

# GIDA BİYOTEKNOLOJİSİNDE AROMA MADDELERİNİN SÜPERKRİTİK AKIŞKAN YÖNTEMİYLE EKSTRAKSİYONU\*

## EXTRACTION OF FLAVOURS WITH SUPERCRITIC FLUIDS IN FOOD BIOTECHNOLOGY

Murat YILMAZTEKİN<sup>1</sup>, Hüseyin ERTEN, Turgut CABAROĞLU  
Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

**ÖZET:** Gıda endüstrisinde kullanılan ayırma tekniklerinden birisi olan ekstraksiyon işlemi, yağlık tohumlardan yağ eldesinde, şeker ve şeker kamışından şeker eldesinde, birçok hammaddeden aroma bileşenlerinin ayrılması ile ilgili uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan organik ve inorganik karakterdeki sıvı çözümlerin çoğunun tehlikeli ve pahalı olmaları ve olumsuz çevresel etkileri gibi çeşitli dezavantajları bulunmaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu çözümler olarak süperkritik bir akışkanın kullanıldığı (genellikle CO<sub>2</sub>) ve hammaddenin bu akışkan içerisinde yüksek basınç altında çözündürülüp daha sonra basınç azaltılarak ürünün akışkandan ayrıldığı bir ekstraksiyon yöntemidir. Benzersiz özelliklerinden dolayı bu yöntem aroma maddelerinin ekstraksiyonunda sıkça kullanılmaktadır. Bu derlemede, son zamanlarda kullanımı giderek artan bir yöntem olan süperkritik akışkan ekstraksiyonunun temel prensipleri ve gıda biyoteknolojisinde aroma maddelerinin ekstraksiyonundaki uygulamaları ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, aroma, biyoteknoloji.

**ABSTRACT:** Extraction which is one of the separation techniques used in food industry is widely employed in applications such as obtaining oil from oilseeds, sugar from sugarcane and flavours from lots of raw materials. The organic and inorganic liquid solvents which are used in these applications have some disadvantages such as harmful, expensive and environmental problems. Supercritical fluid extraction is a method which a supercritical fluid, generally carbon dioxide, is used as a solvent. Super critical extraction is performed by dissolving raw materials in supercritical fluid under high pressure and then extracted material is separated from the solvent by reducing the pressure. Due to its unique solving properties, this method is widely used in the extraction of flavours. In this review, the basic principles and the supercritical fluid extraction applications for extraction of flavours in food biotechnology was discussed.

**Keywords:** Supercritical fluid extraction, aroma, biotechnology.

### GİRİŞ

Gıdaların işlenmesi sırasında uygulanan işlemlerde amaç, gıdada bulunan belirli bileşenlerin ayrı olarak elde edilmesidir. Ayırma tekniklerinden birisi olan ekstraksiyon işlemi, yağlık tohumlardan yağ eldesinde, şeker pancarı ve şeker kamışından şeker eldesinde, birçok hammaddeden aroma bileşenlerinin ayrılmasında v.b. uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ekstraksiyon işlemlerinde enerji tasarrufu sağlanması, yüksek kapasite ile çalışma ve maliyet giderlerini azaltma gibi gerekçelerle hızlilik ve verimde yükseklik arzulanmaktadır. Bu nedenle, sürekli yeni tekniklerin ve alternatif çözümlerin arayışı sürmektedir (Çolak ve Tülek, 2003). Günümüzde kullanılan organik ve inorganik karakterdeki sıvı çözümlerin çoğu tehlikeli, pahalı, olumsuz çevresel etkilere sahiptir. Sıralanan bu olumsuz özelliklere sahip olmayan çözümlerin bulunması ve kullanımları büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalar süperkritik akışkanların ekstraksiyon işlemi için alternatif bir çözümler olarak gündeme gelmesini sağlamıştır. Şu ana kadar ortaya çıkan sonuçlar, süperkritik akış-

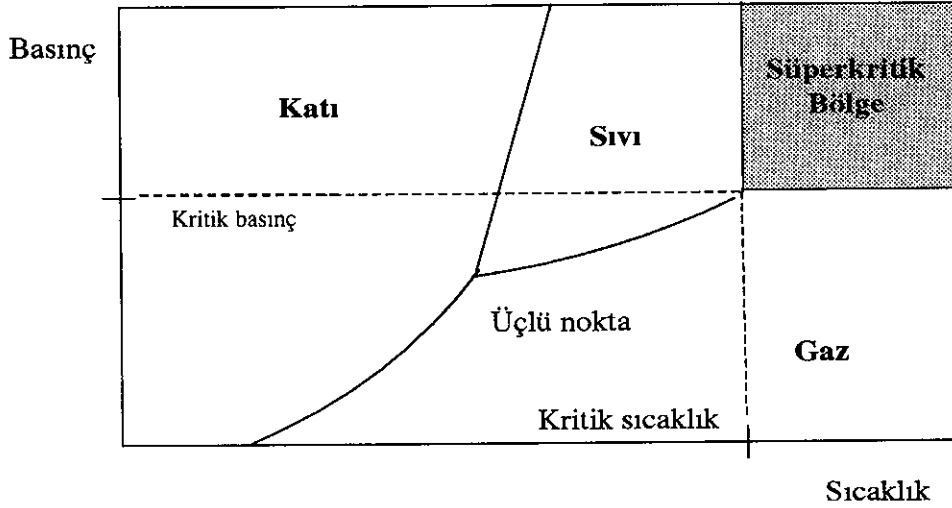
\* Türkiye 8. Gıda Kongresinde sunulmuştur.

1 E-posta: myilmaztekin@cu.edu.tr

kanların gıda sanayinde birçok bileşenin ekstraksiyonunda başarı ile kullanılabileceğini göstermiştir. Bu derlemede süperkritik akışkan ekstraksiyonunun temel prensipleri ve gıda biyoteknolojisinde kullanım alanları ele alınmıştır.

### Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Her maddenin bir kritik sıcaklığı ( $T_c$ ) ve kritik basıncı ( $P_c$ ) vardır. Maddenin kritik sıcaklığı ve basıncı, gaz ve sıvı fazlarının bir arada bulunabildiği en yüksek sıcaklık ve basınçtır. Bilindiği gibi, maddeler katı, sıvı ve gaz olarak üç fazda bulunurlar. Ancak madde, kritik sıcaklığın ve kritik basıncın üzerindeki koşullarda süperkritik akışkan olarak adlandırılan dördüncü bir faza geçmektedir. Saf maddeler için basınç sıcaklık diyagramında süperkritik bölge Şekil 1'de gösterilmiştir (Karlsson ve Trägårdh, 1997; Çolak ve Tülek, 2003). Süperkritik



Şekil 1. Süperkritik bölge diyagramı (Karlsson ve Trägårdh 1997)

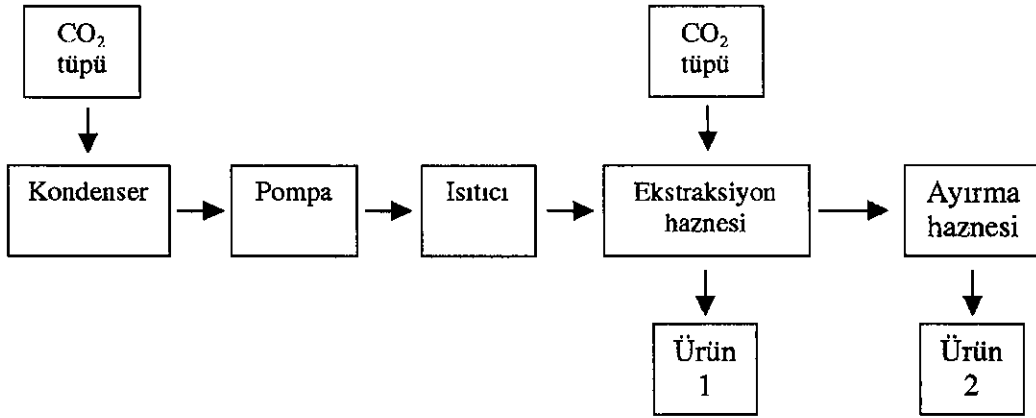
ritik akışkan ekstraksiyonu, bir maddenin süperkritik koşullardaki bir akışkan içinde çözünmesi ve daha sonra basınç azaltılarak ürünün akışkandan ayrılması olarak tanımlanabilir. Basıncın azaltılması ile çözünen maddenin süperkritik fazdaki çözünürlüğü de azalmakta ve ayırım gerçekleşmektedir (Güvenç, 1997).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre bazı avantajları vardır (Rozzi ve Singh, 2002). Bunlar;

1. Süperkritik akışkanlar sıvılara göre yüksek difüzyon katsayısına ve viskoziteye sahiptir,
2. Yüzey gerilimlerinin olmayışı heterojen yapıli maddelerin gözeneklerine daha hızlı nüfuz etmelerini ve dolayısıyla ekstraksiyon etkinliğinin artmasını sağlar,
3. Ekstraksiyon sırasında seçicilik, farklı bileşenlerin çözünürlüğünü etkileyen sıcaklık ve basınçtaki kontrol edilebilir değişimlerle artar,
4. Ekstraksiyon sonrasında kimyasal kalıntı yoktur ve
5. Ekstraksiyonda karbondioksit gibi tekrar kullanılabilen geri dönüşümlü gazlar kullanılabilir.

Karbondioksit, sıcaklığı ve basıncı, kritik nokta olan 31°C ve 74 bar değerine ulaştığında veya bu değeri geçtiğinde süperkritik akışkan durumunda olur. Süperkritik akışkan ekstraksiyonlarının çoğunda ekstraksiyon ajanı olarak, tercih edilen kritik özellikleri, düşük toksisitesi ve kimyasal inert oluşu sebebiyle süperkritik karbondioksit kullanılmaktadır. Karbondioksit çevre açısından zararsızdır, uzun süreli sağlık problemi yaratmaz, kullanımı kolaydır ve çok az emniyet tedbiri gerektirir. Aynı zamanda proseslerin çoğunda % 90' ından fazlası geri kazanılabildiği ve tekrar kullanılabilirdiği için kullanımı ekonomiktir (Çolak ve Tülek, 2003).

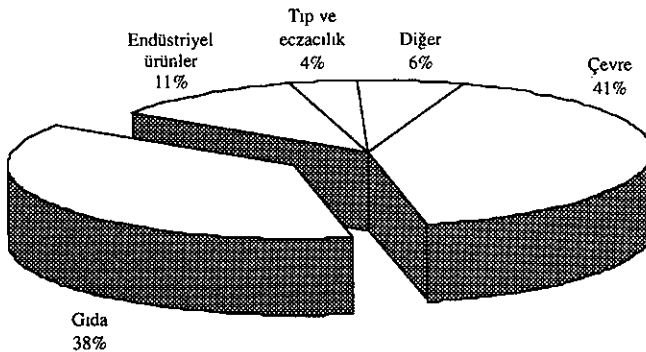
Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda temel işlem parametreleri basınç, sıcaklık ve süperkritik akışkanın akış hızıdır. Süperkritik akışkanlar kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemi Şekil 2'de verilmiştir. Ekstraksiyonda önemli basamaklardan biri ekstrakte edilen bileşenin süperkritik akışkandan ayrılmasıdır. Bu işlem birkaç yöntemle yapılabilmektedir. Birincisi, sıcaklık ve basıncı değiştirerek akışkanın çözme yeteneğini değiştirmektir. Diğer bir yöntem de, ekstrakte edilen bileşeni süperkritik akışkandan ayırmak için başka bir çözügele yıkamaktır (Rozzi ve Singh, 2002).



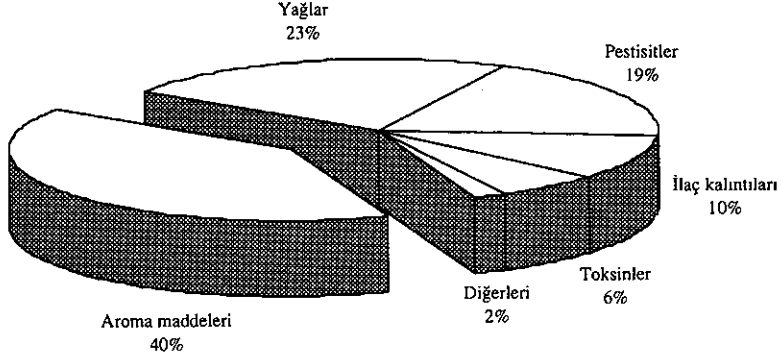
Şekil 2. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi (Rozzi ve Singh 2002)

### Aroma Maddelerinin Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyonu

Aroma maddeleri gıdalarda çok düşük miktarlarda bulunan ve genellikle uçucu olan organik bileşiklerdir. Gıdaların işlenmesi sırasında kimyasal ve fiziksel değişimler sonucu gıdalarda bulunan aroma maddelerinde kayıplar meydana gelmekte ve bu kayıplar ise son ürüne aroma ilavesini gerektirmektedir. Bu nedenle aroma maddelerinin gıdalardan ya işleme sırasında, ya da işlemeden önce ekstrakte edilmeleri gerekir (Karlsson ve Trägårdh, 1997). Aroma maddelerinin ekstraksiyonunda en çok kullanılan yöntemler sıvı-sıvı veya sıvı-katı ekstraksiyon yöntemleridir. Bu yöntemlerin prensibi, ayrılması istenen bileşenin bir çözügele yardımıyla bulunduğu sistemden uzaklaştırılması veya ayrılmasıdır. Ancak, yukarıda değinilen olumsuz yönleri nedeniyle sıvı çözügenlerin yerini süperkritik akışkanlar almaya başlamıştır. Bunların gıda endüstrisinde kullanımı son 20 yılda hızlı bir artış göstermiştir. Farklı kullanım alanları içinde gıda ürünleri ve bu grup içinde de aroma maddeleri uygulamaları önemli bir paya sahiptir (Valcárcel ve Tena, 1997). Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun kullanıldığı alanları Şekil 3 ve 4'te verilmiştir.



Şekil 3. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu uygulama alanları (Valcárcel ve Tena 1997)



Şekil 4. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun gıdalarda uygulama alanları (Valcárcel ve Tena 1997)

Aroma maddelerinin ekstraksiyonunda kullanılan buharla damıtma veya çözgen ekstraksiyonu gibi yöntemlerin aroma kaybı, aroma maddelerinde ısıya bağlı parçalanma ve yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerin beraber ayrılması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu olumsuzlukların önüne süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile geçilebilmektedir. Aroma maddelerinin ekstraksiyonunda süperkritik karbondioksit kullanımının avantajları şunlardır (Steytler, 1996);

1. Ekstraksiyon ve ayırma işlemi kimyasal ve ısıl değişimleri önleyecek düşük sıcaklıklarda ve inert bir ortamda meydana gelir.
2. Elde edilen ekstraktların çözünürlükleri yüksektir.
3. Karbondioksitin yüksek buhar basıncından dolayı aroma maddeleri kayıpsız olarak ekstrakte edilir.
4. Proteinler ve şekerler gibi istenmeyen bileşenler ekstrakte edilmez.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda verimi etkileyen temel parametreler sıcaklık ve basınçtır. Yüksek çözünürlüğe sahip bileşenlerin ekstraksiyonunda düşük basınç (70-120 bar) ve sıcaklık (20-60 °C) değerleri kullanılır. Ancak, diğer uygulamalar dikkate alındığında uygulanan basınç değerleri 120-250 bar arasındadır (Carbonell, 1991). Kullanılan çözgenin çözme gücü sıcaklık ve basıncın optimize edilmesiyle ve bazı modifiye çözgenlerin ilavesiyle sağlanabilir. Süperkritik akışkanların kütle transfer özellikleri ekstraksiyonun hızlı ve kısa zamanda gerçekleşmesini sağlamaktadır (Sides ve vd., 2000). Polar bileşiklerin ekstraksiyonunda yaşanan zorluklar ise daha polar bir çözücü olan süperkritik su kullanılarak aşılabilmektedir (Sides ve vd., 2000; Agosto ve vd. 2003).

Aroma maddelerinin ekstraksiyonunda süperkritik akışkanların etkinliklerini belirleyebilmek amacıyla ekstraksiyon sistemi gaz kromatografisi (GC) veya gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile adapte edilir. Böylece ekstrakte edilen bileşenlerin hem kalitatif, hem de kantitatif analizleri yapılabilmektedir. Örneğin fesleğenden aroma maddelerinin ekstraksiyonunda çözgen olarak karbondioksit, ayırma için GC ve tanımlama için ise alev iyonlaşma dedektörü (FID) ve MS kullanılmıştır. 300 bar ve 45 °C' de yaklaşık 10 dakika süren ekstraksiyon işleminde 1,8-sineol, estragol, öjenol ve selinen tanımlanmıştır. Benzer uygulamalar portakal kabuğu, elma posası, kavrulmuş fıstık ve zencefilde de yapılmıştır (Jarvis ve Morgan, 1997). Aroma maddelerinin ve uçucu bileşiklerin süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonu üzerine yapılan diğer çalışmalar Çizelge 1'de verilmiştir (Valcárcel ve Tena, 1997).

Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen bazı aroma maddelerinin ortamda birikmesi üretimi gerçekleştiren mikroorganizmaların çalışmasını güçleştirmekte ve inhibe etmekte, dolayısıyla mikroorganizma gelişimi ve verim olumsuz yönde etkilenmektedir. Sürekli ve yerinde ekstraksiyon tekniklerinin kullanılması bu olumsuzlukları ortadan kaldıracak alternatif yöntemler arasında görülmektedir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajlarından biri de sıvı ve katı fermantasyon ortamlarına rahatlıkla uygulanabilmesidir. Bu yüzden bazı aroma maddelerinin fermantasyonla üretildikten sonra seyreltik sulu çözeltilerinden süperkritik akışkan ile geri kaza-

**Çizelge 1. Aroma maddeleri ve uçucu bileşiklerin ekstraksiyonunda süperkritik akışkan uygulamaları (Valcárcel ve Tena 1997)**

Kullanılan örnek	Ekstrakte edilen materyal	Süperkritik akışkan materyal	P (bar) / T (°C)	Belirleme yöntemi
Taze soğan suyu	Aroma maddeleri	CO <sub>2</sub>	207/35	GS-MS
Taze çilek	Aroma maddeleri	CO <sub>2</sub>	77-91/40	GS-MS
Greyfurt yağı	Esansiyel yağlar	CO <sub>2</sub>	(0.36 g/ml)/70	Online SAE*-SAK**-FID
Şerbetçiotu	Esansiyel yağlar, acı asitler, yağlar	CO <sub>2</sub>	92-151/50	GC, HPLC
Biberiye yaprakları	Esansiyel yağlar	CO <sub>2</sub>	100-388/40	GC-MS ve kalitatif aroma testleri
Botanik bitkiler	Alkolooidler, seskuterpen, laktoller	CO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> -Metanol	150-608/45-55	HPLC-UV, GC-FID
Lavanta, biberiye	Esansiyel yağlar	CO <sub>2</sub>	203-345/50	GC-MS
Tıbbi otlar	Esansiyel yağlar ve doğal ürünler	CO <sub>2</sub>	200-250/45-60	GS-MS, GC-FID
Guava ağacının yaprakları	Uçucu bileşikler	CO <sub>2</sub>	138/50	GS-MS, GC-FID
Şarap	Aroma maddeleri	CO <sub>2</sub>	164/40	GC-FID
Baharatlar	Esansiyel yağlar	CO <sub>2</sub>	167-304/45-55	Online SAE-GC-FID veya MS
Bitki matrisleri	Uçucu bileşikler	CO <sub>2</sub>	250/40	GC-FID

\*SAE: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, \*\*SAK: Süperkritik akışkan kromatografisi

nılmasına ilgi giderek artmaktadır. Bu uygulamalardan biri etanolün fermantasyon çözeltisinden süperkritik karbondioksit ile ekstraksiyonudur (Güvenç, 1997). Fabre ve vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada ise, gül kokusu veren 2-feniletanol' ü üretmek için *Kluyveromyces marxianus* kullanılmış ve 2-feniletanol'ün mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkisini ortadan kaldırmak amacıyla sisteme süperkritik karbondioksit ekstraksiyon düzeneği adapte edilerek oluşan aroma bileşiklerinin anında ekstrakte edilmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyondaki optimum koşulları belirlemek amacıyla sentetik bir karışımda denemeler yapılmış ve işlem için uygun sıcaklığın 35-45 °C ve basıncın 200 bar olduğu saptanmıştır. Ekstraksiyon işleminde ortamdaki substratlardan glikoz ve fenilalanin ekstrakte edilmezken, üretilen 2-feniletanol'ün yaklaşık % 90'ı ekstrakte edilmiştir.

Süperkritik akışkanlarla aroma maddelerinin ekstraksiyonunda kahve ve çayın dekafeinasyonu ve bira üretiminde kullanılan şerbetçiotunun ekstraksiyonu endüstriyel ölçekli ilk uygulamalardır. Bu konuda faaliyet gösteren işletmeler genellikle Avrupa'dadır. Almanya'da bulunan HAG General Foods, SKW Chemicals ve Barth Hopfenextraktion şirketleri çay ve kahvenin dekafeinasyonunun yanında baharat, şerbetçiotu ve aroma maddelerinin ekstraksiyonunu da gerçekleştirmektedirler. İngiliz Hops Ltd. ve Carlton & United şirketleri ise İngiltere ve Avustralya'da şerbetçiotunda bulunan eteri yağların süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonu konusunda faaliyet gösteren işletmelere sahiptirler (Carbonell, 1991).

## SONUÇ

Özellikle karbondioksitin kullanıldığı süperkritik akışkan ekstraksiyonu, doğal ürünlerden aroma maddelerinin ekstraksiyonu için elverişli ve ümit verici bir uygulama olarak görülmektedir. Karbondioksit toksik, korozyif ve yanıcı olmaması, ucuz ve kolay temin edilebilmesi ve düşük kritik basınç ve sıcaklığa sahip olması gibi özelliklerinden dolayı daha çok tercih edilmektedir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri olarak ta bilinen buharla damıtma ve çözgen ekstraksiyonu, ısı etkisiyle aroma maddelerinin parçalanmasına ve son üründe çözgen kalıntılarına yol açmaktadır. Esansiyel yağların ve aroma maddelerinin süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonu kaliteli ürün eldesini sağlamaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun gıda sanayinde kullanılabilirliğinin artırılması için bu konu üzerinde daha fazla araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**KAYNAKLAR**

- Agusto F, Leite e Lopes A and Zini C A. 2003. Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances. *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (3), 160-169.
- Carbonell E S. 1991. Extraction of Flavours with Supercritical Carbon Dioxide. *Cereal Foods World*, 36 (11), 935-937.
- Çolak N ve Tülek Y. 2003. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu. *Gıda*, 28 (3), 313-320.
- Fabre C E, Condoret J –S and Marty A. 1999. Extractive Fermentation of Aroma with Supercritical CO<sub>2</sub>. *Biotechnology and Bioengineering*, 64 (4), 392-400.
- Güvenç A., 1997. Etanolün fermantasyon çözeltilisinden süperkritik CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Ankara.
- Jarvis A P and Morgan E D. 1997. Isolation of Plant Products by Supercritical-fluid Extraction. *Phytochemical Analysis*, 8, 217-222.
- Karlsson H O E and Trägårdh G. 1997. Aroma Recovery During Beverage Processing. *Journal of Food Engineering*, 34, 159-178.
- Rozzi N L and Singh R K. 2002. Supercritical Fluids and the Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 33-44.
- Sides A, Robards K and Helliwell S. 2000. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. *Trends in Analytical Chemistry*, 19 (5), 322-329.
- Steytler D. 1996. Supercritical fluid extraction and its application in the food industry. In *Separation Processes In The Food and Biotechnology Industries Principles and Applications*, A S Grandison and M J Lewis (eds), pp. ,Department of Food Science and Technology, University of Reading, UK.
- Valcárcel M and Tena M T. 1997. Applications of supercritical fluid extraction in food analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 358, 561-573.