 1 - R_F(t) - R_M(t) = 1 - \frac{1}{k_2 - k_1} (k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}) \quad (47)$$

$$R_{M,\max}(t_{\max}) = \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{k_2}{k_1 - k_2}} \quad (48)$$

$$t_{\max} = \frac{\ln\left(\frac{k_1}{k_2}\right)}{k_1 - k_2} \quad (49)$$

Constantele cinetice k_1 și k_2 au fost determinate pe baza datelor experimentale cu ajutorul funcției Excel Solver. Constanta vitezei de extracție (k_1) a fost calculată prin minimizarea sumei pătratelor reziduurilor SSR_1 definită de ecuația (50), în care $R_{F,ex}(t_i)$ și $R_{F,pred}(t_i)$ sunt valorile experimentale și prezise (calculate) ale cantității specifice de IAA în faza F la $t_i = 1800 \cdot i$ ($i = 0, 1 \dots 8$). Constanta vitezei de stripare (k_2) a fost determinată prin minimizarea sumei pătratelor

reziduurilor SSR_2 definită de ecuația (51), în care $R_{S,ex}(t_i)$ și $R_{S,pred}(t_i)$ sunt valorile experimentale și prezise ale cantității specifice de IAA în faza S la t_i .

$$SSR_1 = \sum_{i=0}^8 [R_{F,ex}(t_i) - R_{F,pred}(t_i)]^2 \quad (50)$$

$$SSR_2 = \sum_{i=0}^8 [R_{S,ex}(t_i) - R_{S,pred}(t_i)]^2 \quad (51)$$

Valorile finale (la $t_f = 4 \text{ h} = 14400 \text{ s}$) ale eficiențelor de extracție, stripare și recuperare ale IAA, *i.e.*, E_{Ef} , E_{Sf} și E_{Rf} , sunt exprimate prin ecuațiile (52)–(54), în care $c_{IAA,Ff}$, $c_{IAA,Sf}$, R_{Ff} și R_{Sf} sunt concentrațiile molare finale de IAA în fazele F și S, respectiv cantitățile specifice finale de IAA în aceste faze.

$$E_{Ef} = 100 \left(1 - \frac{c_{IAA,Ff}}{c_{IAA,F0}} \right) = 100(1 - R_{Ff}) \quad (52)$$

$$E_{Sf} = \frac{100c_{IAA,Sf}V_S}{(c_{IAA,F0} - R_{Ff}c_{IAA,F0})V_F} = \frac{100c_{IAA,Sf}V_S}{(1 - R_{Ff})c_{IAA,F0}V_F} = \frac{100R_{Sf}}{1 - R_{Ff}} = 10000 \frac{R_{Sf}}{E_{Ef}} \quad (53)$$

$$E_{Rf} = 100 \frac{c_{IAA,Sf}V_S}{c_{IAA,F0}V_F} = 100R_{Sf} = \frac{E_{Ef}E_{Sf}}{100} \quad (54)$$

2.1.2.4. Rezultate și discuții

Parametrii caracteristici ai ecuațiilor (45)–(47), *i.e.*, k_1 , k_2 , $t_{\max}$ și $R_{M,max}$, sunt prezentați în tabelele 17 și 18, care conțin și valorile sumei pătratelor reziduurilor (SSR_1 și SSR_2), sumei totale a pătratelor (SST_1 și SST_2) definită de ecuațiile (55) și (56) și coeficientului de determinare (R_1^2 și R_2^2) definit de ecuațiile (57) și (58).

$$SST_1 = \sum_{i=0}^8 \left[R_{F,ex}(t_i) - \frac{\sum_{i=0}^8 R_{F,ex}(t_i)}{9} \right]^2 \quad (55)$$

$$SST_2 = \sum_{i=0}^8 \left[R_{S,ex}(t_i) - \frac{\sum_{i=0}^8 R_{S,ex}(t_i)}{9} \right]^2 \quad (56)$$

$$R_1^2 = 1 - \frac{SSR_1}{SST_1} \quad (57)$$

$$R_2^2 = 1 - \frac{SSR_2}{SST_2} \quad (58)$$

Tabel 17. Parametrii caracteristici ai modelului cinetic ($C_{NaOH,S0} = 1 \text{ kmol/m}^3$)

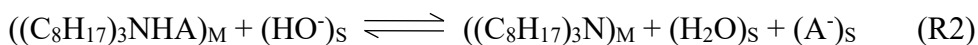
$C_{IAA,F0} \text{ (kmol/m}^3\text{)}$ Parametru	10^{-4}	3×10^{-4}	6×10^{-4}	10^{-3}
SSR_1	0,019	0,028	0,029	0,003
SST_1	0,757	0,935	0,896	0,825
R_1^2	0,975	0,970	0,967	0,996
$k_1 \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	3,64	2,12	1,93	2,17
SSR_2	0,018	0,016	0,017	0,002
SST_2	0,863	0,752	0,724	0,658
R_2^2	0,980	0,979	0,977	0,998
$k_2 \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	3,12	4,02	4,18	2,00
$R_{M,max}$	0,397	0,258	0,238	0,383
$t_{max} \text{ (s)}$	2968	3368	3434	4802

Tabel 18. Parametrii caracteristici ai modelului cinetic ($C_{IAA,F0} = 10^{-4} \text{ kmol/m}^3$)

$C_{NaOH,S0} \text{ (kmol/m}^3\text{)}$ Parametru	10^{-2}	10^{-1}	1
SSR_1	0,012	0,012	0,019
SST_1	0,858	0,807	0,757
R_1^2	0,986	0,985	0,975
$k_1 \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	2,32	3,53	3,64
SSR_2	0,035	0,014	0,018
SST_2	0,669	0,798	0,863
R_2^2	0,948	0,983	0,980
$k_2 \times 10^4 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	2,68	2,30	3,12
$R_{M,max}$	0,342	0,449	0,397
$t_{max} \text{ (s)}$	4005	3485	2968

Rezultatele prezentate în tabelele 17 și 18 evidențiază o foarte bună concordanță între datele experimentale și cele prezise ($R_1^2 = 0,967\text{--}0,996$ și $R_2^2 = 0,948\text{--}0,998$). Valorile constantelor

de viteză pentru procesele de extracție și stripare, *i.e.*, $k_1 = (1,93-3,64) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ și $k_2 = (2,00-4,18) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, au fost similare, ceea ce sugerează că ambele reacții care se desfășoară la interfața dintre fazele F și M (R_1) și interfața dintre fazele M și S (R_2) sunt etape determinante de viteză în procesul de transfer de masă al IAA. De asemenea, t_{max} (momentul de timp la care cantitatea specifică de IAA în faza M este maximă) a crescut cu creșterea factorului $c_{IAA,F0}$ și scăderea factorului $c_{NaOH,S0}$.

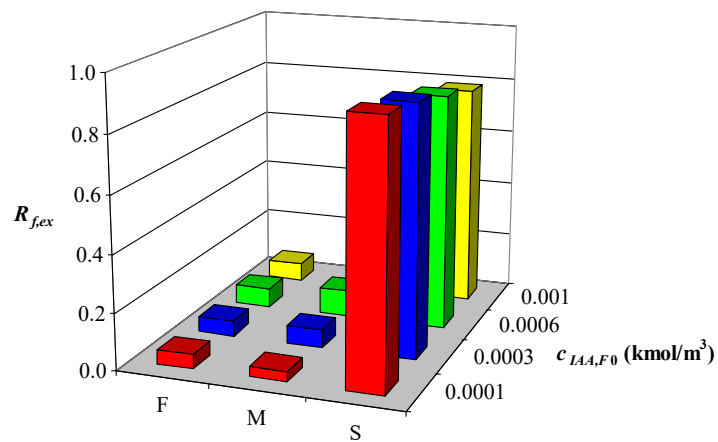


Influența valorilor inițiale ale factorilor $c_{IAA,F0}$ (10^{-4} – 10^{-3} kmol/m^3) și $c_{NaOH,S0}$ asupra parametrilor $R_{Ff,ex}$, $R_{Mf,ex}$, $R_{Sf,ex}$, $E_{Ef,ex}$, $E_{Sf,ex}$ și $E_{Rf,ex}$ ($c_{L,M0} = 10^{-2} \text{ kmol/m}^3$, $v = 200 \text{ rpm}$ și $t_f = 4 \text{ h}$) este ilustrată în figurile 11 și 12. Valoarea maximă a $R_{Sf,ex}$ ($R_{Sf,ex,max} = 0,911$), corespunzătoare valorilor maxime ale parametrilor $E_{Ef,ex}$ (94,81%), $E_{Sf,ex}$ (96,08%) și $E_{Rf,ex}$ (91,09%), a fost obținută la nivelul minim al factorului $c_{IAA,F0}$ (10^{-4} kmol/m^3) și nivelul maxim al factorului $c_{NaOH,S0}$ (1 kmol/m^3).

Valorile $R_{Sf,ex}$ pentru celelalte niveluri ale factorului $c_{IAA,F0}$ (3×10^{-4} – 10^{-3} kmol/m^3), *i.e.*, 0,790–0,882, au fost cu 3–15% mai mici decât $R_{Sf,ex,max} = 0,911$ (figura 11a). Creșterea concentrației $c_{IAA,F0}$ (de la 10^{-4} kmol/m^3 la 10^{-3} kmol/m^3) a avut un efect negativ asupra parametrilor $E_{Sf,ex}$ și $E_{Rf,ex}$ (care au scăzut de la 96,08% la 84,54%, respectiv de la 91,09% la 79,04%), dar un efect neglijabil asupra parametrului $E_{Ef,ex}$ (93,17–94,81%) (figura 11b).

Valorile $R_{Sf,ex}$ pentru celelalte niveluri ale factorului $c_{NaOH,S0}$ (10^{-2} kmol/m^3 și 10^{-1} kmol/m^3), *i.e.*, 0,781 și 0,851, au fost semnificativ mai mici (cu 7,1% și 16,6%) decât $R_{Sf,ex,max} = 0,911$ (figura 12a). Creșterea factorului $c_{NaOH,S0}$ (de la 10^{-2} kmol/m^3 la 1 kmol/m^3) a avut un efect pozitiv semnificativ asupra $E_{Sf,ex}$ și $E_{Rf,ex}$ (care au crescut de la 83,87% la 96,08%, respectiv de la 78,14% la 91,09%), dar un efect neglijabil asupra $E_{Ef,ex}$ (93,17–94,81%) (figura 12b).

De asemenea, $E_{Sf,ex}$ și $E_{Rf,ex}$ au fost corelate pozitiv foarte puternic ($r = 0,998$).



(a)

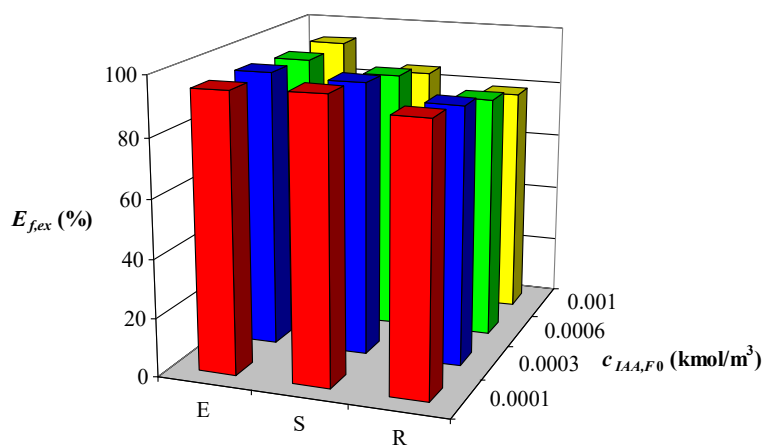
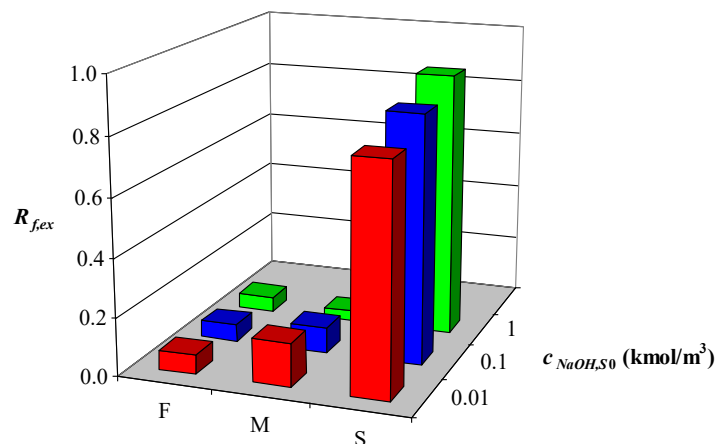


Figura11. Efectele concentrației inițiale ale IAA în faza de alimentare ($c_{IAA,F0}$) asupra valorilor finale ale: (a) cantităților specifice de IAA în fazele de alimentare (F), membrană lichidă (M) și stripare (S); (b) eficienței proceselor de extracție (E), stripare (S) și recuperare (R) a IAA ($c_{L,M0} = 10^{-2} \text{ kmol/m}^3$, $c_{NaOH,S0} = 1 \text{ kmol/m}^3$, $v = 200 \text{ rpm}$ și $t_f = 4 \text{ h}$)



(a)

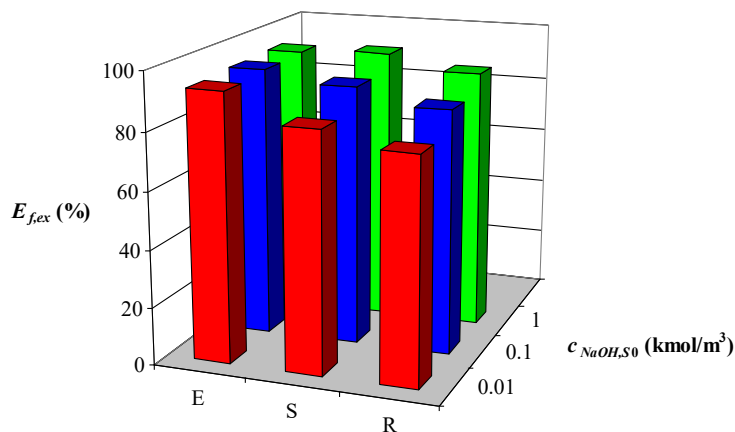


Figura 12. Efectele concentrației inițiale de NaOH în faza de stripare ($c_{NaOH,S0}$) asupra valorilor finale ale: (a) cantităților specifice de IAA în fazele de alimentare (F), membrană lichidă (M) și stripare (S); (b) eficienței proceselor de extracție (E), stripare (S) și recuperare (R) a IAA ($c_{IAA,F0} = 10^{-4}$ kmol/m³, $c_{L,M0} = 10^{-2}$ kmol/m³, $v = 200$ rpm și $t_f = 4$ h)

2.1.1.5. Concluzii

A fost utilizat un model cinetic bazat pe reacții consecutive ireversibile de ordinul întâi pentru a prezice cantitățile specifice de IAA în fazele F, M și S. Parametrii ajustabili ai modelului, *i.e.*, constante de viteză ale proceselor de extracție și stripare, $k_1 = (1,93\text{--}3,64) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ și $k_2 = (2,00\text{--}4,18) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, au fost identificați pe baza datelor experimentale. Valorile similare ale parametrilor cinetici k_1 și k_2 sugerează că atât reacția de complexare de la interfața dintre fazele F și M, cât și reacția de decomplexare de la interfața dintre fazele M și S au fost etape determinante de viteză. Rezultatele au indicat o bună concordanță între datele experimentale și cele prezise ($R^2 = 0,948\text{--}0,998$).

Valoarea finală maximă (la $t_f = 4$ h) a cantității specifice de IAA în faza S ($R_{sf,ex} = 0,911$), corespunzătoare valorilor maxime ale eficienței de extracție ($E_{Ef,ex} = 94,81\%$), stripare ($E_{Sf,ex} = 96,08\%$) și recuperare ($E_{Rf,ex} = 91,09\%$), a fost obținută la $c_{IAA,F0} = 10^{-4}$ kmol/m³ și $c_{NaOH,S0} = 1$ kmol/m³.

2.2. EXTRAȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN PLANTE

2.2.1. OPTIMIZAREA EXTRAȚIEI ASISTATE DE ULTRASUNETE (UAE) ȘI A EXTRAȚIEI ASISTATE DE MICROUND (MAE) A PIGMENȚILOR DE CLOROFILĂ ȘI CAROTENOIZILOR DIN FRUNZELE DE MENTĂ ROMÂNEASCĂ (*MENTHA* × *PIPERITA* L.)

Acest studiu a avut ca scop optimizarea extracției asistate de ultrasunete (UAE) și a extracției asistate de microunde (MAE) a pigmenților de clorofilă și carotenoizilor din frunzele de mentă (*Mentha* × *piperita* L.), utilizând soluții apoase de etanol ca solvenți de extracție. Datele prezentate în acest capitol vor fi publicate în articolul:

Roșu, A.M., Aruș, V.A., Răducanu, D., Platon, N., Georgescu, A.M., Muntianu, G., Nistor, I.D., **Topală, S.L.**, Pârvulescu, O.C. (2025) *Optimization of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted extraction of bioactive compounds from Romanian peppermint (Mentha × piperita L.)*. (lucrare în manuscris).

2.2.1.1. Materiale și metode

2.2.1.1.1. Material vegetal

Frunzele de mentă uscate au fost furnizate de Dacia Plant (România). Materialul vegetal a fost măcinat, trecut printr-o sită de 20 mesh (0,841 mm) și mărunțit cu pistilul într-un mojar.

2.2.1.1.2. Procedura de extracție

Conform unui plan experimental CCD (Central Composite Design) cu două variabile independente (factori) și patru experimente în centrul planului experimental, au fost efectuate douăsprezece experimente pentru fiecare metodă de extracție, la cinci niveluri ale factorilor de proces, *i.e.*, concentrația masică procentuală de etanol în solventul de extracție ($c_{et} = 44\text{--}86\%$) și raportul lichid (solvent de extracție)/solid (material vegetal uscat) ($R_{LS} = 5,9\text{--}34,1$ mL/g) (Egri et al., 2022; Moț et al., 2024). Nivelurile factorilor dimensionali, precum și cele ale factorilor

adimensionali (X_1 și X_2), care au fost calculate folosind ecuațiile (57) și (58), sunt prezentate în tabelul 19.

Tabel 19. Nivelurile factorilor dimensionali și adimensionali pentru UAE și MAE

Exp.	c_{et} (%)	R_{LS} (mL/g)	X_1	X_2
1	50	10	-1	-1
2	50	30	-1	1
3	80	10	1	-1
4	80	30	1	1
5	65	20	0	0
6	65	20	0	0
7	44	20	-1,414	0
8	86	20	1,414	0
9	65	5,9	0	-1,414
10	65	34,1	0	1,414
11	65	20	0	0
12	65	20	0	0

$$X_1 = \frac{c_{et} - 65}{15} \quad (57)$$

$$X_2 = \frac{R_{LS} - 20}{10} \quad (58)$$

Concentrațiile de clorofilă a și b și concentrația totală de carotenoizi din extractele hidroalcoolice de mentă (CaC , CbC și TCC) au fost determinate cu ajutorul unui spectrofotometru UV-3100PC (VWR International, Avantor, Inc., Radnor, Pennsylvania, SUA), la lungimile de undă de 470, 649 și 664 nm, utilizând ecuațiile (59)–(61), în care A_{470} , A_{649} și A_{664} reprezintă absorbțiile extractului la 470, 649 și 664 nm. Analizele au fost realizate în triplu exemplar, iar rezultatele au fost exprimate în mg/L.

$$CaC = 13,36 A_{664} - 5,19 A_{649} \quad (59)$$

$$CbC = 27,43 A_{649} - 8,12 A_{664} \quad (60)$$

$$TCC = \frac{1000 A_{470} - 2,13 CaC - 97,63 CbC}{209} \quad (61)$$

2.2.1.2. Evaluarea activității antibacteriene a extractelor hidroalcoolice de mentă

Testul de difuziune Kirby-Bauer a fost utilizat pentru evaluarea activității antibacteriene a extractelor de mentă împotriva *E. coli* (Hudzicki, 2009).

Discurile au fost preparate din membrane din celuloză regenerată Whatman (dimensiune pori de 0,45 μ m și diametru disc de 5 mm), au fost sterilizate prin autoclavare, uscate și păstrate

într-un desicator până la utilizare. Agarul Mueller-Hinton (MHA) a fost utilizat ca mediu de cultură, iar bulionul Mueller-Hinton (MHB) pentru pregătirea inoculului. MHA și MHB au fost furnizate de Merck KGaA (Darmstadt, Germania).

Activitatea antibacteriană a fost determinată prin măsurarea diametrului zonei de inhibiție (d) cu ajutorul unui șubler digital (Verke V86000, Polonia). Toate testele au fost realizate în triplu exemplar. Efectele antibacteriene ale extractelor de mentă obținute prin UAE și MAE împotriva *E. coli* pentru câteva experimente (tabelul 19) pot fi vizualizate în figura 13.

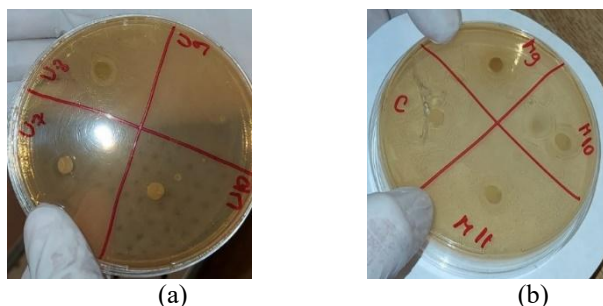


Figura 13. Efectul antibacterian al extractelor din frunze de mentă obținute prin UAE (a) și MAE (b) împotriva *E. coli*.

2.2.1.3. Proiectarea experimentelor, analiza statistică și optimizarea procesului de extracție

În conformitate cu un plan experimental CCD cu doi factori și patru experimente în centrul planului experimental, au fost efectuate douăsprezece experimente pentru fiecare metodă de extracție. Toate măsurătorile au fost realizate în triplu exemplar, iar rezultatele au fost prezentate fie ca valori medii, fie ca valori medii $\pm$ abateri standard (*SD*). Analiza statistică și optimizarea factorilor procesului de extracție au fost realizate utilizând software-ul STATISTICA 10 (Stat Soft Inc., Tulsa, SUA).

2.2.1.4. Rezultate și discuții

2.2.1.4.1. UAE

Efectele factorilor adimensionali ai UAE (X_1 și X_2) și ai interacțiunilor acestora asupra variabilelor de răspuns prezise ($Y_{j,pr,UAE}$, $j = 1 \dots 4$), *i.e.*: $Y_{1,pr,UAE} = CaC_{pr,UAE}$; $Y_{2,pr,UAE} = CbC_{pr,UAE}$; $Y_{3,pr,UAE} = TCC_{pr,UAE}$; $Y_{4,pr,UAE} = d_{pr,UAE}$ au fost cuantificate utilizând modelele statistice descrise de ecuația (62).

$$Y_{j,pr,UAE} = a_{0j} + a_{1j}X_1 + a_{11j}X_1^2 + a_{2j}X_2 + a_{22j}X_2^2 + a_{12j}X_1X_2, \quad j=1\ldots 4 \quad (62)$$

Valorile coeficienților de regresie din ecuația (62) (a_{0j} , a_{1j} , a_{11j} , a_{2j} , a_{22j} și a_{12j}) au fost determinate pe baza valorilor medii experimentale (corespunzătoare măsurărilor în triplu exemplar) ale variabilelor de răspuns ($Y_{j,m,UAE}$, $j = 1\ldots 4$), care sunt specificate în tabelul 20.

Valorile coeficienților de regresie din ecuația (62), coeficienților de determinare (R_j^2), coeficienților de determinare ajustați ($R_{j,adj}^2$), statisticii Fisher (F_j) și valorile p_j pentru F_j la diferite niveluri ale factorilor dimensionali și adimensionali ai procesului, specificate în tabelul 20, evidențiază următoarele aspecte:

- un efect pozitiv semnificativ al factorului X_1 asupra variabilelor de răspuns $Y_{1,pr,UAE}$, $Y_{2,pr,UAE}$ și $Y_{3,pr,UAE}$;
- un efect pozitiv semnificativ al factorului X_1 și un efect negativ semnificativ al factorului X_2 asupra variabilei $Y_{4,pr,UAE}$;
- o concordanță bună între valorile experimentale și cele prezise ale variabilelor de răspuns ale procesului ($0,805 \leq R_j^2 \leq 0,884$, $0,642 \leq R_{j,adj}^2 \leq 0,788$, $4,945 \leq F_j \leq 9,161$ și $0,009 \leq p_j \leq 0,039$ pentru $j = 1\ldots 4$).

Tabelul 20. Valorile medii experimentale ale variabilelor de răspuns ale procesului ($Y_{j,m,UAE}$, $j = 1\ldots 4$) și valorile asociate ale coeficienților de regresie (a_{0j} , a_{1j} , a_{11j} , a_{2j} , a_{22j} și a_{12j}), coeficientului de determinare (R_j^2), coeficientului de determinare ajustat ($R_{j,adj}^2$), statisticii Fisher (F_j) și valorii p_j pentru F_j la diferite niveluri ale factorilor dimensionali și adimensionali ai procesului UAE.

Exp.	C_{et} (%)	R_{LS} (Ml/g)	X_1	X_2	$Y_{1,m,UAE} =$ $CaC_{m,UAE}$ (mg/L)	$Y_{2,m,UAE} =$ $CbC_{m,UAE}$ (mg/L)	$Y_{3,m,UAE} =$ $TCC_{m,UAE}$ (mg/L)	$Y_{4,m,UAE} =$ $d_{m,UAE}$ (mm)
1	50	10	-1	-1	13,02	8,799	6,484	9,54
2	50	30	-1	1	1,214	0,809	4,948	9,12
3	80	10	1	-1	38,72	27,05	9,495	13,7
4	80	30	1	1	22,40	16,18	7,304	11,8
5	65	20	0	0	21,86	15,81	7,231	10,5
6	65	20	0	0	22,05	15,94	7,256	10,8
7	44	20	-1,414	0	5,421	3,737	5,464	8,30
8	86	20	1,414	0	32,71	23,05	8,688	10,5
9	65	5,86	0	-1,414	10,65	7,218	6,165	12,6
10	65	34,1	0	1,414	13,38	9,038	6,532	8,78
11	65	20	0	0	23,43	16,86	7,442	11,1
12	65	20	0	0	22,14	16,00	7,269	11,3
j					1	2	3	4
a_{0j}					22,37	16,154	7,300	10,91
a_{1j}					10,69	7,615	1,241	1,232

a_{11j}	-0,827	-0,769	-0,026	-0,515
a_{2j}	-3,033	-2,036	-0,401	-0,964
a_{22j}	-4,354	-3,401	-0,389	0,145
a_{12j}	-1,129	-0,721	-0,164	-0,360
R_j^2	0,875	0,884	0,850	0,805
$R_{j,adj}^2$	0,770	0,788	0,724	0,642
F_j	8,361	9,161	6,784	4,945
p_j	0,011	0,009	0,019	0,039

Coefficienții de regresie semnificativi statistic sunt evidențiați cu caractere albine

Nivelurile optime ale factorilor adimensionali, obținute pe baza metodei funcției de dezirabilitate (f), au fost $X_{1,opt,UAE} = 1,414$ ($c_{et,opt,UAE} = 86\%$) și $X_{2,opt,UAE} = -0,707$ ($R_{LS,opt,UAE} = 12,9$ mL/g), pentru care $f_{UAE} = 0,918$.

Valorile variabilelor de răspuns prezise de ecuația (62) la $X_{1,opt,UAE}$ și $X_{2,opt,UAE}$, *i.e.*, $Y_{j,pr,opt,UAE}$ ($j = 1 \dots 4$), sunt specificate în tabelul 21. Pentru validarea modelelor statistice descrise de ecuația (62), au fost efectuate trei experimente UAE la nivelurile optime ale factorilor de proces. Valorile medii ale variabilelor de răspuns experimentale în condiții optime ($Y_{j,m,opt,UAE}$), abaterile standard asociate (SD_j) și valorile erorii procentuale de predicție (ε_j), definite de ecuația (63), sunt prezentate în tabelul 21.

Valorile erorii procentuale de predicție ($5,78\% \leq \varepsilon_j \leq 9,90\%$) și rezultatele testului t ($p_j \geq 0,06$) indică faptul că $Y_{j,m,opt,UAE}$ și $Y_{j,pr,opt,UAE}$ nu au fost semnificativ diferite, ceea ce confirmă validitatea modelelor statistice.

$$\varepsilon_j = 100 \frac{Y_{j,m,opt,UAE} - Y_{j,pr,opt,UAE}}{Y_{j,m,opt,UAE}}, \quad j = 1 \dots 4 \quad (63)$$

Tabel 21. Valorile prezise și experimentale ale variabilelor de răspuns la nivelurile optime ale factorilor procesului UAE ($c_{et,opt,UAE} = 86\%$ și $R_{LS,opt,UAE} = 12,9$ mL/g)

j	Variabilă de răspuns		Valoare optimă		Eroare procentuală de predicție
	Simbol	Unitate de măsură	Calculată $Y_{j,pr,opt,MAE}$	Experimentală $Y_{j,m,opt,MAE} \pm SD_j$	
1	CaC_{UAE}	mg/L	36,93	$39,20 \pm 3,757$	5,78
2	CbC_{UAE}	mg/L	25,85	$28,69 \pm 2,888$	9,9
3	TCC_{UAE}	mg/L	9,256	$10,19 \pm 0,954$	9,18
4	d_{UAE}	mm	12,73	$14,10 \pm 1,176$	9,74

2.2.1.1.3. MAE

Efectele factorilor adimensionali ai MAE (X_1 și X_2) și ai interacțiunilor acestora asupra variabilelor de răspuns prezise ($Y_{j,pr,MAE}$, $j = 1 \dots 4$), *i.e.*: $Y_{1,pr,MAE} = CaC_{pr,MAE}$; $Y_{2,pr,MAE} = CbC_{pr,MAE}$;

$Y_{3,pr,MAE} = TCC_{pr,MAE}$; $Y_{4,pr,MAE} = d_{pr,MAE}$ au fost cuantificate utilizând modelele statistice descrise de ecuația (64).

$$Y_{j,pr,MAE} = b_{0j} + b_{1j}X_1 + b_{11j}X_1^2 + b_{2j}X_2 + b_{22j}X_2^2 + b_{12j}X_1X_2, \quad j=1\ldots 4 \quad (64)$$

Valorile coeficienților de regresie din ecuația (64) (b_{0j} , b_{1j} , b_{11j} , b_{2j} , b_{22j} și b_{12j}) au fost determinate pe baza valorilor medii experimentale ale variabilelor de răspuns ($Y_{j,m,MAE}$, $j = 1\ldots 4$), specificate în tabelul 22. Coeficienții de corelație Pearson (r) au indicat:

- corelații pozitive foarte puternice între $Y_{1,m,MAE} = CaC_{m,MAE}$, $Y_{2,m,MAE} = CbC_{m,MAE}$ și $Y_{3,m,MAE} = TCC_{m,MAE}$ ($r = 0,9565-0,9996$);
- corelații pozitive puternice între $Y_{4,m,MAE} = d_{m,MAE}$ și $Y_{1,m,MAE}$ ($r = 0,6381$), respectiv $Y_{4,m,MAE}$ și $Y_{2,m,MAE}$ ($r = 0,6315$);
- o corelație pozitivă moderată între $Y_{4,m,MAE}$ și $Y_{3,m,MAE}$ ($r = 0,5486$)

Valorile coeficienților de regresie din ecuația (64), coeficienților de determinare (R_j^2), coeficienților de determinare ajustați ($R_{j,adj}^2$), statisticii Fisher (F_j) și valorile p_j pentru F_j la diferite niveluri ale factorilor dimensionali și adimensionali ai procesului sunt specificate în tabelul 22.

Tabelul 22. Valorile medii experimentale ale variabilelor de răspuns ale procesului ($Y_{1,m,MAE}$, $j = 1\ldots 4$) și valorile asociate ale coeficienților de regresie (b_{0j} , b_{1j} , b_{11j} , b_{2j} , b_{22j} și b_{12j}), coeficientului de determinare (R_j^2), coeficientului de determinare ajustat ($R_{j,adj}^2$), statisticii Fisher (F_j) și valoarea p_j pentru F_j la diferite niveluri ale factorilor dimensionali și adimensionali ai procesului MAE.

Exp.	c_{et} (%)	R_{LS} (mL/g)	X_1	X_2	$Y_{1,m,MAE} =$ $CaC_{m,MAE}$ (mg/L)	$Y_{2,m,MAE} =$ $CbC_{m,MAE}$ (mg/L)	$Y_{3,m,MAE} =$ $TCC_{m,MAE}$ (mg/L)	$Y_{4,m,MAE} =$ $d_{m,MAE}$ (mm)
1	50	10	-1	-1	4,732	3,960	12,18	11,60
2	50	30	-1	1	6,216	2,140	9,199	11,24
3	80	10	1	-1	34,97	50,94	0,328	14,08
4	80	30	1	1	23,77	17,91	3,634	11,88
5	65	20	0	0	28,88	20,54	7,106	11,52
6	65	20	0	0	29,94	25,32	5,248	11,62
7	44	20	-1,414	0	6,859	9,860	12,08	10,74
8	86	20	1,414	0	32,28	39,81	0,107	12,14
9	65	5,86	0	-1,414	35,21	63,88	4,317	13,60
10	65	34,1	0	1,414	16,81	14,33	4,973	11,62
11	65	20	0	0	32,68	34,97	2,467	11,70
12	65	20	0	0	31,19	30,18	3,945	11,78
j					1	2	3	4
b_{0j}					30,67	21,69	9,132	11,655
b_{1j}					10,47	7,482	1,291	0,637
b_{11j}					-6,894	-4,958	-0,992	-0,064
b_{2j}					-4,467	-2,976	-0,600	-0,670

b_{22j}	-3,674	-2,532	-0,789	0,521
b_{12j}	-3,172	-2,113	-0,665	-0,460
R_j^2	0,924	0,924	0,934	0,973
$R_{j,adj}^2$	0,861	0,860	0,879	0,950
F_j	14,60	14,54	16,94	43,05
p_j	0,003	0,003	0,002	0,0001

Coeficienții de regresie semnificativi statistic sunt evidențiați cu caractere albine

Rezultatele prezentate în tabelul 22 evidențiază următoarele aspecte:

- un efect pozitiv semnificativ al factorului X_1 și efecte negative semnificative ale factorului X_2 și interacțiunii X_1X_2 asupra $Y_{1,pr,MAE}$, $Y_{2,pr,MAE}$ și $Y_{3,pr,MAE}$, precum și un efect negativ semnificativ al factorului X_2^2 asupra $Y_{3,pr,MAE}$, efectul factorului X_1 fiind cel mai important;
- efecte pozitive semnificative ale factorilor X_1 și X_2^2 , precum și efecte negative semnificative ale factorului X_2 și interacțiunii X_1X_2 asupra variabilei $Y_{4,pr,MAE}$;
- o concordanță foarte bună între valorile experimentale și cele prezise ale variabilelor de răspuns ale procesului ($0,924 \leq R_j^2 \leq 0,973$, $0,860 \leq R_{j,adj}^2 \leq 0,950$, $14,54 \leq F_j \leq 43,05$ și $0,0001 \leq p_j \leq 0,003$ pentru $j = 1 \dots 4$).

Nivelurile optime ale factorilor adimensionali, obținute pe baza metodei funcției de dezirabilitate (f), au fost $X_{1,opt,MAE} = 1,414$ ($C_{et,opt,MAE} = 86\%$) și $X_{2,opt,MAE} = -1,414$ ($R_{LS,opt,MAE} = 5,9$ mL/g), pentru care $f_{MAE} = 0,990$.

Valorile variabilelor de răspuns prezise de ecuația (64) la $X_{1,opt,MAE}$ și $X_{2,opt,MAE}$, *i.e.*, $Y_{j,pr,opt,MAE}$ ($j = 1 \dots 4$), sunt specificate în tabelul 23. Pentru validarea modelelor statistice descrise de ecuația (64), au fost efectuate trei experimente la nivelurile optime ale factorilor de proces. Valorile medii ale variabilelor de răspuns experimentale în condiții optime ($Y_{j,m,opt,MAE}$), abaterile standard asociate (SD_j) și valorile erorii procentuale de predicție (ε_j), definite de ecuația (65), sunt prezentate în tabelul 23.

Valorile erorii procentuale de predicție ($-5,41\% \leq \varepsilon_j \leq 8,37\%$) și rezultatele testului t ($p_j \geq 0,09$) indică faptul că $Y_{j,m,opt,MAE}$ și $Y_{j,pr,opt,MAE}$ nu au fost semnificativ diferite, ceea ce confirmă validitatea modelelor statistice.

$$\varepsilon_j = 100 \frac{Y_{j,m,opt,MAE} - Y_{j,pr,opt,MAE}}{Y_{j,m,opt,MAE}}, \quad j = 1 \dots 4 \quad (65)$$

Tabelul 23. Valorile prezise și experimentale ale variabilelor de răspuns la nivelurile optime ale factorilor procesului
MAE ($C_{et,opt,MAE} = 86\%$ și $R_{LS,opt,MAE} = 5,9$ mL/g).

j	Variabilă de răspuns		Valoare optimă		Eroare procentuală de predicție
	Simbol	Unitate de măsură	Calculată	Experimentală	
			$Y_{j,pr,opt,MAE}$	$Y_{j,m,opt,MAE} \pm SD_j$	ε_j (%)
1	CaC_{MAE}	mg/L	37,00	$38,78 \pm 3,165$	4,58
2	CbC_{MAE}	mg/L	25,72	$28,07 \pm 2,579$	8,37
3	TCC_{MAE}	mg/L	9,574	$10,31 \pm 0,841$	7,16
4	d_{MAE}	mm	15,34	$14,55 \pm 1,301$	-5,41

Rezultatele analizei ANOVA cu un singur factor (la $\alpha = 0,05$) au indicat că valorile $Y_{j,m,opt,MAE}$ și $Y_{j,m,opt,UAE}$ nu au fost semnificativ diferite ($p \geq 0,340$) pentru $j = 1 \dots 4$.

2.2.1.5. Comparație cu datele raportate în literatură

Valorile medii ale concentrațiilor de clorofilă a și b și concentrațiilor totale de clorofilă și carotenoizi (CaC , CbC , CtC și TCC) din frunzele uscate de mentă românească, obținute în cadrul experimentelor ($c_{et} = 44\text{--}86\%$ și $R_{LS} = 5,9\text{--}34,1$ mL/g) efectuate în acest studiu, sunt prezentate în tabelul 24. Pe lângă metoda și condițiile de extracție, aceste valori pot fi influențate semnificativ de alți factori, *e.g.*, tipul și condițiile de uscare, soiul și originea mentei.

Tabel 24. Valorile medii ale concentrațiilor de clorofilă a și b și concentrațiilor totale de clorofilă și carotenoizi obținute în acest studiu.

Metoda	UAE	MAE
CaC_m	1,214–39,20 mg/L = 36,42–672,1 mg/kg DM	4,732–38,78 mg/L 47,32–713,1 mg/kg DM
CbC_m	0,809–28,69 mg/L = 24,26–485,3 mg/kg DM	3,165–28,07 mg/L = 31,65–512,6 mg/kg DM
$CtC_m = CaC_m + CbC_m$	2,023–67,89 mg/L = 60,69–1157 mg/kg DM	7,897–66,85 mg/L = 78,97–1226 mg/kg DM
TCC_m	4,948–10,19 mg/L = 36,13–222,7 mg/kg DM	5,415–10,31 mg/L = 52,87–224,6 mg/kg DM

Xylia et al. (2024) au obținut următoarele valori medii ale CtC în frunzele uscate de mentă din Limassol (Cipru): 910 mg/kg DM pentru uscare la soare, 890 mg/kg DM pentru uscare în cuptor (la 42 °C) și 810 mg/kg DM pentru uscare la umbră. Valorile raportate de Uribe et al. (2015) și Xylia et al. (2024) se încadrează în intervalul determinat în studiul nostru, *i.e.*, $CtC_m = 60,69\text{--}1226$ mg/kg DM.

2.2.1.6. Concluzii

Cuantificarea efectelor factorilor de proces asupra performanței extracției și optimizarea acestor factori sunt esențiale pentru obținerea unei eficiențe ridicate. Acest studiu a avut ca scop optimizarea extracției asistate de ultrasunete (UAE) și microunde (MAE) a pigmentilor de clorofilă și carotenoizilor din frunzele de mentă românească, utilizând soluții apoase de etanol ca solvenți de extracție.

Concentrațiile de clorofilă *a* și *b* și concentrația totală de carotenoizi din extractele de frunze de mentă (CaC , CbC și TCC), precum și activitatea antibacteriană împotriva *E. coli*, evaluată prin testul de difuziune Kirby-Bauer prin măsurarea diametrului zonei de inhibiție (d), au fost determinate experimental și calculate la diferite niveluri ale factorilor de proces, *i.e.*, concentrația masică procentuală de etanol în solventul de extracție ($c_{et} = 44\text{--}86\%$) și raportul lichid/solid ($R_{LS} = 5,9\text{--}34,1$ mL/g), conform unui plan experimental CCD. Fiecare experiment a fost realizat timp de 30 min.

Modelele polinomiale de ordin doi obținute pe baza datelor experimentale pentru UAE ($CaC_{m,UAE} = 1,214\text{--}38,72$ mg/L, $CbC_{m,UAE} = 0,809\text{--}27,05$ mg/L, $TCC_{m,UAE} = 4,948\text{--}9,495$ mg/L și $d_{m,UAE} = 8,300\text{--}13,66$ mm) au evidențiat un efect pozitiv semnificativ al factorului adimensional c_{et} (X_1) asupra tuturor variabilelor de răspuns și un efect negativ semnificativ al factorului adimensional R_{LS} (X_2) asupra $d_{pr,UAE}$. La nivelurile optime ale factorilor procesului UAE ($c_{et,opt,UAE} = 86\%$ și $R_{LS,opt,UAE} = 12,9$ mL/g), valorile medii ale variabilelor de răspuns au fost: $CaC_{m,opt,UAE} = 39,20$ mg/L, $CbC_{m,opt,UAE} = 28,69$ mg/L, $TCC_{m,opt,UAE} = 10,19$ mg/L și $d_{m,opt,UAE} = 14,10$ mm.

2.2.2. ÎMBUNĂTĂȚIREA EFICIENȚEI EXTRACȚIEI ULEIULUI ESENȚIAL DE CIMBRU PRIN UTILIZAREA COMBINATĂ A TRATAMENTULUI CU ULTRASUNETE ȘI EXTRACȚIEI ASISTATE DE MICROUND

Scopul acestui studiu a fost de a îmbunătăți eficiența de extracție a uleiului esențial (UE) de cimbru (*Thymus officinalis* L.) prin creșterea randamentului extracției și a cantității componentilor valoroși (timol) prin aplicarea unui pretratament cu ultrasunete asupra materialului vegetal urmat de hidrodistilarea asistată de microunde (MWHd). Datele prezentate în acest capitol au fost publicate în articolul:

Gavrila, A.I., Chisega-Negrila, C.G., **Maholea, L.**, Gavrila, M.L., Pârvulescu, O.C., Popa,

I. (2023) *Enhancing the extraction process efficiency of thyme essential oil by combined ultrasound and microwave techniques*. Agronomy, 13 (9), art. no. 2331, 1–14, WOS: 001093126200001 (Q1).

2.2.2.1. Materiale si metode

2.2.2.1.1. Materiale

Cimbrul proaspăt (tulpini și frunze) a fost achiziționat de la Hofigal (București, România). Frunzele și tulpinile proaspete au fost tocate în bucăți de 1–2 cm, apoi uscate într-un cuptor cu flux de aer cald (Memmert UNE 500 Universal Oven, Memmert GmbH + Co, KG, Schwabach, Germania) la 60 °C până la atingerea unei mase constante. O parte din materialul vegetal uscat a fost utilizată ca atare, iar o altă parte a fost măcinată cu ajutorul unei râșnițe electrice și sitată până la dimensiuni ale particulelor mai mici de 0,1 cm. Cimbrul măcinat a fost porționat în probe de 100 g (în recipiente din plastic sigilate) și păstrat la 4–5 °C până la extracția uleiului esențial.

2.2.2.1.2. Procedura de extracție a uleiului esențial

Extracția uleiului esențial din cimbru a fost realizată prin hidrodistilare asistată de microunde (MWHd), utilizând un cuptor cu microunde multimod (Plazmatronika, Wrocław, Polonia), cu o frecvență de 2450 MHz.

Aburul produs în reactor a antrenat uleiul esențial de cimbru, iar amestecul vapori de apă – ulei esențial s-a răcit în refrigerent, a condensat și s-a separat (pe baza diferenței de densitate) în tubul gradat al aparatului Neo Clevenger. Extracțiile au fost realizate la diferite rapoarte solvent/plantă: 8/1, 10/1 și 12/1 (v/w). Pentru extracție s-au utilizat două dimensiuni ale particulelor de material vegetal: bucăți de 1–2 cm și particule sub 0,1 cm. Solventul utilizat a fost apă distilată, iar amestecul a fost supus extracției până când nu s-a mai obținut ulei esențial (80 min).

S-a realizat și extracția comparativă a uleiului esențial de cimbru prin metoda convențională de hidrodistilare. Extracția convențională a fost efectuată timp de 180 min (după acest interval nu s-a mai obținut ulei esențial), la un raport solvent/plantă de 12/1 (v/w). Uleiul esențial separat a fost păstrat la 4°C până la analiza GC-MS. Randamentul extracției a fost exprimat în g ulei esențial (UE)/100 g material uscat (DM).

2.2.2.1.3. *Pretratamentul cu ultrasunete al materialului vegetal*

Înainte de MWHD, materialul vegetal amestecat cu solventul (apă distilată) a fost supus unui pretratament cu ultrasunete timp de 30 min. Pretratamentul a fost realizat fie cu o baie cu ultrasunete (ES375H Bench Top Ultrasonic Tank, Hilsonic Ultrasonic Cleaners, Birkenhead, UK) cu un volum de 3 L, o putere de 120 W și o frecvență de 40 kHz, fie cu sondă de ultrasunete (Vibracell VCX-750, Sonics & Materials, Inc., Newtown, CT, SUA) cu o putere de 750 W, o frecvență de 20 kHz și o sondă din titan cu diametrul de 13 mm. Ultrasonicarea amestecului de extracție cu ajutorul sondei de ultrasunete a fost aplicată cu un ciclu de lucru de 5 s on și 5 s off, la o amplitudine de 50% sau 70%. Ultrasonicarea în baia ultrasonică a fost aplicată continuu. Probele martor fără pretratament au fost supuse direct hidrodistilării asistate de microunde sau hidrodistilării convenționale.

2.2.2.1.4. *Analiza GC-MS a uleiului esențial de cimbru*

Uleiul esențial separat a fost analizat cu un cromatograf de gaze cuplat cu spectru de masă (GC-MS). Aparatul GC-MS, un sistem Thermo Electron Corporation Focus GC (Thermo Fisher Scientific, Milano, Italia), care a fost echipat cu o coloană Macrogol 20 000 R (grosime film: 0,25 μm; lungime: 60 m; diametru: 0,25 mm). Faza mobilă utilizată a fost heliul, cu un debit de 1,5 mL/min, iar volumul de injecție al probei a fost de 0,2 μL. Pentru detecție s-a utilizat un spectrometru de masă Thermo Electron Corporation DSQII. Principalele componente ale uleiului esențial de cimbru (timol, γ -terpinen, p -cimen, α -terpinen și β -pinen) au fost identificate conform timpilor de retenție ai standardelor cunoscute. Identificarea celorlalte componente s-a realizat prin compararea spectrelor obținute cu baza de date Wiley. Cantitățile absolute ale componentelor individuale au fost calculate pe baza ariei de sub peak-urile din spectrele GC-MS și exprimate în mg UE/100 g DM).

2.2.2.2. *Analiza statistică*

Toate extracțiile au fost realizate în triplu exemplar, iar datele au fost exprimate ca valoare medie $\pm$ abatere standard (SD). Rezultatele obținute la diferite niveluri ale factorilor de proces au fost supuse analizei ANOVA cu un singur factor și analizei multivariate PCA (Principal Component Analysis). Pentru evaluarea intensității corelațiilor liniare între variabilele dependente s-a utilizat coeficientul de corelație Pearson (r). Diferențele au fost considerate semnificative

statistic la $p < 0,05$. Analiza statistică a fost realizată cu XLSTAT Versiunea 2019.1 (Lumivero, Addinsoft, New York, NY, SUA).

2.2.2.3. Rezultate

2.2.2.3.1. Hidrodistilarea asistată de microunde (MWHD) vs. hidrodistilarea convențională (CHD)

Prima etapă în optimizarea procesului de extracție a UE de cimbru a fost studiul cinetic al probelor martor obținute prin MWHD și CHD (figura 17). După cum se observă în figura 17, timpul necesar pentru atingerea temperaturii de reflux (momentul în care UE începe să fie colectat în aparatul Clevenger) este mai scurt pentru MWHD (10 min) comparativ cu CHD (60 min). MWHD a determinat o creștere rapidă a conținutului de UE în primele 40 min (ceea ce corespunde cu 83% din randamentul total), atingând o cantitate maximă după 70 min ($1,73 \pm 0,03$ g UE/100 g DM). Pentru CHD, conținutul de UE a crescut lent, obținându-se $1,65 \pm 0,06$ g UE/100 g DM după 170 min. Experimentele ulterioare au fost realizate prin MWHD.

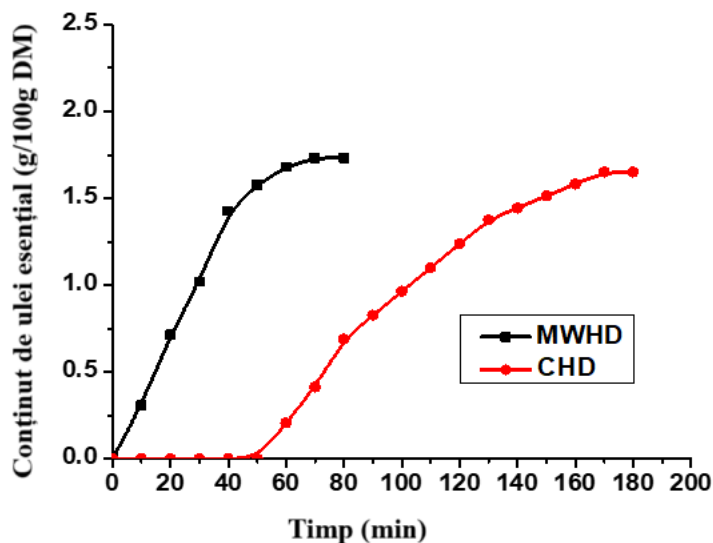


Figura 17 Studiu cinetic al hidrodistilării asistate de microunde (MWHD) comparativ cu hidrodistilarea convențională (CHD), pentru un raport solvent-plantă de 12/1 (v/w) și o dimensiune a particulelor de 1–2 cm.

UE de cimbru a fost analizat și identificat prin GC-MS. Rezultatele pentru ambele metode (MWHD și CHD) sunt prezentate în tabelul 25.

Tabel 25. Compoziția chimică a uleiului esențial (UE) de cimbru obținut prin hidrodistilare asistată de microunde (MWHD) și hidrodistilare convențională (CHD), pentru un raport solvent-plantă de 12/1 (v/w) și o dimensiune a particulelor de 1–2 cm

RT (min)	Compus	CAS	BP (°C)	Compoziția compusului (mg/100 g DM)	
				MWHD	CHD
9,043	α -Pinen	80-56-8	155	13 $\pm$ 0,2 ^b	15 $\pm$ 0,7 ^a
9,205	Camfen	79-92-5	159	16 $\pm$ 0,2 ^b	26 $\pm$ 1,2 ^a
9,941	Sabinen	3387-41-5	163	7 $\pm$ 0,1 ^b	11 $\pm$ 0,5 ^a
10,039	β-Pinen	127-91-3	165	33 $\pm$ 0,3 ^b	41 $\pm$ 1,8 ^a
10,568	α-Terpinen	99-86-5	173	57 $\pm$ 1,1 ^b	68 $\pm$ 2,9 ^a
10,613	p-Cimen	99-87-6	177	88 $\pm$ 3,0 ^b	110 $\pm$ 4,8 ^a
10,783	Eucaliptol	470-82-6	176	6 $\pm$ 0,1 ^b	11 $\pm$ 0,5 ^a
11,245	γ-Terpinen	99-85-4	183	523 $\pm$ 37,4 ^a	573 $\pm$ 24,9 ^a
13,071	Terpinen-4-ol	562-74-3	219	-	14 $\pm$ 0,6 ^a
14,657	Timol	89-83-8	232	969 $\pm$ 28,9 ^a	689 $\pm$ 29,9 ^b
16,724	β -(E)-Cariofilen	87-44-5	254	4 $\pm$ 0,1 ^b	11 $\pm$ 0,5 ^a
17,616	γ -Cadinen	39029-41-9	271	3 $\pm$ 0,1 ^b	4 $\pm$ 0,2 ^a

RT – timp de retenție; CAS – număr de înregistrare CAS; BP – punct de fierbere; literele diferite indică diferențe semnificative între grupurile analizate ($p < 0,05$).

Pentru ambele metode au fost identificați cinci compuși principali, *i.e.*, timolul, γ -terpinenul, p -cimenul, α -terpinenul și β -pinenul, care reprezintă între 93% și 97% din cantitatea totală de UE obținut. Rezultatele specificate în tabelul 25 indică o compoziție destul de asemănătoare a UE obținut prin cele două metode de extracție.

Timolul este extras mai eficient prin MWHD, în timp ce γ -terpinenul este extras mai eficient prin CHD. Această diferență poate fi explicată prin bioconversia γ -terpinenului în timol, proces influențat de mai mulți factori, inclusiv metoda de extracție (Zarshenas et al., 2014). Același comportament se observă și pentru p -cimen, α -terpinen și β -pinen, care sunt extrași mai eficient prin CHD.

Krause et al. (2021) au propus o cale biosintetică a timolului, începând cu ciclizarea difosfatului de geranil, formând γ -terpinen. Acesta este oxidat de enzima P450 monooxigenază în intermediari ciclohexadienolici. Acești produși sunt instabili și sunt dehidrogenați de o enzimă de tip dehidrogenază/reductază în intermediari cetonici alilici. Ulterior, prin tautomerism ceto-enolic, se formează timolul (Krause et al., 2021).

2.2.2.3.2. *Influența raportului solvent/plantă asupra extracției uleiului esențial de cimbru*

Următoarea etapă în optimizarea extracției UE din cimbru a fost studiul influenței raportului dintre solvent și materialul vegetal. Pentru a stabili volumul de solvent necesar obținerii unei cantități cât mai mari de UE, au fost utilizate diferite rapoarte solvent/plantă. În plus, pentru

a evita degradarea materialului vegetal cauzată de iradierea directă cu microunde, este necesară o cantitate adecvată de apă. Așa cum se observă în figura 18a, cantitatea de UE crește cu volumul de apă. Raportul solvent/plantă cel mai eficient pentru extracția UE de cimbru prin MWHD este de 12/1 (v/w).

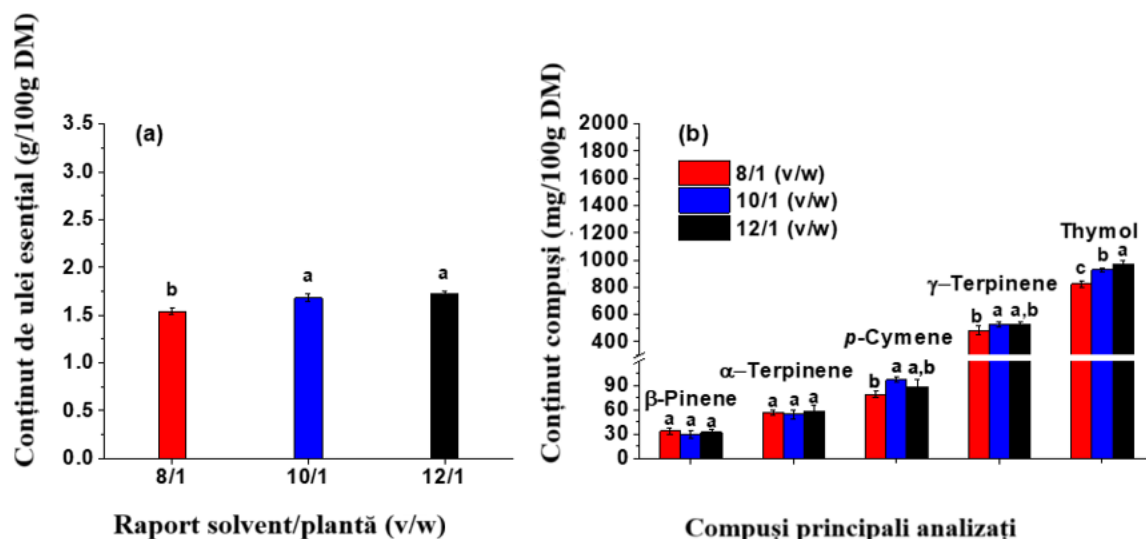


Figura 18. Influența raportului solvent/plantă asupra extracției uleiului esențial (UE) de cimbru prin hidrodistilare asistată de microunde (MWHD), pentru o dimensiune a particulelor de 1–2 cm: (a) conținut de UE; (b) compuși principali identificați prin GC-MS; literele diferite indică diferențe semnificative între grupurile analizate ($p < 0,05$)

Compușii principali ai UE de cimbru identificați prin GC-MS sunt prezentați în figura 18b. Se observă că proporția componentelor UE este similară pentru toate cele trei rapoarte, iar cantitatea de timol este direct proporțională cu raportul solvent/plantă. Prin urmare, este necesară o cantitate mare de apă pentru a antrena compușii cu puncte de fierbere ridicate.

Analiza ANOVA a indicat că prin creșterea raportului solvent/plantă de la 8/1 la 10/1, conținutul de UE crește semnificativ ($p < 0,05$). Prin creșterea suplimentară a raportului, conținutul de UE crește nesemnificativ (figura 18a). În ceea ce privește extracția timolului, analiza ANOVA a indicat că prin creșterea raportului solvent/plantă, concentrația de timol crește semnificativ ($p < 0,05$, figura 18b).

Deși cantitatea de UE este similară pentru rapoartele 10/1 și 12/1, experimentele ulterioare au fost realizate pentru raportul 12/1 (v/w) deoarece cantitatea compusului țintă (timol) este mai mare-comparativ cu celelalte rapoarte utilizate ($969 \pm 28,90$ mg timol/100 g DM pentru raportul

12/1 comparativ cu $926 \pm 16,93$ și $824 \pm 20,67$ mg timol/100 g DM pentru rapoartele 10/1 și respectiv 8/1).

2.2.2.3.3. Influența echipamentului cu ultrasunete asupra extracției uleiului esențial de cimbru

Înainte de extracția UE de cimbru prin MWH, amestecul de extracție a fost supus unui pretratament cu ultrasunete timp de 30 min, folosind două tipuri de echipamente: o baie cu ultrasunete (ES375H Bench Top Ultrasonic Tank, Hilsonic Ultrasonic Cleaners, Birkenhead, UK) și un procesor ultrasonic (Vibracell VCX-750, Sonics & Materials, Inc., Newtown, CT, SUA).

Se observă (figura 19a) că pretratamentul cu ultrasunete al amestecului de extracție duce la obținerea unor cantități mai mari de UE comparativ cu experimentele fără pretratament, atât pentru baia cu ultrasunete (aproximativ 6% mai mult, *i.e.*, $1,83 \pm 0,09$ g UE/100 g DM), cât și pentru sonda de ultrasunete (aproximativ 21% mai mult, *i.e.*, $2,10 \pm 0,03$ g UE/100 g DM). Acest lucru se poate datora fenomenului de cavitație, care poate stimula distrugerea pereților celulari și creșterea vitezei de transfer de masă. În baia cu ultrasunete, cavitația are loc necontrolat. Energia ultrasunetelor este dispersată inegal în baie și are intensitate scăzută. Pe de altă parte, în cazul sondei, cavitația are o intensitate ridicată localizată, iar procesul de sonicare este implicit mai eficient (Panda și Manickam, 2019). Prin urmare, cantitatea mai mare de UE obținută atunci când pretratamentul cu ultrasunete a fost efectuat cu echipamentul Vibracell (o creștere de aproximativ 15%) poate fi explicată prin aceste diferențe între băile cu ultrasunete și sondele ultrasonice.

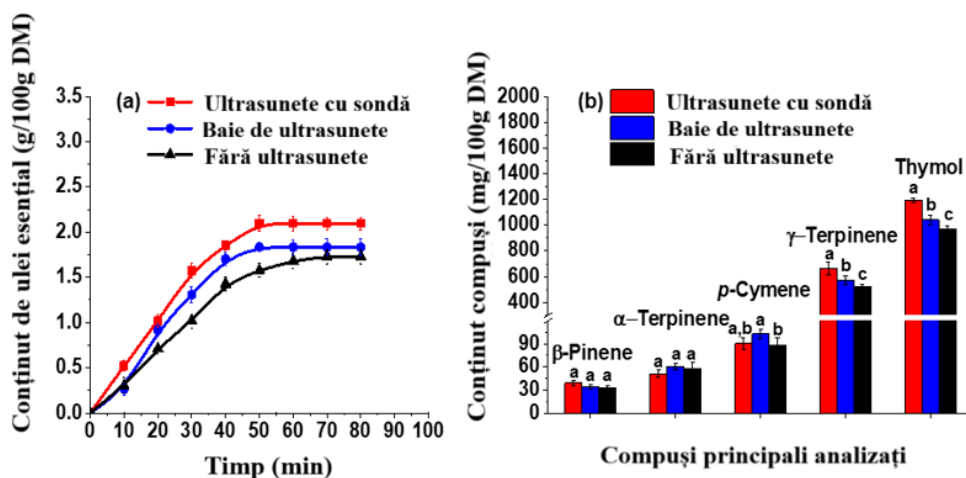


Figura 19 Influența pretratamentului cu ultrasunete asupra extracției uleiului esențial (UE) de cimbru prin hidro-distilare asistată de microunde (MWH), pentru un raport solvent-plantă de 12/1 (v/w), o dimensiune a particulelor de 1–2 cm și o amplitudine de 50%: (a) conținut de UE; (b) compuși principali identificați prin GC-MS; literele diferite indică diferențe semnificative între tratamente ($p < 0,05$)

Analizele GC-MS ale UE obținut prin utilizarea consecutivă a ultrasunetelor și iradierii cu microunde sunt prezentate în figura 19b. Se observă că principalii constituenți ai UE sunt similari pentru toate cele trei metode (extracția cu pretratament cu ultrasunete folosind atât sonda de ultrasunete, cât și baia cu ultrasunete, precum și extracția fără pretratament). După cum se observă în figura 19b, timolul este extras mai eficient atunci când pretratamentul cu ultrasunete este realizat cu sonda ultrasonică ($1196 \pm 15,35$ mg/100 g DM pentru sonda ultrasonică și $1040 \pm 35,62$ mg/100 g DM pentru baia cu ultrasunete). În schimb, *p*-cimenul este obținut în cantități mai mici ($90 \pm 7,28$ mg/100 g DM pentru sonda ultrasonică și $103 \pm 6,49$ mg/g DM pentru baia cu ultrasunete). Acest lucru ar putea fi cauzat de transformarea unor compuși în timpul aplicării ultrasunetelor, *e.g.*, prin izomerizarea, oxidarea și degradarea dimerilor și polimerilor (Pingret et al., 2013). De asemenea, fenomenul de cavitație în apă poate duce la formarea de radicali liberi ($H\bullet$, $OH\bullet$), care pot provoca transformarea constituenților din UE (Ince et al., 2001).

2.2.2.3.4. Influența amplitudinii ultrasunetelor asupra extracției uleiului esențial de cimbru

A fost studiată și influența amplitudinii ultrasunetelor asupra eficienței procesului de extracție, utilizându-se ultrasunete la două amplitudini (*A*), *i.e.*, 50% și 70%. După cum se observă în figura 20a, cantitatea de UE de cimbru este direct proporțională cu amplitudinea ultrasunetelor.

Conținutul de UE pentru tratamentul la *A* = 70% ($2,22 \pm 0,06$ g UE/100 g DM) a fost cu 6% mai mare decât cel obținut la *A* = 50% ($2,10 \pm 0,03$ g UE/100 g DM).

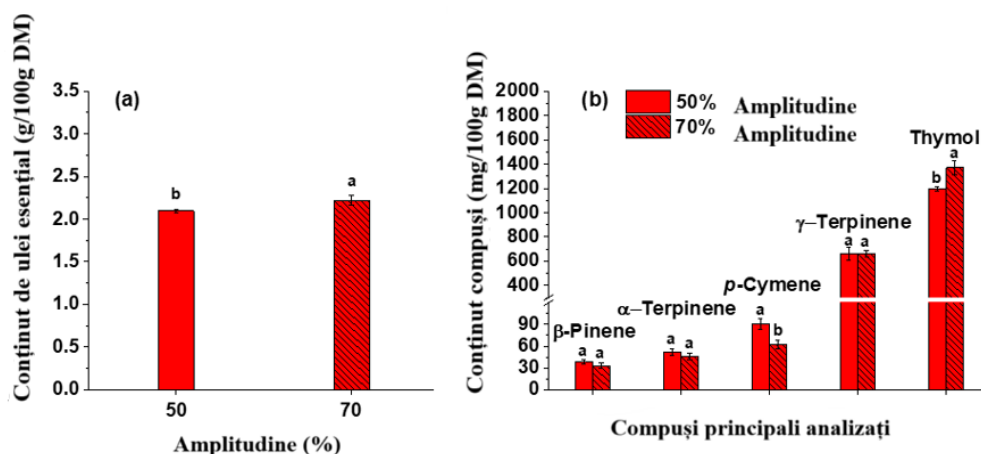


Figura 20. Influența amplitudinii ultrasunetelor asupra extracției uleiului esențial (UE) de cimbru prin hidrodistilare asistată de microunde (MWHd), pentru un raport solvent-plantă de 12/1 (v/w) și o dimensiune a particulelor de 1–2 cm, utilizând procesorul ultrasonic Vibracell: (a) conținut de UE; (b) compuși principali identificați prin GC-MS; literele diferite indică diferențe semnificative între tratamente ($p < 0,05$)

După cum se observă în figura 20b, compusul țintă (timolul) este extras mai eficient atunci când se utilizează ultrasunete cu $A = 70\%$ ($1196 \pm 15,35$ mg/100 g DM pentru $A = 50\%$ și $1370 \pm 58,78$ mg/100 g DM pentru $A = 70\%$). Analiza statistică a confirmat că prin creșterea amplitudinii ultrasunetelor de la 50% la 70%, conținutul de UE și conținutul de timol cresc semnificativ ($p < 0,05$). Totuși, conținutul de *p*-cimen este invers proporțional cu amplitudinea ultrasunetelor, obținându-se cantități mai mari la $A = 50\%$. Acest lucru poate fi cauzat de transformarea accentuată a unor constituenți la amplitudini mari ale ultrasunetelor.

2.2.2.3.5. Influența dimensiunii particulelor de material vegetal asupra extracției UE

După cum se observă în figura 21a, dimensiunea particulelor frunzelor de cimbru influențează în mare măsură conținutul de EU. Pentru o dimensiune a particulelor sub 0,1 cm, se obțin cantități mai mari de EU, atât în cazul pretratamentului cu ultrasunete (pentru ambele amplitudini aplicate, *i.e.*, 50% și 70%), cât și în cazul extracției fără pretratament. Utilizând particule mai mici, conținutul de UE este cu 23% mai mare atunci când se aplică un pretratament cu ultrasunete ($2,67 \pm 0,06$ g UE/100 g DM pentru $A = 70\%$), comparativ cu extracția fără pretratament ($2,18 \pm 0,07$ g UE/100 g DM). Analiza ANOVA a indicat că conținutul de UE a crescut semnificativ ($p < 0,05$) prin reducerea dimensiunii particulelor de material vegetal.

Aceste strategii (pretratamentul cu ultrasunete utilizând o sondă ultrasonică și măcinarea materialului vegetal până la o dimensiune sub 0,1 cm) au condus la obținerea unui randament de extracție mai mare comparativ cu alte studii. De exemplu, Kowalski și Wawrzykowski (2009) au obținut un randament de extracție de 2,15 g UE/100 g DM după aplicarea unui pretratament ultrasonic folosind o baie cu ultrasunete, urmat de metoda convențională de distilare cu abur.

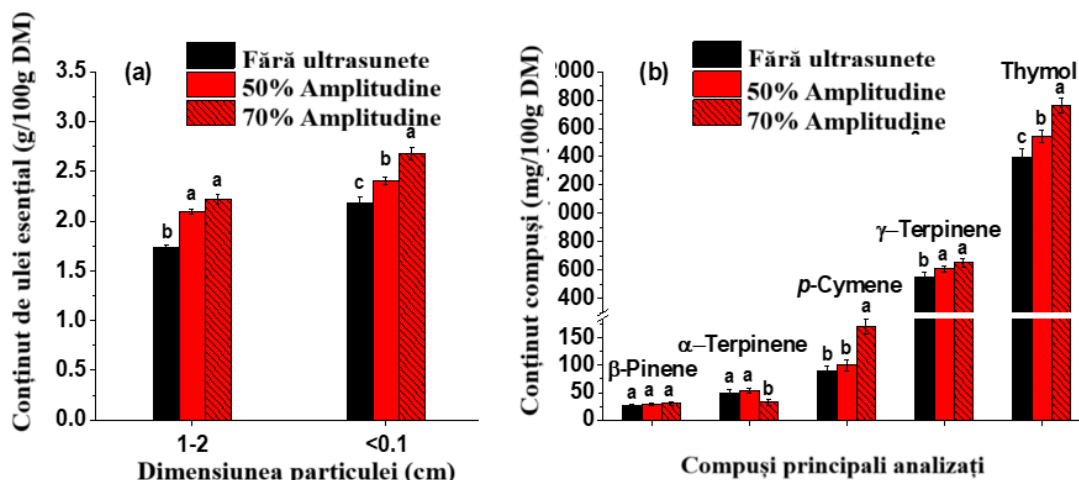


Figura 21. Influența dimensiunii particulelor frunzelor asupra extracției uleiului esențial (UE) de cimbru prin hidro-distilare asistată de microunde (MWHd), pentru un raport solvent-plantă de 12/1 (v/w): (a) conținut de UE; (b) compuși principali identificați prin GC-MS pentru o dimensiune a particulelor sub 0,1 cm; literele diferite indică diferențe semnificative între tratamente ($p < 0,05$)

Conținutul componentelor principale din UE de cimbru pentru o granulație a frunzelor sub 0,1 cm este similar cu cel obținut pentru o dimensiune a particulelor de 1–2 cm. Totuși, cantitatea compusului țință (timol) este mai mare pentru planta măcinată la o granulație sub 0,1 cm (vezi figurile 19b, 20b și 21b). Acest comportament se observă pentru toate cele trei metode, *i.e.*, extracția cu pretratament cu ultrasunete aplicând amplitudini de 50% ($1542 \pm 42,54$ mg/100 g DM) și 70% ($1764 \pm 52,68$ mg/100 g DM), respectiv extracția fără pretratament ($1396 \pm 62,7$ mg/100 g DM).

După cum se observă în figura 21b, conținutul de timol este mai mare când se aplică un pretratament cu ultrasunete cu amplitudine de 70%, în timp ce conținutul de α -terpinen este mai scăzut ($54 \pm 4,91$ mg/100 g DM pentru $A = 50\%$ și $33 \pm 5,27$ mg/100 g DM pentru $A = 70\%$). Acest comportament al α -terpinenului se observă și în cazul extracției cu particule de material vegetal de dimensiune 1–2 cm ($51 \pm 4,5$ mg/100 g DM pentru $A = 50\%$ și $46 \pm 4,02$ mg/100 g DM pentru $A = 70\%$). De asemenea, conținutul de *p*-cimen este mai mare pentru $A = 70\%$ ($170 \pm 14,06$ mg/100 g DM) comparativ cu $A = 50\%$ ($100 \pm 9,9$ mg/100 g DM) atunci când planta este măcinată (figura 21b), în timp ce pentru extracția realizată cu particule de dimensiuni 1–2 cm se observă un comportament opus ($63 \pm 5,99$ mg/100 g DM pentru $A = 70\%$ și $90 \pm 7,28$ mg/100 g DM pentru $A = 50\%$) (figura 20b). Acest lucru ar putea fi cauzat de o posibilă oxidare a unor componente (*e.g.*, α -terpinen și γ -terpinen) care generează *p*-cimen. Totuși, sunt necesare cercetări suplimentare

pentru a investiga posibila oxidare în condiții de tratament cu ultrasunete combinat cu extracția cu microunde

2.2.2.3.6. Analiza Componentelor Principale (PCA)

Pentru a evalua relația dintre metoda de extracție și compoziția UE, s-a realizat analiza componentelor principale (PCA). PCA a evidențiat două valori proprii mai mari decât 1, corespunzătoare componentelor principale PC1 (3,55) și PC2 (1,04), care explică 90,68% din variabilitate (70,21% + 20,47%).

S-au considerat ca variabile concentrațiile de compuși majoritari (β -pinen, α -terpinen, p -cimen, γ -terpinen și timol), concentrații care s-au notat cu caractere înclinate, *i.e.* β -pinen, α -terpinen, p -cimen, γ -terpinen și timol.

Tabel 26. Coordonatele variabilelor pe axele PC1 și PC2

Variabile (concentrații de compuși majoritari)	PC1	PC2
β -Pinen	-0,966	0,045
α -Terpinen	-0,888	-0,201
p -Cimen	-0,150	0,985
γ -Terpinen	-0,930	-0,079
Timol	0,950	-0,063

Valorile semnificative sunt evidențiate cu caractere aldine

2.2.1.7. Concluzii

Compoziția UE obținut prin toate metodele a fost analizată prin GS-MS, iar constituenții principali au fost timolul, γ -terpinenul, p -cimenul, α -terpinenul și β -pinenul. Rezultatele obținute au indicat faptul că pretratamentul cu ultrasunete al amestecului de extracție a determinat o creștere a cantității de UE. De asemenea, prin combinarea strategiilor de pretratament cu sondă ultrasonică și măcinarea materialului vegetal până la o dimensiune a particulelor sub 0,1 cm, s-a obținut un randament maxim de $2,67 \pm 0,06$ g UE/100 g DM. Aceste strategii au fost favorabile și pentru componentul țintă, *i.e.*, timolul, obținându-se un conținut maxim de $1764 \pm 52,68$ mg/100 g DM.

CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE

Teza de doctorat intitulată **INTENSIFICAREA TRANSFERULUI DE MASĂ ÎN PROCESUL DE EXTRAȚIE A COMPUȘILOR BIOACTIVI** cuprinde două părți principale, *i.e.*, **1. STUDIU DE LITERATURĂ**, care conține aspecte relevante despre procesele de extracție lichid-lichid și solid-lichid, acidul indol-3-acetic (IAA), compoziția, utilizările și efectele terapeutice ale mentei și cimbrului și extracția compușilor bioactivi din aceste plante, și **2. CONTRIBUȚII ORIGINALE**, în care sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările proprii referitoare la pertracția facilitată prin membrane lichide a IAA (**capitolul 2.1**), respectiv extracția compușilor bioactivi din frunzele de mentă și cimbru (**capitolul 2.2**).

În subcapitolul 2.1.1. rezultatele analizei de regresie multiplă și ale analizei de corelație au indicat următoarele aspecte:

- toți factorii adimensionali și interacțiunile lor binare și terțiare au influențat semnificativ concentrația $c_{IAA,Ff}$;
- $c_{IAA,Sf}$ a crescut cu creșterea factorilor adimensionali $c_{IAA,F0}$ (x_1) și $c_{NaOH,S0}$ (x_2) și a interacțiunii lor (x_1x_2);
- valori mai mari ale parametrilor E_F și K_D au fost obținute la valori mai mici ale factorului adimensional $c_{IAA,F0}$ (x_1) și valori mai mari ale factorilor adimensionali $c_{L,M0}$ (x_3) și $c_{NaOH,S0}$ (x_2);
- valori mai mari ale eficienței E_R au fost obținute la valori mai mici ale factorului x_1 și valori mai mari ale factorului x_2 ;
- factorul x_1 a avut un efect pozitiv puternic asupra concentrațiilor $c_{IAA,Ff}$ și $c_{IAA,Sf}$, iar factorul x_2 a avut un efect pozitiv puternic asupra parametrilor E_F , K_D și E_R ;
- parametrii E_F și K_D au fost corelați pozitiv foarte puternic ($r = 0,95$).

În subcapitolul **2.1.2. Cinetica procesului de pertracție facilitată**, cantitățile specifice de IAA în fazele de alimentare (F), de membrană lichidă (M) și de stripare (S) au fost prezise pe baza unui model cinetic care presupune reacții consecutive ireversibile de ordinul întâi. Parametrii ajustabili ai modelului, *i.e.*, constantele de viteză ale proceselor de extracție și stripare, $k_1 = (1,93-3,64) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ și $k_2 = (2,00-4,18) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, au fost identificați pe baza datelor experimentale. Valorile similare ale parametrilor cinetici k_1 și k_2 sugerează că atât reacția de complexare de la

interfața dintre fazele F și M, cât și reacția de decomplexare de la interfața dintre fazele M și S au fost etape determinante de viteză. Rezultatele au indicat o bună concordanță între datele experimentale și cele prezise ($R^2 = 0,948\text{--}0,998$).

Valoarea finală maximă (la $t_f = 4$ h) a cantității specifice de IAA în faza S ($R_{Sf,ex} = 0,911$), corespunzătoare valorilor maxime ale eficienței de extracție ($E_{Ef,ex} = 94,81\%$), stripare ($E_{Sf,ex} = 96,08\%$) și recuperare ($E_{Rf,ex} = 91,09\%$), a fost obținută la $c_{IAA,F0} = 10^{-4}$ kmol/m³ și $c_{NaOH,S0} = 1$ kmol/m³.

În subcapitolul **2.2.1.** modelele de regresie obținute pe baza datelor experimentale pentru UAE ($CaC_{m,UAE} = 1,214\text{--}38,72$ mg/L, $CbC_{m,UAE} = 0,809\text{--}27,05$ mg/L, $TCC_{m,UAE} = 4,948\text{--}9,495$ mg/L și $d_{m,UAE} = 8,300\text{--}13,66$ mm) au evidențiat un efect pozitiv semnificativ al factorului adimensional c_{et} (X_1) asupra tuturor răspunsurilor procesului și un efect negativ semnificativ al factorului adimensional R_{LS} (X_2) asupra $d_{pr,UAE}$. La nivelurile optime ale factorilor procesului UAE ($c_{et,opt,UAE} = 86\%$ și $R_{LS,opt,UAE} = 12,9$ mL/g), valorile medii ale răspunsurilor au fost: $CaC_{m,opt,UAE} = 39,20$ mg/L, $CbC_{m,opt,UAE} = 28,69$ mg/L, $TCC_{m,opt,UAE} = 10,19$ mg/L și $d_{m,opt,UAE} = 14,10$ mm.

Modelele de regresie obținute pe baza datelor experimentale pentru MAE ($CaC_{m,MAE} = 4,732\text{--}35,21$ mg/L, $CbC_{m,MAE} = 3,165\text{--}24,71$ mg/L, $TCC_{m,MAE} = 5,415\text{--}9,751$ mg/L și $d_{m,MAE} = 10,74\text{--}14,08$ mm) au indicat următoarele:

- factorul adimensional c_{et} (X_1) a avut un efect pozitiv semnificativ asupra tuturor răspunsurilor procesului, iar X_1^2 a avut un efect negativ semnificativ asupra variabilelor $CaC_{pr,MAE}$, $CbC_{pr,MAE}$ și $TCC_{pr,MAE}$;
- factorul adimensional R_{LS} (X_2) a avut un efect negativ semnificativ asupra tuturor răspunsurilor, X_2^2 a avut un efect negativ semnificativ asupra variabilei $TCC_{pr,MAE}$ și un efect pozitiv semnificativ asupra $d_{pr,MAE}$, iar interacțiunea X_1X_2 a avut un efect negativ semnificativ asupra $d_{pr,MAE}$.

La nivelurile optime ale factorilor procesului MAE ($c_{et,opt,MAE} = 86\%$ și $R_{LS,opt,MAE} = 5,9$ mL/g), valorile medii ale răspunsurilor au fost: $CaC_{m,opt,MAE} = 38,78$ mg/L, $CbC_{m,opt,MAE} = 28,07$ mg/L, $TCC_{m,opt,MAE} = 10,31$ mg/L și $d_{m,opt,MAE} = 14,55$ mm.

Valorile medii ale CaC_{opt} , CbC_{opt} , TCC_{opt} și d_{opt} pentru UAE și MAE nu au fost semnificativ diferite. Extractele de mentă preparate în condiții optime de operare ar putea fi utilizate ca ingrediente în alimente, produse de îngrijire personală, cosmetice sau produse farmaceutice.

In subcapitolul 2.2.2. Îmbunătățirea eficienței extracției uleiului esențial din cimbru prin utilizarea combinată a tratamentului cu ultrasunete și extracției asistate de microunde s-a studiat influența pretratamentului cu ultrasunete aplicat frunzelor și tulpinilor de cimbru înainte de hidrodistilarea asistată de microunde (MWHD) asupra randamentului de extracție a uleiului esențial (UE) și conținuturilor de compuși bioactivi. S-au realizat și extracții comparative, fără pretratare, atât prin MWHD, cât și prin hidrodistilare convențională (CHD). S-a evaluat influența factorilor procesului, *i.e.*, raportul lichid/solid, dimensiunea particulelor de material vegetal, tipul echipamentului cu ultrasunete utilizat pentru pretratare și amplitudinea procesorului ultrasonic, asupra performanței procesului de extracție.

Principalele obiective/direcții de cercetare pe care le vizez în continuare se referă la:

- pertracția facilitată a compușilor bioactivi utilizând diferite membrane lichide și agenți de transport;
- extracția compușilor bioactivi din alte plante medicinale și aromatice utilizând diferite tehnici convenționale și neconvenționale;
- integrarea extractelor în matrici alimentare și/sau formulări cosmetice.

LISTA DE LUCRĂRI

Lucrări publicate în reviste indexate/cotate ISI:

1. Diaconu, I., Pârvulescu, O.C., **Topală, S.L.**, Dobre, T. (2021) *Effects of process factors on performances of liquid membrane-based transfer of indole-3-acetic acid*. Sci. Rep., 11(1), 23427, WOS:000727615800033 (Q1), FI (2021) =4,38.
2. Gavrilă, A.I., Chisega-Negrila, C.G., **Maholea, L.**, Gavrilă, M.L., Pârvulescu, O.C., Popa, I. (2023) *Enhancing the extraction process efficiency of thyme essential oil by combined ultrasound and microwave techniques*. Agronomy, 13 (9), art. no. 2331, 1–14, WOS: 001093126200001 (Q1), FI (2023) = 3,3.
3. **Topală, S.L.**, Diaconu, I., Pârvulescu, O.C., Jidveian, R.S., Drăghici-Popa, A.M. (2025) *Facilitated pertraction of indole 3-acetic acid in the presence of trioctylamine as a carrier*. U.P.B. Sci. Bull. Series B 2025, 87(4) (acceptat spre publicare) FI (2024) = 0,3.
4. Roșu, A.M., Aruș, V.A., Răducanu, D., Platon, N., Georgescu, A.M., Muntianu, G., Nistor, I.D., **Topală, S.L.**, Pârvulescu, O.C. (2025) *Optimization of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted extraction of bioactive compounds from Romanian peppermint (*Mentha × piperita* L.)*. Agronomy (Q1) (trimis spre publicare).

FACTOR DE IMPACT: 7,98

Prezentări orale (O)/postere (P) la conferințe/simpozioane internaționale:

1. **Topală, S.L.**, Pârvulescu, O.C., Diaconu, I., Badea, G.I., Radu, D.A. (2022) *Removal of emerging pollutants from wastewater by membrane techniques*. 22nd Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE), Section 5: MONITORING & ENVIRONMENTAL PROTECTION, 7-9 September 2022, Sinaia, Romania (P).
2. **Topală, S.L.**, Diaconu, I., Tudor, C.A., Cernica, G., Orbeci, C., Pârvulescu, O.C. (2024) *Efficiency and selectivity of some ionic liquids in the pertraction of some emerging pollutants through bulk liquid membranes*. 23rd Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE), Section 6: SUSTAINABILITY & ENVIRONMENTAL ENGINEERING, 4-7 September 2024, Mamaia, Romania (P).
3. Gavrilă, A.I., Trifan, A., Popa, I., **Maholea, L.**, Feizula, E. (2024) *Ultrasound assisted extraction of phytochemicals from *Melissa officinalis* L. with neuroprotective effect*. 23rd Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE), Section 3: GREEN ENERGY & CHEMISTRY CONCEPTS, 4-7 September 2024, Mamaia, Romania (P).

BIBLIOGRAFIE

1. Ahmad, A. L., Kusumastuti, A., Derek, C. J. C., & Ooi, B. S. (2011). Emulsion liquid membrane for heavy metal removal: An overview on emulsion stabilization and destabilization. *Chemical Engineering Journal*, 171(3), 870-882.
2. Airouyuwa, J. O., Mostafa, H., Riaz, A., Stathopoulos, C., & Maqsood, S. (2023). Natural deep eutectic solvents and microwave-assisted green extraction for efficient recovery of bioactive compounds from by-products of date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) processing: Modeling, optimization, and phenolic characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 16(4), 824-843.
3. Alam, M. M., Malebari, A. M., Syed, N., Neamatallah, T., Almalki, A. S., Elhenawy, A. A., ... & Alsharif, M. A. (2021). Design, synthesis and molecular docking studies of thymol based 1, 2, 3-triazole hybrids as thymidylate synthase inhibitors and apoptosis inducers against breast cancer cells. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 38, 116136.
4. Albaraka, Z. (2020). Carrier-mediated liquid membrane systems for lead (II) ion separations. *Chemical Papers*, 74(1), 77-88.
5. Alguacil, F. J., & López, F. A. (2020). Dispersion-free extraction of In (III) from HCl solutions using a supported liquid membrane containing the HA324H⁺ Cl⁻ ionic liquid as the carrier. *Scientific Reports*, 10(1), 13868.
6. Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42.
7. Asami, T., & Nakagawa, Y. (2018). Preface to the Special Issue: Brief review of plant hormones and their utilization in agriculture. *Journal of pesticide science*, 43(3), 154-158.
8. Aslam, M. S., Ahmad, M. S., & Raja, S. A. (2017). Solventless extraction of essential oil. In *Green Chemistry*. IntechOpen.
9. Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 4(3), 1000196.
10. Balasubramanian, A., & Venkatesan, S. (2012). Removal of phenolic compounds from aqueous solutions using Aliquat 336 as a carrier in emulsion liquid membrane. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 29(11), 1622-1627.
11. Bandici, L., Teusdea, A. C., Soproni, V. D., Hathazi, F. I., Arion, M. N., Molnar, C. O., & Vicas, S. I. (2022). The influence of microwave treatments on bioactive compounds and antioxidant capacity of *Mentha piperita* L. *Materials*, 15(21), 7789.

12. Balasubramanian, N. (2020). Imidazolium-based ionic liquids for acrylic acid separation from water by bulk liquid membrane and extraction methods: A comparison study. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 65(6), 3121-3129.
13. Baylan, N., & Çehreli, S. (2018). Ionic liquids as bulk liquid membranes on levulinic acid removal: A design study. *Journal of molecular liquids*, 266, 299-308.
14. Baylan, N., Çehreli, S., & Özparlak, N. (2017). Transport and separation of carboxylic acids through bulk liquid membranes containing tributylamine. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38(6), 895-900.
15. Biswal, A. K., Vashisht, I., Khan, A., Sharma, S., & Saha, S. (2019). Synthesis, characterization and antibacterial activity of thymol-loaded polylactic acid microparticles entrapped with essential oils of varying viscosity. *Journal of Materials Science*, 54(13), 9745-9758.
16. Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585.
17. Boateng, I. D., Soetanto, D. A., Li, F., Yang, X. M., & Li, Y. Y. (2021). Separation and purification of polyphenols from *Ginkgo biloba* L. leaves by bulk ionic liquid membrane and optimizing parameters. *Industrial Crops and Products*, 170, 113828.
18. Calinescu, I., Gavrilă, A., Ivopol, M., Ivopol, G., Popescu, M., & Mircioaga, N. (2014). Microwave assisted extraction of essential oils from enzymatically pretreated lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). *Open Chemistry*, 12(8), 829-836.
19. Calinescu, I., Lavric, V., Asofiei, I., Gavrilă, A. I., Trifan, A., Ighigeanu, D., ... & Matei, C. (2017). Microwave assisted extraction of polyphenols using a coaxial antenna and a cooling system. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 122, 373-379.
20. Călinescu, I., Vinatoru, M., Ghimpețeanu, D., Lavric, V., & Mason, T. J. (2021). A new reactor for process intensification involving the simultaneous application of adjustable ultrasound and microwave radiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 77, 105701.
21. Campanella, B., Pulidori, E., Onor, M., Passaglia, E., Tegli, S., Izquierdo, C. G., & Bramanti, E. (2016). New polymeric sorbent for the solid-phase extraction of indole-3-acetic acid from plants followed by liquid chromatography—Fluorescence detector. *Microchemical Journal*, 128, 68-74.
22. Carbone, K., Amoriello, T., & Iadecola, R. (2020). Exploitation of kiwi juice pomace for the recovery of natural antioxidants through microwave-assisted extraction. *Agriculture*, 10(10), 435.
23. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.

24. Chen, F., Liu, S., Zhao, Z., Gao, W., Ma, Y., Wang, X., ... & Luo, D. (2020). Ultrasound pre-treatment combined with microwave-assisted hydrodistillation of essential oils from *Perilla frutescens* (L.) Britt. leaves and its chemical composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, 143, 111908.
25. Chen, L., Wu, Y., Dong, H., Meng, M., Li, C., Yan, Y., & Chen, J. (2018). An overview on membrane strategies for rare earths extraction and separation. *Separation and Purification Technology*, 197, 70-85.
26. Cristina, R. H., Jesús, M. V. M., Rut, F. T., & Ángel, B. L. M. (2018). Use of polymer inclusion membranes (PIMs) as support for electromembrane extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs and highly polar acidic drugs. *Talanta*, 179, 601-607.
27. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
28. Davies, P. J. (1995). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology* (pp. 1-12). Dordrecht: Springer Netherlands.
29. Diaconu, I., Parvulescu, O. C., Badea, G. I., Rotaru, M., Orbeci, C., & Cernica, G. (2024). Use of bulk liquid membranes for the removal of aspartame from aqueous media. *Journal of Molecular Liquids*, 409, 125456.
30. Diaconu, I., Pârvulescu, O. C., Topală, S. L., & Dobre, T. (2021). Effects of process factors on performances of liquid membrane-based transfer of indole-3-acetic acid. *Scientific Reports*, 11(1), 23427.
31. Doughari, J. H. (2012). Extraction methods, basic structures, and mode of action as potential chemotherapeutic agents, phytochemicals—a global perspective of their role in nutrition and health. *A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. Phytochemicals*.
32. Drăghici-Popa, A. M., Pârvulescu, O. C., Stan, R., & Brezoiu, A. M. (2025). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Romanian blackthorn (*Prunus spinosa* L.) fruits. *Antioxidants*, 14(6), 680.
33. Eftekhari, A., Khusro, A., Ahmadian, E., Dizaj, S. M., Hasanzadeh, A., & Cucchiaroni, M. (2021). Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of *Mentha* spp.: A comprehensive review. *Arab. J. Chem.*, 14(5), 103106.
34. Egri, D., Pârvulescu, O. C., Ion, V. A., Răducanu, C. E., Calcan, S. I., Bădulescu, L., ... & Crăciun, M. E. (2022). Vine pruning-derived biochar for agronomic benefits. *Agronomy*, 12(11), 2730.

35. Etesami, H., & Glick, B. R. (2024). Bacterial indole-3-acetic acid: A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. *Microbiological Research*, 281, 127602.
36. Evans, W. C., & Evans, D. (2002). General methods associated with the phytochemical investigation of herbal products. *Trease and Evans Pharmacognosy (15 ed.)*, New Delhi: Saunders (Elsevier), 137-148.
37. Fakhri, L. A., Ghanbarzadeh, B., & Falcone, P. M. (2023). New healthy low-sugar and carotenoid-enriched/high-antioxidant beverage: Study of optimization and physicochemical properties. *Foods*, 12(17), 3265.
38. Felici, M., Tugnoli, B., Ghiselli, F., Massi, P., Tosi, G., Fiorentini, L., ... & Grilli, E. (2020). In vitro anticoccidial activity of thymol, carvacrol, and saponins. *Poultry science*, 99(11), 5350-5355.
39. Feng, Y., Tian, B., Xiong, J., Lin, G., Cheng, L., Zhang, T., ... & Li, X. (2024). Exploring IAA biosynthesis and plant growth promotion mechanism for tomato root endophytes with incomplete IAA synthesis pathways. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1), 187.
40. Floares, D., Cocan, I., Alexa, E., Poiana, M. A., Berbecea, A., Boldea, M. V., ... & Radulov, I. (2023). Influence of extraction methods on the phytochemical profile of *Sambucus nigra* L. *Agronomy*, 13(12), 3061.
41. Frébort, I., Kowalska, M., Hluska, T., Frébortová, J., & Galuszka, P. (2011). Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation. *Journal of Experimental Botany*, 62(8), 2431-2452.
42. Galaction, A. I., Blaga, A. C., & Cașcaval, D. (2011). Study on facilitated pertraction of folic acid in pseudosteady-state regime. *Separation Science and Technology*, 46(6), 912-919.
43. Galaction, A. I., Poștaru, M., Kloetzer, L., Blaga, A. C., & Cașcaval, D. (2015). Separation of rosmarinic acid by facilitated pertraction. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 621-628.
44. García-Sarrió, M. J., Sanz, M. L., Palá-Paúl, J., Díaz, S., & Soria, A. C. (2023). Optimization of a green microwave-assisted extraction method to obtain multifunctional extracts of *Mentha* sp. *Foods*, 12(10), 2039.
45. Garzoli, S., Pirolli, A., Vavala, E., Di Sotto, A., Sartorelli, G., Božović, M., ... & Ragno, R. (2015). Multidisciplinary approach to determine the optimal time and period for extracting the essential oil from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Molecules*, 20(6), 9640-9655.
46. Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 32(4), 272-289.

47. Gholamipourfard, K., Salehi, M., & Banchio, E. (2021). *Mentha piperita* phytochemicals in agriculture, food industry and medicine: Features and applications. *South African Journal of Botany*, 141, 183-195.
48. Grigore, A., Paraschiv, I. N. A., Colceru-Mihul, S., Bubueanu, C., Draghici, E., & Ichim, M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(4), 5436-5443.
49. Grosso, C., Figueiredo, A. C., Burillo, J., Mainar, A. M., Urieta, J. S., Barroso, J. G., ... & Palavra, A. M. (2010). Composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* volatiles: Comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Journal of Separation Science*, 33(14), 2211-2218.
50. Gupta, A., Naraniwal, M., & Kothari, V. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 1(1), 8-26.
51. Hamayun, M., Hussain, A., Khan, S. A., Kim, H. Y., Khan, A. L., Was, M., ... & Lee, I. J. (2017). Gibberellins producing endophytic fungus *Porostereum spadiceum* AGH786 rescues growth of salt affected soybean. *Frontiers in microbiology*, 8, 686.
52. Hammadi, A. A., & Adnan, H. (2021). Determination antimicrobial activity from ethanolic extract of *Mentha piperita* L.(Peppermint). *Scientific Journal of Medical Research*, 5(17), 01-06.
53. Hassoune, T, Rhlalou, J,F, Verchere, (2009), Mechanism of transport of sugars across a supported liquid membrane using methyl cholate as mobile carrier, *Desalination* 242 84–95.
54. He, J., Li, Y., Xue, X., Ru, H., Huang, X., & Yang, H. (2015). Extraction of Ce (IV) from sulphuric acid solution by emulsion liquid membrane using D2EHPA as carrier. *RSC Advances*, 5(91), 74961-74972.
55. Hernández, Y., Lobo, M.G., & González, M. (2009). Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. *Food Chemistry*, 114(2), 734-741
56. Horablaga, N. M., Cozma, A., Alexa, E., Obistioiu, D., Cocan, I., Poiana, M. A., ... & Buzna, C. (2023). Influence of sample preparation/extraction method on the phytochemical profile and antimicrobial activities of 12 commonly consumed medicinal plants in Romania. *Applied Sciences*, 13(4), 2530.
57. Hosikian, A., Lim, S., Halim, R., & Danquah, M. K. (2010). Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. *International journal of chemical engineering*, 2010(1), 391632.
58. Hossain, M. A., Al-Hdhrami, S. S., Weli, A. M., Al-Riyami, Q., & Al-Sabahi, J. N. (2014). Isolation, fractionation and identification of chemical constituents from the leaves crude extracts of *Mentha*

- piperita L grown in Sultanate of Oman. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S368-S372.
59. Hudz, N., Kobylinska, L., Pokajewicz, K., Horčinová Sedláčková, V., Fedin, R., Voloshyn, M., ... & Lipok, J. (2023). *Mentha piperita*: Essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. *Molecules*, 28(21), 7444..
 60. Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*, 15(1), 1-23.
 61. Ince, N. H., Tezcanli, G., Belen, R. K., & Apikyan, İ. G. (2001). Ultrasound as a catalyzer of aqueous reaction systems: the state of the art and environmental applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, 29(3), 167-176.
 62. Indrayudha, P. (2021). Antibacterial activity of combination of ethanol extract of pepermine leaves (*Mentha piperita* L.) and amikacin against *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Journal of Nutraceuticals and Herbal Medicine*, 4(1), 12-29.
 63. Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P., & Khelurkar, V. C. (2017). Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32-36.
 64. Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. S. (2009). Microwave assisted extraction for phytoconstituents—an overview. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2(1), 19-25.
 65. Jiang, K., & Asami, T. (2018). Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 82(8), 1265-1300.
 66. Joshi, N., Keshav, A., Khapre, A., & Poonia, A. K. (2021). Separation of butyric acid through agitated bulk liquid membrane. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(2), 3386-3391.
 67. Jurić, T., Mičić, N., Potkonjak, A., Milanov, D., Dodić, J., Trivunović, Z., & Popović, B. M. (2021). The evaluation of phenolic content, in vitro antioxidant and antibacterial activity of *Mentha piperita* extracts obtained by natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 362, 130226..
 68. Kachalkin, A., Glushakova, A., & Streletskii, R. (2022). Diversity of endophytic yeasts from agricultural fruits positive for phytohormone IAA production. *BioTech*, 11(3), 38.
 69. Kant, R., & Kumar, A. (2021). Advancements in steam distillation system for oil extraction from peppermint leaves. *Materials Today: Proceedings*, 47, 5794-5799.
 70. Kapás, Á., András, C. D., Dobre, T. G., Vass, E., Székely, G., Stroescu, M., ... & Ábrahám, B. (2011). The kinetic of essential oil separation from fennel by microwave assisted hydrodistillation (MWHHD). *Sci. Bull. Ser. B*, 73, 113-120.

71. Katekar, V. P., Rao, A. B., & Sardeshpande, V. R. (2022). Review of the rose essential oil extraction by hydrodistillation: An investigation for the optimum operating condition for maximum yield. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29, 100783.
72. Kaur, A., & Vohra, D. K. (2010). Study of bulk liquid membrane as a separation technique to recover acetic and propionic acids from dilute solutions. *Indian journal of chemical technology*, 17(2), 133-138.
73. Kedari, C. S., Pandit, S. S., & Gandhi, P. M. (2013). Separation by competitive transport of uranium (VI) and thorium (IV) nitrates across supported renewable liquid membrane containing trioctylphosphine oxide as metal carrier. *Journal of Membrane Science*, 430, 188-195.
74. Keswani, C., Singh, S. P., Cueto, L., García-Estrada, C., Mezaache-Aichour, S., Glare, T. R., ... & Sansinenea, E. (2020). Auxins of microbial origin and their use in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(20), 8549-8565.
75. Khalili, G., Mazloomifar, A., Larijani, K., Tehrani, M. S., & Azar, P. A. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. and *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 119, 214-217.
76. Kislik, V. S. (Ed.). (2009). *Liquid membranes: principles and applications in chemical separations and wastewater treatment*. Elsevier.
77. Kowalska, G., Baj, T., Kowalski, R., & Szymańska, J. (2021). Optimization of glycerol–water extraction of selected bioactive compounds from peppermint and common nettle. *Antioxidants*, 10(5), 817.
78. Kowalski, R., & Wawrzykowski, J. (2009). Effect of ultrasound-assisted maceration on the quality of oil from the leaves of thyme *Thymus vulgaris* L. *Flavour and fragrance journal*, 24(2), 69-74.
79. Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., Boachon, B., Förster, C., Leidecker, F., ... & Degenhardt, J. (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proceedings of the national academy of sciences*, 118(52), e2110092118.
80. Kumar, K. A., & Gomez, S. (2024). Microwave-Assisted Extraction of Bioactives in Fruits and Vegetables: A comprehensive review. *Journal of Food Bioactives*, 28.
81. Kumbasar, R. A. (2009). Extraction and concentration study of cadmium from zinc plant leach solutions by emulsion liquid membrane using trioctylamine as extractant. *Hydrometallurgy*, 95(3-4), 290-296.
82. Kunhermanti, D., & Mahfud, M. (2023). Optimization of peppermint (*Mentha piperita* L.) extraction using solvent-free microwave green technology. *Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering (AFSSAAE)*, 33-40.

83. Lee, C. S., Binner, E., Winkworth-Smith, C., John, R., Gomes, R., & Robinson, J. (2016). Enhancing natural product extraction and mass transfer using selective microwave heating. *Chemical Engineering Science*, 149, 97-103.
84. Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., & Tsao, R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130(4), 928-936.
85. Li, H., Wu, J., Rempel, C. B., & Thiyam, U. (2010). Effect of operating parameters on oil and phenolic extraction using supercritical CO₂. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(9), 1081-1089.
86. Liu, Y., Chen, J., & Chen, L. (2017). Preparation of supported ionic liquids and their applications in rare earths separation and purification. *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 35(1), 9-18.
87. Liu, Z., Li, H., Cui, G., Wei, M., Zou, Z., & Ni, H. (2021). Efficient extraction of essential oil from *Cinnamomum burmannii* leaves using enzymolysis pretreatment and followed by microwave-assisted method. *Lwt*, 147, 111497.
88. Loolaie, M., Moasefi, N., Rasouli, H., & Adibi, H. (2017). Peppermint and its functionality: A review. *Arch Clin Microbiol*, 8(4), 54.
89. Majekodunmi, S. O. (2015). Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research. *Merit Res J Med*, 3, 521-527.
90. Mascarin, L. G., Franco, F. W., Dornelles, R. C., Figueredo, K. C., Santos, R. O., Bauermann, L. D. F., ... & Sautter, C. K. (2023). Effect of Adding *Matricaria recutita* L., *Cymbopogon citratus*, or *Mentha piperita* L. Extracts to Fermented Orange Beverage: Sensory Evaluation, Physicochemical Characterization, and Prediction of Toxic Risks and Biological Activity In Silico. *Foods*, 12(2), 243.
91. Mason, T. J., Ghimpeteanu, D., Călinescu, I., Vinatoru, M., & Trifan, A. (2024). A simple new approach for mapping an ultrasonic tank for sonochemistry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 107, 106940.
92. Mesli, M., & Belkhouche, N. E. (2018). Extraction and pre-concentration of lead from copper by emulsion liquid membrane technique using an ionic liquid. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, 3(1), 14.
93. Miljanović, A., Bielen, A., Grbin, D., Marijanović, Z., Andlar, M., Rezić, T., ... & Dent, M. (2020). Effect of enzymatic, ultrasound, and reflux extraction pretreatments on the yield and chemical composition of essential oils. *Molecules*, 25(20), 4818.
94. Miyawaki, K., Matsumoto-Kitano, M., & Kakimoto, T. (2004). Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *The plant journal*, 37(1), 128-138.

95. Mohamed, R. S., & Mansoori, G. A. (2002). The use of supercritical fluid extraction technology in food processing. *Food Technology Magazine*, 20(7), 134-139.
96. Moț, A., Pârvulescu, O. C., Ion, V. A., Moloșag, A., Dobrin, A., Bădulescu, L., ... & Mocanu, A. (2024). Preparation, characterization, and testing of compost tea derived from seaweed and fish residues. *Agronomy*, 14(9), 1919.
97. Mukherjee, A., Gaurav, A. K., Singh, S., Yadav, S., Bhowmick, S., Abeysinghe, S., & Verma, J. P. (2022). The bioactive potential of phytohormones: A review. *Biotechnology Reports*, 35, e00748.
98. Munekata, P. E., Alcántara, C., Žugčić, T., Abdelkebir, R., Collado, M. C., García-Pérez, J. V., ... & Lorenzo, J. M. (2020). Impact of ultrasound-assisted extraction and solvent composition on bioactive compounds and in vitro biological activities of thyme and rosemary. *Food Research International*, 134, 109242.
99. Myo, E. M., Ge, B., Ma, J., Cui, H., Liu, B., Shi, L., ... & Zhang, K. (2019). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC microbiology*, 19(1), 155.
100. Nascimento, F. X., Rossi, M. J., & Glick, B. R. (2018). Ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in plant–bacterial interactions. *Frontiers in plant science*, 9, 114.
101. Nieto, G. (2020). A review on applications and uses of thymus in the food industry. *Plants*, 9(8), 961.
102. Opriș, O., Soran, M. L., Lung, I., Stegarescu, A., Guțoiu, S., Podea, R., & Podea, P. (2021). Optimization of extraction conditions of polyphenols, antioxidant capacity and sun protection factor from *Prunus spinosa* fruits. Application in sunscreen formulation. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 18(10), 2625-2636.
103. Oreopoulou, A., Papavassilopoulou, E., Bardouki, H., Vamvakias, M., Bimpilas, A., & Oreopoulou, V. (2018). Antioxidant recovery from hydrodistillation residues of selected Lamiaceae species by alkaline extraction. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 8, 83-89.
104. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*, 243-259.
105. Ou, M. C., Liu, Y. H., Sun, Y. W., & Chan, C. F. (2015). The composition, antioxidant and antibacterial activities of cold-pressed and distilled essential oils of *Citrus paradisi* and *Citrus grandis* (L.) Osbeck. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 804091.
106. Panda, D., & Manickam, S. (2019). Cavitation technology—The future of greener extraction method: A review on the extraction of natural products and process intensification mechanism and perspectives. *Applied Sciences*, 9(4), 766.

107. Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 2(5).
108. Panja, S., Ruhela, R., Das, A., Tripathi, S. C., Singh, A. K., Gandhi, P. M., & Hubli, R. C. (2014). Carrier mediated transport of Pd (II) from nitric acid medium using Dithiodiglycolamide (DTDGA) across a supported liquid membrane (SLM). *Journal of Membrane Science*, 449, 67-73.
109. Parkatzidis, K., Chatzinikolaidou, M., Koufakis, E., Kaliva, M., Farsari, M., & Vamvakaki, M. (2020). Multi-photon polymerization of bio-inspired, thymol-functionalized hybrid materials with biocompatible and antimicrobial activity. *Polymer Chemistry*, 11(25), 4078-4083.
110. Pavlić, B., Bera, O., Vidović, S., Ilić, L., & Zeković, Z. (2017). Extraction kinetics and ANN simulation of supercritical fluid extraction of sage herbal dust. *The Journal of supercritical fluids*, 130, 327-336.
111. Peng, X., Feng, C., Wang, X., Gu, H., Li, J., Zhang, X., ... & Yang, L. (2021). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from barks of *Pinus pumila* using microwave-assisted hydrodistillation after screw extrusion treatment. *Industrial Crops and Products*, 166, 113489.
112. Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*, 9(6), 505.
113. Périno-Issartier, S., Abert-Vian, M., & Chemat, F. (2011). Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 1020-1028.
114. Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food control*, 31(2), 593-606.
115. Pirog, T. P., Iutynska, G. O., Leonova, N. O., Beregova, K. A., & Shevchuk, T. A. Microbial synthesis of phytohormones. *Biotechnologia Acta*, 11(1), 5-24.
116. Plíhalová, L., Vylíčilová, H., Doležal, K., Zahajská, L., Zatloukal, M., & Strnad, M. (2016). Synthesis of aromatic cytokinins for plant biotechnology. *New biotechnology*, 33(5), 614-624.
117. Radivojac, A., Bera, O., Zeković, Z., Teslić, N., Mrkonjić, Ž., Bursać Kovačević, D., ... & Pavlić, B. (2021). Extraction of peppermint essential oils and lipophilic compounds: Assessment of process kinetics and environmental impacts with multiple techniques. *Molecules*, 26(10), 2879.
118. Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55(3), 207-216.
119. Raval, J. B., Mehta, V. N., Jha, S., Park, T. J., & Kailasa, S. K. (2025). Synthesis of green emissive *Plectranthus scutellarioides* carbon dots for sustainable and label-free detection of phytohormone indole-3-acetic acid. *Inorganic Chemistry Communications*, 171, 113660.

120. Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Ramos-Gómez, M., Rodríguez-Muñoz, M. E., Reynoso-Camacho, R., ... & Roque-Rosales, M. R. (2007). Antioxidant effect of oregano (*Lippia berlandieri* v. Shauer) essential oil and mother liquors. *Food chemistry*, 102(1), 330-335.
121. Román-Hidalgo, C., Martín-Valero, M. J., Fernández-Torres, R., Callejón-Mochón, M., & Bello-López, M. Á. (2017). New nanostructured support for carrier-mediated electromembrane extraction of high polar compounds. *Talanta*, 162, 32-37.
122. Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409-424.
123. Rubinskienė, M., Viškelis, P., Dambrauskienė, E., Viškelis, J., & Karklelienė, R. (2015). Effect of drying methods on the chemical composition and colour of peppermint (*Mentha × piperita* L.) leaves. *Zemdirbyste-Agriculture*, 102(2).
124. Rydberg, J., Choppin, G. R., Musikas, C., & Sekine, T. (2004). Solvent extraction equilibria. In *Solvent extraction principles and practice, revised and expanded* (pp. 121-217). CRC Press.
125. Saifullah, M., McCullum, R., & Vuong, Q. V. (2021). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from Lemon Myrtle: Comparison of modern and conventional extraction techniques based on bioactivity and total polyphenols in dry extracts. *Processes*, 9(12), 2212.
126. Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K., & Latha, L.Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1-10
127. Serban, E. A., Diaconu Ioana, Ruse Elena, Gadea G. I., Cuciureanu, A. & Nechifor Gheorghe (2017). Evaluation of kinetic parameters at the transport of indole-3-acetic acid through bulk liquid membranes. *Rev. Chim*, 68(5), 903-907.
128. Shabnum, S., & Wagay, M. G. (2011). Essential oil composition of *Thymus vulgaris* L. and their uses. *J. Res. Dev*, 11, 83-94.
129. Shalaby, A. S., & Razin, A. M. (1992). Dense cultivation and fertilization for higher yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168(4), 243-248.
130. Shelepova, O. V., Diloarova, T. A., Gulevich, A. A., Olekhovich, L. S., Shirokova, A. V., Ushakova, I. T., ... & Baranova, E. N. (2021). Chemical components and biological activities of essential oils of *Mentha× piperita* L. from field-grown and field-acclimated after in vitro propagation plants. *Agronomy*, 11(11), 2314..
131. Sheorain, J., Mehra, M., Thakur, R., Grewal, S., & Kumari, S. (2019). In vitro anti-inflammatory and antioxidant potential of thymol loaded bipolymeric (tragacanth gum/chitosan) nanocarrier. *International journal of biological macromolecules*, 125, 1069-1074.

132. Siddeeg, A., Salih, Z. A., Mukhtar, R. M., & Ali, A. O. (2018). Extraction and characterization of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil and its assessment as antioxidant and antibacterial.
133. Singh, R., Shushni, M. A., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 322-328.
134. Smith, R.M. (2003). Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 1000(1-2), 3-27.
135. Sobti, B., Kamal-Eldin, A., Rasul, S., Alnuaimi, M. S. K., Alnuaimi, K. J. J., Alhassani, A. A. K., ... & Nazir, A. (2023). Encapsulation properties of mentha piperita leaf extracts prepared using an ultrasound-assisted double emulsion method. *Foods*, 12(9), 1838.
136. Srief, M., Bani, M., Mokrani, E. H., Mennai, I., Hamdi, M., Boumechhour, A., ... & Akkal, S. (2023). Evaluation of in vitro and in silico anti-Alzheimer potential of nonpolar extracts and essential oil from *Mentha piperita*. *Foods*, 12(1), 190.
137. Staicu, V., Calinescu, I., Vinatoru, M., Ghimpeteanu, D., Popa, I., & Mason, T. J. (2024). The efficient extraction of β -carotene from sea buckthorn berries using a novel solvent, fatty acid ethyl esters, and a combination of ultrasound and microwave. *Agronomy*, 14(3), 416.
138. Straumite, E., Kruma, Z., & Galoburda, R. (2015). Pigments in mint leaves and stems.
139. Sujana, P., Sridhar, T. M., Josthna, P., & Naidu, C. V. (2013). Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Mentha piperita* L.(Peppermint)—An important multipurpose medicinal plant.
140. Szczepański, P., & Diaconu, I. (2012). Transport of p-nitrophenol through an agitated bulk liquid membrane. *Separation Science and Technology*, 47(12), 1725-1732.
141. Tajabadi, F., & Ghambarian, M. (2020). Carrier-mediated extraction: Applications in extraction and microextraction methods. *Talanta*, 206, 120145.
142. Thaiphanit, S., Wedprasert, W., & Srabua, A. (2020). Conventional and microwave-assisted extraction for bioactive compounds from dried coffee cherry peel by-products and antioxidant activity of the aqueous extracts. *ScienceAsia*, 46.
143. Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P., & Luewisutthichat, W. (2001). Supercritical CO₂ extraction of nimbin from neem seeds—an experimental study. *Journal of Food Engineering*, 47(4), 289-293.
144. Uribe, E., Marín, D., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., & Rodríguez, A. (2016). Assessment of vacuum-dried peppermint (*Mentha piperita* L.) as a source of natural antioxidants. *Food chemistry*, 190, 559-565.
145. Uwineza, P.A., & Waśkiewicz, A. (2020). Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*, 25(17), 3847.

146. Venturini, T. P., Rossato, L., Chassot, F., De Azevedo, M. I., Al-Hatmi, A. M., Santurio, J. M., & Alves, S. H. (2021). Activity of cinnamaldehyde, carvacrol and thymol combined with antifungal agents against *Fusarium* spp. *Journal of Essential Oil Research*, 33(5), 502-508.
147. Videla, E. A., Giayetto, O., Fernández, M. E., Chacana, P. A., Marin, R. H., & Nazar, F. N. (2020). Immediate and transgenerational effects of thymol supplementation, inactivated *Salmonella* and chronic heat stress on representative immune variables of Japanese quail. *Scientific Reports*, 10(1), 18152.
148. Vildanova, M. S., Savitskaya, M. A., Onishchenko, G. E., & Smirnova, E. A. (2014). The effect of plant hormones on the components of the secretory pathway in human normal and tumor cells. *Cell and Tissue Biology*, 8(5), 407-415.
149. Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry*, 8(3), 303-313.
150. Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.
151. Wei, H., Kong, S., Jayaraman, V., Selvaraj, D., Soundararajan, P., & Manivannan, A. (2023). *Mentha arvensis* and *Mentha piperita*-vital herbs with myriads of pharmaceutical benefits. *Horticulturae*, 9(2), 224..
152. Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus. Chimie*, 19(6), 754-765.
153. Woodward, A. W., & Bartel, B. (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Annals of botany*, 95(5), 707-735.
154. Xie, F., Zhang, T. A., Dreisinger, D., & Doyle, F. (2014). A critical review on solvent extraction of rare earths from aqueous solutions. *Minerals Engineering*, 56, 10-28.
155. Xiong, W., Chen, X., Lv, G., Hu, D., Zhao, J., & Li, S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from lotus plumule using response surface methodology. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(6), 382-388.
156. Xylia, P., Chrysagyris, A., Tomou, E. M., Goumenos, C., Skaltsa, H., & Tzortzakis, N. (2024). Quality Characteristics and Essential Oil Properties of *Thymus capitatus*, *Mentha piperita*, and *Sideritis cypria* Dried under Different Conditions. *Plants*, 13(22), 3150.
157. Yang, L., Wang, H., Zu, Y. G., Zhao, C., Zhang, L., Chen, X., & Zhang, Z. (2011). Ultrasound-assisted extraction of the three terpenoid indole alkaloids vindoline, catharanthine and vinblastine

- from *Catharanthus roseus* using ionic liquid aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 172(2-3), 705-712.
158. Yang, Y., & Zhang, F. (2008). Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(4), 308-313.
 159. Yu, P., Huang, K., Zhao, J., Zhang, C., Xie, K., Deng, F., & Liu, H. (2010). A novel separation technique: Gas-assisted three-liquid-phase extraction for treatment of the phenolic wastewater. *Separation and purification technology*, 75(3), 316-322.
 160. Zarshenas, M. M., Samani, S. M., Petramfar, P., & Moein, M. (2014). Analysis of the essential oil components from different *Carum copticum* L. samples from Iran. *Pharmacognosy research*, 6(1), 62.
 161. Zeng, L., Liu, Q., Luo, L., Liu, L., & Tang, K. (2019). Enhancement mechanism of an improved liquid membrane using selective permeation retardant for heavy metal ions separation. *Chemical Engineering Science*, 201, 1-14.
 162. Zhang, X., Zhou, Y., Wang, J., Huang, X., El-Mesery, H. S., Shi, Y., ... & Zou, X. (2025). Simple-easy electrochemical sensing mode assisted with integrative carbon-based gel electrolyte for in-situ monitoring of plant hormone indole acetic acid. *Food Chemistry*, 467, 142342.
 163. Zhao, Y., Wang, P., Zheng, W., Yu, G., Li, Z., She, Y., & Lee, M. (2019). Three-stage microwave extraction of cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seed essential oil with natural deep eutectic solvents. *Industrial Crops and Products*, 140, 111660.
 164. Zhou, L., Wu, H., Jing, T., Li, T., Li, J., Kong, L., & Zhou, L. (2024). Estimation of relative chlorophyll content in lettuce (*Lactuca sativa* L.) Leaves under cadmium stress using visible—Near-infrared reflectance and machine-learning models. *Agronomy*, 14(3), 427.
 165. Zougagh, M., Valcárcel, M., & Ríos, A. (2004). Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(5), 399-405.