

Basıncılı Çözgen Ekstraksiyonu ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları

Emine Nakilcioğlu ✉, Semih Ötleş

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 10.05.2014, Kabul Tarihi (Accepted): 27.06.2014

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): emine.nakilcioglu@ege.edu.tr (E. Nakilcioğlu)

☎ 0 232 311 13 15 📠 0 232 342 75 92

ÖZET

Basıncılı çözgen ekstraksiyonu (BÇE), yüksek sıcaklık ve basınç altındaki çözgenlerin kullanılmasıyla katı ve yarı katı numunelerden hedef bileşenin ekstraksiyonu amacıyla geliştirilen tekniklerden bir tanesidir. Analitlerin ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan Soxhlet, perkolasyon ve buhar destilasyonu gibi klasik ekstraksiyon sistemlerinin dezavantajlarından dolayı ortaya atılan alternatif bir yöntemdir. Ekstraksiyon süresinin kısa olması, az çözgen gereksiniminin bulunması, otomasyona uygunluk ve su dahil pek çok çözgenin kullanımına imkan sağlaması sistemin önde gelen avantajlarından. Gıda sanayinde BÇE tekniğinden, numunelerden pestisit, PAH, esansiyel yağ, mikotoksin, polifenol ve antibiyotik gibi pek çok bileşenin ekstraksiyonunu sağlama amacıyla faydalanılmaktadır. Bu çalışmada ekstraksiyonda alternatif bir yöntem olan BÇE tekniği ve gıda sanayiindeki uygulama alanları irdelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Basıncılı çözgen ekstraksiyonu, Ekstraksiyon, Gıda bileşenleri, Su

Pressurised Solvent Extraction and Food Industry Applications

ABSTRACT

Pressurized solvent extraction (PSE) is one of the techniques used for the extraction of target compound from solid or semi-solid matrixes by using solvents at high temperature and pressure. It is newly developed alternative technique due to disadvantages of classic extraction systems like Soxhlet, percolation and steam distillation. The short extraction time, less solvent requirement, conformity to automation and enabling to the use of many solvents including water are main advantages of this system. In food industry, PSE technique is used for extraction of pesticide, PAH, essential oil, mycotoxin, polyphenol and antibiotic from food samples. This review presents PSE technique, alternative extraction method, and its food industry applications.

Key Words: Pressurised solvent extraction, Extraction, Food components, Water

GİRİŞ

Gıda analizlerinde hızlı, doğru ve güvenilir sonuçlar elde etmek için uygulanan ilk basamak ekstraksiyon işlemidir [1]. Ekstraksiyon, katı ya da sıvı fazda bulunan bir veya birden fazla bileşiğin farklı çözünürlük özelliklerinden yararlanılarak diğer bir sıvı faza alınmasını ifade etmektedir [2]. Ekstraksiyon aşamasında soxhlet, perkolasyon ve buhar destilasyonu gibi klasik ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımı oldukça yaygındır [1]. Gıda analizlerinde ise sıklıkla kullanılan yöntem

Soxhlet ekstraksiyonudur. Fakat bu yöntemde verimin düşük olabilmesi, analiz süresinin uzun ve çözgen tüketiminin yüksek olması tekniğin kullanımını sınırlandırmaktadır [3]. Tüm bu koşullar göz önünde bulundurularak günümüzde yeni ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesine hız verilmiştir.

BASINÇLI ÇÖZGEN EKSTRAKSİYONU

Basıncılı çözgen ekstraksiyonu, klasik ekstraksiyon yöntemlerinin dezavantajlarını minimize etmek

maksadıyla geliştirilen bir katı-sıvı ekstraksiyon tekniğidir [4]. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu, hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu, basınçlı akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıcak çözgen ekstraksiyonu, yüksek basınçlı çözgen ekstraksiyonu, yüksek basınç yüksek sıcaklıkta çözgen ekstraksiyonu ve subkritik çözgen ekstraksiyonu olmak üzere farklı isimlerle bilinmektedir [5]. BÇE tekniğinde çözgenin kritik noktasının altında olmasını sağlayacak yüksek basınç ve sıcaklık değerlerinin kullanılmasıyla katı ve yarı katı matrikslerden hedef analitin ekstraksiyonu hedeflenmektedir [3]. Sistemin klasik ekstraksiyon yöntemleriyle kıyaslandığında, kısa ekstraksiyon süresi, az çözgen gereksinimi (10-40 ml), otomasyona uygun olması, okside olmayan bileşenlerin ekstraksiyonunda çözgenin degaz işlemine gereksinim duyulmaması ve çok farklı çözgenlerin kullanımına imkan sağlaması yönleriyle avantajları bulunurken; yüksek sıcaklıklarda sıcaklığa duyarlı maddelerin degradasyonu, cihaz maliyetinin yüksek olması ve genellikle ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktta temizleme ve konsantrasyon işlemlerine ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları da beraberinde getirdiği gözlemlenmektedir [4, 6, 7].

Basınçlı çözgen ekstraksiyonu sisteminde yüksek basınç (4-20 MPa) ve sıcaklıkta ki (50-200°C) organik çözücüler ya da su çözgen olarak kullanılarak analitin ekstraksiyonu mümkün kılınmaktadır [4, 8, 9]. Yüksek basınç kullanılarak çözgeni sıvı formda ve daima kendi kritik koşullarının altında tutabilmek hedeflenmektedir [9,10]. Ayrıca yüksek basınç etkisiyle atmosferik basınçtaki uygulamalara kıyasla analit-çözgen teması artmakta, çözgenin matrikse penetrasyonu iyileşmekte ve ekstraksiyon kolaylaşmaktadır [11]. Yüksek ekstraksiyon sıcaklığı, kütle transfer oranını ve ekstraksiyon oranını artırmaktadır. Sıcaklık artışıyla birlikte çözgenin çözübilme kapasitesi ve difüzyon oranı artmakta, çözgen- matriks bağlarında kopma oranının yükselmesiyle birlikte çözgenin vizkozitesinde ve yüzey geriliminde de azalma meydana gelmektedir [6, 9, 11]. Tüm bu etkilerin sonucu olarak basınçlı çözgen ekstraksiyonunda klasik ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha hızlı (12-15 dk) ekstrakt eldesi ve daha az miktarda çözgen kullanımı (her 10 g örnek için yaklaşık 15 ml çözgen) söz konusu olmaktadır [4, 6, 10].

Yüksek sıcaklık ve basınç altında, çözgen kritik noktanın altında, sıvı bölgede yer almakta ve dielektrik sabiti düşmektedir [10]. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu yönteminde çok çeşitli çözgenler kullanılabilmesiyle birlikte, sıklıkla kullanılan çözgenlerden biri de sudur [5]. Suyun kullanılabilmesi ekstraksiyon maliyetini düşürdüğü ve atık oluşturmayarak çevre dostu olması sebebiyle önem arz etmektedir.

Çözgen olarak suyun kullanıldığı basınçlı çözgen ekstraksiyonu sistemine literatürde sıcak su ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, subkritik su ekstraksiyonu, süpersıtılmış su ekstraksiyonu, basınçlı düşük polariteli su ekstraksiyonu ya da yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu gibi isimlerle rastlanılmaktadır [5]. Ekstraksiyon, 100-374°C sıcaklıkta (374°C ve 22 MPa basınç suyun kritik noktasıdır) ve

suyu sıvı bölgede tutabilecek basınçta gerçekleştirilmektedir. Sıcaklığın yükselmesiyle birlikte suyun dielektrik sabiti (ϵ) ve polaritesi azalmaktadır. Suyun atmosferik basınçta ve oda sıcaklığında dielektrik sabiti 79 iken, 250°C sıcaklık ve 5 bar basınçta dielektrik sabitinin 27'ye azaldığı dikkati çekmektedir [10]. Oda sıcaklığında ve atmosferik basınç altında metanolün dielektrik sabiti 33, etanolün dielektrik sabiti de 24'tür [12]. Su, sıcaklık arttıkça etanole benzer bir polarite göstermekte ve düşük-orta polar karakterdeki bileşenleri çözübilme kapasitesine erişmektedir. Bu sistemde uygun basınç değerinde sıcaklığın artırılmasıyla, suyun yüzey gerilimi ve vizkozitesi azalmakta, oda koşullarında ve atmosferik basınç altında çözemediği pek çok bileşenin çözünürlüğünde artış meydana gelmektedir [10]. Bundan dolayı literatürde 100°C'nin altındaki sıcaklıklarda BÇE tekniği ile gerçekleştirilen su ekstraktındaki fenoller gibi kalıcı organik kirleticilerin (POPs) geri kazanımlarının oldukça tatmin edici değerlerde (>%90) olduğu vurgulanmaktadır [10, 13]. Ekstraksiyon sıcaklığı 200°C'nin üzerine çıktığında bazı pestisidler gibi daha apolar bileşenlerin ve düşük molekül ağırlıklı PAHların kantitatif ekstraksiyonuna imkan tanınmaktadır [10, 14-16]. Toprak ve sedimentlerden yüksek molekül ağırlıklı PAHları ve poliklorlu bifenillerin (PCBs) ekstrakte edilebilmesi için suyun sıcaklığının 250-300°C'lere ulaşması gerekmektedir [10, 18]. *n*- Alkanlar ise sadece 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ekstrakte edilebilmektedir [10, 13, 16, 17].

Şekil 1'de basınçlı su ekstraksiyonu sistemi görülmektedir. Sistemde örnek paslanmaz çelikten yapılmış ekstraksiyon haznesine yüklenmektedir. Eğer sistem statik moda çalışıyorsa çözgen ekstraksiyon haznesine pompalanılarak, belirlenen basınç ve sıcaklık değerleri ayarlanmaktadır. Koşullar ekstraksiyon boyunca sabit tutularak analitin matriksten çözgen fazına statik transferine izin verilmektedir. Ekstraksiyon süresi sonunda ekstrakt, vialerde toplanmaktadır. Cihaza ikinci kere çözgen gönderilerek ekstraksiyon hücresi yıkanmakta ve çözgen aynı vialde toplanmaktadır. Kayıpları önlemek için son olarak sistemden inert gaz geçirilmektedir. Elde edilen ekstrakt soğutulmaktadır. Tüm işlem 15-20 dakika kadar sürmektedir. Gerekli görüldüğü taktirde de elde edilen ekstrakt, temizleme ve konsantrasyon işlemlerine tabi tutulabilmektedir [18].

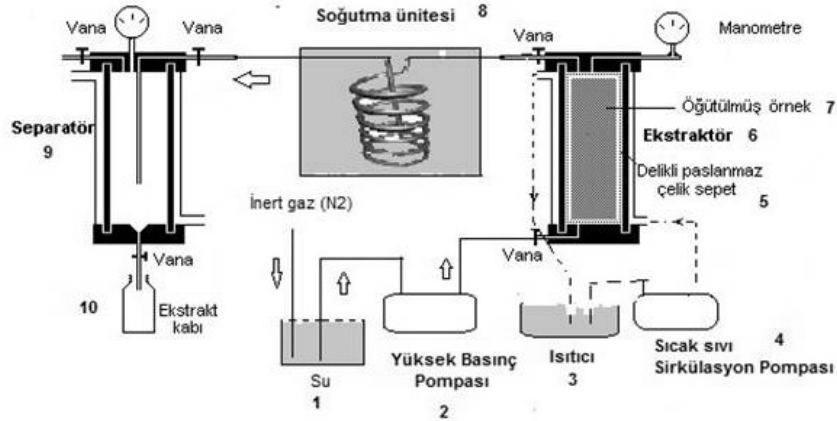
Ekstraksiyonun dinamik modda gerçekleştirildiği durumda ise oda sıcaklığında ya da ön ısıtmaya tabi tutulmuş çözgen, sabit akış hızında ekstraksiyon süresi boyunca ekstraktöre pompalanmaktadır. Matriks sürekli taze çözgenle muamele edildiğinden kütle transferinde artış meydana gelmekte ve bunun sonucunda ekstraksiyon hızı artmakta ve süresi de kısalmaktadır [19]. Buna rağmen ticari cihazlar statik modlu üretilmekte ve kullanılmaktadır. Dinamik modun ise sadece laboratuvar düzeyinde kullanımının bulunduğu dikkati çekmektedir [20].

Nemli gıdaların ekstraksiyon işleminde matriks parçalarının birleşme ve koagülasyon eğilimlerini engellemek amacıyla sistemde diatome toprağı gibi

yardımcı ajanalar kullanılabilir. Böylece yüzey alanının artırılmasıyla ekstraksiyon veriminin artmasına da imkan tanınmaktadır [18].

Bu teknikte metot geliştirmek de genellikle kolaydır. Çünkü koşullar Soxhlet ekstraksiyonu ile benzerlik göstermektedir [18].

Hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu (ASE) cihazı, basınçlı çözgen ekstraksiyonu sisteminin bir formu olmakla birlikte 1994 yılında üretilmiştir [21]. 1995 yılında Pittcon konferansında Dionex firması tarafından tanıtılmıştır [22]. Bu ekstraksiyon tekniğinin ticari formunun piyasaya sürülmesinin ardından özellikle biyoloji, farmasötik ve gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanımı söz konusu olmuştur.



Şekil 1. Basınçlı su ekstraksiyonu sistemi

EKSTRAKSİYON PARAMETRELERİ VE ETKİLERİ

BÇE tekniğinde verimi etkileyen bazı parametreler (sıcaklık-basınç, kullanılan çözgenin cinsi, çözgen hacmi ve çözgenin akış hızı, örnek miktarı ve kompozisyonu, ekstraksiyon süresi, döngü sayısı vb.) bulunmaktadır. Bu parametrelerin optimize edilmesi gerekmektedir.

Sıcaklık ve Basınç

Sıcaklık, basınçlı çözgen ekstraksiyonunu etkileyen önemli parametredir. Ekstraksiyon süresince yüksek sıcaklıkta çalışmak, kullanılan çözgenin özelliklerini değiştirmektedir. Difüzyon oranı ve kapasitesinin artmasıyla analitin çözünürlüğünü artırmaktadır. Analit ile matriksdeki diğer bileşenler arasındaki interaksiyon zayıflamakta ve viskozite ile yüzey gerilimi azalmaktadır. Yüksek basınç etkisiyle çözgen kaynama noktası üzerindeki sıcaklıklar da bile sıvı formda tutulabilmektedir [23]. Yüksek sıcaklık ve basıncın etkisiyle ekstraksiyon veriminde artış sağlanırken, seçicilik azalmaktadır. Fakat sıcaklık artışıyla birlikte bileşiklerin degradasyonunda ve hidroliz, oksidasyon gibi reaksiyonların görülme sıklığında artış meydana gelmektedir [23,24,25]. Organik bileşikler genellikle yüksek sıcaklıkta hızlı bir biçimde dekompoze olmakta ve ekstraksiyonun geri kazanım değerlerinde düşüşler meydana gelmektedir [25].

Çözgen Cinsi, Hacmi ve Akış Hızı

Çözgen seçiminde hedef, arzu edilen bileşiği çözebilecek, uygun polarite de çözgen kullanmaktır. Bu amaçla gıda ve yemlerde gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda su, metanol, toluen, diklorometan, etil asetat ve asetonitril gibi çok farklı çözgenler

kullanılabilir. Bazı durumlarda polar ve apolar çözgenlerin karışımının ekstraksiyonda kullanılmasıyla daha yüksek geri kazanım değerleri elde edilmektedir. Özellikle farklı hacimlerde metanolle karıştırılan çözgenlerin kullanılmasıyla analitlerde maksimum geri kazanım değerlerine ulaşıldığı literatürde belirtilmektedir [23]. Dinamik moda çözgenin akış hızı, statik moda da çözgen hacmi optimize edilmelidir. Gereğinden fazla çözgen kullanımı ekstraktın konsantrasyonunu artırmasına ya da uygulanacak konsantrasyon aşamasının zorlaşmasına sebep olacaktır.

Örnek Miktarı ve Bileşimi

Ekstraksiyona gıda matriksinin etkisi, örneğin kompozisyonuna bağlıdır. Gıda numuneleri arasındaki en önemli fark fiziksel-kimyasal özellikleri, ekstrakte edilmesi istenilen bileşiğin tipi ve örneğin partikül büyüklüğüdür. Bu parametreler analitin çözgen fazına alınmasını ve orada tutulmasını etkilemektedir [23,26]. Partikül çapı azaldıkça yüzey alanının genişlemesine dayanarak ekstraksiyon oranı artmaktadır. Örneğe uygulanacak olan öğütme, eleme, deniz kumu vs ile karıştırma ve pH ayarlama gibi ön işlemler önem arz etmektedir. Ekstraksiyon kolaylığı, analitin matriks yapısına absorbe edilmiş durumda olmasına ya da kimyasal bağlı olarak bulunmasına göre değişmektedir. Analitin yeri ve örneğin porozitesi de etkilemektedir. Poröz örneklerde ve analit yüzeye yakınsa geri kazanım değerleri yükselme eğilimindedir. Güçlü matriks interaksiyonlarının bulunduğu numunelerde kantitatif ekstraksiyon için yüksek sıcaklıklara ve uzun ekstraksiyon sürelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu durumda da geri kazanım değerleri düşük olmaktadır [25]. Ekstraksiyonda kullanılacak örnek miktarı kullanılan cihazın şartları göz önünde bulundurulur

ayarlanmaktadır. Ekstraksiyon sonrasında uygulanabilecek olan konsantrasyon ve temizleme aşamalarını etkilemektedir.

Ekstraksiyon Süresi

Ekstraksiyon süresi ile ekstraksiyon sıcaklığı, matris ve analitin yapısı doğrudan bağlantılıdır [25]. Rovio ve ark. [27] BÇE tekniği ile 125°C sıcaklıkta 80 dakika sonunda karanfilden elde ettiği öjenol ve öjenol asetatın geri kazanım değerlerini %100 olarak saptarken, aynı sonuçları elde etmek için 250 ve 300°C'lik sıcaklıkta çalışılması durumunda 15 dakikalık ekstraksiyon süresinin yeterli olacağını gözlemlenmiştir [25, 27].

Döngü Sayısı

Ekstraksiyonun %100 verimle gerçekleşebilmesi için sonsuz sayıda döngüye ihtiyaç vardır. ASE cihazında maksimum 5 döngüye izin verilmektedir. İlk döngüde beş döngüde alınan miktarın %81.8'i, ilk iki döngüde % 91.1'i, dört döngüde ise % 99'dan fazlası alınabilmektedir. Bu sebeple amaca uygun döngü sayısı seçilmelidir [28].

Bu parametrelerin dışında BÇE tekniğinin çalışma modu (statik ya da dinamik), ekstraksiyon sonunda sistemin taze çözügen ve azot ile temizlenmesi, örneğin cinsi (yaş ya da kuru) gibi faktörlerde ekstraksiyon verimini etkilemektedir.

BASINÇLI ÇÖZGEN EKSTRAKSİYONUNUN GIDA SANAYİSİNDEKİ UYGULAMALARI

Gıda sanayiinde PAH, esansiyel yağ, mikotoksin, polifenol, antibiyotik gibi pek çok bileşenin ekstrakte edilmesi amacıyla basınçlı çözügen ekstraksiyonu sistemi kullanılmaktadır (Tablo 1). Farklı çözügenlerin, sıcaklıkların, ekstraksiyon sürelerinin, döngü sayılarının uygulanmasıyla örnek matrisinden hedef analiti ekstraksiyonu gerçekleştirilmektedir.

Herrero ve ark. [29] 2011 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada su ve etanol gibi gıda saflığında iki çözügenden faydalanarak farklı ekstraksiyon koşulları kullanarak zeytin yaprağının biyoaktif bileşenlerini ekstrakte etmişlerdir. Çalışmada 4 farklı sıcaklık (50, 100, 150 ve 200°C), 1500 psi basınç, 20 dakika ekstraksiyon süresi kullanılmıştır. Tüm parametrelerin sonucu doğrudan etkilemediği, sıcaklığın ekstraktın kimyasal kompozisyonunda ve karakteristiğinde kritik rol oynadığı belirlenmiştir. Elde edilen ekstrakt, ekstraksiyon verimi, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı saptanarak karakterize edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ile verimin doğru orantılı bir biçimde arttığı, hem etanolün hem de suyun aynı sıcaklıkta benzer ekstraksiyon verimini sağladığı, sulu ekstraktın veriminin çok az yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Sıcaklığın 50°C'den 200°C'ye artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminin 2.5 kat yükseldiği ortaya konulmuştur. En aktif ekstraktların 200°C'de elde edilen sulu ekstrakt (IC₅₀:18,6 g/mL) ve 150°C'de elde edilen etanol ekstraktı (IC₅₀:27,4 g/mL) olduğu belirlenmiş ve bu koşullarda verim sırasıyla %40

ve %30 olarak hesaplanmıştır. Ekstraktlarda LC-ESI-MS sistemi kullanılarak 25 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir. Su ekstraktında baskın bileşik hidroksitirosol (8.542 mg/g KM) iken, etanol ekstraktında oleuropein (2.819-6.156 mg/g KM) olarak bulunmuştur [29].

Yağı alınmış pirinç kepeğinden basınçlı su uygulamasıyla elde edilen ekstraktın toplam şeker, protein içeriği ve antioksidan aktivitesi Hata ve ark. [30] tarafından incelenmiştir. Çalışmada 5 dakika süreyle 180-280°C sıcaklık kullanılarak 117 mL ve 9 mL'lik ekstraksiyon haznelerinde basınçlı su ekstraktı elde edilmiştir. Toplam şeker konsantrasyonunun 200°C'de elde edilen ekstraktta en yüksek olduğu ve sıcaklık artışıyla miktarda anlamlı bir azalmanın gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Ekstraktın protein içeriğinin ve radikal süpürme aktivitesinin sıcaklık arttıkça arttığı tespit edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sadece 200 ve 260°C sıcaklıklarda küçük hacimli ekstraksiyon haznesi kullanılarak farklı sürelerde denenmiştir. Ekstraksiyon süresi arttıkça toplam şeker miktarının azalmasına karşın, protein konsantrasyonunun ve radikal süpürme aktivitesinin ekstraksiyon süresine bağlı olmadığı ortaya çıkmıştır. 200°C ya da daha düşük sıcaklıklarda büyük hacimli ekstraksiyon haznesi kullanılarak elde edilen ekstraktların emülgatör özelliğe ve emülsiyon stabilize edici aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. 260°C'de 5 dakika süreyle küçük ekstraksiyon haznesi kullanılarak elde edilen ekstraktta gerçekleştirilen HPLC analizi sonucunda ekstraktın hem hidrofilik hem de hidrofobik maddeleri içerdiği saptanmıştır. Ekstraktın hidrofilik fraksiyonlarının ise düşük molekül ağırlıklı maddelerden oluştuğu da dikkati çeken diğer bir noktadır [30].

Ziegenhals ve ark. [34] tarafından statik modlu basınçlı çözügen ekstraksiyonu sistemi kullanılarak çay ekstraktı elde edilmiştir. Bu amaçla ASE cihazında 100°C sıcaklık, 100 bar basınç altında çözügen olarak *n*-Hegzan'ı kullanılarak 5 dakika süreyle ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen çay ekstraktında miktarları 14 ile 2.662 µg/kg arasında değişen 16 tane polisiklik aromatik hidrokarbona rastlanılmıştır. 40 çay numunesinde GC ile yapılan analizin sonucunda en çok PAH içeren çay numuneleri büyükten küçüğe doğru mate çayı, beyaz çay, yeşil çay, siyah çay, bitkisel ve meyve çayları şeklindedir [34].

Sığır ve domuz etlerindeki antibiyotikleri belirlemek amacıyla Carretero ve ark. [35] basınçlı su ekstraksiyonu yöntemi ve LC-MS/MS sistemi ile birlikte çalışmışlardır. EDTA-deniz kumu ile ön homojenizasyona maruz bırakılan etlerdeki antibiyotikler, 70°C sıcaklıkta, 1500 psi basınçta, 40 mL su kullanılarak, 1 döngüde, 10 dakika süre ile ekstrakte edilmiştir. İspanya'daki market ve kesim hanelerden tedarik edilen etlerde iz miktarda 31 antibiyotiğe (β-lactamlar, linkosamidler, makrolidler, kuinolonlar, sulfonamidler, tetrasiklinler, nitroimidazoller, trimetoprim) rastlanılmıştır. Geri kazanım değerleri %75-99 civarında saptanmıştır. Etlerde farklı miktarlarda bazı antibiyotik çeşitlerinin varlığı kanıtlanmıştır. Kuinolonlar ve tetrasiklinler, sığır ve domuz etlerinde varlığı en yüksek olan antibiyotikler iken, sulfonamidler ise her iki et türünde sıklıkla bulunduğu belirlenmiştir [35].

Tablo 1. Basıncılı çözgen ekstraksiyonu uygulamaları [28, 31-33]

Matriks	Bileşikler	Çözgen	Ekstraksiyon Sıcaklığı(°C)	Ekstraksiyon Basıncı(psi)	Döngü	Süre (dakika)	Analiz Metodu
Balık	PCBs	n-Hegzan	100	1500	2	17	GC-ECD
Kahve, Çikolata	Akrilamid	Etil asetat	25	1500	3	4	LC-MS/MS
Havuç	Arsenik çeşitleri (As[III], As[V], AsB, AsC vb)	Su	100	1500	3	18	LC-ICP-MS
Balık	Dioksin/Furan	Toluen	175	1500	2	12	GC-MS
Tahıllar	Tokoferoller	Metanol	50	1600	1	5	LC-ESI-MS
Nar kabuğu	Polifenoller	Su	40	1500	1-4	12	HPC-DAD ve spektrofotometrik metotlar
Kara kekik	Esansiyel yağlar		100-175	20-90 bar	-	30	GC-TOF/MS

Eikani ve ark. [36] gerçekleştirdikleri çalışmada kişniş tohumunun (*Coriandrum sativum* L.) basınçlı su ekstraksiyonu, hidrodestilasyon ve Soxhlet ekstraksiyonu yöntemleriyle elde ettikleri esansiyel yağ ekstraktlarını karşılaştırmayı hedeflemişlerdir. BÇE tekniğinde farklı sıcaklık değerlerinde (100, 125, 150 ve 175°C), ortalama partikül çaplarında (0, 25, 0, 50 ve 1 mm) ve su akış hızlarında (1, 2, 4 mL/min) çalışarak ekstraksiyon verimlerini araştırmışlardır. Bileşenlerin ayrılmasında ve tanımlanmasında GC-FID ve GC-MS sistemlerinden faydalanılmıştır. 125°C sıcaklıkta, 0.5 mm partikül çapında ve 2 mL/min akış hızında çalışıldığında ekstraksiyon veriminin maksimum olduğu gözlemlenmiştir. Basınçlı su ekstraksiyonu tekniğinden elde edilen ekstrakt diğer konvansiyonel tekniklerle esansiyel yağ kompozisyonu ve ekstraksiyon verimi bakımından karşılaştırılmıştır. Hidrodestilasyon ve Soxhlet ekstraksiyonunun daha yüksek ekstraksiyon verimine sahip olduğu ortaya çıkarken, basınçlı su ekstraktının esansiyel yağ içeriğinde değerli oksijenli bileşiklerin daha yoğun bulunduğunu tespit edilmiştir [36].

Juan ve ark. [37] tarafından pirincin okratoksin A içeriğini belirlemek amacıyla ASE sistemi kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Cihazda çözgen tipi, sıcaklık, basınç, statik süre ve ekstraksiyon hücrenin hacmi gibi farklı parametrelerde optimizasyona gidilmiştir. Optimum çalışma koşulları çözgen olarak metanol, 1500 psi basınç, 40°C sıcaklık, 5 dakika ekstraksiyon süresi, 1 döngü ve 11 mL ekstraksiyon hücresi hacmi olarak belirlenmiştir. Toplam ekstraksiyon süresi yaklaşık 15 dakika olarak bulunmuştur. Elde edilen ekstrakt türevlendirilerek okratoksin-A içeriği HPLC-FD yardımıyla saptanmıştır. Çalışılan 12 pirinç numunesinden 1 tanesinde 4,17 ng/g düzeyinde okratoksin-A'ya rastlanılmıştır. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu sisteminin okratoksin-A analizleri için hızlı ve basit bir örnek hazırlama yöntemi olduğu vurgulanmıştır [37].

Luthje ve ark. [38] üzüm kabuğunda basınçlı su ekstraktörü-mikroporöz membran sıvı sıvı ekstraksiyonu ile yaptıkları çalışmanın sonucunda GC-MS tekniği ile 6 tane pestisidin varlığını tespit etmişlerdir. 120°C sıcaklık, 1mL/min su akış hızında 40 dakika boyunca dinamik moda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen basınçlı su ekstraktı temizlenmek ve konsantre edilmek

amacıyla mikroporöz membran sıvı sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra GC-MS sisteminde kolona doğrudan enjekte edilmiştir. Üzüm kabuğunda procymidone ve tetradifon varlığına rastlanılmıştır. Sonuçların katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon sistemine ait sonuçları desteklediği saptanmıştır [38].

SONUÇ

BÇE tekniği pek çok olumlu özelliğinden dolayı soxhlet ekstraksiyonu, perkolasyon gibi geleneksel yöntemlerin yerine geçebilecek bir örnek hazırlama metodudur. Ekstraksiyon boyunca yüksek sıcaklık ve basıncın kullanılması sadece ekstraksiyon verimini artırmakla kalmayıp, ekstraksiyon süresini ve çözgen tüketimini de azaltmaktadır. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu sistemi oksijene ve ışığa duyarlı bileşikler korumaktadır. Fakat ısıya dayanıksız bileşiklerle çalışırken dikkatli olunmalıdır. Ekstraksiyon parametreleri, bileşiği degradasyona maruz bırakmadan ekstrakte edilmesini sağlayacak şekilde optimize edilmelidir. BÇE tekniğinden faydalanarak daha çok ve daha farklı bileşiklerin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla yapılan çalışmalar, her geçen gün artmaktadır. Geleceğin en çok tercih edilen örnek hazırlama sistemlerinden biri olmaya aday bir sistemdir.

KAYNAKLAR

- [1] Benthin, B., Danz, H., Hamburger, M., 1999. Pressurized liquid extraction of medicinal plants. *Journal of Chromatography A* 837: 211-219.
- [2] Anonymous, 2013. Extraction (chemistry). [http://en.wikipedia.org/wiki/Extraction_\(chemistry\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Extraction_(chemistry)) (Access online: 28.06.2013).
- [3] Carabias-Martinez, R., Rodriguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., Hernandez-Mendez, J., 2005. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A* 1089:1-17.
- [4] Tobiszewski, M., Mechlińska, A., Zygmunt, B., Namieśnik, J., 2009. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. *Trends in Analytical Chemistry* 28(8): 943-951.

- [5] Pronyk, C., Mazza, G., 2009. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. *Journal of Food Engineering* 95: 215–226.
- [6] Giergielewicz-Mozajska, H., Dabrowski, L., Namiesnik, J., 2001. Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples-some aspect of theory and practice. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31(3): 149-165.
- [7] Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology* 17: 300-312.
- [8] Richter, B.E., 2000. Extraction of hydrocarbon contamination from soils using accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography A* 874(2): 217–224.
- [9] Wijngaard, H., Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N., 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International* 46: 505–513.
- [10] Ramos, L., Kristenson, E.M., Brinkman, U.A.T., 2002. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography. A* 975: 3-29.
- [11] Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L., Porter, N.L., Andalovic, N., Pohl, C., 1996. Accelerated solvent extraction: a technology for sample preparation. *Analytical Chemistry* 68: 1033-1039.
- [12] Herrero, M., Castro-Puyana, M., Mendiola, A.J., Ibañez, E., 2013. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *Trends in Analytical Chemistry* 43: 67-83.
- [13] Yang, Y., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., 1997. Class-selective extraction of polar, moderately and non-polar organic pollutants from solid waste using subcritical water. *Environmental Science and Technology* 31(2): 430-437.
- [14] Lou, X., Miller, D.J., Hawthorne, S.B., 2000. Static subcritical water extraction combined with anion exchange disk sorption for determining chlorinated acid herbicides in soil. *Analytical Chemistry* 72: 481-488.
- [15] Crescenzi, C., Di Corcia, A., Nazzari, M., Samperi, R., 2000. Hot phosphate buffered water extraction coupled on-line with liquid chromatography-mass spectrometry for analyzing contaminants in soil. *Analytical Chemistry* 72(14): 3050-3055.
- [16] Hawthorne, S.B., Yang, Y., Miller, D.J., 1994. Extraction of organic pollutants from environmental solids with sub- and supercritical water. *Analytical Chemistry* 66: 2912-2910.
- [17] Hawthorne, S.B., Grabanski, C.B., Martin, E., Miller, D.J., 2000. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. *Journal of Chromatography A* 892(1-2): 421-433.
- [18] Buldini, P.L., Ricci, L., Sharma, J.L., 2002. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis. *Journal of Chromatography A* 975: 47-70.
- [19] Bautz, H., Polzer, J., Stieglitz, L., 1998. Comparison of pressurized liquid extraction with Soxhlet extraction for the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from fly ash and environmental matrices. *Journal of Chromatography A*, 815: 231-241.
- [20] Mendiola, J.A., Herrero, M., Cifuentes, A., Ibanez, E., 2007. Use of compressed fluids for sample preparation: food applications. *Journal of Chromatography A* 1152: 234-246.
- [21] Kaufmann, B., Christen, P., 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis* 13: 105-113.
- [22] Mustafa, A., Turner, C., 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: a review. *Analytica Chimica Acta* 703: 8-18.
- [23] Sun, H., Ge, X., Lv, Y., Wang, A., 2012. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography A* 1237: 1–23.
- [24] Moreno, E., Reza, J., Trejo, A., 2007. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using water under subcritical conditions. *Polycyclic Aromatic Compounds* 27: 239-260.
- [25] Kronholm, J., Hartonen, K., Riekkola, M.L., 2007. Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures. *Trends in Analytical Chemistry* 26(5): 396-412.
- [26] Rovio, S., Hartonen, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Riekkola, M.L., 1999. Extraction of clove using pressurized hot water. *Flavour and Fragrance Journal* 14: 399-404.
- [27] Sporring, S., Björklund, E., 2004. Selective pressurized liquid extraction of polychlorinated biphenyls from fat containing food and feed samples: influence of cell dimensions, solvent type, temperature and flush volume. *Journal of Chromatography A* 1040: 155-161.
- [28] Çam, M., Hışıl, Y., 2010. Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food Chemistry* 123: 878-885.
- [29] Herrero, M., Temirzoda, T.N., Segura-Carretero, A., Quirantes, R., Plaza, M., Ibañez, E., 2011. New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *Journal of Chromatography A*, 1218:7511-7520.
- [30] Hata, S., Wiboonsirikul, J., Maeda, A., Kimura, Y., Adachi, S., 2008. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. *Biochemical Engineering Journal* 40: 44-53.
- [31] Dionex Corporation, 2013. Accelerated Solvent Extraction Applications Summary. http://www.vertex.es/portal/docs/dionex/C_DIONEX_ASE.pdf (Access online: 27.06.2013).
- [32] Bustamante-Rangel, M., Delgado-Zamarreño, M.M., Sánchez-Pérez, A., Carabias-Martínez, R., 2007. Determination of tocopherols and tocotrienols in cereals by pressurized liquid extraction-liquid

- chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 587: 216-221.
- [33] Ozel, Z.M., Gogus, F., Lewis, A.C., 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry* 82: 381-386.
- [34] Ziegenhals, K., Jira, W., Speer, K., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in various types of tea. *European Food Research Technology* 228: 83-91.
- [35] Carretero, V., Blasco, C., Pico, Y., 2008. Multi – class determination of antimicrobials in meat by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1209: 162-173.
- [36] Eikani, M.H., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S., 2007. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering* 80: 735-740.
- [37] Juan, C., González, L., Soriano, J.M., Moltó, J.C., Mañes, J., 2005. Accelerated solvent extraction of ochratoxin a from rice samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9348-9351.
- [38] Lütthie, K., Hyötyläinen, T., Rautiainen-Rämä, M., Riekkola, M.L., 2004. Pressurised hot water extraction-microporous membrane liquid-liquid extraction coupled on-line with gas chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticides in grapes. *Analyst* 130(1): 52-8.
-