

## KRİTİK ALTI SU EKSTRAKSİYONU İŞLEMİNİN GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIMINA YÖNELİK UYGULAMALAR

Evrım Özkaynak Kanmaz<sup>1\*</sup>, Gülden Ova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Artvin

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Geliş tarihi / *Received*: 14.02.2013

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 12.12.2013

Kabul tarihi / *Accepted*: 15.12.2013

### Özet

Kritik altı su ekstraksiyonu işleminde kullanılan sıcaklığa bağlı olarak çeşitli polaritedeki bileşikler elde etmek mümkün olup daha düşük sıcaklıklarda polaritesi yüksek bileşikler, daha yüksek sıcaklıklarda ise polaritesi düşük bileşikler ekstrakte elde edilebilmektedir. Kritik altı su ekstraksiyonu doğal gıda bileşenlerinin ekstraksiyonu amacıyla toksik organik bileşiklerin kullanılmadığı çevre dostu bir tekniktir. Bu teknik ayrıca daha düşük ekstraksiyon süresi, daha yüksek kaliteli ekstrakt ve daha düşük maliyet gibi bazı avantajlara da sahiptir. Bu çalışmada kritik altı su ekstraksiyonunun prensipleri ve kritik altı su ekstraksiyonu işlemini etkileyen parametreler incelenmiş olup ayrıca çeşitli gıda matrislerindeki biyoaktif bileşiklerin kritik altı su ekstraksiyonu uygulamaları ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kritik altı su ekstraksiyonu, gıda uygulamaları, biyoaktif bileşikler

## THE APPLICATIONS OF SUBCRITICAL WATER EXTRACTION FOR THE FOOD INDUSTRY

### Abstract

Subcritical water extraction has demonstrated its ability to selectively extract different classes of compounds depending on the temperature used, with the more polar extracted at lower temperatures and the less polar compounds extracted at higher temperatures. Subcritical water extraction is an environmentally friendly technique that toxic organic solvents have not been used for the extraction of the natural food components. This method also can provide higher selectivities, shorter extraction times and higher extraction yields. In this study, it was investigated the principles of subcritical water extraction and the effective parameters for subcritical water extraction process. It was also examined subcritical water extraction applications of bioactive compounds in different food matrices.

**Keywords:** Subcritical water extraction, food applications, bioactive compounds.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ evrimka2000@yahoo.com,

☎ (+90) 536 766 6782,

☎ (+90) 466 212 3719

## GİRİŞ

Ekstraksiyon teknolojisi gün geçtikçe gelişme gösteren bir alan olup süper kritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve kritik altı su ekstraksiyonu (basınçlı sıcak su ekstraksiyonu) günümüzde yeni, basit ve hızlı örnek hazırlama teknikleri olarak görülmektedir (1-5).

Bitkisel kaynaklı çeşitli biyoaktif bileşiklerin sağlık üzerine olumlu etkilerinin yapılan çalışmalarla ortaya konulması ile birlikte fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyonu önemli bir endüstriyel işlem haline gelmiştir (12). Gıdalardaki biyoaktif bileşiklerin gıda desteği olarak kullanımına toplumun ilgisinin artması, fonksiyonel ürünlerin üretiminin ve buna bağlı olarak da yasal düzenlemelerin artması nedeniyle ekstraksiyon metodlarında toksik organik çözügenlerin kullanılmadığı daha sağlıklı alternatif yöntemlerle ilgili araştırmalar başlamıştır. Bu amaçla geliştirilen yöntemlerden biri de kritik altı su ekstraksiyonu işlemidir. Bu işlemin diğer konvensiyonel tekniklere kıyasla başlıca avantajları arasında daha düşük ekstraksiyon süresi, daha yüksek kaliteli ekstrakt ve daha düşük maliyet sayılabilir. Ayrıca kritik altı su ekstraksiyonu çevre dostu bir teknik olarak tanımlanmaktadır (7-11, 13-20). Literatürde kritik altı su ekstraksiyonu işleminin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik çalışmalar özellikle esansiyel yağlar (13, 21-23) ve fenolik bileşikler (12, 24-34) üzerine yoğunlaşmış olsa da protein ve karbonhidratlar (32, 35), aroma bileşikler (36), alkoloidler (37), terpenler (38), laktonlar (39) ve saponinler (40) gibi çeşitli bileşikler üzerine de çalışmalar yapılmıştır.

### KRİTİK ALTI SU EKSTRAKSİYONU İŞLEMİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER

Kritik altı su ekstraksiyonu (subcritical water extraction) literatürde aşırı ısıtılmış su ekstraksiyonu (superheated water extraction), basınçlı sıcak su ekstraksiyonu (pressurized hot water extraction) ve basınçlı düşük polariteli su ekstraksiyonu (pressurized low polarity water extraction) gibi farklı isimlerde kullanılmaktadır. Kritik altı su ekstraksiyonu yeterli derecede yüksek basıncın uygulanarak ve sıcaklığın artırılmasıyla suyun dielektrik katsayısının yani polaritesinin düşürülmesi ve suyun sıvı fazda tutulabilmesi ilkesine dayanmaktadır. Su oda sıcaklığında polar bir

çözgendir ve dielektrik katsayısı 80'e yakındır, 250°C'ye kadar ısıtıldığı zaman ise suyun dielektrik katsayısı etanolün dielektrik katsayısına yakın bir değer olan 27'e kadar düşmektedir. Çalışma sıcaklıkları suyun kritik değeri olan 374°C'nin altında olup genellikle 100°C'nin üzerindeki sıcaklıklar kullanılmaktadır (6-11). Kritik altı su ekstraksiyonu işleminde kullanılan sıcaklığa bağlı olarak çeşitli polaritedeki bileşikler elde etmek mümkün olup daha düşük sıcaklıklarda polaritesi yüksek bileşikler, daha yüksek sıcaklıklarda ise polaritesi düşük bileşikler ekstrakte edilebilmektedir.

Gıdaların yapısındaki biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu pilot tipi düzeneklerde veya basınçlı çözügen ekstraksiyonu (accelerated solvent extraction-ASE) sistemlerinde gerçekleştirilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde kritik altı su ekstraksiyonu işlemini etkileyen parametreler arasında partikül boyutu, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, akış hızı, basınç, taze çözügen miktarı ve örnek miktarı sayılabilir.

### Partikül Boyutu

Ekstraksiyon işleminde gıda matriksinin partikül boyutu küçüldükçe yüzey alanı artmakta ve bu da ekstraksiyon etkinliğini artırmaktadır. Fakat, partikül boyutunu çok fazla küçültmek filtre gözeneklerini tıkalayabilmektedir. Ayrıca materyalin musilaj içeriğinin de gözeneklerin tıkanması üzerine etkisinin olduğu belirtilmektedir. Bunun yanı sıra materyal şekli de önemli olup bir gıda matriksi ile o gıdanın yağsız küspe yapısı birbirinden farklı olup küspe materyali ile çalışırken alternatif boyut küçültme denemeleri yapılması ekstraksiyon verimini önemli düzeyde etkilemektedir (23, 28, 33, 41, 42).

### Sıcaklık

Kritik altı su ekstraksiyonu işleminde sıcaklık etkin parametre olup gıda matriksinin yapısındaki bağları kırıp suyun yayılma gücünü ve seçiciliğini artırmaktadır (12-14, 23-25, 27-29, 31-35, 38, 39). Ayrıca sıcaklık suyun polaritesini de değiştirerek farklı biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda seçicilik sağlamaktadır (12).

### Ekstraksiyon Süresi

Ekstraksiyon süresi, sıcaklık parametresinden sonraki en etkili faktörlerden biridir (12, 25, 28,

31, 33-35, 38, 39). Analitin çözücü içerisinde dağılım katsayısının düşük olduğu durumlarda ekstraksiyon süresi uzun seçilirken, su içerisinde dağılım katsayısının yüksek olduğu bileşiklerin ekstraksiyonunda ise süre kısa tutulmalıdır (28). Uzun süreli ısısal işlem bileşiklerin indirgenmesine neden olduğundan ekstraksiyon süresinin optimizasyonu oldukça önemli (8, 43, 44) olup sıcaklık ve ekstraksiyon süresi arasında önemli bir interaksiyon bulunmaktadır (33).

### Akış Hızı

Pilot tipi düzeneklerde akış hızı ekstraksiyon süresi kadar etkili bir faktör olup bazı çalışmalarda optimize edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (13, 23, 27, 32).

### Basınç

Kritik altı su ekstraksiyonu işleminde basıncın işlevi suyu ekstraksiyon sıcaklığında sıvı halde tutmaktır. Basınç ayrıca su ile gıda matriksi arasındaki teması da artırmaktadır (28). Literatürde taranan ASE çalışmalarının çoğunda basınç faktörü sabit değerde tutulmuş ve 1500 psi basınç değeri kullanılmıştır (12, 24, 29, 31). Kritik altı su ekstraksiyonu işleminde basıncın daha yüksek değerlerde olmasının ekstraksiyon verimine herhangi bir etkisinin olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (28, 33, 42).

### Taze Çözgen Miktarı

ASE cihazında ekstraksiyon süresinin bitiminde ekstraksiyon işleminin yapıldığı metal haznenin içine taze çözücü püskürtme imkanı mevcuttur. Taze çözgen miktarını sisteme ekstraksiyon haznesi hacminin %5-150'si kadar verebilmek mümkündür. Ekstraksiyon süresi sonunda ekstrakt, ekstrakt toplama şişesine alınmaya başlanır, bu arada statik valf açılır ve metal haznenin kapasitesinin belirlenen yüzdesinde sisteme tekrar taze su verilir. Literatürde yapılan taramalarda genellikle taze çözgen miktarının ekstraksiyon işlemi sırasında bir faktör olarak ele alınmadığı ve sabit değerlerde tutulduğu görülmektedir (12, 24, 29, 31). Ayrıca, yapılan bazı çalışmalarda da taze çözgen miktarının ekstraksiyon işlemini etkilemediği belirtilmektedir (28, 33).

### Örnek Miktarı

Literatürde örnek miktarının önemli bir faktör olduğunu ve optimize edilmesi gerektiğini bildiren

çalışmalar bulunurken (33, 42), örnek miktarının bir faktör olarak önemli olmadığını bunun yerine örnek/çözücü oranının daha önemli bir faktör olduğunu belirten çalışmalar da yer almaktadır (44, 45). Diğer bir çalışmada da örnek miktarının etkin bir faktör olmadığı saptanmış olup mümkün olduğunca örneği iyi temsil edecek ve alınan ekstraktların da ilgili bileşenler açısından konsantrite olduğu uygun bir örnek miktarının seçilmesi gerektiği belirtilmektedir (28). Bazı çalışmalarda ise örnek miktarı sabit değerde tutulmaktadır (12, 24, 29, 31).

## PİLOT TİPİ DÜZENEKLERDE KRİTİK ALTI SU EKSTRAKSİYONU UYGULAMALARI

Ekstraksiyon düzeneği degaz edilmiş su kaynağı, azot kaynağı, fırın, ekstraksiyon hücresi ve ekstrakt toplama ünitesinden oluşmakta olup çalışmalarda çeşitli pilot tipi düzenekler kullanılmıştır (5, 8, 13, 32, 46, 47). Pilot tipi düzeneklerde fitokimyasal bileşiklerin kritik altı su ile ekstrakte edildiği bazı çalışmalara aşağıda yer verilmektedir.

Kekik ve fesleğen yapraklarından  $\alpha$ -pinen, limonen, kafur, sitronellol, ve karvakrol terpenlerinin ekstraksiyonu amacıyla kritik altı su kullanılan çalışmada, terpenlerin en yüksek ekstraksiyon veriminin 100°C'de, 15 dakika sürede elde edildiği ve %70-80 arasında olduğu belirtilmektedir (38). Kara kekik (*Thymbra spicata* L.) yapraklarından esansiyel yağların ekstraksiyonu çalışmasında, kritik altı su ekstraksiyonunun konvensiyonel esansiyel yağ üretim tekniklerinden daha hızlı ve düşük maliyetli ve çevre dostu bir teknik olduğu bildirilmektedir (13). Kekik yağının kritik altı su ekstraksiyonu ve su destilasyonu işlemleri karşılaştırıldığında; kritik altı su ekstraksiyonu işleminin kekik esansiyel yağlarının eldesinde su destilasyonundan daha hızlı, daha ucuz ve daha etkili bir yöntem olduğu, ayrıca kekik yağında bulunan 11 major bileşiğin 8'inin kritik altı su ekstraksiyonu ile daha yüksek verimde elde edildiği görülmektedir. Söz konusu işlemin gıda endüstrisinde bitkilerin esansiyel yağlarını elde etmede büyük ilgi göreceği belirtilmektedir (22).

Kişniş (*Coriandrum sativum* L.) tohumlarından esansiyel yağların ekstraksiyonu amacıyla kritik altı su ekstraksiyonu, Soxhlet aparatında su ile ekstraksiyon ve su destilasyonu işlemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kritik altı su ekstraksiyonu işleminin verimi Soxhlet ve

destilasyon yöntemlerine kıyasla daha düşük olmasına karşın kritik altı su ekstraksiyonu işlemi ile daha değerli esansiyel yağların elde edildiği bildirilmektedir (23). Mercanköşk yapraklarından esansiyel yağların ekstraksiyonu üzerine yapılmış diğer bir çalışmada, kritik altı su ekstraksiyonu ve su destilasyonu işlemleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, kritik altı su ekstraksiyonu işlemi ile 15 dak. gibi kısa bir sürede daha yüksek miktarda esansiyel yağ elde edilebildiği ve ekstraksiyon veriminin su destilasyonundan 5.5 kat daha fazla olduğu vurgulanmaktadır (21).

Kava (*Piper methysticum*) kökünden laktonların kritik altı su ekstraksiyonu işleminin suda kaynatma, Soxhlet aparatında su ile ekstraksiyon ve ultrasonik banyoda asetonla ekstraksiyon işlemleri ile karşılaştırıldığında; 175°C sıcaklıkta 20 dak kritik altı su ekstraksiyonu işleminin kava kökünden laktonların elde edilmesi için yeterli olduğu görülmekte olup verimin Soxhlet aparatındaki ekstraksiyon ve suda kaynatma işlemlerinden daha yüksek olduğu, ultrasonik banyoda asetonla ekstraksiyondan ise daha düşük olduğu bildirilmektedir (39).

Yağı alınmış pirinç kepeğinden protein, karbonhidrat ve fenolik bileşikler gibi sağlığa yararlı bileşiklerin kritik altı su ekstraksiyonu işleminde 200°C'de en yüksek miktarda ve verimde protein ve karbonhidrat elde edildiği rapor edilmektedir. Araştırmada ekstraksiyon işleminde sıcaklığın yükselmesi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitelerinin arttığı, 150-200 °C arasında ekstraktların protein ve karbonhidrat içeriğinin yanı sıra furfural içeriklerinin de hızlı arttığı görülmektedir (25). Ayrıca, yağı alınmış keten tohumu küspesinden lignan bileşiklerinin, proteinlerin ve karbonhidratların ekstraksiyonu işleminin ticari olarak geleceğe dönük bir teknoloji olma potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (32).

Yağı alınmış pirinç kepeği ile yapılan diğer bir çalışmada ise antioksidan ve emülsifiye özelliğe sahip yararlı maddelerin kritik altı su ekstraksiyonu koşulları ile ekstraktlardaki bazı bileşikler ve onların özellikleri araştırılmıştır. Veriler doğrultusunda 260-280°C sıcaklıklarda, yüksek radikal süpürücü ve antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içeren ekstraktların 5 dak gibi kısa sürede elde edildiği ve 200°C'de yüksek emülsifiye özelliğe sahip

ekstraktların alınabildiği bildirilmektedir (35). Biberiye yapraklarından antioksidan bileşiklerin elde edilmesi amacıyla kritik altı su ekstraksiyonu işleminin kullandığı çalışmada, biberiyede aktif olarak bulunan karnosol, rosmanol, karnosik asit, metil karnosat bileşikler ile kirsimaritin ve genkwanin gibi bazı flavonoidlere karşı bu işlemin seçiciliğinin yüksek olduğu ve ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin de çok yüksek olduğu belirtilmektedir (30).

Meyan kökü ile yapılan bir araştırmada 200°C'de 60 dak veya 300°C'de 30 dakikadan daha uzun sürelerde uygulanan kritik altı su ekstraksiyonu işlemi sırasında elde edilen su ekstraktlarının daha yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içerdiği görülmektedir (48). Kanola küspesinden antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu amacı ile kritik altı su ekstraksiyonu (110 ve 160 °C), sıcak su (80 °C) ve etanol ekstraksiyonu (%95, v/v) karşılaştırıldığında; ekstraktlarda toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi açısından en yüksek ekstraksiyon verimi 160°C'de kritik altı su ekstraksiyonu ile elde edilmektedir (49). Laboratuvar ölçekli basınçlı düşük polariteli su ekstraktörü kullanılarak keten lifi üretiminde yan ürün olan keten kıymığından hemiselüloz ve lignin bileşiklerinin ayrıştırılması için optimum ekstraksiyon koşulu 170°C, 3.0 pH ve 2.5 mL/dak akış hızı olarak bildirilmektedir (50).

Helile (*Terminalia chebula Retz*) meyvelerinden gallik asit, elajik asit, ve korilagin gibi polifenolik bileşiklerin kritik altı su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri sıcak su, sıcak etanol ve suda kaynatma işlemi ile karşılaştırıldığında kritik altı su ekstraksiyonu işlemi ile gallik asit, elajik asit gibi yüksek antioksidan aktivite özelliğine sahip önemli miktarda fenolik bileşikler içeren ekstraktların elde edildiği ve söz konusu işlemin helile meyvelerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu amacıyla kullanımının zamandan tasarruf sağladığı, etkin ve çevre dostu bir teknik olduğu rapor edilmektedir (27).

#### **BASINÇLI ÇÖZGEN EKSTRAKSİYONU SİSTEMLERİNDE KRİTİK ALTI SU EKSTRAKSİYONU UYGULAMALARI**

Basınçlı çözgen ekstraksiyonu sistemlerinin ticari ismi hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu olup

ASE cihazlarının ASE 100, 150, 200, 300 ve 350 olarak 5 farklı modeli bulunmaktadır (51). Gıdaların yapısındaki biyoaktif bileşiklerin kritik altı su ile ekstraksiyonu üzerine ASE cihazlarında yapılmış bazı çalışmalara aşağıda yer verilmiştir.

Spirulina platensis mikroalginden antioksidanların ekstraksiyonu işlemi ASE 200 cihazında 4 farklı çözen (hegzan, petrol eteri, etanol, su) kullanılarak gerçekleştirildiğinde, etanol ekstraktları ile en yüksek verimin (%19.7) elde edildiği bunu %10.12 verim ile su ekstraktlarının izlediği görülmektedir. Araştırmada ayrıca her sıcaklık ve süre parametresi için en yüksek antioksidan aktivite değeri su ekstraktlarında saptanmaktadır (31).

Kurutulmuş kırmızı üzüm kabuğundan antosiyaninlerin ve diğer fenolik bileşiklerin ASE 200 cihazında kritik altı su ekstraksiyonu, ultrasonik banyoda su ve %60 metanol çözeltisi ekstraksiyon işlemleri kıyaslanmıştır. Araştırma sonucunda kurutulmuş kırmızı üzüm kabuğundan ve muhtemelen işlenmiş üzümün diğer yan ürünlerinden antosiyaninlerin ve diğer fenolik bileşiklerin 100-110°C arasında kritik altı su ile ekstrakte edilmesi işleminin organik çözen kullanımına karşı iyi bir alternatif yöntem olacağı bildirilmektedir (24).

Kekik (*Origanum vulgare* L.) yapraklarından antioksidan bileşiklerin izole ve konsantre edilmesi amacıyla ASE 200 cihazında yapılan kritik altı su ekstraksiyonu işleminde en yüksek ekstraksiyon verimi (%54) ve en yüksek antioksidan aktivitesi 200°C sıcaklıkta 15 dak ekstraksiyon süresinde elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Buna karşın araştırmada farklı koşullarda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları birbirine yakın olup fenolik bileşiklerin çeşidinde ve yapısında farklılıklar saptandığı ve bu farklılıkların ekstraktların antioksidan aktivitelerindeki farklılığının nedeni olduğu vurgulanmaktadır (12).

Kurutulmuş üzüm posasından prosiyanidinlerin ekstraksiyonu ASE cihazında 6 çözen (%0, 10, 30, 50, 70, ve 90 etanol/su (v/v)) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada aynı zamanda öğütülmüş üzüm posasındaki prosiyanidinler aseton/su/asetik asit (70:29.5:0.5, v/v/v) çözeltisi ile konvansiyonel olarak da ekstrakte edilmiştir. Araştırmada %50 etanol/su çözeltisi ile elde edilen

ekstraktların prosiyanidin içeriklerinin diğer etanol/su çözeltilerinden daha yüksek olduğu ve konvansiyonel çözenle ekstrakte edilen prosiyanidinlerin %115'ini içerdiği belirtilmiş olup %50 etanol/su çözeltisi ile konvansiyonel ekstraksiyona göre %205 epikateşin, %221 kateşin ve %113 dimerler daha fazla ekstrakte edilmektedir. Araştırmada sonuç olarak ASE cihazında 80-140°C arasında %50 etanol/su çözeltisi ile prosiyanidinlerin ekstraksiyonunun yapılabileceği saptanmış olup şarap ve meyve suyu endüstrisinde atık olarak ortaya çıkan üzüm posasından prosiyanidinlerin ekstraksiyonunun etkin ve çevre dostu olan çözenlerle gerçekleştirilebileceği belirtilmektedir (29).

Nar kabuğu ve çekirdeğinde antioksidan özellikler gösteren fenolik bileşiklerin ASE 300 cihazında kritik altı su ekstraksiyonu üzerine yapılmış çalışmada, sıcaklık, partikül boyutu, taze çözen miktarı, örnek miktarı, ekstraksiyon süresi gibi işlem parametreleri incelenmiştir. Araştırmada, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi etkin faktörler olarak saptanmış olup optimum ekstraksiyon koşulları 40°C sıcaklık, 5 dak. ekstraksiyon süresi, 1500 psi basınç, %5 taze çözen miktarı ve 10 g örnek miktarı olarak belirtilmektedir. Araştırmada optimum koşullarda su ile alınan ekstraktlar ile konvansiyonel metanol ekstraktları arasında fenolik bileşik miktarları açısından istatistiksel anlamda fark olmadığı bildirilmektedir (28).

ASE 200 cihazında gerçekleştirilen keten tohumunun yapısındaki SDG (sekoisolarikiresinol diglukosid) lignan bileşiğinin kritik altı su ekstraksiyonu amacı ile materyal şekli, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, basınç, taze çözen miktarı ve örnek miktarı parametrelerinin işlem üzerine etkileri incelenmiştir. Etkin faktörler olarak ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, materyal şekli ve örnek miktarı belirlenmiş olup en iyi çalışma materyalinin yağı alınmış parça küspe olduğu belirtilmektedir. Su ekstraktlarında en yüksek verim (%77.01) 160°C sıcaklıkta 60 dak ekstraksiyon süresinde 1500 psi basınç kullanılarak 5 g örnek ile %40 taze çözen kullanıldığında saptanmakta olup ikinci en yüksek verimin (%72.57) ise 180°C'de 15 dak gibi kısa bir sürede elde edildiği bildirilmektedir (33).

## SONUÇ

Literatürde kritik altı su ekstraksiyonu işleminin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik çalışmalar özellikle esansiyel yağlar ve fenolik bileşikler üzerine olup proteinler, karbonhidratlar, aroma bileşikleri, alkaloidler, terpenler, boyar maddeler ve laktonlar gibi çeşitli bileşikler üzerine de çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, endüstriyel boyutta bitkisel biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu amacıyla kritik altı su ekstraksiyonu işleminin önemli bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmaktadır. Kritik altı su ekstraksiyonu geleceğin çevre dostu ekstraksiyon tekniği olarak görülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Sahena F, Zaidul ISM, Jinap S, Karim AA, Abbas KA, Norulaini NAN, Omar AKM. 2009. Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction-A review. *J Food Eng*, (95), 240-253
2. Munshi P, Bhaduri S. 2009. Supercritical CO<sub>2</sub>: a twenty first century solvent for the chemical industry. *Curr Sci*, (97), 63-72.
3. Hyotylainen T. 2009. Critical evaluation of sample pretreatment techniques. *Anal Bioanal Chem*, 394 (3), 743-758.
4. Sunarso J, Ismadji S. 2009. Decontamination of hazardous substances from solid matrices and liquids using supercritical fluids extraction: a review. *J Hazard Mater*, 161 (1), 1-20.
5. Beek TA, Tetala KKR, Koleva II, Dapkevicius A, Exarchou V, Jeurissen SMF, Claassen FW, Klift EJC. 2009. Recent developments in the rapid analysis of plants and tracking their bioactive constituents. *Phytochem Rev*, (8), 387-399.
6. Teo CC, Tana SN, Hong Yonga JW, Hewb CS, Ong ES. 2010. Pressurized hot water extraction (PHWE). *J Chromatogr A*, 1217 (16), 2484-94.
7. Kim WJ, Kim J, Veriansyah B, KimJD, Lee YW, Oh SG, Tjandrawinata RR. 2009. Extraction of bioactive compounds from *Centella asiatica* using subcritical water. *J Supercrit Fluids*, (48), 211-216.
8. Teo CC, Tan SN, Yong JWH, Hew CS, Ong ES. 2009. Validation of green-solvent extraction combined with chromatographic chemical fingerprint to evaluate quality of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *J Sep Sci*, 32 (4), 613-622.
9. Zaibunnisa AH, Norashikin S, Mamot S, Osman H. 2008. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using Pressurised Liquid Extraction (PLE). *LWT-Food Sci Technol*, (42), 233-238.
10. Roudsari MH, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT. 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chem*, (114), 717-726.
11. Zbiral J, Nemeč P. 2009. Comparison of some soil extractants for determination of boron. *Commun Soil Sci Plant Anal*, (40), 96-105.
12. Rodríguez-Meizoso I, Marin FR, Herrero M, Senorans FJ, Reglero G, Cifuentes A, Ibáñez E. 2006. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano, Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*, (41), 1560-1565.
13. Özel MZ, Gogus F, Lewis AC. 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chem.*, (82), 381-386.
14. Teo CC, Tan SN, Yong JWH, Hew CS, Ong ES. 2008. Evaluation of the extraction efficiency of thermally labile bioactive compounds in *Gastrodia elata* Blume by pressurized hot water extraction and microwave-assisted extraction. *J Chromatogr A*, 1182 (1), 34-40.
15. Hyotylainen T. 2009. Critical evaluation of sample pretreatment techniques. *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (3), 743-758.
16. Shi J, Xue SJ, Ma Y, Jiang Y, Ye X, Yu D. 2012. Green separation technologies in food processing: supercritical-CO<sub>2</sub> fluid and subcritical water extraction. In: *Green Technologies in Food Production and Processing Food Engineering Series*. Arcand, Yves (chief ed), Springer-e book, Chapter 11, pp. 273-294.
17. Jiang ZJ, Liu F, Goh JL, Yu LJ, Li SFY, Ong ES, Ong CN. 2009. Determination of senkirkine and senecionine in *Tussilago farfara* using microwave-assisted extraction and pressurized hot water extraction with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta*, 79 (2), 539-546.
18. Marazuela MD, Bogianni S. 2009. A review of novel strategies of sample preparation for the determination of antibacterial residues in foodstuffs using liquid chromatography-based analytical methods. *Anal Chim Acta*, (645), 5-17.

19. Hoshino M, Tanaka M, Terada A, Sasaki M, Goto M. 2009. Separation and characterization of pectin from juice processing residue extracted by sub-critical water. The 5th ISFR, October 11-14, Chengdu, China.
20. Nerin C, Salafranca J, Aznar M, Batle R. 2009. Critical review on recent developments in solventless techniques for extraction of analytes. *Anal. Bioanal. Chem.*, 393 (3), 809-833.
21. Jiménez-Carmona MM, Uberab JL, Luque de Castro MD. 1999. Comparison of continuous subcritical water extraction and hydrodistillation of marjoram essential oil. *J Chromatogr A*, (855), 625-632.
22. Ayala RS, Luque de Castro MD. 2001. Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. *Food Chem.*, (75), 109-113.
23. Eikani M H, Golmohammad F, Rowshanzamir S. 2007. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *J Food Eng.* (80), 735-740.
24. Ju ZY ve Howard LR. 2005. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *J Agric Food Chem*, (51), 5207-5213.
25. Wiboonsirikul J, Kimura Y, Kadota M, Morita M, Tsuno T, Adachi S. 2007. Properties of extracts from defatted rice bran by its subcritical water treatment. *J Agric Food Chem*, (55), 8759-8765.
26. Baek JY, Lee J M, Lee S C 2008. Extraction of nutraceutical compounds from licorice roots with subcritical water. *Sep Purif Technol*, (63), 661-664.
27. Rangsiwong P, Rangkadilok N, Satayavivad J, Goto M, Shotipruk A. 2009. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. Fruits. *Sep Purif Technol*, (66), 51-56.
28. Çam M. 2009. Basınçlı Solvent Ekstraktörü Kullanılarak Nar Kabuğu ve Çekirdeğinin Antioksidan Bileşiklerinin Su İle Ekstraksiyonu. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 245s.
29. Monrad JK, Howard LR, King GJW, Srinivas K, Mauromoustakos A. 2010. Subcritical solvent extraction of procyanidins from dried red grape pomace. *J Agric Food Chem*, 58 (7), 4014-4021.
30. Ibanez E, Kubátová A, Senoráns FJ, Cavero S, Reglero G, Hawthorne SB. 2003. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *J Agric Food Chem*, 51, 375-382.
31. Herrero M, Martín-Álvarez PJ, Senoráns FJ, Cifuentes A, Ibáñez E. 2005. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. *Food Chem.*, (93), 417-423.
32. Ho CHL, Cacacea JE, Mazza G. 2007. Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water. *LWT- Food Sci Technol*, (40), 1637-1647.
33. Özkaynak Kanmaz E, Ova G. 2013. The Effective Parameters for Subcritical Water Extraction of SDG lignan from Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) Using Accelerated Solvent Extractor. *Eur Food Res Technol*, 237(2), 159-166.
34. Özkaynak Kanmaz E. 2013. Subcritical Water Extraction of Phenolic Compounds from Flaxseed Meal Sticks Using Accelerated Solvent Extractor (ASE). *Eur Food Res Technol*, DOI: 10.1007/s00217-013-2088-5.
35. Hata S, Wiboonsirikul J, Maedab A, Kimura Y, Adachi S. 2007. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. *Biochem Eng J*, 40 (1), 44-53.
36. Zaibunnisa AH, Norashikin S, Mamot S, Osman H 2009. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). *LWT-Food Sci Technol*, 42 (1), 233-238.
37. Ghoreishi SM, Gholami Shahrestani R, Ghaziaskar SH. 2008. Subcritical Water Extraction of Mannitol from Olive Leaves. *World Academy of Science, Eng Technol*, (19), 114-124.
38. Yang Y, Kayan B, Bozer N, Pate B, Baker C, Gizir AM. 2007. Terpene degradation and extraction from basil and oregano leaves using subcritical water. *J Chromatogr A*, (1152), 262-267.
39. Kubátová A. Miller DJ, Hawthorne SB. 2001. Comparison of subcritical water and organic solvents for extracting kava lactones from kava root. *J Chromatogr A*, (923), 187-194.

40. Güçlü-Üstündağ Ö, Balsevich J, Mazza G. 2007. Pressurized low polarity water extraction of saponins from cow cockle seed. *J Food Eng*, (80), 619-630.
41. Mukhopadhyay S, Luthria DL, Robbins RJ. 2006. Optimization of extraction process for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction. *J Sci Food Agric*, (86), 156-162.
42. Luthria DL. 2008. Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food Chem*, (107), 745-752.
43. Budrat P, Shotipruk A. 2009. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica charantia*) by subcritical water extraction. *Sep Purif Technol*, 66 (1), 125-129.
44. Li P, Li SP, Lao SC, Fu CM, Kan KKW, Wang YT. 2006. Optimization of pressurized liquid extraction for Z-ligustilide, Z-butylidenephthalide and ferulic acid in *Angelica sinensis*. *J Pharm Biomed Anal*, (40), 1073-1079.
45. Alonso-Salces RM, Korta E, Barranco A, Berrueta L, Gallo B, Vicente F. 2001. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple. *J Chromatogr A*, (933), 37-43.
46. Garcia-Marino M, Rivas-Gonzalo JC, Ibanez E, Garcia-Moreno C. 2006. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. *Anal Chim Acta*, (563), 44-50.
47. Pongnaravane B, Goto M, Sasaki M, Anekpankul T, Pavasant P, Shotipruk A. 2006. Extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* by pressurized hot water: Antioxidant activity of extracts. *J Supercrit Fluids*, (37), 390-396.
48. Baek JY, Lee JM, Lee SC. 2008. Extraction of nutraceutical compounds from licorice roots with subcritical water. *Sep Purif Technol*, (63), 661-664.
49. Hassas-Roudsari M, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT. 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chem*, (114), 717-726.
50. Kim JW, Mazza G. 2009. Extraction and Separation of Carbohydrates and Phenolic Compounds in Flax Shives with pH-Controlled Pressurized Low Polarity Water. *J. Agric. Food Chem*, (57), 1805-1813.
51. Dionex 2013. Accelerated Solvent Extraction, <http://www.dionex.com/en-us/products/sample-preparation/ase/accessories/lp-72860.html>. (Erişim tarihi: 24.08.2013).