



STRUČNI RAD / PROFESSIONAL PAPER

Metode pripreve eutektičkih otapala*Methods for deep eutectics solvents preparation*

Marina Cvjetko Bubalo, Manuela Panić, Kristina Radošević, Ivana Radojčić Redovniković

*Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska***Sažetak**

Klasična organska otapala uzrokuju brojne negativne učinke na okoliš i zdravlje ljudi, a neizbježni su za korištenje u kemijskoj i biotehnoj industriji. Pokušavajući unaprijediti proizvodnju industrijski važnih kemikalija u ekološkom, ali i ekonomskom pogledu, istražuje se primjena različitih nekonvencionalnih otapala, među kojima se ističu ionske tekućine i eutektička otapala. Cilj ovoga rada je ispitati mogućnost unaprjeđenja pripreve eutektičkih otapala primjenom reaktora koji ima mogućnost istovremenog korištenja ultrazvuka i mikrovalnog zračenja. Priprema eutektičkog otapala sastava kolin klorid:glukoza (u molarnom mjeru 1:2) klasičnom metodom (zagrijavanje vodenom kupelji uz miješanje magnetskom mješalicom) trajala je više od 3 sata, dok je priprema otapala u ultrazvučno-mikrovalnom reaktoru trajala 25 min (vrijeme pripreve skraćeno je čak 7 puta). Rezultati prikazani u ovom istraživanju imaju značajan doprinos u razvoju učinkovitih, kao i ekonomičnih te održivih procesa za pripremu industrijski važnih otapala.

Ključne riječi: eutektička otapala, priprema, ultrazvučno-mikrovalni reaktor

Summary

Conventional organic solvents, commonly used in chemical and biotechnological industry, cause numerous negative effects on the environment and human health. In an effort to improve synthetic procedures, in ecological and economical terms, scientists are trying to find new solvents. As a promising alternative to traditional organic solvents, ionic liquids and deep eutectic solvents have been dramatically expanding in popularity as a new generation of designer solvents with possible applications in various industrial fields. The main goal of this paper is improvement of eutectic solvent synthesis by using ultrasonic – microwave Cooperative Extractor/Reactor. Preparation time by the conventional method (water bath, magnetic stirring) for choline chloride:glucose (10% H₂O, w/w) was more than 3 hours, while by using the ultrasonic – microwave reactor the synthesis lasted for 25 min, achieving our goal by reducing the duration more than 7 times. Results shown in this study could have significant impact to development of more efficient, economical and sustainable processes for the synthesis of industrially important solvents.

Key words: deep eutectic solvents, preparation, ultrasonic – microwave cooperative reactor

Uvod

Razvoj industrijske proizvodnje donosi gospodarski razvitak koji se očituje u znatnom povećanju životnog standarda, no istovremeno uzrokuje onečišćenje prirode i narušavanje ekološke ravnoteže. Unutar grane kemije, koja se naziva *zelena kemija*, intenzivno se istražuju novi, sigurniji i energetski učinkovitiji procesi proizvodnje i primjene kemikalija koji se zasnivaju na kompromisu između ekonomskih, socijalnih i ekoloških zahtjeva. Jedno od ključnih pitanja su ekološki prihvatljiva zelena otapala koja bi zamijenila opasna organska otapala koja su *sveprisutna* u industriji. Prema smjernicama *zelene kemije* idealno otapalo trebalo bi biti jednostavno za upotrebu, kemijski i fizički stabilno, niske hlapljivosti te jednostavno za recikliranje uz mogućnost ponovne uporabe. Do sada je broj dostupnih *zelenih* otapala

bio prilično ograničen, no u posljednja dva desetljeća ogromnu pozornost stekle su ionske tekućine (*eng.* Ionic Liquids, ILs), organske soli sa temperaturom tališta nižom od 100 °C (Huddleston i sur., 1998). U četvrtu generaciju ILs ubrajaju se i eutektička otapala (*eng.* Deep Eutectic Solvents, DES), koja zbog svojih povoljnih fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava te jednostavne i ekonomične pripreve (niža cijena početnih sirovina) predstavljaju novu generaciju zelenih otapala. (Paiva u sur., 2014). Iako je priprema eutektičkih otapala relativno jednostavna, priprema u određenim slučajevima može biti dugotrajna ili rezultirati „karameliziranjem“ produkta zbog slabe kontrole temperature tijekom pripreve. Stoga, u ovom radu opisane su metode pripreve eutektičkih otapala te je dana usporedba klasične metode pripreme s primjenom mikrovalno-ultrazvučnog reaktora u pripremi eutektičkog otapala kolin klorida, glukoze i vode (10 % w/w).

Eutektička otapala

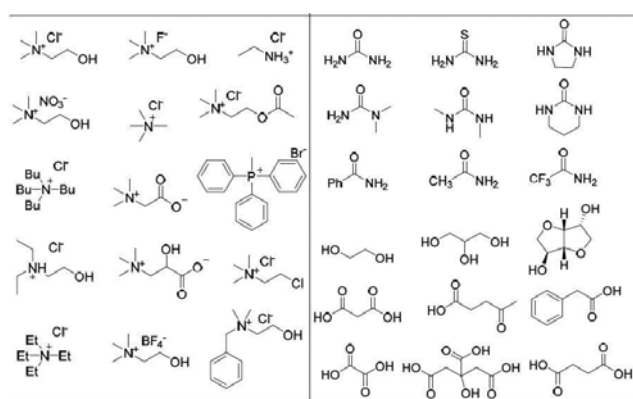
Abbott i sur. prvi put spominju eutektička otapala 2001. godine, a 2003. godine ističu brojne prednosti pripreme eutektičkih otopina uree i raznih kvarternih amonijevih soli, kao što su stabilnost otopine, biorazgradivost te mogućnost prilagodbe otapala različitim aplikacijama (Abbott i sur., 2003). Od tada se eutektička otapala počinju razmatrati kao alternativa ionskim tekućinama, eksponencijalno se povećava broj radova vezanih uz njihovu fizikalno-kemijsku karakterizaciju i širi se mogućnost njihove primjene (Paiva i sur., 2014).

Eutektička otapala definiraju se kao smjesa dviju ili više komponenata u krutom ili tekućem stanju, koja u određenom omjeru imaju niže talište nego pojedinačne komponente smjese. Kada su komponente koje izgrađuju eutektičko otapalo primarni metaboliti takva se otapala nazivaju prirodnim eutektičkim otapalima (*eng.* Natural Deep Eutectic Solvents, NADES), (slika 1). Pripravljena otapala često su biorazgradiva, stabilnija, nisu hlapljiva, manje su toksična prema okolišu i ljudima te je njihova izravna upotreba u proizvodnji moguća bez dodatnog pročišćavanja. Također, cijena ovih otapala je usporediva s organskim otapalima što ih čini zanimljive i sa ekonomskog aspekta.

Zbog postojanja širokog spektra spojeva koji mogu tvoriti prirodna eutektička otapala, postoji i mogućnost dizajniranja njihovih fizikalno-kemijskih svojstava za različite buduće aplikacije kao npr. otapalo ili zamjenski medij u području sinteze, ekstrakcije, biokemije, elektrokemije, kemijske/enzimске katalize, proizvodnji biodizela itd. (Paiva i sur., 2014).

Slika 1. *Primjeri najčešće korištenih organskih soli i donora vodikove veze za pripravu eutektičkih otapala (Tang i Row, 2013)*

Figure 1. *Commonly used organic salts and hydrogen bond donors for deep eutectic solvents preparation (Tang and Row, 2013).*



U pripravi eutektičkih otapala široku primjenu ima kolin klorid (ChCl), organska sol, koja ulazi u interakciju s jeftinim i lako dostupnim donorima vodika (urea, glicerol, polioli iz ugljikohidrata ili karboksilne kiseline dobivene iz različitih izvora) (Zhao i sur., 2013). Kolin klorid zadovoljava karakteristike ekonomičnosti, biorazgradivosti i netoksičnosti te predstavlja kvarternu amonijevu sol koja se može ekstrahirati iz biomase ili sintetizirati iz fosilnih goriva. Radi se također o vrlo dostupnoj sirovini koja se proizvodi u velikim količinama,

čak 10^9 kg godišnje (Hayyan i sur. 2012). Iako je kolin klorid najčešća amonijeva sol koja se koristi u sintezi eutektičkih otapala, zbog svoje jeftine cijene i biorazgradivosti, i mnogi drugi halidi pogodni su za njihovo dobivanje. Razmatrajući osnovnu formulu $[R_1R_2R_3R_4N^+]X^- [R^1R^2R^3R^4N^+]X^-$ i mijenjajući alkilne grupe i/ili anion, može se dobiti velik broj različitih kvarternih amonijevih soli tj. potencijalnih komponenti eutektičkih otapala (Maugeri, 2014). Iako su navedeni spojevi ionske prirode, eutektička otapala ipak se ne mogu u potpunosti smatrati ionskim spojevima jer se mogu pripremiti i iz neionskih spojeva (Zhang i sur., 2012). Novonastale vodikove veze u ovim otapalima uzrokuju mjestimičnu delokalizaciju naboja, što uzrokuje snižavanje tališta smjese u odnosu na talište pojedinačnih komponenti. Na primjer, kombinacijom dvije čiste krutine kao što su urea (temperatura taljenja, $t_f = 133 \text{ }^\circ\text{C}$) i kolin klorid ($t_f = 302 \text{ }^\circ\text{C}$) u molarnom odnosu 2:1 dobiva se eutektičko otapalo na temperaturi od $15 \text{ }^\circ\text{C}$, što je znatno niže od temperatura taljenja čistih komponenata. U slučaju kolin klorida, izbor donora vodika, kao i njihov molarni omjer, kritična je točka formiranja eutektičkog otapala sa nižom točkom tališta. Snižavanje temperature tališta ovisi o simetriji prisutnog kationa i o kemijskoj prirodi funkcionalnog bočnog lanca (Abbott i sur., 2004). Također, prisutan anion u derivatu kolinskih soli može utjecati na točku tališta, pa tako u kombinaciji s ureom, točka tališta otapala opada prema redosljedu $F^- > NO_3^- > Cl^- > BF_4^-$ (Zhang i sur., 2012).

Kemijska struktura vodik donora i akceptora znatno utječe na formiranje i stabilnost eutektičkog otapala. Pod pojmom stabilnosti smatra se mogućnost pripremljenih istih da ostanu u tekućoj fazi dulje vrijeme, tj. da ne dolazi do pojave kristalnog taloga. U slučaju organskih kiselina, za razliku od jabučne i limunske, jantarna kiselina neće tvoriti tekućinu sa kolinijevim solima. Prisutnost dodatnih hidroksilnih i karboksilnih skupina u jabučnoj i limunskoj kiselini omogućava nastajanje više vodikovih veza sa kolin kloridom, čime se omogućava formiranje stabilnog otapala. Uz kemijsku strukturu, na stabilnost vodikovih veza veliki utjecaj ima i prostorni raspored skupina unutar molekule (Dai i sur., 2013). Popescu i Constantin (2014) pokazali su da limunska i malonska kiselina formiraju eutektičku otopinu sa kolin kloridom u molarnom omjeru 1: 2, no zbog različitog prostornog rasporeda reaktivnih skupina, eutektička otopina sa limunskom kiselinom (donor tri protona) gubi na stabilnosti i s vremenom postaje gusti gel, dok eutektička otopina sa malonskom kiselinom (donor dva protona) zadržava svoja svojstva duže vrijeme. Također, na stabilnost eutektičkog otapala mogu utjecati i različiti omjeri komponenata. Primjerice, pripravljena eutektička otopina glukoze i kolin klorida biti će stabilna kada se pomiješaju u molarnom omjeru 2:5, ali u molarnim omjerima 2:1, 1:1 ili 1:4 u nastaloj bistroj tekućini s vremenom se postupno pojavljuje kristalni talog (Dai i sur., 2013).

Priprava eutektičkih otapala

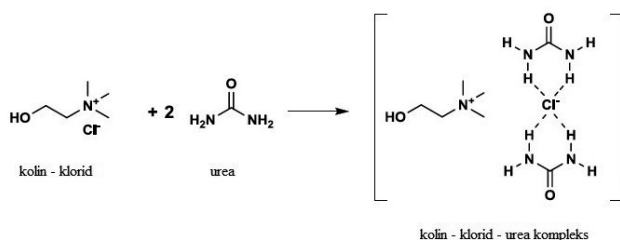
Za razliku od ostalih generacija ionskih kapljevina, priprava eutektičkih otapala je jednostavnija i ekonomičnija te se mogu pripremiti na više načina: iz koncentrirane vodene otopine koja sadrži svaku komponentu, iz otopine jedne komponente u kojoj je druga disocirana ili iz krute mješavine dviju komponenti koje se zagrijevaju do unaprijed određene vrijednosti temperature (Paiva i sur., 2014) (slika 2). Kao što je



već navedeno kod pripreve ovih otapala ne dolazi do kemijske reakcije već se komponente povezuju vodikovim vezama tvoreći eutektičko otapalo. Sa spekta zelene kemije važno je spomenuti da je priprava ovih otapala održivi proces koji se ostvaruje sa 100%-tnom atomskom učinkovitošću (svi atomi supstrata se ugrađuju u produkt) pri čemu se ne stvara otpad.

Slika 2. Predložena shema kojom nastaje eutektičko otapalo $ChCl : urea$ (1:2) (Abbott i sur., 2004).

Figure 2. Preparation of eutectic solvent cholin chloride : urea (1:2) (Abbott et al., 2004).



Najčešće se pripremaju postupkom blagog zagrijavanja gdje se točno određena masa komponenata izvaže te se s ili bez dodatka vode zagrijava uz miješanje na temperaturi do 100 °C, 30 do 240 minuta dok se ne formira bistra tekućina. Molarni omjer komponenata i temperatura taljenja ovisi o kemijskoj prirodi komponenata eutektičkog otapala. Vrijeme potrebno za dobivanje tekućeg otapala iz krutih i tekućih komponenata također varira te se ono mijenja s obzirom na tip komponenata i udio vode unutar otapala. Za pripravu otapala koje sadrži tekući glicerol bilo je potrebno od 30 do 45 min, ovisno o udjelu vode. U slučaju ostalih otapala koja sadrže čvrste komponente potrebno je manje vremena (u prosjeku 1-1,5 h) za pripravu eutektičkih otapala koji sadrže 50% vode u usporedbi s onima koji sadrže 10% vode (prosjeck 2 - 3 h). Otapala istog kemijskog profila mogu se dobiti vakuum upravljanjem gdje se komponente prvo otapaju u vodi, a potom se voda uklanja uparavanjem na 50 °C pomoću rotacijskog vakuum uparivača do postizanja konstantne mase (Abbott i sur., 2004; Dai i sur., 2013). Gutiérrez i sur. (2009) opisali su postupak dobivanja eutektičkih otapala pomoću liofilizacije. Točnije, vodene otopine pojedinačnih komponenata u određenom omjeru se pomiješaju i zamrznu te se postupkom sušenja (sublimacije) dobiva tekuće otapalo. Zbog svoje jednostavnosti, metoda se pokazala pogodnom za ugradnju različitih staničnih struktura (vezikula, liposoma) u eutektičko otapalo (Gutiérrez i sur., 2009). Također, jedan od novijih načina pripreme uključuje primjenu ultrazvuka ili mikrovalnog zračenja te također njihovu istovremenu uporabu.

Usporedba klasične pripreme eutektičkih otapala klasičnom metodom s pristupom u kojem se koristi simultano mikrovalno zračenje i ultrazvuk

Primjena alternativnih izvora zagrijavanja reakcijske smjese djelovanjem mikrovalnog zračenja odnosno ultrazvuka, već je dugo u fokusu znanstvenih istraživanja. Iako se u ovim postupcima rabe različiti mehanizmi prijenosa energije, ovi postupci omogućuju kraće vrijeme pripreme uz smanjenje energetske troškova. Ultrazvučni valovi u

reakcijskoj smjesi stvaraju specifične aktivacije temeljene na fizikalnom fenomenu kavitacije koji se odnosi na nastajanje, rast i imploziju mjehurića u tekućini. Implozijom mjehurića dolazi do lokalnih pregrijavanja elastične tekućine koja zagrijava reakcijsku smjesu. Ultrazvučna radijacija omogućuje ubrzanje procesa prilikom predtretmana čvrstih uzoraka, ekstrakcije organskih i anorganskih komponenti, homogenizaciju i mnoge druge, na način da osigurava bolje uvjete (bolji prelazak otapala u stanicu, uspješniji prijenos mase i slično) čime zadovoljava zahtjeve zelene kemije (García-Salas i sur., 2010). Oscilirajuća energija ultrazvuka direktno djeluje na uzorak pri čemu troši malo energije, a energetska učinkovitost iznosi blizu 100 %. S druge strane primjena mikrovalnog zračenja temelji se na mogućnosti polarnih molekula ili tvari, da apsorbiraju i emitiraju mikrovalno zračenje, pri čemu zbog dipolarne polarizacije i ionske kondukcije dolazi do izravnog zagrijavanja uzorka koji se tretira mikrovalovima. Detaljnije, energija mikrovalova uzrokuje molekulske kretanje migracijom iona i rotacijom dipola, a rotacija dipola upućuje na usklađivanje uslijed električnog polja molekula u otapalu i uzoraka koji imaju dipolne momente. Usklađivanje molekula i njihovo vraćanje u poremećaj odvija se velikom brzinom, što rezultira i brzim zagrijavanjem (Cravoto i sur., 2007; Deetlefs i Seddon, 2010). Danas se sve češće istražuje simultana primjena ultrazvuka i mikrovalnog zračenja koja ima velik potencijal obzirom da osigurava bolje uvjete prijenosa mase i topline te smanjuje potrošnju energije, poboljšava kvalitetu proizvoda i omogućuje automatizaciju procesa.

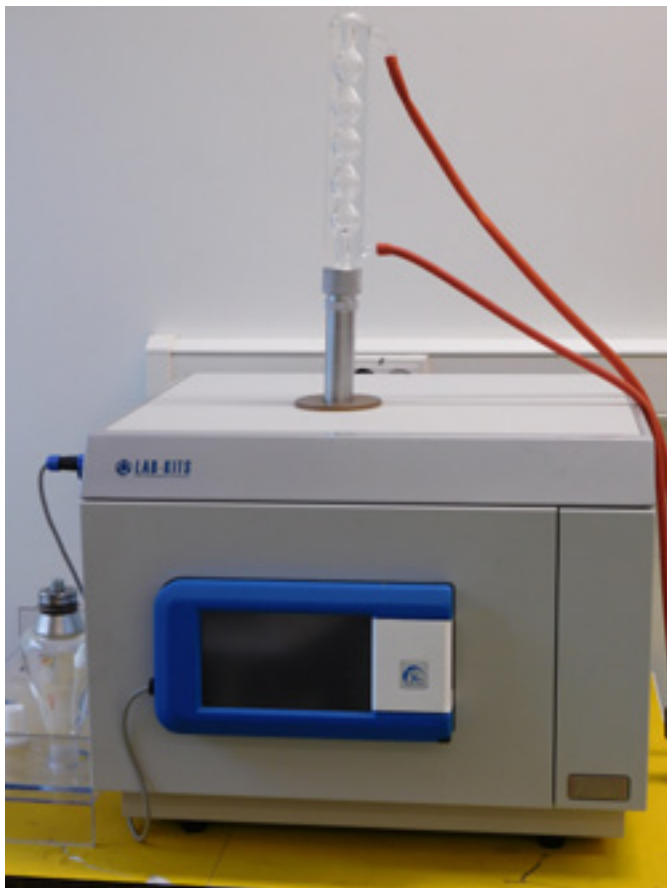
U ovom radu je provedena priprava eutektičkog otapla kolin klorid:glukoza u molarnom omjeru 1:2 sa 10 % vode (w/w) te su uspoređene dvije metode: klasična priprema zagrijavanjem komponenata u vodenoj kupelji uz miješanje te priprava primjenom alternativnih izvora energije korištenjem mikrovalno-ultrazvučnog reaktora. Sve kemikalije za pripravu eutektičkog otapala korištene su bez prethodnog pročišćavanja. Zbog higroskopnosti nekih komponenti (npr. kolin klorid) provedeno je njihovo sušenje u vakuum sušioniku do konstantne mase (oko 24 h) te su se tijekom pripreve morale poduzeti mjere izolacije smjese od vlage iz zraka. Reakcijska smjesa se zagrijava na magnetnoj miješalici do 3 sata na temperaturi od 40 °C uz neprestano miješanje. U slučaju eutektičkih otapala koja sadrže šećer primijećeno je da na višim temperaturama poprimaju svijetlo smeđu boju zbog oksidacije tj. karamelizacije šećera pa se njihova priprava provodila na temperaturi od 40 °C, što je u skladu sa zapažanjima Hayyan i sur. (2013). Priprava je bila gotova nastajanjem bistrog, tekućeg eutektičkog otapala te je za spomenuto eutektičko otapalo vrijeme pripreme iznosilo 3 h. Dobivena eutektička otapala u obliku prozirne kapljevine su se prije daljnje primjene sušila tijekom 8 sati pod visokim vakuumom te čuvala u eksikatoru napunjenom silikagelom.

Nadalje, kako bi se priprava eutektičkog otapala skratila ispitana je mogućnost istovremene upotrebe mikrovalnog zračenja i ultrazvuka. Za provođenje eksperimenta korišten je ultrazvučno-mikrovalni reaktor MW-ER-01 Ultrasonic – microwave Cooperative Extractor/ Reactor proizvođača LAB –KITS (slika 3), koji omogućuje tri načina rada: vođenje postupka pod djelovanjem ultrazvuka, mikrovalnog

zračenja odnosno istovremenom primjenom istih. Moguća je koristi za istraživanje metoda i mehanizama kemijskih reakcija, sinteza, pripreme materijala, predobrade uzoraka i drugo. Reakcije u ovom uređaju odvijaju se u uvjetima niske temperature i normalnog tlaka što ne zahtjeva posebno posuđe za njihovo odvijanje. Karakteristike uređaja uključuju podesiv raspon energije mikrovalova, te mogućnost podešavanja temperature. Prilikom izvođenja programa, reakcijski uvjeti i temperatura praćeni su u realnom vremenu. U ovom uređaju moguće je pripremiti uzorke volumena do 500 mL, što predstavlja veliki kapacitet obrade, a moguće je i povećati volumen, upotrebom posuda različitih oblika, dizajniranih prema potrebama korisnika. Parametri uključuju postavljanje energije mikrovalova između 10 i 800 W, podešavanje temperature zagrijavanja uzorka do 120 °C (± 1 °C), kao i postavljanje vremena trajanja reakcije, dok su snaga ultrazvuka (50 W), kao i mikrovalna (2450 MHz) i ultrazvučna (40 KHz) frekvencija konstante.

Slika 3. *Ultrazvučno-mikrovalni reaktor, LAB –KITS (vlastita fotografija)*

Figure 3. *Ultrasonic – microwave Cooperative Extractor/Reactor, LAB –KITS (own photo)*



Tijekom provođenja eksperimenta, provedeno je optimiranje uvjeta pripreme te su pri tome korištene različite vrijednosti snage mikrovalova od 300 do 500 W i različito vrijeme trajanja pripreme. U prvom pokušaju postavljeni parametri su bili: 500 W za snagu mikrovalova te ukupno trajanje više od 30 min uz zagrijavanje na 100 °C, pri čemu je došlo do pregrijavanja smjese što je rezultiralo dobivanjem smeđe homogene viskozne otopine vjerojatno zbog izlaganja

glukoze visokoj temperaturi (slika 4). Mijenjajući uvjete pripreme otapala, koji su podrazumijevali jednaku snagu mikrovalova od 500 W, uz zagrijavanje na nižoj temperaturi, 80 °C, vrijeme pripreme je iznosilo 25 min, dok je prilikom klasične pripreme eutektičkog otapala vrijeme potrebno da se dobije homogena viskozna kapljevina iznosilo više od 3 h.

Slika 4. *Usporedba eutektičkog otapala dobivenog klasičnom pripravom (lijevo) i ultrazvučno-mikrovalnim reaktorom (desno) (vlastitita fotografija).*

Figure 4. *Deep eutectic solvent obtained by conventional synthesis (left) and by ultrasonic microwave cooperative reactor (right) (own photo)*



Na temelju dobivenih rezultata u ovom radu pokazano je da je moguće skratiti vrijeme trajanja pripreme eutektičkih otapala ukoliko se pri njihovoj pripremi istovremeno koristi snaga ultrazvuka i mikrovalova. Rezultati pokazuju da je priprava ubrzanom metodom više od 7 puta brža od pripreme klasičnom metodom. Sličan rezultat dobili su i Cravotto i sur. (2007), kad su istovremenom primjenom ultrazvuka i mikrovalnog zračenja uspješno pripremili niz imidazolijevih i piridinijevih ionskih kapljevina s raznovrsnim anionima uz visoke prinose (80-97 %), a reakcije su trajale tek nekoliko minuta. Zbog kraćeg vremena trajanja procesa pokazalo se da je primjenom alternativnih izvora energije poput mikrovalnog zračenja i ultrazvuka moguće smanjiti potrošnju enegije za 45 % – 65 % u odnosu na konvencionalan pristup kondukcijskim zagrijavanjem pomoću vodene kupelji (Deeflets i Seddon, 2010; Cvjetko Bubalo i sur., 2013). Naposljetku, rezultati prikazani u ovom radu imaju značajan doprinos u razvoju učinkovitih, kao i ekonomičnih te održivih procesa za pripremu industrijski važnih otapala.

Zaključci

Eutektička otapala posljednjih se godina intenzivno proučavaju, u sklopu čega je unaprijeđenije njihove pripreme od velikog interesa. U ovom radu je prikazano da se priprava



eutektičkog otapala kolin-klorid:glukoza, u molarnom omjeru 1:1 s 10 % vode (w/w) u ultrazvučno – mikrovalnom reaktoru uz istovremenu upotrebu ultrazvuka i mikrovalova može značajno ubrzati (više od 7x) te se preporuča kao alternativna metoda pripreme ovih otapala. Rezultati prikazani u ovom radu imaju značajan doprinos u razvoju učinkovitih, kao i ekonomičnih te održivih procesa za pripremu industrijski važnih otapala.

Zahvala

Rad je izrađen u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost (broj 9550).

Literatura

- Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R.K., Tambyrajah, V. (2003) Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, 9 (1) 70-71.
- Abbott, A.P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R.K. (2004) Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 126 (29) 9142-9147.
- Anonymous 2016, Ultrasonic – microwave Cooperative Extractor/Reactor, <www.lab-kits.com>.
- Cvjetko Bubalo, M., Sabotin, I., Radoš, I., Valentinčić, J., Bosiljkov, T., Brnčić, M., Žnidaršič-Plazl, P. (2013) A comparative study of ultrasound, microwave and microreactor-assisted imidazolium-based ionic liquid synthesis. *Green Processing and Synthesis*, 2 (6) 579-590.
- Dai, Y., Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., Choi, Y. H. (2013) Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents in Natural Products Research: Mixtures of Solids as Extraction Solvents. *Journal of Natural Products*, 76 (11) 2162-2173.
- Deetlefs, M., Seddon, K. R. (2010) The green synthesis of ionic liquids. U: Wasserscheid, P., Stark, A. (ed): Handbook of Green Chemistry - Volume 6, str. 1-38. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, Germany.
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2010) Phenolic-compound-extraction systems from fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15 (12) 8813-8826.
- Gutiérrez, M. C., Ferrer, M. L., Mateo, C. R., del Monte F. (2009) Freeze-Drying of Aqueous Solutions of Deep Eutectic Solvents: A Suitable Approach to Deep Eutectic Suspensions of Self-Assembled Structures. *Langmuir*, 25(10) 5509-5515.
- Hayyan, A., Mjalli, F.S., AlNashef, I.M., Al-Wahaibia, T., Al-Wahaibia, Y.M., Hashimb, M.A. (2012) Fruit sugar-based deep eutectic solvents and their physical properties. *Thermochimica Acta*, 541 70- 75.
- Hayyan, A., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M., Al-Wahaibi, Y. M., Al-Wahaibi, T., Hashim, M. A. (2013) Glucose-based deep eutectic solvents: Physical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 178 137-141.
- Huddleston, J. G., Willauer, H. D., Swatloski, R. P., Visser, A. E., Rogers, R. D. (1998) Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction. *Chemical Communication*, 16 1765-1766.
- Maugeri, Z., Dominguez de Maria, P. (2014) Whole-Cell Biocatalysis in Deep-Eutectic-Solvents/Aqueous Mixtures. *ChemCatChem*, 6 1535-1357.
- Paiva, P., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R.L., Duarte, A.R.C. (2014) Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2 (5) 1063-1071.
- Popescu, A. M., Constantin, V. (2014) Synthesis, Characterization and Thermophysical Properties of Three Neoteric Solvents-Ionic Liquids Based on Choline Chloride. *Chemical Research in Chinese Universities*, 30 (1) 119-124.
- Tang, B., Row, K. H. (2013) Recent developments in deep eutectic solvents in chemical sciences. *Monatshefte für Chemie*, 144 (10) 1427-1454.
- Zhang, Q., Oliveira Vigier, K., Royer, S., Jerome, F. (2012) Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41 7108-7146.
- Zhao, H., Zhang, C., Crittle, T. D. (2013) Choline-based deep eutectic solvents for enzymatic preparation of biodiesel from soybean oil. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 85 243-247.