

Poglavlje 13

NEKE MOGUĆNOSTI ISKORIŠTENJA NUSPROIZVODA DUHANSKE INDUSTRIJE

Marija Banožić¹, Elma Nukić-Hrastovina², Stela Jokić^{1*}

*¹Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska, *sjokic@ptfos.hr*

²Fabrika duhana Sarajevo, Pofalićka 5, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

SAŽETAK

Duhan je važna poljoprivredna, ali i ekonomska kultura koja se, za razliku od ostalih, ne koristi kao hrana, već se uživa zbog svojih fizioloških učinaka na središnji živčani sustav i to prvenstveno udisanjem dima koji se oslobađa izgaranjem listova ili, rjeđe, žvakanjem listova. Kao biljka, duhan se uzgaja širom svijeta, a vodeći proizvođač je Kina. S obzirom na velike kapacitete proizvodnje, duhanska industrija generira i velike količine otpada. Promatrajući biljku duhana, jedino se list smatra komercijalno vrijednim te se koristi za daljnju preradu. Korijen, stabljika, neodgovarajući listovi (oštećeni ili bolesni), cvijet i sjeme se odvajaju na polju i smatraju se poljoprivrednim otpadom, dok se tijekom prerade lista izdvaja rebro lista, frakcije manjih granulacija i duhanska prašina koje se smatraju industrijskim otpadom. Dio duhanskog otpada je moguće iskoristiti u izradi duhanske folije, koja se kasnije koristi kao surogat pri proizvodnji cigareta, no to je zahtjevan i skup proces. List duhana sadrži oko tri tisuće različitih kemijskih spojeva uključujući aldehide, organske kiseline, alkohole, estere, ketone i ugljikohidrate, a još oko tisuću njih nastaje izgaranjem duhana pri pušenju. Polifenoli, tanini, kumarini i flavonoidi nastaju kao sekundarni metaboliti u biljci i njihova se koncentracija mijenja tijekom prerade duhana te oni direktno utječu na organoleptička svojstva duhana. Svi oni nalaze se, u manjim ili većim koncentracijama, i u duhanskom otpadu. U ovom poglavlju obrađene su različite vrste duhanskog otpada, metode njegovog izdvajanja te mogućnosti njegovog iskorištenja s naglaskom na ekstrakciju i izolaciju bioaktivnih komponenti, čime bi se postigli pozitivni učinci na više razina. Primarno je to smanjenje velikih količina otpada koji nastaje u duhanskoj industriji, minimaliziranje sadržaja nikotina u otpadu čime bi se taj otpad mogao

sigurno odlagati u okoliš, davanje nove vrijednosti proizvodima, razvijanje novih proizvoda i proizvodnih procesa te pronalazak ekonomski isplativijih i jednostavnijih izvora vrijednih bioaktivnih komponenti.

Ključne riječi: duhanski otpad, ekstrakcija, bioaktivne komponente

UVOD

Duhan je biljka od iznimne ekonomske, poljoprivredne i ekološke važnosti. Unatoč posebnim porezima na proizvodnju duhana, promociji nepušenja, to tržište stalno raste i povećava svoje prihode. Duhan (*Nicotiana tabacum* L.) se uzgaja širom svijeta, u 125 zemalja na preko 4 milijuna hektara obradivih površina, a 80 % ukupne proizvodnje se koristi za izradu cigareta (van Liemt, 2002; Shakhes i sur., 2011). Upravo je konzumacija duhana kroz oblik cigarete omogućila masovnu proizvodnju i distribuciju duhana.

Brojne se kontroverze vežu uz proizvodnju i upotrebu duhanskih proizvoda. Uzgoj i prerada listova duhana uključuje tešku upotrebu pesticida i naftnih derivata, zagađivanje zemljišta i krčenje šuma. Te zabrinutosti uključuju i proizvodnju stakleničkih plinova (CO₂ i metan) koji se oslobađaju proizvodnjom, prijevozom i pušenjem duhanskih proizvoda, zatim toksini u okolišu koji se nalaze u pasivnom dimu odnosno dimu iz druge ruke i, nedavno opisani, otrovni ostaci poznati kao dim iz treće ruke koji se nalazi u domovima i drugim zatvorenim okruženjima gdje se konzumiraju duhanski proizvodi (Curtis i sur., 2017).

Već od 90-tih godina 20. stoljeća velike svjetske tvrtke koje se bave proizvodnjom duhana u svoje poslovanje uvode CSR (eng. *corporate social responsibility*) koje, među ostalim, podrazumijeva i smanjeno korištenje energije, reduciranje krčenja šuma i optimiranje procesa, u cilju što boljeg iskorištavanja resursa kako bi se smanjio nastanak otpada (Otanéz i sur., 2011). Dokument o kontroli duhana „*Tobacco Control Supplement*“ objavljen 2011. godine sažeo je više pitanja vezanih uz utjecaj duhanske industrije na okoliš i predstavio opcije politike za sprječavanje, smanjenje i ublažavanje tih utjecaja (Curtis i sur., 2017). Konvencija Svjetske zdravstvene organizacije o kontroli duhana WHO FCTC (eng. *World Health Organization, Framework Convention on Tobacco Control*) prvi je međunarodni ugovor koji je dogovoren pod pokroviteljstvom WHO. Usvojila ga je Svjetska zdravstvena organizacija 21. svibnja 2003. i stupio je na snagu 27. veljače 2005. godine. Od tada je postao jedan od najbrže i najšire prihvaćenih ugovora u povijesti Ujedinjenih naroda. Konvencija predstavlja prekretnicu u promicanju javnog zdravlja i pruža nove pravne dimenzije vezane za međunarodnu zdravstvenu suradnju (WHO, 2003). Duhanska industrija je preuzela dio odgovornosti te tako sufinancirala uspostavu programa sakupljanja i recikliranja cigaretnih opušaka kao krajnjeg post-potrošačkog otpada (Curtis, 2017). Osim toga, u prošlom je desetljeću nekoliko najvećih duhanskih industrija (Altria,

Philip Morris International, Reynolds American, Japan Tobacco International, Imperial Tobacco i British American Tobacco) počelo izvještavati o utjecaju vlastitih proizvodnih procesa na okoliš kroz izvješća o korištenju proizvodnih resursa i upravljanja otpadom (WHO, 2017). Ne treba zanemariti niti ogroman ekonomski i socijalni učinak koji duhanska industrija ima u mnogim zemljama generirajući radna mjesta, protok novca i ekonomsku održivost (Poltronieri i D'Urso, 2016). Snaga i veličina ove industrije omogućava im brzu prilagodbu na nova tržišta kao i velika ulaganja u razvoj novih proizvoda i procesa. Iako potrošnja i proizvodnja duhanskih proizvoda u svijetu ne opada, duhanska industrija se već sprema na takvu mogućnost. Neke od novi tehnologija su i „*heat not burn*“ proizvodi. Oni su namijenjeni privlačenju potrošača koji su zabrinuti zbog utjecaja duhana na zdravlje s obzirom da se štetni utjecaj duhana povezuje s nastankom karcinogenih specifičnih nitrozamina (TSNAs), a kod ovih proizvoda njihov je sadržaj relativno nizak (Stepanov i sur., 2006) i do 90 % niži od uobičajenih duhanskih proizvoda (Hatsukami i sur., 2007). Radi se o uređajima koji dostavljaju nikotin zagrijavanjem, ali ne i izgaranjem. Time se izbjegava nastanak nekih štetnih komponenti koji nastaju pri visokim temperaturama. Osim toga, duhan se pokazao kao vrlo dobra transgena biljka što bi u budućnosti moglo značiti upotrebu duhana za proizvodnju proteina i bioaktivnih komponenti (Poltronieri i D'Urso, 2016).

Upotreba duhana datira od 16. stoljeća, a zabilježeno je da se koristio kao lijek, kao sredstvo za opuštanje te u vjerskim obredima. U sjevernoameričkom društvu duhan se isključivo koristio kao lijek zbog blagih analgetičkih i antiseptičkih svojstava te je primjenjivan prilikom zubobolje ili otvorenih rana. Primjena duhana od samih početaka kao lijeka raširila se i u novije vrijeme. Duhan se inhalirao, žvakao, jeo, pio, pušio, mazao po tijelu, koristio u kapima za oči i napitcima, a u Americi se i prvi put počeo konzumirati pušenjem. Masivna komercijalizacija duhana započinje u 19. stoljeću pojavom prvih duhanskih industrija. Od tada pa do danas, nijedna kultura nije uspjela zamijeniti duhan. Uzgaja se širom svijeta i njegovo tržište neprestano raste i razvija se.

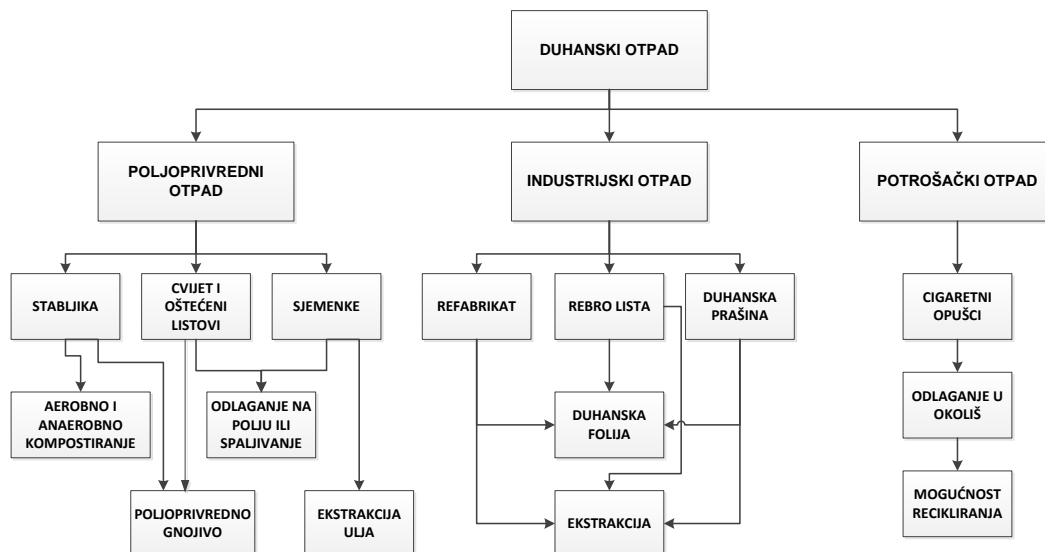
NASTANAK DUHANSKOG OTPADA

Duhan je jednogodišnja zeljasta biljka koja se poglavito uzgaja zbog listova. Zbog toga je prirodnom selekcijom postignut omjer list/korijen koji uvelike ide u korist listu, možda i najviše od svih kultiviranih biljaka. Donji listovi dosežu dužinu i do 30 cm, dok su gornji znatno manji (Popova i sur., 2017). Ostali dijelovi biljke smatraju se otpadom (Slika 1). U industrijskoj preradi koriste se tri tipa duhana, Burley, Virginia i orijentalni duhani. Burley tip duhana karakterizira nizak udio vode i veoma nizak udio ugljikohidrata. On se koristi jer od svih tipova duhana najbolje apsorbira naknadno dodate arome te je veoma poželjan u mješavinama za cigarete. Tip Virginia karakteriziraju veliki listovi i izuzetno dobra tehnološka svojstva. Listovi Virginie imaju vrlo visok sadržaj vode i ugljikohidrata (i do 25 %). Orijentalni tipovi duhana imaju veoma ugodnu i aromu karakterističnu za sortu. Iako

se jednim imenom zovu orijentalni duhane, njihov kemijski sastav ovisi o regiji u kojoj se proizvode. Različiti tipovi duhana podliježu i različitim načinima prerade te sukladno tome imaju utjecaj na sastav i strukturu duhanskog otpada.

Proces nastanka duhanskog otpada može se grubo podijeliti u tri faze:

1. otpad nastao pri uzgoju i sušenju duhana – poljoprivredni otpad;
2. otpad nastao pri proizvodnji i distribuciji duhanskih proizvoda – industrijski otpad;
3. otpad nakon potrošnje – potrošački otpad (Novotny i sur., 2015).



Slika 1 Vrste industrijskog otpada s mogućnostima iskorištenja

Poljoprivredni duhanski otpad

Na samom polju dolazi do odvajanja stabljike, neodgovarajućih (bolesnih i oštećenih listova) te sjemenki. Stabljike duhana su poljoprivredni otpad s visokim potencijalom kao sirovina za proizvodnju pulpe i papira. Bez obzira na vrste duhana kemijski sastav stabljike je pretežno stalan te se ona sastoji od celuloze (oko 42,9 %), hemiceluloze (29,8 %) i lignina (21,0 %), što su količine koje su usporedive s drvetom (Agrupis i sur., 2000). Sjemenke duhana sadrže značajnu količinu ulja i to između 35 i 49 %. Budući da se ne koriste za proizvodnju jestivih ulja, nemaju komercijalnu primjenu. Sjemenke duhana se odlažu izravno na polju, a njihova količina varira od 600 kg do 2500 kg po hektaru (Usta i sur., 2011). Neka istraživanja predlažu upotrebu ovih sjemenki za proizvodnja biodizela. Osim toga, nakon ekstrakcije ulja preostali dio (pogača) može se koristiti kao hrana za životinje. Ono što je vrlo zanimljivo je da sjemenke duhana ne sadrže nikotin, a period od sjemenke do osjemenjivanja traje samo 3 mjeseca (Ganapathi i sur., 2004). Jedino listovi imaju komercijalnu vrijednost te se koriste u daljnjoj industrijskoj preradi.

Industrijski duhanski otpad i postupci izdvajanja

U literaturi ne postoji opća definicija duhanskog otpada. On se obično definira kao kruti otpad, koji nastaje tijekom proizvodnje duhana, te se opisuje kao duhan niske kvalitete i duhanska prašina (Chen i sur., 2007). Općenito, industrijski duhanski otpad se može opisati kao kruti otpad koji se nakuplja tijekom obrade duhana i uglavnom sadrži čestice listova duhana (Briški i sur., 2003). Wang i sur. (2008) navode da se više od 20 % duhanskog materijala odbacuje kao otpad. Tijekom samog procesa prerade lista nastaje više vrsta otpada, a oni se razlikuju po granulaciji, mjestu i procesu izdvajanja te udjelu vlažnosti.

Industrijska prerada duhana uključuje niz različitih operacija kako bi se postigla odgovarajuća kemijska, fizikalna i organoleptička svojstva duhana. Sami proces prerade počinje zaprimanjem duhana iz skladišta sirovina. Tijekom većine faza dolazi i do nastanka nusproizvoda. Ovisno o njihovoj kvaliteti, granulaciji i sastavu, oni se odvajaju ili vraćaju u proces.

Proces prerade duhana i proizvodnje duhana tijekom kojeg nastaje duhanski otpad podrazumijeva nekoliko dijelova:

- Nabavka sirovine i repromaterijala;
- Skladište neprerađenih duhana;
- Skladište repromaterijala;
- Odjel pripreme duhana;
- Odjel izrade filtera, cigareta i pakiranja;
- Odjel operacija razvoja i kontrole kvalitete.

Odjel operacija razvoja i kontrole kvalitete, kao jedan od važnijih odjela, je zadužen za praćenje svih segmenata proizvodnog procesa, od nabavke sirovine, repromaterijala, postavljanja parametara te kontrole kvalitete kroz sve faze procesa, pa sve do praćenja same kvalitete cigarete kao finalnog proizvoda.

Najveća količina duhanskog otpada nastaje u tijeku procesa pripreme duhanske mješavine za izradu cigareta, na odjelu pripreme duhana. Nakon izdavanja duhanske mješavine iz skladišta slijedi obrada na odjelu pripreme duhana.

Tijekom obrade duhan prolazi kroz sljedeće faze (Slika 2):

1. *Kondicioniranje duhana.* Kondicioniranje duhana je prvi proces u preradi lista duhana gdje se na duhan nanosi voda i vodena para. Nakon kondicioniranja duhan je razlisan i znatno vlažniji u odnosu na vlažnost u početnom materijalu i kao takav je spreman za aplikaciju aditiva.

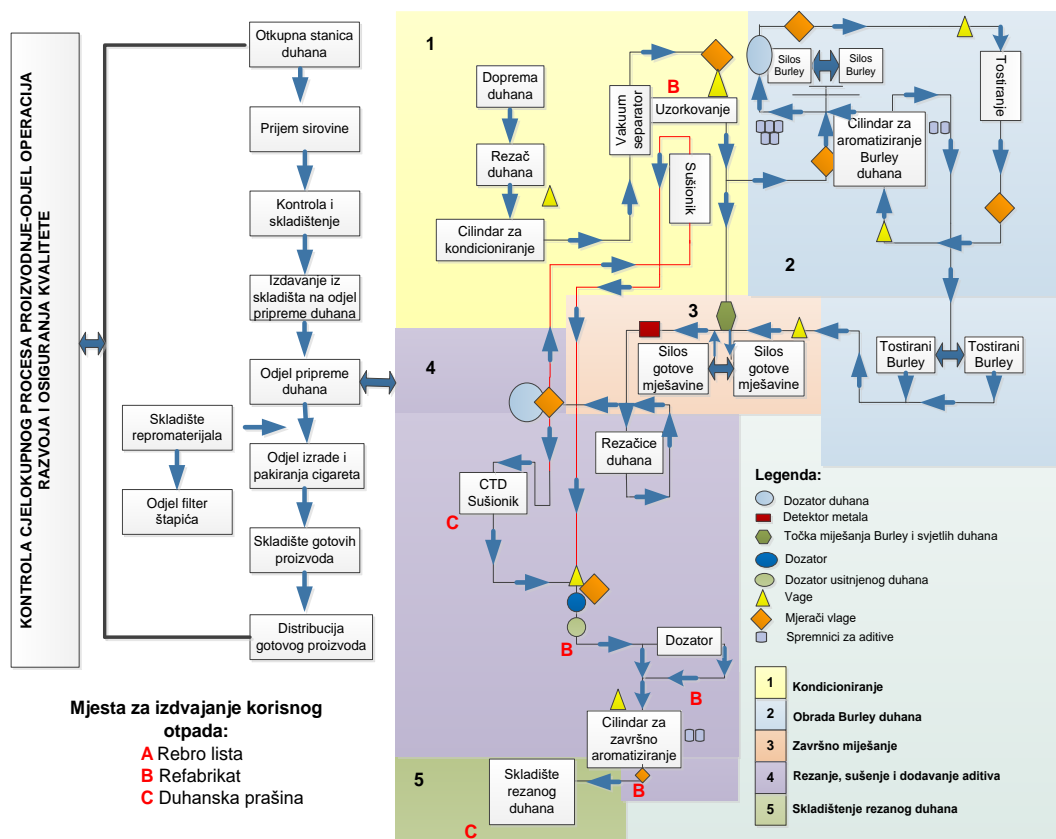
2. *Obrada Burley duhana.* Obrada Burley duhana je zaseban proces jer Burley duhani prolaze poseban proces obrade za razliku od sorti Virginia i orijentalnih duhana. Burley

duhan nakon kondicioniranja i aplikacije aditiva prolazi proces tostiranja. Otpad koji nastaje tijekom kondicioniranja i tostiranja je neupotrebljiv zbog visoke vlažnosti.

3. *Završno miješanje.* Ovaj proces podrazumijeva paralelno miješanje Burley ,Virginia i orijentalnih duhana, odnosno izradu završne mješavine („total blend“).

4. *Rezanje, sušenje i dodavanje aditiva.* Najveća količina duhanskog otpada koja je upotrebljiva nastaje u ovim fazama obrade. Nakon završetka faze sušenja vlažnost materijala iznosi do 13 %.

5. *Skladištenje i transport rezanog duhana.* Duhanska mješavina prije procesa izrade cigareta odleži u skladištu radi ujednačavanja vlage. Uvjeti u skladištu moraju biti kontrolirani (vlaga 65 %, temperatura 22 °C). Nakon skladištenja duhanska se mješavina šalje na odjel izrade cijevima pomoću vakuuma. Tijekom transporta i manipulacije gotove duhanske mješavine nastaje manja količina duhanske prašine.

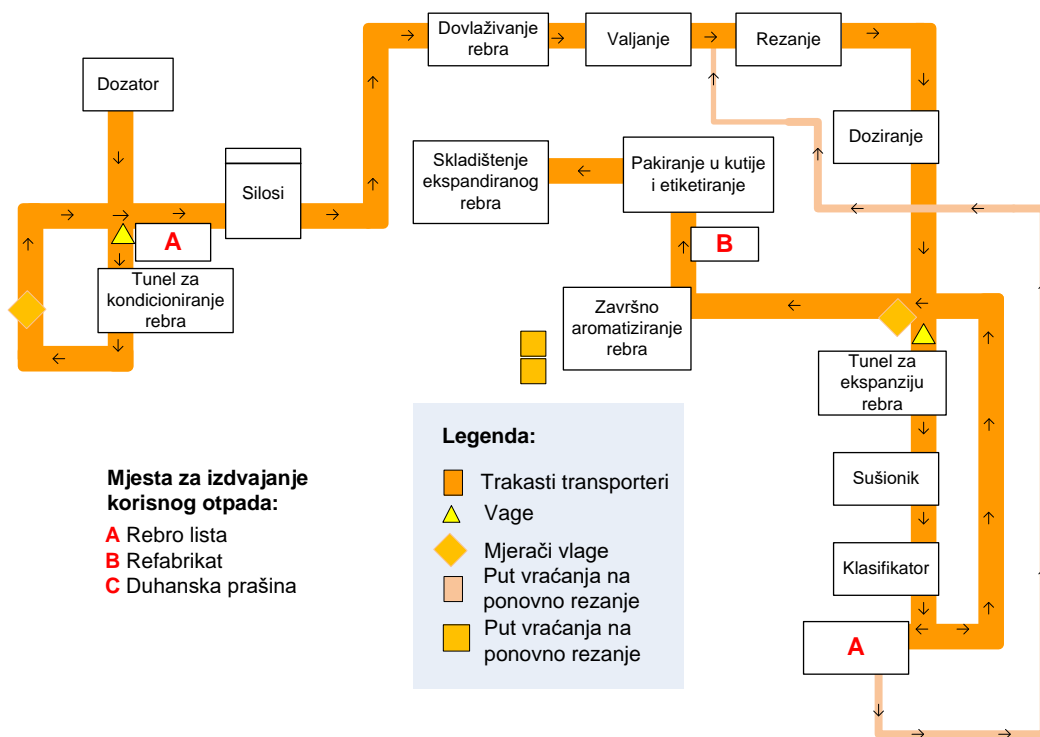


Slika 2 Shema procesa prerade duhana s točkama izdvajanja otpada u tvornici duhana Sarajevo (Izvor: „Fabrika duhana Sarajevo“)

Kao posebne linije unutar odjela pripreme duhana nalaze se linije za obradu rebra koju čine:

- linija za vlaženje rebra i
- linija za rezanje rebra.

Tijekom tehnološkog procesa vlaženja i rezanja rebra odvajaju se znatne količine rebra lista kao duhanskog otpada. Ovisno o kvaliteti rebra, znatna količina se odvaja na situ prije samog vlaženja sirovine, a dio i nakon procesa expandiranja. Cjelokupan tijek obrade rebra, kao i točke koje prikazuju mjesta za skupljanje korisnog otpada, predstavljeni su na Slici 3.



Slika 3 Shema procesa obrade rebra s točkama koje prikazuju mjesta za skupljanje korisnog otpada u tvornici duhana Sarajevo (Izvor: „Fabrika duhana Sarajevo“)

Tijekom tehnološkog procesa pripreme duhana, izrade i pakiranja cigareta izdvajaju se sljedeće frakcije korisnog otpada (Slika 4):

- Refabrikat;
- Rebro lista;
- Prašina.



Slika 4 Industrijski duhanski otpad: a) refabrikat, b) rebro lista c) duhanska prašina
(Izvor: Banožić i sur., 2018)

Struktura i sastav izdvojenog otpada ovisi od tipa duhana, klasi, vremenu berbe i porijeklu duhanske sirovine. Da bi se izdvojeni otpad mogao iskoristiti, vlažnost mora biti ispod 12 % te otpad mora biti bez stranih primjesa, odnosno potjecati isključivo od same biljke duhana.

Osim mjesta za sakupljanje koji su prikazani na Slici 2, izdvajanje korisnog otpada vrši se s filter postrojenja koji su povezani kako s odjelom pripreme duhana, tako i s odjelom izrade cigareta. Na filter postrojenjima se izdvaja prašina. Osim procesa pripreme duhana (linija za vlaženje i expandiranje rebra), dio rebra se odvaja i na odjelu izrade cigareta. Izdvajanje frakcija otpada na uređajima za izradu cigareta vrši se na osnovi specifične težine pomoću vakuuma. Duhanski otpad prikuplja se ovisno o obimu proizvodnje, po potrebi i svaki dan. Isti se otprema u skladište, gdje se kontrolira. Duhanski otpad koji je u skladu sa specifikacijama može se koristiti za daljnju upotrebu kao što je proizvodnja duhanske folije.

Tijekom same izrade cigareta nastaje i refabrikat, ali refabrikat koji nastaje na ovoj liniji treba razlikovati od refabrikata nastalog u procesu pripreme duhana. U ovom slučaju je to duhan koji se vraća u proces proizvodnje, a izdvaja se iz cigareta koje nisu u skladu sa specifikacijom. Cigarete koje su izdvojene prerađuju se na posebnom uređaju gdje se vrši odvajanje duhana od repromaterijala. Duhan koji je odvojen upotrebljava se u daljnjoj proizvodnji kao dodatak ukupnoj duhanskoj mješavini. Odvojeni repromaterijal otprema se kao papirni otpad. Tijekom izrade cigareta izdvaja se i duhanska prašina pomoću sustava za otprašivanje na principu vakuuma (Izvor: „Fabrika duhana Sarajevo“).

MOGUĆNOSTI ISKORIŠTENJA DUHANSKOG OTPADA

Nekoliko je načina iskorištenja duhanskog otpada, a među njima se ističu proizvodnja energije postupkom pirolize, mehaničko-biološka obrada kojom se dobiva bioplin, biodizel ili biostabilizirani materijal za odlaganje, dok se kao alternativa ili predpostupak navedenim postupcima nameće ekstrakcija bioaktivnih komponenti.

Očekuje se da će proces pirolize postati jedna od vodećih tehnologija za proizvodnju biogoriva treće i četvrte generacije. U tom smislu, poljoprivredni otpad, uključujući i duhanski, imat će sve veću važnost kao energetski resurs. Zbog toga se sve više istraživanja usmjerava na analizu duhana i istraživanje energetskih potreba za provođenje pirolize (Strezov i sur., 2012; Pütün i sur., 2007; Encinar i sur., 1997; Valverde i sur., 2000). Piroliza kao toplinski potpomognuti proces razgradnje koji se provodi u odsutnosti ili pod niskim koncentracijama kisika, nudi alternativnu opciju za gospodarenje duhanskim otpadom tijekom kojega se duhanski otpad razgrađuje na bioplin i bio-ulja, a dobiveni kruti proizvod je biogorivo. Bioplin i bio-ulja sadrže visoku kaloričnu vrijednost i mogu se koristiti za proizvodnju energije ili, u slučaju tekućih bio-naftnih proizvoda, se mogu dodatno nadograditi na petrokemikalije i transportna goriva (Strezov i sur., 2012).

Neke od predloženih primjena su i aerobno kompostiranje (Briški i sur., 2003), kao i primjena duhanskog otpada za proizvodnju organskih gnojiva budući da je duhanski otpad bogat trima osnovnim elementima u komercijalnim gnojivima (dušik, kalij i fosfor) (Chaturvedi i sur., 2008). No, kompostiranje kao metoda stabilizacije organskih supstrata, kroz aerobnu biološku razgradnju, nije se pokazala dovoljno učinkovitom kada se primjenjivala na duhanskom otpadu. Naime, duhanski otpad ima nizak omjer C/N (ugljik/dušik) zbog čega je udio nastalog amonijaka mnogo veći od poželjnog (Kučić i sur., 2017). Navedeni načini korištenja duhanskog otpada pokazali su se manje učinkovitim i štetnim za okoliš (Zeng i sur., 2012). Jedina primjena duhanskog otpada koja trenutno ima komercijalnu vrijednost jest proizvodnja rekonstituiranog duhana/duhanske folije (eng. *reconstituted tobacco*) koji se može koristiti u proizvodima niže kvalitete (Civilini i sur., 1997). No, za proizvodnju takvih proizvoda je neizbježna ekstrakcija spojeva topljivih u vodi, kao predpostupak, kako bi se postigla odgovarajuća fizikalna i kemijska svojstva. Nakon ekstrakcije bioaktivnih komponenti, primarno solanesola i nikotina, ova vrsta otpada postaje prikladnija za proizvodnju duhanske folije, ali i za upotrebu kao gnojivo, proizvodnju vlakana i pulpe (Hu i sur., 2015).

Ekstrakcija bioaktivnih komponenti

Veliki interes za bioaktivne komponente, metode njihovih dobivanja i njihov utjecaj na ljudski organizam, rezultirao je traženjem novih resursa za ekstrakciju ovih komponenti. Takve komponente se nalaze u biljkama u vrlo malim količinama, a njihovo izoliranje uključuje zahtjevne procese ekstrakcije, visok utrošak otapala i energije te složene procese pročišćavanja. Alternativni izvori tih komponenti, poput industrijskog otpada, pokazali su se kao ekonomski isplativiji, ali i ekološki prihvatljiviji, jer se otpad iskorištava na novi ili barem na učinkovitiji način.

Kao rezultat velike razlike u strukturama između različitih klasa ciljnih bioaktivnih komponenata odnosno spojeva i njihovih prirodnih izvora, njihova fizikalna i kemijska

svojstva se razlikuju. Dakle, vrlo je važno pronaći najučinkovitiju metodu ekstrakcije ciljanih bioaktivnih komponenti iz odabranih nusproizvoda te potom i optimirati sam postupak ekstrakcije. Konvencionalne tehnike ekstrakcije (engl. *Conventional Extraction – CE*) još uvijek koriste štetna organska otapala te se stoga u novije vrijeme sve više koriste inovativne zelene tehnike ekstrakcije koje omogućavaju bolje iskorištenje i kvalitetu samog ekstrakta te očuvanje resursa (vrijeme, otapalo i sl.). Od inovativnih tehnika ekstrakcije u izolaciji bioaktivnih komponenti iz nusproizvoda najčešće se primjenjuju ekstrakcija superkritičnim fluidima (engl. *Supercritical Fluid Extraction – SFE*), ekstrakcija vodom u supkritičnom stanju (engl. *Subcritical Water Extraction – SWE*) ekstrakcije potpomognuta ultrazvukom (engl. *Ultrasonic Assisted Extraction – UAE*), ekstrakcije potpomognuta mikrovalovima (engl. *Microwave Assisted Extraction – MAE*), ekstrakcije potpomognute hladnom plazmom (engl. *Cold Atmospheric Plasma assisted Extraction – CAPAE*), ekstrakcija pomoću eutektičnih otapala (engl. *Deep Eutectic Solvents – DES*). Svaka od navedenih tehnika ekstrakcije ima svoje prednosti, stoga je važno ispitati sve tehnike, ali i procesne parametre pojedinog postupka ekstrakcije i usporediti ih s konvencionalnim metodama ekstrakcije kako bi se dobio stvarni uvid o utjecaju pojedine metode na iskorištenje i udio bioaktivnih komponenti u dobivenim ekstraktima.

Otkrićem superkritičnih otapala u svijetu se postepeno zamjenjuju toksična i ekološki neprihvatljiva organska otapala. SFE je inovativna tehnologija te predstavlja izvrsnu alternativu klasičnim postupcima ekstrakcije pomoću organskih otapala. Razlog tome su i brojne prednosti superkritičnog otapala kao što su bolja difuzija, niža viskoznost i manja površinska napetost čime je omogućeno njegovo bolje prodiranje u materijal iz kojeg se ekstrahira željena tvar. Također, ovim postupkom omogućena je visoka selektivnost i kontrola sposobnosti otapanja željene komponente u superkritičnom fluidu promjenom tlaka i temperature te jednostavno uklanjanje otapala iz ekstrakta. Nadalje, kao otapalo se uglavnom koristi CO₂ koji se smatra potpuno sigurnim za primjenu u proizvodnji i preradi hrane. Ovaj energetski efikasan proces pripada „čistoj tehnologiji“ jer nema sekundarnih proizvoda štetnih za okolinu (Brunner, 2005; Wang i Weller, 2006; Reverchon i De Marco, 2006; Abbas i sur., 2008; Jokić, 2011; Cvjetko Bubalo i sur., 2015). U posljednjih nekoliko godina sve se više primjenjuje i SWE jer se pokazala kao čistija, brža i jeftinija metoda u odnosu na konvencionalne metode ekstrakcije. Pomoću ove ekstrakcije se uspješno ekstrahiraju i hidro- i liposolubilne komponente. Sposobnost otapanja nepolarne organske komponente je slična organskim otapalima koji su skupi, potencijalno toksični i njihovo odlaganje ima negativan utjecaj na životnu sredinu. Korištenjem ove metode ekstrakcije skraćuje se vrijeme i smanjuje potrošnja otapala te gubitak komponenata osjetljivih na povišenu temperaturu i potpuno isključuje korištenje toksičnih organskih otapala (Cvjetko Bubalo i sur., 2015). UAE se koristi u novije vrijeme u cilju povećanja prijenosa tvari i smanjenja vremena ekstrakcije. Primjena ultrazvuka je vrlo atraktivna tema i predmet interesa velikog broja znanstvenika i istraživača zbog komercijalne prednosti i jedinstvenih rezultata obrade ultrazvukom (Banožić i sur., 2019). MAE je relativno nova tehnika

ekstrakcije koja kombinira mikrovalove s konvencionalnom ekstrakcijom otapalom, ali prednost je kraće vrijeme ekstrakcije (nekoliko minuta umjesto nekoliko sati), manji volumen otapala te veća učinkovitost ekstrakcije (Blekić i sur., 2011). CAPAE ili visokonaponsko električno pražnjenje je tehnologija koja se u posljednje vrijeme sve više istražuje na različitim biljnim materijalima, ali polagano pronalazi primjenu i u obradi i iskorištavanju nusproizvoda koji nastaju u različitim industrijama. Ova ekstrakcijska tehnika ubraja se u zelene ekstrakcijske tehnike te se, usporedno s drugim metodama, CAPAE pokazala učinkovitijim u pogledu većeg ekstrakcijskog prinosa, većeg razaranja stanične strukture uz nižu primjenu energije, a time i posljedično manje zagrijavanje materijala (Herceg i sur., 2016). U zadnjih se nekoliko godina pojavila nova generacija eutektičnih otapala (DES) koja su se pokazala kao pogodna i vrlo učinkovita otapala u ekstrakciji različitih visokovrijednih bioaktivnih komponenti iz biljnih materijala. Ove vrste otapala predstavljaju zelene i održive smjese netoksičnih jeftinih komponenata kombiniranih zajedno u obliku eutektične smjese. S ciljem odabira idealnog DES-a za određenu ekstrakciju veliki se broj karakteristika otapala mora uzeti u obzir uključujući njegov sastav, viskoznost, polarnost itd. (Cvjetko Bubalo i sur., 2015).

Bioaktivne komponente imaju različite biološke funkcije i koriste se u prevenciji i liječenju različitih bolesti. One su široko rasprostranjene u biljkama i nemaju nutritivnu vrijednost. U biljkama obavljaju funkciju u metabolizmu kao stimulatori rasta ili odgovor na različite biotičke i abiotičke stresove. Do sada je objavljeno nekoliko istraživanja o bioaktivnim komponentama u duhanskom otpadu. Pronađeno je da bi duhanski otpad mogao biti vrijedan izvor alkaloida (Purwono i sur., 2011; Rincón i sur., 1998), aromatskih tvari, proteina (Rincón i sur., 1998), fenolnih spojeva (Chen i sur., 2007; Docheva i sur., 2014) i solanesola (Wang i sur., 2018; Hu i sur., 2015).

Od inovativnih metoda ekstrakcije, na duhanskom otpadu se najčešće primjenjuje UAE (Tablica 1). Ova metoda ekstrakcije pokazala se pogodnom za ekstrakciju fenolnih komponenti (klorogenskih kiselina i rutina), kao i za ekstrakciju solanesola. S druge strane SFE, kao metoda koja je selektivna prema nepolarnim komponentama, se pokazala pogodnom za ekstrakciju nikotina i solanesola. Ekstrakcija solanesola moguća je i pomoću MAE, no zasada ekstrakcija drugih komponenti iz duhanskog otpada pomoću ove metode nije istražena (prema nama dostupnim podacima). Također, ni druge metode poput CAPAE ili ekstrakcija pomoću DES-ova nije istražena na duhanskom otpadu u ovom trenutku. S obzirom na navedene prednosti ovih metoda za očekivati je da će se one u vrlo bliskoj budućnosti nametnuti kao nove metode za ekstrakciju visokovrijednih komponenti iz duhanskog otpada.

Tablica 1 Primjeri inovativnih metoda ekstrakcije na duhanskom otpadu

Vrsta materijala	Metoda ekstrakcije	Ciljana bioaktivna komponenta	Referenca
Duhanski otpad	UAE	Solanesol	Chen i sur. (2007)a
Duhanski otpad	UAE	Polifenoli	Chen i sur. (2007)b
Duhanski otpad	UAE	Fenolne kiseline i flavonoidi	Docheva i sur. (2014).
Različiti dijelovi biljke duhana	UAE	Solanesol	Zhao i sur. (2005)
Duhanski otpad	UAE	Klorogenska kiselina i rutin	Wang i sur. (2010)
Duhanski otpad (refabrikat, prašina i rebro lista duhana)	UAE	Polifenoli i solanesol	Banožić i sur. (2019)
Duhanski otpad	SFE	Nikotin	Rincón i sur. (1998)
Otpadno lišće duhana	SFE	Solanesol	Huang i sur. (2008)
Različiti dijelovi biljke duhana	MAE	Solanesol	Machado i sur. (2010)

Duhan i duhanski otpad smatraju se značajnim izvorom alkaloida. Smatra se da listovi duhana sadrže oko 3,12 % alkaloida. Duhanski alkaloidi se sastoje od oko 95 % nikotina i oko 5 % ostalih alkaloida. Od manje zastupljenih alkaloida to su nornikotin, anatabin, anabasin i miozmin (Shen i sur., 2006), muskarin, atropin, kinin, morfin, strihnin (Vieira i sur., 2010). Osim nikotina, za koji se dokazalo da je odgovoran za razvijanje ovisnosti prema duhanu, ostali alkaloidi također posjeduju značajne fiziološke aktivnosti (Vieira i sur., 2010).

Nikotin

Nikotin kao primarni alkaloid, sadržan je u duhanu u udjelima od 0,3 do 7 % ovisno o sorti duhana, uvjetima uzgoja, načinu prerade i drugim uvjetima. Zbog visokog sadržaja nikotina duhanski se otpad smatra izuzetno opasnim, te nije prikladan za odlaganje kao obični otpad (Tayoub i sur. 2015). S druge strane, nikotin je izuzetno važna komponenta koja ima antimikrobna i insekticidna svojstva, a osim toga može se koristiti i u liječenju nekih bolesti živčanog sustava. U samoj biljci, nikotin se počinje formirati u korijenu biljke, a akumulira se u listovima. Za komercijalne svrhe se proizvodi ekstrakcijom iz duhana, no sadrže ga i druge biljke iz porodice *Solanaceae* kao što je to lišće rajčice, lišće krumpira, ali u znatno manjim količinama. Udio nikotina, ključan je čimbenik u procjeni kvalitete duhana, a osim

same sorte, usko je vezan uz vrstu tla, klimatske uvjete, ishranu tla, stupanj zrelosti ili dozrijevanja duhana i uvjete sušenja.

Nikotin je bezbojna ili blijedožuta higroskopna uljasta tekućina. Široko je rasprostranjen kao insekticid u uzgoju voća i povrća (Rincón i sur., 1998). Udio nikotina je čest predmet medicinskih istraživanja s obzirom da se njegova prisutnost u ljudskom tijelu povezuje s nastankom nitrozamina koji su kancerogeni (Moghbel i sur., 2015). U malim količinama (do 1 mg) nikotin ima stimulativne učinke, dok veće količine (30 – 60 mg) mogu biti letalne jer posjeduje akutnu i kroničnu toksičnost te ima negativan utjecaj na krvožilni, dišni, gastrointestinalni i imunosni sustav (Karačoni, 2006). S druge strane, dokazano je pozitivno djelovanje nikotina kod bolesnika s demencijom (White i Levin, 1999) i šizofrenijom (Levin i sur., 1996), dopaminergičkim neuronima i aksonima (Maggio i sur., 1998) te blagom kognitivnom disfunkcijom (Newhouse i sur., 2012). Osim toga, smatra se da nikotin pomaže u liječenju i prevenciji Parkinsonove i Alzheimerove bolesti te Touretteov sindroma. Istraživanja o prednostima nikotina dovela su do razvoja RJR (eng. *RJ Reynolds (RJR) tobacco company*) unutar tvrtke British American Tobacco koja funkcionira kao odvojena farmaceutska tvrtka posvećena otkriću nikotinskih spojeva u terapijske svrhe. Kao takvi, razvili su različite patente za nikotinske analoge koji se koriste za farmakološko liječenje hipertenzije i neurodegenerativnih bolesti.

Ekstrakcija nikotina važan je proces za farmaceutsku industriju koja je u posljednjih nekoliko godina razvila cijelu paletu proizvoda koji sadrže nikotin, kao što su flasteri, žvakaće gume, inhalatori pa čak i nikotinska voda. Ti proizvodi na inovativan način unose nikotin u ljudski organizam kao zamjenu za duhanske proizvode (Rodgman i Perfetti, 2009). Takvi zamjenski proizvodi pomažu u odvikavanju od pušenja, ali u isto vrijeme omogućavaju izbjegavanje štetnih sadržaja duhanskog dima (Charlton, 2004). Dosadašnja komercijalna primjena ekstrakcije nikotina ograničavala se na duhanske proizvode sa smanjenim udjelom nikotina, no s obzirom na velik porast proizvodnje prethodno spomenutih proizvoda, smatra se da će potražnja za nikotinom rasti (Coffa i sur., 2016).

Solanesol

Solanesol je aciklički triseskviterpenski alkohol. Kao i nikotin, može se naći u svim biljkama iz porodice *Solanaceae*, a najviše ga ima u duhanu iz čijeg je lišća i prvi put izoliran. Smatra se važnim izvorom izoprenskih jedinica koje se mogu primijeniti u kemijskoj sintezi kinina i vitamina K (Tang i sur., 2007), kao prekursora PAH-ova (polinuklearni aromatski ugljikovodici) (Fukusaki i sur., 2004). U lišću duhana solanesol se može naći u dva stanja, kao slobodan i/ili vezan u estere s palmitinskom, linolenskom, mirističnom, oleinskom i linoleinskom kiselinom (Tang i sur., 2007). Posjeduje različita biološka svojstva kao što su antioksidacijska (Huang i sur., 2008), antikancerogena i antibakterijska svojstva te se može koristiti u proizvodnji lijekova za liječenje različitih bolesti (Yan i sur., 2015) jer se u

ljudskom metabolizmu ponaša kao kardio-stimulans (Rodriguez i sur., 2008). Utvrđene koncentracije dosežu i do 4 % ukupne mase suhog lista što ga čini dominantim duhanskim terpenoidom, dok ga u drugim dijelovima biljke nema. Sadržaj solanesola u duhanu ovisi o brojnim čimbenicima uključujući vrstu duhana, položaju lista na stabljici, vremenu rasta i metodi sušenja (Tang i sur., 2007). Burton i sur. (1989) su u svom istraživanju utvrdili da udio solanesola raste proporcionalno s rastom same biljke, ali i za vrijeme sušenja i dozrijevanja. Oba načina proizvodnje solanesola, sinteza i ekstrakcija, su složeni, zahtjevni i dugotrajni procesi. Za ekstrakciju solanesola potrebno je provesti saponifikaciju kako bi se oslobodili vezani oblici solanesola s obzirom da je vezan u formi estera s masnim kiselinama. Saponifikacija se može provesti kalijevim (Wang i sur., 2018) ili natrijevim hidroksidom (Hu i sur., 2015). Nakon saponifikacije slobodni solanesol se može ekstrahirati primjenom konvencionalnih ili inovativnih metoda ekstrakcije. Konvencionalne metode ekstrakcije solanesola uključuju i korištenje štetnih otapala poput heksana. Istovremeno, zadovoljavajuće količine solanesola moguće je dobiti primjenom SFE ili UAE (Tablica 1).

Solanesol posjeduje antibakterijska, antifungalna, antivirusna, antitumorska, protuupalna svojstva dok se njegovi derivatni mogu koristiti za liječenje kardiovaskularnih bolesti, osteoporoze, stečene imunodeficijencije i drugih bolesti (Yan i sur., 2015). Industrijski je važan upravo zbog toga što predstavlja polazni materijal za mnoge visokevrijedne komponente uključujući koenzim Q10 i analoge vitamina K (Hamamura i sur., 2002). S obzirom da je koenzim Q10 prisutan na tržištu u obliku dodatka prehrani i to za olakšavanje bolova izazvanih migrenama (Sándor i sur., 2005), zaštitne uloge kod Parkinsonove te drugih neurodegenerativnih bolesti (Matthews i sur., 1998; Shults i sur., 2002; Muller i sur., 2003), pozitivnog učinka na regulaciju krvnog tlaka te glikemije kod bolesnika s dijabetesom tipa 2 (Hodgson i sur., 2002), potražnja za solanesolom je u porastu (Lipshutz i sur., 2005).

Fenolni spojevi

Polifenoli su sekundarni metaboliti u biljci duhana. Oni igraju važnu ulogu u rastu duhana, a direktno utječu na kvalitetu lista. Dokazano je da su u listovima duhana prisutni polifenoli poput klorogenske kiseline, skopoletina i rutina (kvercetin-3-rutinozid), a izgaranje listova može generirati fenolne spojeve koji se smatraju kancerogenima. Za razumijevanje nastanka polifenola u procesu prerade duhana, kao i odnos između polifenola i zdravlja pušača, potrebno je razvijati praktične metode za ekstrakciju i određivanje polifenola u duhanu (Xie i sur., 2011). Interes za ekstrakcijom polifenola značajno se povećao u odnosu na prošlo desetljeće zbog njihovih zaštitnih učinaka protiv različitih bolesti, uključujući kardiovaskularne, upalne i neurološke bolesti.

Najvažniji polifenoli koji se nalaze u duhanu su klorogenska kiselina (5-CQA), neoklorogenska kiselina (3-CQA), kriptoklorogenska kiselina (4-CQA), rutin, skopoletin i skopolen te kvercetin i kaempferol. Mnogo više polifenola nalazi se u duhanskom dimu nego u listovima, kao rezultat izgaranja duhana. U duhanskom dimu prevladavaju vanilin i polifenoli slični vanilinu, dok je u listu najviše zastupljena klorogenska kiselina (Leffingwell, 1999). Klorogenska kiselina i njeni izomeri nastaju esterifikacijom između hidroksicimetnih kiselina: npr. kafeinske, ferulične i *p*-kumarinske kiseline s kininskom kiselinom. Klorogenska kiselina smatra se dobrim antioksidansom te, osim toga, ima antibakterijska, antivirusna i antikancerogena svojstva. Komercijalni izvori klorogenske kiseline, biljke *Lonicera japonica* Thunb i *Eucommia ulmoides* Oliver. su veoma ograničeni te stoga i skupi pa se iznova traže neki novi i ekonomičniji izvori (Chen i sur., 2007).

Kofeinska kiselina, kao metabolit klorogenske kiseline, jedna je od prirodnih fenolnih spojeva široko rasprostranjenih u biljnim materijalima, a farmakološke studije pokazale su da kofeinska kiselina ima antihiperglikemijski, antioksidativni (Gülçin, 2006), anti-apoptotički (Nardini i sur., 2001), antidepresivni (Takeda i sur., 2002) i antikarcinogeni učinak (Gao i sur., 2000).

Rutin (kvercetin-3-rutinozid) spada u skupinu flavonoida, a poznat je i po nazivu vitamin P. Uz kaempferol-3-O-rutinozid jedan je od najvažnijih flavonoida u duhanskom listu. U listu duhana ga ima između 0,5 i 1 % ovisno o tome radi li se o fermentiranim listovima u kojim ga ima manje jer se razgrađuje fermentacijom. Rutin pokazuje mnoge biološke aktivnosti uključujući antialergijsko, protuupalno, antitumorsko, antibakterijsko i antivirusno djelovanje. Rutin ima veliki potencijal u industrijskoj primjeni kao ključna komponenta u farmaceutskim lijekovima i biološkim pesticidima, a biljka duhana se pokazala kao njegov iznimno dobar izvor (Shi i sur., 2017).

ZAKLJUČAK

Tendencija smanjenja otpada rezultirala je razvojem novih tehnologija kojima se nusproizvodi iskorištavaju u različite svrhe. Duhan je jedna od najviše uzgajanih biljaka na svijetu. S obzirom na velike količine prerađenog duhana, ne začuđuju velike količine otpada koje tako nastaju. Industrijski duhanski otpad obično podrazumijeva srednje rebro lista, listove manje granulacije (refabrikat) i duhansku prašinu. Dio duhanskog otpada je moguće iskoristiti u izradi duhanske folije, koja se kasnije koristi kao surogat pri proizvodnji cigareta, no to je zahtjevan i skup proces. Neki od predloženih načina su iskorištavanje duhanskog otpada u energetske svrhe, no i za takve je procese prethodno potrebno provesti ekstrakciju određenih komponenti. List duhana sadrži oko tri tisuće različitih kemijskih spojeva uključujući aldehide, alkaloide, organske kiseline, alkohole, estere, ketone i ugljikohidrate, a još oko tisuću njih nastaje izgaranjem duhana pri pušenju. Polifenoli, tanini, kumarini i flavonoidi nastaju kao sekundarni metaboliti u biljci i njihova se

koncentracija mijenja tijekom prerade duhana te oni direktno utječu na organoleptička svojstva duhana. Svi oni nalaze se, u manjim ili većim koncentracijama, i u duhanskom otpadu. Njihova ekstrakcija moguća je konvencionalnim ili novim „zelenim“ tehnikama ekstrakcije. Ekstrakcija takvih komponenti iz duhanskog otpada ima pozitivan utjecaj na više razina. Visoka potražnja za bioaktivnim komponentama na tržištu opravdava ekonomičnost ovakvih procesa dok, s druge strane, ekstrakcijom navedenih komponenti duhanski otpad postaje prikladniji za odlaganje u okoliš, kompostiranje, proizvodnju energije ili neku drugu primjenu.

ZAHVALA

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom „Primjena inovativnih tehnika ekstrakcije bioaktivnih komponenti iz nusproizvoda biljnoga podrijetla“ (UIP-2017-05-9909).

LITERATURA

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

Agrupis SC, Maekawa E, Suzuki K (2000) Industrial utilization of tobacco stalks (II) Preparation and characterization of tobacco pulp by steam explosion for pulping. *Journal of Wood Science*, **46**:222-229.

Banožić M, Banjari I, Jakovljević, Šubarić D, Tomas S, Babić J, Jokić S (2019) Optimization of ultrasound-assisted extraction of some bioactive compounds from tobacco waste. *Molecules*, **24**:1611.

Banožić M, Šubarić D, Jokić S (2018) Tobacco waste in Bosnia and Herzegovina—Problem or high-value material?. *Glasnik Zaštite Bilja*, **41**:64-72.

Blekić M, Režek Jambrak A, Chemat F (2011) Mikrovalna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **3**:32-47.

Briški F, Horgas N, Vuković M, Gomzi Z (2003) Aerobic composting of tobacco industry solid waste—simulation of the process. *Clean Technologies and Environmental Policy*, **5**:295-301.

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

Burton HR, Leggett E, Philips RE (1989) Factor influencing the concentration of solanesol in burley tobacco. *Beit zum Tabakforsch*, **14**:313-320.

- Charlton A (2004) Medicinal uses of tobacco in history. *Journal of the Royal Society of Medicine*, **97**:292-296.
- Chatuverdi S, Upreti DK, Tandon DK, Sharma A, Dixit A (2008) Bio-waste from tobacco industry as tailored organic fertilizer for improving yields and nutritional values of tomato crop. *Journal of Environmental Biology*, **29**:759-763.
- Chen J, Liu X, Xu X, Lee FSC, Wang X (2007) Rapid determination of total solanesol in tobacco leaf by ultrasound-assisted extraction with RP-HPLC and ESI-TOF/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **43**:879-885.
- Chen Y, Yu QJ, Li X, Luo Y, Liu H (2007) Extraction and HPLC Characterization of Chlorogenic Acid from Tobacco Residuals. *Separation Science and Technology*, **42**:3481-3492.
- Civilini M, Domenis C, Sebastianutto N, Bertoldi M (1997) Nicotine decontamination of tobacco agro-industrial waste and its degradation by microorganisms. *Waste Management & Research*, **15**:349-358.
- Coffa BG, Coggins CRE, Werley MS, Oldham MJ, Fariss MW (2016) Chemical, physical, and in vitro characterization of research cigarettes containing denicotinized tobacco. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **79**:64-73.
- Curtis C, Novotny TE, Lee K (2017) Tobacco industry responsibility for butts: a Model Tobacco Waste. *Act Tobacco Control*, **26**:113-117.
- Cvjetko Bubalo M, Vidović S, Radojčić Redovniković I, Jokić S (2015) Green solvents for green technologies. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **90**:1631-1639.
- Docheva M, Dagnon S, Statkova-Abeghe S (2014) Flavonoid content and radical scavenging potential of extracts prepared from tobacco cultivars and waste. *Natural Product Research*, **28**:1328-1334.
- Encinar JM, Beltran FJ, Gonzalez JF, Moreno MJ (1997) Pyrolysis of maize, sunflower, grape and tobacco residues. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **70**:400-410.
- Fukusaki E, Takeno S, Bamba T, Okumoto H, Katto H, Kajiyama S, Kobayash A (2004) Biosynthetic Pathway for the C45 Polyprenol, Solanesol, in Tobacco. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **68**:1988-1990.
- Ganapathi T, Suprasanna P, Rao PS, Bapat V (2004) Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) - A model system for tissue culture interventions and genetic engineering. *Indian Journal of Biotechnology*, **3**:171-184.
- Gao T, Ci Y, Jian H, An C (2000) FTIR investigation of the interaction of tumor cells treated with caffeic acid and chlorogenic acid. *Vibrational Spectroscopy*, **24**:225-231.

Gülçin I (2006) Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, **217**:213-220.

Hamamura K, Yamatsu L, Minami N, Yamagishi Y, Inai Y, Kijima S, Namamura T (2002) Synthesis of [$3\text{-}^{14}\text{C}$] coenzyme Q₁₀. *Journal of labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, **45**:823-829.

Hatsukami DK, Joseph AM, LeSage M, Jensen J, Murphy SE, Pentel PR, Kotlyar M, Borgida E, Le C, Hecht SS (2007) Developing the Science Base for Reducing Tobacco Harm. *Nicotine & Tobacco Research*, **9**:537-553.

Herceg Z, Kovačević DB, Kljusurić JG, Jambrak AR, Zorić Z, Dragović-Uzelac V (2016) Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. *Food Chemistry*, **190**:665-672.

Hodgson JM, Watts GF, Playford DA, Burke V, Croft KD (2002) Coenzyme Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**:1137-1142.

Hu RS, Wang J, Li H, Ni H, Chen YF, Zhang YW, Xiang SP, Li HH (2015) Simultaneous extraction of nicotine and solanesol from waste tobacco materials by the column chromatographic extraction method and their separation and purification. *Separation and Purification Technology*, **146**:1-7.

Huang W, Li Z, Niuc Z, Wang J, Qin Y (2008) Bioactivity of solanesol extracted from tobacco leaves with carbon dioxide–ethanol fluids. *Biochemical Engineering Journal*, **42**:92-96.

Jokić S (2011) Matematičko modeliranje ekstrakcije ulja iz zrna soje superkričnim CO₂. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.

Karačonji BI (2006) Facts about nicotine toxicity. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, **56**:363-371.

Kučić D, Kopčić N, Briški F (2017) Biodegradation of Agro-industrial Waste. *Chemical and Biochemical Engineering*, **31**:369-374.

Leffinwell JC (1999) Basic chemical constituents of tobacco leaf and differences among tobacco types. Tobacco production, chemistry and technology. Blackwell science. New Jersey. SAD. Str. 281-283.

Levin ED, Wilson W, Rose J, McEvoy J (1996) Nicotine-haloperidol interactions and cognitive performance in schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*, **15**:429-436.

Lipshutz BH, Lower A, Berl V, Schein K, Wetterich F (2005) An improved synthesis of the "miracle nutrient" coenzyme Q10. *Organic Letters*, **7**:4095-4097.

- Machado PA, Fu H, Kratochvil R, Yuan Y, Hahm TS, Sabliov CM, Wei Y, Lo M (2010) Recovery of solanesol from tobacco as a value-added byproduct for alternative applications. *Bioresources Technology*, **101**:1091-1096.
- Maggio R, Riva M, Vaglini F, Fornai F, Molteni R, Armogida M, Racagni G, Corsini GU (1998) Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors. *Journal of Neurochemistry*, **71**:2439-2446.
- Matthews R, Yang L, Browne S, Baik MH, Beal (1998) Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **95**:8892-8897.
- Moghbel N, Ryu B, Steadman KJ (2015) A reversed-phase HPLC-UV method developed and validated for simultaneous quantification of six alkaloids from *Nicotiana spp.* *Journal of Chromatography B*, **997**:142-145.
- Nardini M, Leonardi F, Scaccini C, Virgili F (2001) Modulation of ceramide-induced NF- κ B binding activity and apoptotic response by caffeic acid in U937 cells: comparison with other antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, **30**:722-733.
- Newhouse P, Kellar K, Aisen P, White H, Wesnes K, Coderre E, Pfaff A, Wilkins H, Howard D, Levin ED (2012) Nicotine treatment of mild cognitive impairment: a 6-month double-blind pilot clinical trial. *Neurology*, **78**:91-101.
- Novotny TE, Bialous SA, Burt LA, Curtis C, da Costa VL, Iqtidar SU, Liu Y, Pujari S, d'Espaigne DT (2015) The environmental and health impacts of tobacco agriculture, cigarette manufacture and consumption, Policy & practice. *Bull World Health Organ*, **93**:877-880.
- Otanez M, Glantz SA (2011) Social responsibility in tobacco production? Tobacco companies' use of green supply chains to obscure the real costs of tobacco farming. *Tobacco Control*, **20**:403-411.
- Poltronieri P, D'Urso OF (2016) *Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products. The Food, Feed, Fibre, Fuel (4F) Economy*, Elsevier.
- Popova V, Ivanova T, Nikolova V, Stoyanova A, Docheva M, Hristeva T, Damyanova S, Nikolov N (2017) Biologically Active and Volatile Compounds in Leaves and Extracts of *Nicotiana glauca* Link & Otto from Bulgaria. *Journal of Pharmaceutical Science and research*, **9**:2045-2051.
- Purwono S, Murachman B, Wintoko J, Simanjuntak BA, Sejati PP, Permatasari NE, Lidyawati D (2011) The Effect of Solvent for Extraction for Removing Nicotine on the Development of Charcoal Briquette from Waste of Tobacco Stem. *Journal of Sustainable Energy & Environment*, **2**:11-13.

Pütün AE, Önal E, Uzun BB, Özbay N (2007) Comparison between the “slow” and “fast” pyrolysis of tobacco residue. *Industrial Crops and Products*, **26**:307-314.

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

Rincón J, De Lucas A, García MA, García A, Alvarez A, Carnicer A (1998) Preliminary Study on the Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Nicotine from Tobacco Wastes. *Separation Science and Technology*, **33**:411-423.

Rodgman A, Perfetti T (2009) *The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke*. Boca Raton, USA.

Rodriguez RA, Bronze MR, da Ponte MN (2008) Supercritical fluid extraction of tobacco leaves: A preliminary study on the extraction of solanesol. *Journal of Supercritical Fluids*, **45**:171-176.

Sándor PS, Di Clemente L, Coppola G, Saenger U, Fumal A, Magis D, Seidel L, Agosti RM, Schoenen J (2005) Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: a randomized controlled trial. *Neurology*, **64**:713-715.

Shakhes J, Marandi MAB, Zeinaly F, Saraian A, Saghafi T (2011) Tobacco residuals as promising lignocellulosic materials for pulp and paper industry. *Bioresources*, **6**:4481-4493.

Shen J, Shao X (2006) Determination of tobacco alkaloids by gas chromatography–mass spectrometry using cloud point extraction as a preconcentration step. *Analytica Chimica Acta*, **561**:83-87.

Shi J, Li W, Gao Y, Wang B, Li Y, Song Z (2017) Enhanced rutin accumulation in tobacco leaves by overexpressing the *NtFLS2* gene. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **81**:1721-1725.

Stepanov I, Jensen J, Hatsukami D, Hecht SS (2006) Tobacco-specific nitrosamines in new tobacco products. *Nicotine & Tobacco Research*, **8**:309-313.

Strezov V, Popovic E, Filkoski RV, Shah P, Evans T (2012) Assessment of the Thermal Processing Behavior of Tobacco Waste. *Energy Fuels*, **26**:5930-5935.

Takeda H, Tsuji M, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T (2002) Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **449**:261-267.

Tang D-S, Zhang L, Chen HL, Liang Y-R, Lu JL, Liang HL, Zheng XQ (2007) Extraction and purification of solanesol from tobacco (l). Extraction and silica gel column chromatography separation of solanesol. *Separation and Purification Technology*, **56**:291-295.

- Tayoub G, Sulaiman H, Alorfi M (2015) Determination of nicotine levels in the leaves of some *Nicotiana tabacum* varieties cultivated in Syria. *Herba Polonica*, **61**:23-30.
- Usta N, Aydoğan B, Çon AH, Uğuzdoğan E, Özka SG (2011) Properties and quality verification of biodiesel produced from tobacco seed oil. *Energy Conversion and Management*, **52**:2031-2039.
- Valverde JL, Curbelo C, Mayo O, Molina CB (2000) Pyrolysis Kinetics of Tobacco Dust. *Chemical Engineering Research and Design*, **78**:921-924.
- van Liemt G (2002) The world tobacco industry: Trends and prospects. Sectoral activities programme. Working paper. International labour office Geneva.
- Vieira CA, de Paiva SAA, Funai MNS, Bergamaschi MM, Queiroz RC, Giglio JR (2010) Quantification of nicotine in commercial brand cigarettes. *Biochemistry and molecular biology education*, **38**:330-334.
- Wang H, Zhao M, Yang B, Jiang Y, Rao G (2008) Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*, **107**:1399-1406.
- Wang L, Weller CL (2006) Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, **17**:300-312.
- Wang U, Lu D, Zhao H, Jiang B, Wang J, Ling X, Chai C, Ouyang P (2010) Discrimination and classification of tobacco wastes by identification and quantification of polyphenols with LCMS/MS. *Journal of Serbian Chemical Society*, **75**:875-891.
- Wang Y, Gu W (2018) Study on supercritical fluid extraction of solanesol from industrial tobacco waste. *The Journal of Supercritical Fluids*, **138**:228-237.
- White HK i Levin ED (1999) Four-week nicotine skin patch treatment effects on cognitive performance in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*, **143**:158-165.
- World Health Organization (2003) WHO framework convention on tobacco control.
- World Health Organization (2017) Tobacco and its environmental impact: an overview. Geneva, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Xie F, Yu A, Hou D, Liu H, Ding L, Zhang S (2011) Rapid and Sensitive Analysis of Eight Polyphenols in Tobacco by Rapid Resolution Liquid Chromatography. *American Journal of Analytical Chemistry*, **2**:929-933.
- Yan N, Liu Y, Gong D, Du Y, Zhang H, Zhang Z (2015) Solanesol: a review of its resources, derivatives, bioactivities, medicinal applications, and biosynthesis. *Phytochemical Review*, **14**:403-417.
- Zeng J, Chen K, Xie J, Xu G, Li J, Rao G, Yang F, Gao W (2012) Study on tobacco stem and tobacco dust making reconstituted tobacco paper-base. *Advanced Materials Research*, **550**:3316-3322.

Zhao CJ, Li CY, Fu YJ, Zu YG (2005) Extraction and determination of solanesol in waste tobacco leaves by ultrasonic and HPLC. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, **22**:1265-1267.