

ÖZET

TERMOMEKANİK İŞLEMLE BİR TAZE BİTKİ SUYUNUN ELDE EDİLMESİ VE BUNUN KOZMETİK VE TERAPÖTİK ALANDA KULLANILMASI

Mevcut buluş, taze bitki suyu elde edilmesine yönelik bir prosese ilişkin olup belirleyici özelliği sadece çekirdekleri hariç bırakılarak söz konusu taze bitkilerin bir ekstrüder içerisinde ekstrüde edilmesinin söz konusu olduğu termomekanik bir işleme tabi tutulması ve bu işlemin endojen enzimlerin inaktive edilmesini ve bu nedenle doğal formdaki ilgili bileşik moleküllerinin korunmasını mümkün kılan bir ısıtma işlemiyle birleştirilmesi ve -çözücünün mevcut olmadığı durumda- akabinde elde edilen suyun geri kazanım işleminin yapılmasıdır.

(19)



Avrupa Patent Ofisi



(11)

EP 3 046 429 B1

(12)

AVRUPA PATENT BELGESİ

(45) Patentın yayım tarihi ve iblağ yazısı:

21.03.2018 tarih ve 2018/12 sayılı Bülten(21) Tevdi numarası: **14767016.0**(22) Tevdi tarihi: **18.09.2014**

(51) Uluslararası sınıfı:

A23L 2/04 ^(2006.01) **A23N 1/02** ^(2006.01)
A61K 36/9066 ^(2006.01) **A61K 9/00** ^(2006.01)
A61Q 19/00 ^(2006.01) **A61K 8/97** ^(2017.01)
A61K 36/9068 ^(2006.01) **A61K 9/06** ^(2006.01)
A61K 9/48 ^(2006.01) **A61K 36/11** ^(2006.01)
A61K 36/185 ^(2006.01) **A61K 36/28** ^(2006.01)
A61K 36/45 ^(2016.01) **A61K 36/53** ^(2016.01)
A23P 30/20 ^(2016.01) **A23L 33/105** ^(2016.01)

(86) Uluslararası tevdi numarası
PCT/EP2014/069942(87) Uluslararası yayım numarası
WO 2015/040135 (26.03.2015 Gazette 2015/12)(54) **TERMOMEKANİK İŞLEMLE BİR TAZE BİTKİ SUYUNUN ELDE EDİLMESİ VE BUNUN KOZMETİK VE TERAPÖTİK ALANDA KULLANILMASI**

(84) İlgili Akit Taraf Devletler:

AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI
FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV
MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI
SK SM TR

(30) Rüçhan: **18.09.2013** **FR 1358970**

(43) Başvurunun yayım tarihi:

27.07.2016 tarih ve 2016/30 sayılı bülten:

(73) Hak sahipleri:

- Pierre Fabre Dermo-Cosmétique
92100 Boulogne-Billancourt (FR)
- Pierre Fabre Médicament
92100 Boulogne-Billancourt (FR)

(72) Buluş sahipleri

- MANDEAU, Anne
F-31200 Toulouse (FR)

- TALON, Christian
F-81000 Albi (FR)

(74) Vekili: **Regimbeau**
20, rue de Chazelles
75847 Paris Cedex 17 (FR)

(56) Alıntı yapılan dokümanlar:

- WO-A1-97/33596** **WO-A2-2012/098167**
US-A- 5 403 613
- GALATHEA BISTERFELD VON MEER: "Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas", 9TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN INDUSTRIAL HEMP ASSOCIATION, 23 Mayıs 2012 (23-05-2012), s. 1-15, XP05532562

Aşağıda belirtilen husus hatırlatılır: Her tür kişi, Avrupa patenti iblağ yazısının Avrupa patentler Bülteninde yayımlanmasından itibaren dokuz aylık bir süre içinde, uygulama yönetmeliğine uygun olarak, Avrupa patent Ofisi nezdinde bu patente itiraz edebilir. İtiraz ancak ve ancak itiraz harcının ödenmesinin ardından resmiyet kazanır. (Avrupa Patent Anlaşması, Madde 99(1)).

Tarifname

5

**TERMOMEKANİK İŞLEMLE BİR TAZE BİTKİ SUYUNUN ELDE
EDİLMESİ VE BUNUN KOZMETİK VE TERAPÖTİK ALANDA
KULLANILMASI**

10 Bu buluş, tanelerin çıkartılması hariç, taze bitkilerin bir çözücü olmadan termomekanik işleme tabi tutularak bu taze bitkilerden bir bitki suyunun elde edilme yöntemiyle ilgilidir.

Taze bitkilerden bitki suyu elde edilmesi yöntemi sıkma, ezme veya santrifüjleme işlemlerine dayanmaktadır.

15 EP0279984 numaralı patent belgesi bitkinin ezilmesi, sıkılması ve/veya ufalanması yoluyla gerçekleştirilen ekstraksiyonu müteakip elde edilen buğdaygiller ailesine ait bitkilerin suyunun kozmetikte kullanılmasını anlatmaktadır.

Meyveler hariç, tıpta kullanılan bitki suları da elde edilmektedir
20 (monografi EMEA-Echinacée EMEA/HMPC/104945/2006 gibi).

Bazı tekniklerin amacı "Flash Détente" gibi yöntemlerle membran bileşenlerinin ekstraksiyonunu potansiyalize etmeye yöneliktir. Bu yöntem özellikler antosiyanin ekstraksiyonunu artırmaya olanak sağladığı için üzümlerde çok kullanılmaktadır. Taze bitkilerin integral süspansiyonu
25 (SIPF) olarak bilinen yöntem özellikle -25°C sonra -196°C'de bir kriyobroyaj etabıyla ve alkollü bir solüsyonda elde edilen toz maserasyon ile taze bitkilerden bitki suyu elde etmeye olanak sağlar.

Termomekanik işlemin esası, özel ve adapte edilmiş koşullarda bir mekanik enerjinin işleme tabi tutulması esasına dayanır. Mekanik enerji

örnekleri arasında sıkma, ufalama, ekstrüzyon ve buna benzerlerini sayabiliriz.

Ekstrüzyon, kontrollü farklı koşullarda akma ve akabinde önceden belirlenen bir hızla bir silindir içinden geçme özelliğine sahip bir malzemeye gerçekleştirilen bir yöntemdir (Dziezak, J. D. (1989). Single and twin-screw extruders in food processing. Food Technol. Nisan, 164-174). Bu teknoloji ilk olarak 18. yüzyılın sonunda İngiltere’de metalürji sanayiinde kullanıldı. Daha sonra sosis ve makarna gibi yiyeceklerin üretimi için gıda sanayiinde de kullanılmaya başlandı. Bugün ise gıda sanayii amilaz ürünlerinin (bisküviler, biskot bisküviler, snacklar vb.) pişirme-ekstrüzyon tekniğini çok yaygın olarak kullanıyor. Gıda sanayiinde ayrıca protein tekstürizasyonu yanında besi hayvanları veya evcil hayvanlar için yiyecek üretimi için de bu teknik kullanılmaktadır.

Buna paralel olarak, ekstrüzyon teknolojisi termoplastik sanayi için etkili bir biçimde geliştirildi ve yeni vida çeşitlerinin tasarlanmasında geniş bir biçimde kullanıldı. Gelişen bir teknolojiyle yeni uygulamalara da kapılar açılmış oldu.

Hemiselüloz (N’Diaye, S., Rigal, L., Larocque, P., Vidal, P.F., 1996. Extraction of hemicelluloses from poplar populus tremuloides, using an extruder type twin-screw reactor: A feasibility study. Bioresearch Technology 57, 61-67) (N’Diaye S., Rigal L., Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicellulose in a twin-screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase (2000) Bioresource Technology, 75 (1), s.13-18) ve pektin (Marechal V., Rigal L. Characterization of by-products of sunflower culture - Commercial applications for stalks and heads (1999) Industrial Crops and Products, 10 (3), s. 185-200) ve benzeri ekstraksiyonlar gibi tek bir etapta ve sürekli olarak kimyasal, mekanik ve termomekanik işlemler gerçekleştirmeye yönelik olarak ekstruder

kullanımı üzerine birçok inceleme gerçekleştirildi. Bu durumda aranan makro moleküllerin ekstraksiyonunu ve solübilizasyonunu kolaylaştırmak ve bitkisel ham maddeyle birlikte aynı anda ekstruder içine asit veya bazik bir çözücü ilave edildi (reaktif ekstrüzyon).

- 5 Bitkisel ekstraksiyon alanında daha önce bilinen bazı uygulamalar şöyle: oleajinöz tanecikler kullanılarak ve fırına herhangi bir çözücü ilave edilmeden yağlar için tek vidalı ekstruderin kullanılması. Bu yağ ekstraksiyonu işlemi katının sıkılması esasına dayanmaktadır (Sriti J., Talou T., Faye M., Vilarem G. And Marzouk B. Oil extraction from coriander fruits by extrusion and comparison with solvent extraction processes. (2011) Industrial Crops and Products, 33, 659-664).

Ekstrüzyon ayrıca mısır nişastası gibi katı bir destekle fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu artırmak maksadıyla meyvelerin (elma, frenk üzümü, kızılıçık) posları üzerinde ön-işlemler gerçekleştirmek için de kullanılmaktadır (White Brittany L., Howard Luke L., Prior Ronald L., Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. (2010), J. Agric. Food Chem. 58, 4037-4042) (Khanal RC, Howard LR, Prior RL. Procyanidin content of grape seed and pomace, and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing (2009) J Food Sci. 74: H174-82).

Bazı patent belgeleri taze bitki sularının ekstrüzyon yöntemiyle çıkartılmasını anlatmaktadır. Bu yöntemlerde ekstrüzyon ifadesi, bitkiyi pistonlu bir kompresör ile taşımak için uçsuz bir vida kullanımı olarak tanımlanmaktadır. Resimli anlatımlar tek vidalı olan tek bir kılıf göstermektedirler (SU1669978, SU1541071, SU1518142, SU496193, SU3986103).

Diğer bir patent belgesinde ise sıkma veya filtreleme işleminden önce önışlem olarak gerek bitkinin inert atmosferde ezilmesi gerekse vakum altında ekstrüzyon yöntemiyle taze bitkilerden bitki suyu elde etmek için

kullanılan yöntemi anlatmaktadır. Bununla birlikte ekstrüzyon burada bitki suyunu çıkarmaya değil, ekstraksiyondan önce bitkiyi hazırlamaya yöneliktir (EP906113).

5 WO2012/098167 numaralı patent belgesi kenevir suyunun çıkartılmasını ve içecek olarak kullanılmasını anlatmaktadır. Çıkarma işlemi soğuk ekstrüzyon yöntemiyle gerçekleştirilmektedir. Burada amaç amino asitler ve vitaminler gibi bitkinin besleme kalitesini mümkün olduğunca muhafaza etmektir. Suyunun elde edilmesi için taze bitkinin sıkılması 10 ile 40°C arasında kombine bir sıcaklıkta gerçekleşir. Dolayısıyla burada termomekanik bir işlem söz konusu değildir.

Tekniğin durumu aşağıdaki patent belgelerindeki açıklamalarla tamamlanabilir:

- US 5 403 613 (D1)
- WO97/33596 (D2)
- 15 • WO2012/098167 (D3) ve
- Galathea Bisterfels von Meer, *“Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas”* (D4).

US 5 403 613 numaralı patent belgesi sulu bir sitrik asit solüsyonu yardımıyla ve ekstraksiyon yöntemiyle havuç suyu veya bir ısıtma etabı eklenerek limon suyu çıkarılması işlemlerini anlatmaktadır. Çıkarılan su 20 daha sonra kontrarotatif çift vidalı ekstruderden geçirilerek son halini alır. WO97/33596 ve WO2012/098167 numaralı patent belgeleri farklı taze bitki sularının çıkartılmasına ilişkin diğer ekstraksiyon yöntemlerini anlatmaktadır. Anlatılan bu yöntemlerde monosakkarit veya disakkarit 25 eklenerek toz halindeki ekstratların elde edilmesi veya kenevir tabanlı içeceklerin elde edilmesi anlatılmaktadır.

Ve nihayet *“Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas”* herhangi bir çözücü olmadan ve natif formda olmayan ilgi moleküllerini muhafaza ederek endojen enzimleri inaktive etmeyi

amaçlayan herhangi bir termomekanik işleme gerek duyulmadan kenevir suyunun çıkartılmasını anlatmaktadır.

Şunu hatırlatmak gerekir ki taze bitkilerin sıkılması esnasında bitki cidarı bazen gerek bir organik çözücü yardımıyla gerekse enzimatik işlemden sonra ekstre olabilecek bazı ilgi bileşiklerini alınmasını frenlemektedir. Dahası, enzimler çok kolay bir biçimde serbest bırakılır ve bitki suyundaki ekstre bileşiklerini değiştirmeye başlarlar: hidrolizler, oksidasyonlar, deglikozilasyon vb. gibi.

Şaşırtıcı ve beklenmedik bir biçimde gıda sanayiinde malzemeyi pişirmek ve çok küçük ekstraksiyonlar biçiminde yaymak için çok kullanılan bir tekniğin adaptasyonu taze bitkiden natif bir ekstre alınmasına olanak sağlamıştır. Bu buluşa göre elde edilen taze bitki suları kozmetikte veya terapötik alanda doğrudan kullanılabilir.

“Ekstrüzyon” ibaresiyle bu buluşa göre taze bitkinin termik bir işlem yardımıyla bir ekstruder, tercihen de iki vidalı ekstruder içinde sıkılıp suyunun çıkartılması anlaşılır.

Bir işlem biçiminde göre ekstrüzyonun belirleyici özelliği taze bitkinin iki aşağıdaki parçalardan oluşan vidalı ekstruder içinden geçirilmesidir:

- Taze bitkilerin konacağı bir bölge: besleme hunisi
- Ekstruderin ana gövdesi bir veya birden çok bölgeden meydana gelmiştir ve bu bölgelerin içinde uçsuz vidalar (korotatif veya kontrarotatif) veya vida segmentleri dönmektedir. Tercihli bir biçimde birbirine irtibatlı birçok bölge mevcuttur. Yine tercihli bir biçimde iki adet uçsuz korotatif vida vardır. Vidaların profili vida şekline ve vida dişlerine göre değişkenlik gösterir (yamuk ikizkenar, konjuge, basit veya ikili vb.). Vidalardan her biri ayrıca tepe ve/veya diş şekline göre birini diğerinden ayırabilecek farklı kesitlere (veya segmentlere) sahiptir. Bu vidaları oluşturan kesitlerin bazıları tek loblu veya üç loblu karıştırıcı elemanlarını gösterebilir;

- Aşağıdaki işlemleri gerçekleştiren en az bir bölge:
 - ✓ Gerektiği durumlarda katı/sıvı ayırımında devreye girer;
 - ✓ Ayrıca bir ızgara gibi filtreleme elemanına sahiptir;
 - ✓ Özellikle ekstruderin çıkışında bulunur.
- 5 - Isıtma ve soğutma elemanları, zira dış bölge 60 ile 300°C arasında regüle edilmek zorundadır;
- Aşağıdaki gibi ekstruderin yönlendirilmesine yarayan elemanlar;
 - ✓ Bir tahrik grubu: vidaların dönmesi için gerekli olan mekanik gücü üretebilecek bir redüktör motorundan ve bir tork

10

divizöründen oluşur;
 - ✓ Pilotaj otomatları: yöntemin devamını ve kumanda edilmesini sağlarlar. Ayarlanmak zorunda olan parametreleri şöyle: vidaların dönme hızı ve her bölgenin ısısı.

Özel bir tasarım biçimine göre ekstruder ortak dönüşlü ve ortak girişli

15

 vidaya sahip iki vidalı ekstruderdir.

Buluş çerçevesinde bir diğer tasarım biçimine göre yöntem bir ekstruder, özellikle de iki vidalı ve çok bölgesi, son katı bir kılıfla biten, filtre yapan, ısı değişikliğine olanak sağlayan ve aynı zamanda ham madde bitkide birçok bileşiği tahrik etmek, bitkinin yapısını değiştirmek ve aynı

20

 zamanda termik bir işlemle endojen enzimlerini inhibe etmek maksadıyla bir kesme ve bir karıştırma işlemi uygulayan bir ekstruder ön plana çıkarmaktadır.

Buluşa göre söz konusu olan yöntem taze veya dondurulmuş bitkilerin sularının çıkartılması, alınması, saflaştırılması (toplama) ve nihayet bu

25

 şekilde toplanan suların opsiyonel olarak son bir etapta stabilize edilmesi esasına dayanır.

Dolayısıyla bu buluş taze bir bitkinin taneciklerin dışında suyunun termodinamik bir işlemle alınmasıyla ilgilidir. Söz konusu yöntem taze bitkinin termik bir işlem eşliğinde bir ekstruder içinde sıkılması biçiminde

gerçekleşir. Termik işlemin amacı endojen enzimlerinin inaktive olmasını sağlamak ve ilgi bileşikleri moleküllerini natif biçimleriyle muhafaza etmektir. Bu işlemde çözücü kullanılmaz ve bitki suyu nihai şekliyle elde edilir.

- 5 Buluşun bir özelliğine göre elde edilen su daha sonra bir stabilizasyon, temizleme ve/veya filtreleme etabına tabi tutulur.

Buluşun bir diğer özelliğine göre termomekanik işlem, 60°C ile 300°C, tercihen de 60°C ile 120°C arasında kombine bir ısıda gerçekleştirilen kesimin ardından öğütme esasına dayanır.

- 10 Avantajlı bir biçimde termomekanik işlemi ilk olarak bir korotatif ve ortak girişli bölgesi bulunan ve bitkilerin öğütülme işlemlerinin gerçekleştiği iki vidalı ekstruder içinde, ikinci olarak da katı/sıvı ayrımının yapıldığı iki vidalı bölgenin bulunduğu ortamda gerçekleşmektedir. İki vidalı bölgedeki akış tek vidalı ekstruderden olduğu gibi vidalar ile dış bölge
15 arasındaki sürtünme hareketinden değil, bir pompalama hareketiyle gerçekleşmektedir.

Buluşun bir diğer özelliğine göre yukarıda adı geçen iki vidalı birinci bölge ekstrudere taze bitki beslemesi yapıldığı tarafta bulunması, ikinci iki vidalı bölge ise ekstruderin çıkışına yakın bir yerde bulunmasıdır.

- 20 Avantajlı bir biçimde yukarıda adı geçen bölgelerin her birinde en az bir, tercihen de birbirine bitişik birden fazla bölge bulunmaktadır.

Buluşun ek bir özelliğine göre farklı bölgeler ısı konusunda kumanda ve kontrol unsurlarının yanında, ısıtma ve/veya soğutma unsurlarına sahiptir.

- 25 Buluşun tercih edilen bir özelliğine göre iki vidalı ekstruderde filtreleme görevi gören en az bölge bulunmaktadır.

Buluşun bir diğer özelliğine göre ısıtma unsurları tercihen birinci bölgede yer alan bir ısıtma kolyesinden oluşmaktadır.

Avantajlı bir biçimde besleme, taşıma, mekanik kesme ve termomekanik işlem taze bitkilerin öğütülmesine olanak sağlamakta ve sularının çıkartılması ekstruderin birinci bölgesinde, katı/sıvı ayrımı ise ikinci bölgesinde gerçekleşmektedir.

- 5 Avantajlı bir biçimde birinci bölgede ısıları 60°C ile 120°C arasında giderek artan kademeli ısı katları oluşturacak biçimde sıralı birçok bölge bulunmakta ve ikinci bölgede 30°C ile 120°C, tercihen de 30°C ile 100°C arasında kombine bir değere sahip en az bir bölge bulunmaktadır.

- 10 “Taze bitki” ibaresiyle, bu buluşa göre, tanecikleri hariç, taze veya dondurulmuş olarak kullanılan ve %30 ile %80, tercihen de %30 ile %90 arasında su ihtiva eden bitkinin tamamı veya bir kısmı anlaşılmaktadır.

“Bitkinin bir kısmı” ibaresiyle sapları, dalları, yaprakları, meyveleri ve/veya çiçekleri gibi bitkinin dışarıda kalan kısımları ve/veya köksapları, kökleri ve/veya soğancık kısımları anlaşılmaktadır.

- 15 Buluşun bir uygulama biçimine göre tüm bitkiler kullanılacaktır.

Bu buluş çerçevesinde kullanılabilir bitkiler arasında birçoğunun yanında aşağıdakileri saymak mümkündür: *Avena sativa*, *Melilotus officinalis*, *Tropaeolum majus*, *Echinaceae sp.*, *Urtica dioica*, *Plantago sp.*, *Erigeron canadensis*, *Equisetum arvense*, *Calendula officinalis*, *Melissa officinalis*,
20 *Physalis sp.*, *Vaccinum macrocarpon*, *Sambucus nigra*, *Zingiber officinale* ve/veya *Curcuma sp.*, *Betula sp.*, *Mentha sp.*, *Althaea sp.*, buğdaygiller, *Asteraceae* ve/veya *Labieae* ve tercihen *Avena sativa*, *Echinaceae purpurea*, *Urtica dioica*, *Plantabo lanceolata*, *Equisetum arvense*.

- 25 Özel bir uygulama biçiminde aşağıdakiler söz konusu olacak: *Avena sativa*, (Yulaf, dışarıda kalan kısımlar), *Melilotus officinalis* (Kokulu yonca, dışarıda kalan kısımlar), *Tropaeolum majus* (Latinçiçeği, dışarıda kalan çiçekli kısımlar), *Echinaceae sp.* (Kirpi otu, çiçekli kömeç), *Urtica dioica* (Isırgan, dışarıda kalan kısımlar), *Plantago sp.* (Sinirotu, dışarıda

kalan kısımlar), *Calendula officinalis* (Aynısefa, çiçekler), *Melissa officinalis* (Melisa, dışarıda kalan kısımlar), *Physalis* sp. (meyveleri), *Vaccinum macrocarpon* (meyveleri), *Sambucus nigra* (meyveleri ve/veya çiçekleri), *Zingiber officinale* (Zencefil, kök sapları), *Betula* sp. (Kayın ağacı, yapraklar) ve/veya *Curcuma* sp. (kök sapları).

Tercih edilen bir uygulama biçiminde taze bitkiler, polifenoloksidaz, peroksidaz, mirosinaz, β -glükozidaz, lipoksigenaz gibi aktif bileşenleri endojen enzimleri ile hassas bir biçimde bozulmaya giren bitkiler grubundan seçilmektedir:

- 10 - *Avena sativa*
- *Tropaeolum majus*
- *Echinaceae* sp.
- *Urtica dioica*
- *Plantago* sp.
- 15 - *Urtica dioica*
- *Mentha* sp.
- *Melissa officinalis*
- *Betula* sp.
- *Poaceae*
- 20 - *Asteraceae*
- *Labiaceae*

Buluşa göre özel bir uygulamada yulaf filizleri söz konusu olacaktır.

“Yulaf filizi” ibaresiyle bu buluş çerçevesinde başaklanmadan önceki yulaf bitkisi anlaşılmaktadır, başka bir ifadeyle, çimlenmeden sonraki etapta (çimlenmeden 2 hafta ile 2 ay sonra) ve başaklanmaya kadar olan uzama süresinde söz konusu olan bitki durumu anlaşılmaktadır. Bitki sapının uzaması ve çiçeklenmeden önce başaklanması anlamına gelen büyüme etabına “uzama” diyoruz. Tali metabolitler WO2010/054879

numaralı patent belgesinde yulaf filizi ekstresinin bileşenleri olarak anlatılmıştır: avenakosid tipinde flavonoidler ve saponinler.

Buluşun bir başka tasarım biçimine göre toplanan bitkiler -40°C'lik bir konjelasyon tüneline doğru taşınmak üzere 4°C'lik bir ara depoda 5 stoklanır.

Bitkilerin nem tenörleri teknik çerçevesinde tam etkinlik sağlanması için en az %30 olmalıdır.

Dolayısıyla bu yöntem herhangi bir kurutulma etabına maruz bırakılmamış ve dolayısıyla natif moleküllerini muhafaza eden taze 10 bitkilerle çalışmaya olanak sağlamaktadır. Ekstraksiyon çözücü olmadan gerçekleştirilir, yöntem çok basittir, bitkinin ekstruder içindeki kalma süresi birkaç saniyeyle birkaç dakika, tercihen de 10 saniye ile 5 dakika arasında süreklilik arz ederek değişir ve böylece 20 ile 500kg/saat çalışma performansı ile 10 ile 300 lt bitki suyu/saat elde edilebilen 15 ekstruderlerin boyutuna göre değişen işlem debileri elde edilmiş olur.

İki vidalı mekanik ekstrüzyon yöntemi malzeme üzerinde bir basınç oluşturan ve hücre patlamasına yol açan bitki buşonu biçiminin ortaya çıkmasını sağlıyor. Bu yöntemde bitki parçalanmakta ve önemli ölçüde aktif bileşenli ve suda çok az çözülebilen tenör elde edilmektedir. Bu 20 yöntem basit sıkma veya tek vidalı ekstrüzyon işlemine oranla önemli avantajlar sağlamaktadır.

Dahası, ekstrüzyon etabında meydana gelen ısı değişiklikleri bitkide posa-bitki suyu karışımını akışkan hale getirmeye ve böylece bitki suyunun zamlı kıvamıyla kalınlaşması durumunda randımanının 25 artırılmasına olanak sağlar. Yöntem boyunca uygulanan ısı ayrıca endojen enzimlerini inaktive etmeye ve molekülleri natif formlarında tutmaya olanak sağlar. Mirosinazlarla (turpgiller) bozulan glikosinolatlar, polifenol oksidazlarla (Echinacée) okside olmuş kafeik asit türevleri (Nüsslein B., Kurzmann M., Bauer R., Kreis W. Enzymatic degradation of

Cichoric acid in Echinacea purpurea preparations (2000) J. Nat. Prod., 63, s.1615-1618), bir deglukoizdaz ile aktive olan bazı fitoaleksinler (*Avenacosides dans l'avoine*)... (Morant A.V., Jorgensen K., Jorgensen C., Paquette S.M., Sanchez-Perez R., Moller B.L., Bak S. β -Glucosidases as detonators of plant chemical defense (2008) Phytochemistry, 69 (9), ss.1795-1813) gibi hızlı bir biçimde inaktive olan bazı bileşikler için bu çok önemlidir.

Katı kalıntıların suyunu ayırma işlemine dayanan bitki suyu toplama yöntemi daha sonra arındırma ve filtreleme işlemleriyle devam eder.

- 10 “Arındırma” ibaresiyle ekstruder çıkışında bitki suyunda mevcut hücre parçacıklarının eliminasyonu anlaşılır. Bu eliminasyon santrifüj etkisi ile gerçekleştirilen arıtma teknolojisi sayesinde yapılır. Burada amaç filtreleme ortamında engeller teşkil edebilecek katı kalıntıların elimine edilmesi söz konusudur. Bu eliminasyon ayrıca bir katkı maddesiyle
- 15 doğrudan filtreleme işlemiyle de yapılabilir.

- “Filtreleme” ibaresiyle frontal veya tanjansiyel filtreleme anlaşılır. Burada filtrelemede kullanılan madde önemlidir (perlit, diyatome vb...). Bu filtreleme son katı kalıntıların tutulmasına olanak sağlar. Burada amaç son derece berrak bir akışkan elde etmektir. İlk filtrelemeden sonra
- 20 membran üzerinde moleküllerin boyutlarına göre bir kesme eşiği belirlenerek ikinci bir filtreleme yapılabilir. Reçine veya silis üzerinde yapılan bir filtreleme işlemi de tek başına denenebilir veya birinci filtrelemeden sonra uygulanabilir. Böylece ilgi bileşiği zenginleştirilir (örneğin: adsorpsiyon reçineleri gibi).

- 25 Özel bir tasarım biçiminde arındırma-filtreleme etabı ekstruderin sonuna entegre edilen filtreli bir tabaka yardımıyla yapılabilir.

“Stabilizasyon” ibaresiyle bu buluşa göre aşağıdaki açıklamalar anlaşılır:

- sıvı bir ekstrenin alınması için:

✓ Bitki suyunun soğutulması, daha sonra konjelasyonu

✓ Bitki sularının 0,22 µm değerindeki sterilizan filtreleme işleminden geçirilmesi, pastörizasyonu, U.H.T. sterilizasyonu, ultra filtreleme ve işlemiden sonra her türlü kontaminasyona engel olan uygunlaştırılmış bir ortamda muhafaza edilmesi: vakum altında ve

5

✓ Stoklamanın 4°C ile -20°C (konjelasyon) arasındaki çevre ısısında yapılabilir.

✓ Böylece koruyucu (glükoller veya sorbik asit, sitrik asit vb) veya

10

- Kıvamlı bir ekstrenin elde edilmesi için: %65'e eşit veya bundan yüksek kuru madde halinde bir tenör elde edecek biçimde konsantrasyon işlemi gerçekleştirilir.

- Kuru bir ekstrenin elde edilmesi için vakum altında kurutma teknolojisi, liyofilizasyon teknolojisi veya atomizasyon teknolojisi kullanılabilir.

15

Yukarıda da anlatıldığı gibi elde edilen ekstratlar ister sıvı, ister kıvamlı isterse kuru olsun kozmetik veya topik veya oral yolla verilen farmasötik veya gıda alanında bileşik olarak kullanılabilirler.

Buluşa göre yöntemin önceki yöntemlere (sıkma ve ekstrüzyon, tek vida) göre başlıca avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

20

- Alınan taze bitkinin durumuna göre en iyi randımanın (suyun ağırlığı / söz konusu bitkinin ağırlığı) elde edilmesi; ve/veya

- bileşen açısından zengin bir suyun elde edilmesi; ve/veya

- taze bitkinin ezilmesi esnasında serbest kalan enzimler tarafından bozulmayan moleküller ihtiva eden suyun elde edilmesi.

25

Örnek 1:

Büyümeden iki ay sonra silodan alınan çözülmüş (2°C'de 24 saat) taze yulafın (Avena sativa L.) dışarıda kalan 12,75 kg'lık kısımları korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin beş adet

EP 3 046 429 B1

bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 30°C/120°C/120°C/120°C/60°C'dir.

Yöntem şeması aşağıdaki gibi oluşmaktadır (ekstrüzyon etabının toplam süresi = 20 dakika; 38 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 22 kg bitki suyu/saat):

Dışarıda kalan kısımlar => Ekstrüzyon 120°C => çıkarılan posa



=> BRÜT su (randıman %57,2 (p/p))

=> Durulama

=> Sterilizan filtreleme



%11 kuru madde içeren duru su (MS)

(randıman %53,1 (p/p))

=> %5,8 MS/taze bitki

Ekstrüzyondan sonra ele alınan bitki dikkate alındığında %57,2 p/p su elde edilir. Daha sonra %53,1 nihai randıman oranıyla berrak bir bitki suyu elde etmek maksadıyla durulama ve sterilizan filtreleme etapları gerçekleştirilir. Elde edilen su içinde %11 oranında kuru madde mevcuttur, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %5,8 (p/p) oranında olur.

Aynı hammaddeden sıkma (ezme - sıkma - filtreleme) ile elde edilen suyun randımanı %50 oranındadır ve %4,5 oranında kuru madde içerir, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %2,25 (p/p) oranındadır.

Bu çerçevede ele alındığında ekstrüzyon teknolojisi daha fazla ve bileşikler, hatta daha fazla biyoaktif bileşik açısından daha zengin bitki suyu elde etmeye olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda örnek 1'e göre elde edilen bitki suyunun flavonoid tenörü %0,26 olurken, aynı bitki ile ve

EP 3 046 429 B1

sıkma yöntemiyle elde edilen bitki suyu tenörü sadece %0,02 olmaktadır. Bu durumda flavonoid tenörünün 10 kat daha fazla olduğu net bir biçimde görülmektedir.

Flavonoid tenörü için sıcak ekstrüzyonun önemini vurgulamak gerekir:

- 5 ortam ısısı daha fazla bileşik çıkarılmasını (dört kat daha fazla flavonoid elde edilir) ve enzimlerle bozulmamış natif moleküller elde edilmesini sağlar.

- 10 Sıkma ile çok çabuk deglikozile olan yulaf saponinleri ailesinden avenakosidler ile de aynı biçimde bir sonuç elde edilmektedir. Natif moleküller sadece termomekanik işlemle elde ediliyor: 120°C ve 200°C'de ekstrüzyonla elde edilen bitki suları 100 gram kuru madde için 89 ve 93 mg aralığında avenakosid (A ve B) ihtiva etmektedir ve bunlar endojen deglikozidaslar ile bozulmamaktadır.

					Flavonoid %'si			
Teknik	Parametreler	Su Rnd.	MS	Rnd MS/ Taze Bitki	MS	/Su	/MF	Avenakosid
Sıkma	Ezme + sıkma ve filtreleme	51	3,78	1,94	0,44	0,02	0,01	Deglikoz avenakosid
Ekstrüzyon	25°C	59,70	7,50	4,47	0,80	0,06	0,04	%0
	120°C	53,13	11	5,84	2,40	0,26	0,15	%89 mg ES
	200°C	48,07	10	4,81	2,30	0,22	0,12	%93 mg ES
Ekstraksiyon H2O	1H reflü			3,10	1,10		0,03	
*: filtrelemeden sonra								

15 Örnek 2:

3,14 kg çözölmüş (2°C'de 18 saat) taze kirpiotu kömeci (Echinacea purpurea (L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin beş adet bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 100°C/100°C/100°C/100°C/60°C'dir.

- 20 Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 25 dakika; 7 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 3 kg su/saat.

EP 3 046 429 B1

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	
48,1	EKSTRÜZYON	%16,20
26,9	DURULAMA	%10,81
25	FİLTRELEME	%10,09

Ekstrüzyondan sonra ele alınan bitki dikkate alındığında %48,1 p/p su elde edilir. Daha sonra %25 nihai randıman oranıyla berrak bir bitki suyu elde etmek maksadıyla durulama ve sterilizan filtreleme etapları gerçekleştirilir. Elde edilen su içinde %10,09 oranında kuru madde mevcuttur, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %2,5 (p/p) oranında olur.

Bu suyun kafeik asit tenörü aşağıdaki gibidir:

- sikorik asit: %1,7 / kuru madde, %0,17 p/v

- kaftarik asit: %1,21, %0,12 p/v

Bitki suyu çevre ısısında çıkarıldığı zaman sikorik ve kaftarik asit tenörü enzimlerin aksiyonu nedeniyle neredeyse sıfırdır. Taze kömeçlerin sıkılması sonucunda su elde edildiği zaman bu moleküllerin tenör oranı da sıfırdır.

Bu çerçevede sıkma esnasında serbest kalan enzimler (fenol oksidaz) bu molekülleri hızlı bir biçimde okside ederler (Nüsslein B., Kurzmann M., Bauer R., Kreis W. Enzymatic degradation of Cichoric acid in Echinacea purpurea preparations (2000) J. Nat. Prod., 63, s. 1615-1618, R. Bauer Standardization of Echinacea Expressed Juice with Reference to Cichoric Acid and Alkamides, Journal of herbs, Spices & Medicinal Plants Cilt 6, Iss. 3, 1999).

Ekstrüzyon çevre ısısında veya 60°C'den düşük bir ısıda gerçekleştirildiği zaman enzimler inaktif olmazlar ve ilgi moleküllerini bozarlar. Bu örnekte sadece 100°C veya 200°C'de gerçekleştirilen ekstrüzyonlar

EP 3 046 429 B1

herhangi bir bozulma olmadan bitkiden sikorik veya kaftarik asitlerin çıkarılmasına olanak sağlarlar (bkz. özet tablo).

Piyasada mevcut kirpiotu sularının çoğunda bu moleküller yok, sadece dışarıda kalan kuru kısımlardan alkolle elde edilen ekstreler bu aktif bileşikleri ihtiva ederler.

Şunu da belirtmek gerekir ki çözücü olarak sadece bitkide doğal olarak bulunan suyun kullanıldığı ekstrüzyon yönteminde sulu bir ekstraksiyon yöntemine oranla çok daha ilgi bileşiği elde edilir.

					İfade edilen/kuru madde		İfade edilen/kuru madde	
Teknik	Parametreler	Su Rnd.	MS %'si	Rnd MS/ Taze Bitki	Kaftarik Asit	Sikorik Asit	Kaftarik Asit	Sikorik Asit
		%					mg/g	
Sıkma	Ezme ve Sıkma	36	7,21	2,60	0,00	0,00	0	0
Ekstrüzyon	20°C	26,7	8,41	2,24	0,06	0,04	0,014	0,009
	100°C	25,00	10,09	2,72	1,21	1,70	0,33	0,46
	200°C	12,46	12,90	1,61	1,96	3,61	0,33	0,61
Ekstraksiyon Kuru Bitki	Su reflü			4,73	0,22	0,05	0,1	0,023

Örnek 3:

5,11 kg dışarıda kalan kısımlarından çözülmüş (2°C'de 20 saat) Melisa (Melissa officinalis L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C/120°C/120°C/120°C/60°C'dir.

Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 7 dakika; 46 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 29 kg su/saat.

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	
62,7	EKSTRÜZYON	
49,2	DURULAMA	
48,8	FİLTRELEME	%6,5

EP 3 046 429 B1

Bu koşullarda yapılan ekstrüzyon yaklaşık %50 oranında bir randımana sahip olan ve %6,5 kuru madde ihtiva eden bitki suyu elde edilmesini sağlar. Bu madde birçok bileşiğın dışında ayrıca %70 etanol gibi hidro-alkolik karışımları olan ve genelde söz konusu olan rozmarinik asit ihtiva eder. Ekstrüzyonla çıkarılan kuru maddedeki rozmarinik asit tenörü, organik çözücü olmadan, burada %2,4'tür (p/p), başka bir ifadeyle, elde edilen değeri %70 etanolle yapılan ekstraksiyonla kıyaslanabilir bir değerdir.

10 Örnek 4:

4,5 kg taze zencefil kök sapı (Zingiber Officinale Roscoe) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 60°C/60°C/60°C/60°C/60°C'dir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	
58,9	EKSTRÜZYON	
50,83	DURULAMA	
50,8	FİLTRELEME	
		%5,2

(ekstrüzyon etabının toplam süresi: 5 dakika; 54 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 32 kg su/saat.

20 Örnek 5:

5,32 kg taze zerdeçal kök sapı (Curcuma Longa L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C/120°C/120°C/120°C/120°C'dir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir: (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 10 dakika; 32 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 13 kg su/saat.

EP 3 046 429 B1

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	%7,5
40,6	EKSTRÜZYON	
34,6	DURULAMA	

Elde edilen bitki suyu ekstrüzyonla çıkarılan ve askıda olan lipofil bileşiklerini muhafaza etmek maksadıyla bitki suyu filtreden geçirilmez:

5 kurkumin ve türevleri.

Dozaj (%8,36) elde edilen bitki suyundaki tenörün ne kadar önemli olduğunu gösteriyor. Bu oran piyasada satılan bir suyun kuru maddesi içindeki sudan (zerdeçal suyu ve sitrik asit ihtiva eden %4,52'lik bir oran) daha fazladır.

Teknik Parametreler		Su Rnd.	MS %'si	Zerdeçal (m/v)	Zerdeçal (m/MS)
				%	
Piyasadaki Su	Konjelasyon/ Dekonjelasyon/ DIC*/ Sıkma / Sitrik asitle sıkma		4,01	0,181	4,52
Ekstrüzyon	120° C	34,6	7,5	0,627	8,36
*: Kontrollü enstantane detant					

10

Örnek 6:

20,5 kg dışarıda kalan kısımlardan Sinir otu (Nem oranı %76) korotatif iki vidalı ve ortak girişli Clextral BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birincisinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C'dir.

15 Ekstruder çıkışından %43,8 bitki suyu elde edilir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

YÖNTEM	MALZEME DURUMU	MS (KURU MALZEME)
Çözülmüş Bitki	100	
Ekstrüzyon	45,4	%8,11
Santrifüjleme	42,3	%7,34
Filtreleme AF 15	41,4	
UF 0,3µ	38,4	

EP 3 046 429 B1

Filtreleme AF 140	36,6	%7,11
UF 10kDa		%6,20

Bir ultra filtreleme etabı en iyi organoleptik kalitede usare elde etmeye olarak sağlamaktadır. Bu usare %6,2 kuru madde ihtiva eder. Bu kuru maddede ayrıca ilgi aktifleri olan iridoitler (%1,8) ve fenolik asitler (%0,3) vardır. Bu değerler %30 EtOH hidroalkolik ekstre ile elde edilen değerlere yakın, sulu bir ekstreden ise yüksek değerlerdir. Dolayısıyla burada bir hidroalkolik ekstreye eşdeğer kalitede ve çözücüsüz bir ekstre elde ediyoruz.

10 Örnek 7:

18,8 kg dışarıda kalan kısımlardan *Isırgan otu* (Nem oranı %76) korotatif iki vidalı ve ortak girişli Clextral BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birincisinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C'dir. Ekstruder çıkışından 9,4 kg bitki suyu elde edilir ve bu da %50 oranında bir randıman demektir.

Santrifüjlemeden sonra %5,7 oranında kuru madde içeren bu bitki suyu pastörizasyondan sonra olduğu gibi kullanılabilir.

Örnek 8: kapsül

20

Örnek 3'e göre liyofilize melisa suyu	200 mg
Amidon	45 mg
Magnezyum stearat	2 mg

25 Örnek 9: Krema

Ağırlık olarak %

Örnek 1'e göre yulaf suyu	%1-5
Tribehenin PEG-20 ester	%2-7

EP 3 046 429 B1

	İzodesil neopentanoat	%2-9
	Gliserin	%0,5-10
	Glikol palmitat	%1-6
	Setil alkol	%0,5-3
5	Disodyum EDTA	%0,05-0,25
	Koruyucu	%0,5-3
	Parfüm	%0,2-0,5
	Ksantan zamk	%0,1-0,4
	Su	%qs

10

15

20

25

İstemler:

1. Taze bitkilerden bitki suyu elde etme yönteminin **belirleyici özelliği**, söz konusu taze bitkilerin termomekanik bir işleme tabi tutularak korotatif ve ortak girişli iki vidalı birinci bölgesinin bulunduğu iki vidalı ekstruder içine sularının çıkarılmasıdır. Bu bölgede endojen enzimlerinin inaktive edilmesine ve ilgi bileşikleri moleküllerinin natif formlarıyla muhafaza edilmesine olanak sağlayan termik bir işlem uygulanarak ve çözücü kullanılmadan taze bitkinin öğütülmesi gerçekleşmekte ve sonucunda bitki suyu elde edilmektedir.
2. İstem 1'e göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termik işlemin 60°C ile 300°C, tercihen de 60°C ile 120°C arasında gerçekleşmesidir.
3. İstem 1'e göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termomekanik işleme tabi tutulan taze bitkilerin, dışarıda kalan kısımlarıyla ve/veya toprak altında kalan kısımlarıyla veya dondurulmuş veya çözülmüş halleriyle işleme tabi tutulmalarıdır.
4. 1-3 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termomekanik işleme tabi tutulan taze bitkilerin Avena sativa, Melilotus officinalis, Tropaeolum majus, Echinaceae sp., Urtica dioica, Plantago sp., Erigeron canadensis, Equisetum arvense, Calendula officinalis, Melissa officinalis, Physalis sp., Vaccinium macrocarpon, Sambucus nigra, Zingiber officinale; Curcuma sp., Betula sp., Mentha sp., Althaea sp., buğdaygiller, Asteraceae ve/veya Labieae.
5. Yukarıdaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, elde edilen bitki suyunun daha sonra bir durulama, filtreleme ve/veya stabilizasyon etabından geçirilmesidir.

6. 1-5 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ekstruderde katı/sıvı ayrımının yapıldığı iki vidalı bir bölgenin olmasıdır.
7. 1-6 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı birinci bölgenin taze bitkinin bulunduğu ekstruderin besleme kısmında bulunmasıdır.
8. İstem 6'ya göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ikinci bölgenin ekstruderin çıkışında bulunmasıdır.
9. 1-8 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ekstruderin en az bir, tercihen de birbirine bitişik birden çok bölgesinin bulunmasıdır.
10. İstem 9'a göre yöntemin **belirleyici özelliği**, farklı bölgelerin ortam ısısına sahip olmaları, başka bir ifadeyle ısıtma ve/veya soğutma sistemlerine ilişkin kumanda ve kontrol unsurlarının bulunmasıdır.
11. 1-10 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ekstruderin filtreleme görevi gören en az bir bölgesinin bulunmasıdır.
12. İstem 10'a göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ısıtma unsurlarının tercihen birinci bölgede bulunan bir ısıtma kolyesinden oluşmasıdır.
13. 6-12 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ekstruderin birinci bölgesinde besleme, nakliye ve taze bitkilerin öğütülmesine olanak sağlayan mekanik makaslama ve termomekanik işlemin bulunmasının ve bitki suyunun çıkarılmasının yanında sıvı/katı ayırım işleminin ikinci bölgede gerçekleşmesi olarak karşımıza çıkan diğer bir **belirleyici özellik** söz konusudur.
14. 1-13 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, birinci bölge üzerinde sıralı birden çok kaplama bulunması ve

EP 3 046 429 B1

bunların ısılarının 60°C ile 120°C kademeli olarak artan ısı katlarını oluşturmasıdır.

- 5 **15.** 6-14 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ikinci bölgede 30°C ile 120°C arasında kombine ısıya sahip en az bir kaplamanın bulunmasıdır.

10

15

20

25

TARİFNAMEDE ALINTI YAPILAN REFERANSLAR

5 *Başvuru sahibi tarafından alıntı yapılan referansların listesi sadece okuyucuya kolaylık sağlaması amacıyla verilmiş olup, Avrupa patent belgesinin bir parçası değildir. Tasarımında çok büyük özen gösterilmiş olsa da, birtakım hatalar ya da atlamalar yapılmış olabilir ve OEB bu konuda sorumluluk üstlenmemektedir.*

Tarifnamede alıntı yapılan patent belgeleri

- EP 0279984 A
- SU 1669978
- SU 1541071
- SU 1518142
- SU 496193
- SU 3986 103
- EP 906113 A
- WO 2012098167 A
- US 5403613 A
- WO 9733596 A
- WO 20100544879 A

10 Tarifnamede alıntı yapılan patent dışı belgeler

- **DZIEZAK, J. D.** Single and twin-screw extruders in food processing. Food Technol. Nisan 1989, 164-174.
- **N'DIAYE, S.; RIGAL, L.; LAROCQUE, P.; VIDAL, P.F.** Extraction of hemicelluloses from poplar populus tremuloides, using an extruder type twin-screw reactor: A feasibility study. Bioresearch Technology, 1996, cilt 57, 61-67).
- **N'DIAYE, S.; RIGAL, L.** Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicellulose in a twin-screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase. Bioresource Technology, 2000, cilt 75 (1), ss. 13-18)
- **MARECHAL V.; RIGAL L.** Characterization of by-products of sunflower culture - Commercial applications for stalks and heads. Industrial Crops and Products, 1999, cilt 10(3), 185-200.
- **SRITI J.; TALOU T.; FAYE M.; VILAREM G.; MARZOUK B.** Oil extraction from coriander fruits by extrusion and comparison with solvent extraction processes. Industrial Crops and Products, 2011, cilt 33, 659-664.
- **WHITE BRITTANY L.; HOWARD LUKE L.; PRIOR RONALD L.** Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. J. Agric. Food Chem. 2010, cilt 58, 4037-4042.
- **KHANAL RC; HOWARD LR; PRIOR RL.** Procyanidin content of grape seed and pomace, and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing. J. Food Sci. 2009, cilt 74, H174-82.
- **MEER,** Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas.
- **NÜSSEIN B.; KURZMANN M.; BAUER R.; KREIS W.** Enzymatic dégradation of Cichoric acid in Echinacea purpurea préparations. J. Nat. Prod. 2000, cilt 63, 1615-1618.
- **MORANT A.V.; JORGENSEN K.; JORGENSEN C.; PAQUETTE S.M.; SANCHEZ-PEREZ R.; MOLLER B.L.; BAK S.** β -Glucosidases as detonators of plant chemical defense. Phytochemistry, 2008, cilt 69 (9) 1795-1813.
- **R. BAUER.** Standardization of Echinacea purpurea Expressed Juice with Reference to Cichoric Acid and Alkamides. Journal of herbs, Spices & Medicinal Plants, 1999, cilt 6 (3).

(19)



Avrupa Patent Ofisi



(11)

EP 3 046 429 B1

(12)

AVRUPA PATENT BELGESİ

(45) Patentin yayım tarihi ve iblağ yazısı:

21.03.2018 tarih ve 2018/12 sayılı Bülten(21) Tevdi numarası: **14767016.0**(22) Tevdi tarihi: **18.09.2014**

(51) Uluslararası sınıfı:

A23L 2/04 ^(2006.01) **A23N 1/02** ^(2006.01)
A61K 36/9066 ^(2006.01) **A61K 9/00** ^(2006.01)
A61Q 19/00 ^(2006.01) **A61K 8/97** ^(2017.01)
A61K 36/9068 ^(2006.01) **A61K 9/06** ^(2006.01)
A61K 9/48 ^(2006.01) **A61K 36/11** ^(2006.01)
A61K 36/185 ^(2006.01) **A61K 36/28** ^(2006.01)
A61K 36/45 ^(2016.01) **A61K 36/53** ^(2016.01)
A23P 30/20 ^(2016.01) **A23L 33/105** ^(2016.01)

(86) Uluslararası tevdi numarası
PCT/EP2014/069942(87) Uluslararası yayım numarası
WO 2015/040135 (26.03.2015 Gazette 2015/12)(54) **TERMOMEKANİK İŞLEMLE BİR TAZE BİTKİ SUYUNUN ELDE EDİLMESİ VE BUNUN KOZMETİK VE TERAPÖTİK ALANDA KULLANILMASI**

(84) İlgili Akit Taraf Devletler:

AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI
FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV
MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI
SK SM TR

(30) Rüçhan: **18.09.2013** **FR 1358970**

(43) Başvurunun yayım tarihi:

27.07.2016 tarih ve 2016/30 sayılı bülten:

(73) Hak sahipleri:

- Pierre Fabre Dermo-Cosmétique
92100 Boulogne-Billancourt (FR)
- Pierre Fabre Médicament
92100 Boulogne-Billancourt (FR)

(72) Buluş sahipleri

- MANDEAU, Anne
F-31200 Toulouse (FR)

- TALON, Christian
F-81000 Albi (FR)

(74) Vekili: **Regimbeau**
20, rue de Chazelles
75847 Paris Cedex 17 (FR)

(56) Alıntı yapılan dokümanlar:

- WO-A1-97/33596** **WO-A2-2012/098167**
US-A- 5 403 613
- GALATHEA BISTERFELD VON MEER: "Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas", 9TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN INDUSTRIAL HEMP ASSOCIATION, 23 Mayıs 2012 (23-05-2012), s. 1-15, XP05532562

Aşağıda belirtilen husus hatırlatılır: Her tür kişi, Avrupa patenti iblağ yazısının Avrupa patentler Bülteninde yayımlanmasından itibaren dokuz aylık bir süre içinde, uygulama yönetmeliğine uygun olarak, Avrupa patent Ofisi nezdinde bu patente itiraz edebilir. İtiraz ancak ve ancak itiraz harcının ödenmesinin ardından resmîyet kazanır. (Avrupa Patent Anlaşması, Madde 99(1)).

Tarifname

5

**TERMOMEKANİK İŞLEMLE BİR TAZE BİTKİ SUYUNUN ELDE
EDİLMESİ VE BUNUN KOZMETİK VE TERAPÖTİK ALANDA
KULLANILMASI**

10 Bu buluş, tanelerin çıkartılması hariç, taze bitkilerin bir çözücü olmadan termomekanik işleme tabi tutularak bu taze bitkilerden bir bitki suyunun elde edilme yöntemiyle ilgilidir.

Taze bitkilerden bitki suyu elde edilmesi yöntemi sıkma, ezme veya santrifüjleme işlemlerine dayanmaktadır.

15 EP0279984 numaralı patent belgesi bitkinin ezilmesi, sıkılması ve/veya ufalanması yoluyla gerçekleştirilen ekstraksiyonu müteakip elde edilen buğdaygiller ailesine ait bitkilerin suyunun kozmetikte kullanılmasını anlatmaktadır.

Meyveler hariç, tıpta kullanılan bitki suları da elde edilmektedir
20 (monografi EMEA-Echinacée EMEA/HMPC/104945/2006 gibi).

Bazı tekniklerin amacı "Flash Détente" gibi yöntemlerle membran bileşenlerinin ekstraksiyonunu potansiyalize etmeye yöneliktir. Bu yöntem özellikler antosiyanin ekstraksiyonunu artırmaya olanak sağladığı için üzümlerde çok kullanılmaktadır. Taze bitkilerin integral süspansiyonu
25 (SIPF) olarak bilinen yöntem özellikle -25°C sonra -196°C'de bir kriyobroyaj etabıyla ve alkollü bir solüsyonda elde edilen toz maserasyon ile taze bitkilerden bitki suyu elde etmeye olanak sağlar.

Termomekanik işlemin esası, özel ve adapte edilmiş koşullarda bir mekanik enerjinin işleme tabi tutulması esasına dayanır. Mekanik enerji

örnekleri arasında sıkma, ufalama, ekstrüzyon ve buna benzerlerini sayabiliriz.

Ekstrüzyon, kontrollü farklı koşullarda akma ve akabinde önceden belirlenen bir hızla bir silindir içinden geçme özelliğine sahip bir malzemeye gerçekleştirilen bir yöntemdir (Dziezak, J. D. (1989). Single and twin-screw extruders in food processing. Food Technol. Nisan, 164-174). Bu teknoloji ilk olarak 18. yüzyılın sonunda İngiltere’de metalürji sanayiinde kullanıldı. Daha sonra sosis ve makarna gibi yiyeceklerin üretimi için gıda sanayiinde de kullanılmaya başlandı. Bugün ise gıda sanayii amilaz ürünlerinin (bisküviler, biskot bisküviler, snacklar vb.) pişirme-ekstrüzyon tekniğini çok yaygın olarak kullanıyor. Gıda sanayiinde ayrıca protein tekstürizasyonu yanında besi hayvanları veya evcil hayvanlar için yiyecek üretimi için de bu teknik kullanılmaktadır.

Buna paralel olarak, ekstrüzyon teknolojisi termoplastik sanayi için etkili bir biçimde geliştirildi ve yeni vida çeşitlerinin tasarlanmasında geniş bir biçimde kullanıldı. Gelişen bir teknolojiyle yeni uygulamalara da kapılar açılmış oldu.

Hemiselüloz (N’Diaye, S., Rigal, L., Larocque, P., Vidal, P.F., 1996. Extraction of hemicelluloses from poplar populus tremuloides, using an extruder type twin-screw reactor: A feasibility study. Bioresearch Technology 57, 61-67) (N’Diaye S., Rigal L., Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicellulose in a twin-screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase (2000) Bioresource Technology, 75 (1), s.13-18) ve pektin (Marechal V., Rigal L. Characterization of by-products of sunflower culture - Commercial applications for stalks and heads (1999) Industrial Crops and Products, 10 (3), s. 185-200) ve benzeri ekstraksiyonlar gibi tek bir etapta ve sürekli olarak kimyasal, mekanik ve termomekanik işlemler gerçekleştirmeye yönelik olarak ekstruder

kullanımı üzerine birçok inceleme gerçekleştirildi. Bu durumda aranan makro moleküllerin ekstraksiyonunu ve solübilizasyonunu kolaylaştırmak ve bitkisel ham maddeyle birlikte aynı anda ekstruder içine asit veya bazik bir çözücü ilave edildi (reaktif ekstrüzyon).

- 5 Bitkisel ekstraksiyon alanında daha önce bilinen bazı uygulamalar şöyle: oleajinöz tanecikler kullanılarak ve fırına herhangi bir çözücü ilave edilmeden yağlar için tek vidalı ekstruderin kullanılması. Bu yağ ekstraksiyonu işlemi katının sıkılması esasına dayanmaktadır (Sriti J., Talou T., Faye M., Vilarem G. And Marzouk B. Oil extraction from coriander fruits by extrusion and comparison with solvent extraction processes. (2011) Industrial Crops and Products, 33, 659-664).

Ekstrüzyon ayrıca mısır nişastası gibi katı bir destekle fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu artırmak maksadıyla meyvelerin (elma, frenk üzümü, kızılıçık) posları üzerinde ön-işlemler gerçekleştirmek için de kullanılmaktadır (White Brittany L., Howard Luke L., Prior Ronald L., Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. (2010), J. Agric. Food Chem. 58, 4037-4042) (Khanal RC, Howard LR, Prior RL. Procyanidin content of grape seed and pomace, and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing (2009) J Food Sci. 74: H174-82).

Bazı patent belgeleri taze bitki sularının ekstrüzyon yöntemiyle çıkartılmasını anlatmaktadır. Bu yöntemlerde ekstrüzyon ifadesi, bitkiyi pistonlu bir kompresör ile taşımak için uçsuz bir vida kullanımı olarak tanımlanmaktadır. Resimli anlatımlar tek vidalı olan tek bir kılıf göstermektedirler (SU1669978, SU1541071, SU1518142, SU496193, SU3986103).

Diğer bir patent belgesinde ise sıkma veya filtreleme işleminden önce önışlem olarak gerek bitkinin inert atmosferde ezilmesi gerekse vakum altında ekstrüzyon yöntemiyle taze bitkilerden bitki suyu elde etmek için

kullanılan yöntemi anlatmaktadır. Bununla birlikte ekstrüzyon burada bitki suyunu çıkarmaya değil, ekstraksiyondan önce bitkiyi hazırlamaya yöneliktir (EP906113).

5 WO2012/098167 numaralı patent belgesi kenevir suyunun çıkartılmasını ve içecek olarak kullanılmasını anlatmaktadır. Çıkarma işlemi soğuk ekstrüzyon yöntemiyle gerçekleştirilmektedir. Burada amaç amino asitler ve vitaminler gibi bitkinin besleme kalitesini mümkün olduğunca muhafaza etmektir. Suyunun elde edilmesi için taze bitkinin sıkılması 10 ile 40°C arasında kombine bir sıcaklıkta gerçekleşir. Dolayısıyla burada termomekanik bir işlem söz konusu değildir.

Tekniğin durumu aşağıdaki patent belgelerindeki açıklamalarla tamamlanabilir:

- US 5 403 613 (D1)
- WO97/33596 (D2)
- 15 • WO2012/098167 (D3) ve
- Galathea Bisterfels von Meer, “*Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas*” (D4).

US 5 403 613 numaralı patent belgesi sulu bir sitrik asit solüsyonu yardımıyla ve ekstraksiyon yöntemiyle havuç suyu veya bir ısıtma etabı eklenerek limon suyu çıkarılması işlemlerini anlatmaktadır. Çıkarılan su 20 daha sonra kontrarotatif çift vidalı ekstruderden geçirilerek son halini alır. WO97/33596 ve WO2012/098167 numaralı patent belgeleri farklı taze bitki sularının çıkartılmasına ilişkin diğer ekstraksiyon yöntemlerini anlatmaktadır. Anlatılan bu yöntemlerde monosakkarit veya disakkarit 25 eklenerek toz halindeki ekstratların elde edilmesi veya kenevir tabanlı içeceklerin elde edilmesi anlatılmaktadır.

Ve nihayet “*Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas*” herhangi bir çözücü olmadan ve natif formda olmayan ilgi moleküllerini muhafaza ederek endojen enzimleri inaktive etmeyi

amaçlayan herhangi bir termomekanik işleme gerek duyulmadan kenevir suyunun çıkartılmasını anlatmaktadır.

Şunu hatırlatmak gerekir ki taze bitkilerin sıkılması esnasında bitki cidarı bazen gerek bir organik çözücü yardımıyla gerekse enzimatik işlemden sonra ekstre olabilecek bazı ilgi bileşiklerini alınmasını frenlemektedir. Dahası, enzimler çok kolay bir biçimde serbest bırakılır ve bitki suyundaki ekstre bileşiklerini değiştirmeye başlarlar: hidrolizler, oksidasyonlar, deglikozilasyon vb. gibi.

Şaşırtıcı ve beklenmedik bir biçimde gıda sanayiinde malzemeyi pişirmek ve çok küçük ekstraksiyonlar biçiminde yaymak için çok kullanılan bir tekniğin adaptasyonu taze bitkiden natif bir ekstre alınmasına olanak sağlamıştır. Bu buluşa göre elde edilen taze bitki suları kozmetikte veya terapötik alanda doğrudan kullanılabilir.

“Ekstrüzyon” ibaresiyle bu buluşa göre taze bitkinin termik bir işlem yardımıyla bir ekstruder, tercihen de iki vidalı ekstruder içinde sıkılıp suyunun çıkartılması anlaşılır.

Bir işlem biçiminde göre ekstrüzyonun belirleyici özelliği taze bitkinin iki aşağıdaki parçalardan oluşan vidalı ekstruder içinden geçirilmesidir:

- Taze bitkilerin konacağı bir bölge: besleme hunisi
- Ekstruderin ana gövdesi bir veya birden çok bölgeden meydana gelmiştir ve bu bölgelerin içinde uçsuz vidalar (korotatif veya kontrarotatif) veya vida segmentleri dönmektedir. Tercihli bir biçimde birbirine irtibatlı birçok bölge mevcuttur. Yine tercihli bir biçimde iki adet uçsuz korotatif vida vardır. Vidaların profili vida şekline ve vida dişlerine göre değişkenlik gösterir (yamuk ikizkenar, konjuge, basit veya ikili vb.). Vidalardan her biri ayrıca tepe ve/veya diş şekline göre birini diğerinden ayırabilecek farklı kesitlere (veya segmentlere) sahiptir. Bu vidaları oluşturan kesitlerin bazıları tek loblu veya üç loblu karıştırıcı elemanlarını gösterebilir;

- Aşağıdaki işlemleri gerçekleştiren en az bir bölge:
 - ✓ Gerektiği durumlarda katı/sıvı ayırımında devreye girer;
 - ✓ Ayrıca bir ızgara gibi filtreleme elemanına sahiptir;
 - ✓ Özellikle ekstruderin çıkışında bulunur.
- 5 - Isıtma ve soğutma elemanları, zira dış bölge 60 ile 300°C arasında regüle edilmek zorundadır;
- Aşağıdaki gibi ekstruderin yönlendirilmesine yarayan elemanlar;
 - ✓ Bir tahrik grubu: vidaların dönmesi için gerekli olan mekanik gücü üretebilecek bir redüktör motorundan ve bir tork

10

divizöründen oluşur;
 - ✓ Pilotaj otomatları: yöntemin devamını ve kumanda edilmesini sağlarlar. Ayarlanmak zorunda olan parametreleri şöyle: vidaların dönme hızı ve her bölgenin ısısı.

Özel bir tasarım biçimine göre ekstruder ortak dönüşlü ve ortak girişli

15

vidaya sahip iki vidalı ekstruderdir.

Buluş çerçevesinde bir diğer tasarım biçimine göre yöntem bir ekstruder, özellikle de iki vidalı ve çok bölgesi, son katı bir kılıfla biten, filtre yapan, ısı değişikliğine olanak sağlayan ve aynı zamanda ham madde bitkide birçok bileşiği tahrik etmek, bitkinin yapısını değiştirmek ve aynı

20

zamanda termik bir işlemle endojen enzimlerini inhibe etmek maksadıyla bir kesme ve bir karıştırma işlemi uygulayan bir ekstruder ön plana çıkarmaktadır.

Buluşa göre söz konusu olan yöntem taze veya dondurulmuş bitkilerin sularının çıkartılması, alınması, saflaştırılması (toplama) ve nihayet bu

25

şekilde toplanan suların opsiyonel olarak son bir etapta stabilize edilmesi esasına dayanır.

Dolayısıyla bu buluş taze bir bitkinin taneciklerin dışında suyunun termodinamik bir işlemle alınmasıyla ilgilidir. Söz konusu yöntem taze bitkinin termik bir işlem eşliğinde bir ekstruder içinde sıkılması biçiminde

gerçekleşir. Termik işlemin amacı endojen enzimlerinin inaktive olmasını sağlamak ve ilgi bileşikleri moleküllerini natif biçimleriyle muhafaza etmektir. Bu işlemde çözücü kullanılmaz ve bitki suyu nihai şekliyle elde edilir.

- 5 Buluşun bir özelliğine göre elde edilen su daha sonra bir stabilizasyon, temizleme ve/veya filtreleme etabına tabi tutulur.

Buluşun bir diğer özelliğine göre termomekanik işlem, 60°C ile 300°C, tercihen de 60°C ile 120°C arasında kombine bir ısıda gerçekleştirilen kesimin ardından öğütme esasına dayanır.

- 10 Avantajlı bir biçimde termomekanik işlemi ilk olarak bir korotatif ve ortak girişli bölgesi bulunan ve bitkilerin öğütülme işlemlerinin gerçekleştiği iki vidalı ekstruder içinde, ikinci olarak da katı/sıvı ayrımının yapıldığı iki vidalı bölgenin bulunduğu ortamda gerçekleşmektedir. İki vidalı bölgedeki akış tek vidalı ekstruderden olduğu gibi vidalar ile dış bölge
15 arasındaki sürtünme hareketinden değil, bir pompalama hareketiyle gerçekleşmektedir.

Buluşun bir diğer özelliğine göre yukarıda adı geçen iki vidalı birinci bölge ekstrudere taze bitki beslemesi yapıldığı tarafta bulunması, ikinci iki vidalı bölge ise ekstruderin çıkışına yakın bir yerde bulunmasıdır.

- 20 Avantajlı bir biçimde yukarıda adı geçen bölgelerin her birinde en az bir, tercihen de birbirine bitişik birden fazla bölge bulunmaktadır.

Buluşun ek bir özelliğine göre farklı bölgeler ısı konusunda kumanda ve kontrol unsurlarının yanında, ısıtma ve/veya soğutma unsurlarına sahiptir.

- 25 Buluşun tercih edilen bir özelliğine göre iki vidalı ekstruderde filtreleme görevi gören en az bölge bulunmaktadır.

Buluşun bir diğer özelliğine göre ısıtma unsurları tercihen birinci bölgede yer alan bir ısıtma kolyesinden oluşmaktadır.

Avantajlı bir biçimde besleme, taşıma, mekanik kesme ve termomekanik işlem taze bitkilerin öğütülmesine olanak sağlamakta ve sularının çıkartılması ekstruderin birinci bölgesinde, katı/sıvı ayrımı ise ikinci bölgesinde gerçekleşmektedir.

- 5 Avantajlı bir biçimde birinci bölgede ısıları 60°C ile 120°C arasında giderek artan kademeli ısı katları oluşturacak biçimde sıralı birçok bölge bulunmakta ve ikinci bölgede 30°C ile 120°C, tercihen de 30°C ile 100°C arasında kombine bir değere sahip en az bir bölge bulunmaktadır.

- 10 “Taze bitki” ibaresiyle, bu buluşa göre, tanecikleri hariç, taze veya dondurulmuş olarak kullanılan ve %30 ile %80, tercihen de %30 ile %90 arasında su ihtiva eden bitkinin tamamı veya bir kısmı anlaşılmaktadır.

“Bitkinin bir kısmı” ibaresiyle sapları, dalları, yaprakları, meyveleri ve/veya çiçekleri gibi bitkinin dışarıda kalan kısımları ve/veya köksapları, kökleri ve/veya soğancık kısımları anlaşılmaktadır.

- 15 Buluşun bir uygulama biçimine göre tüm bitkiler kullanılacaktır.

Bu buluş çerçevesinde kullanılabilir bitkiler arasında birçoğunun yanında aşağıdakileri saymak mümkündür: *Avena sativa*, *Melilotus officinalis*, *Tropaeolum majus*, *Echinaceae sp.*, *Urtica dioica*, *Plantago sp.*, *Erigeron canadensis*, *Equisetum arvense*, *Calendula officinalis*, *Melissa officinalis*,
20 *Physalis sp.*, *Vaccinum macrocarpon*, *Sambucus nigra*, *Zingiber officinale* ve/veya *Curcuma sp.*, *Betula sp.*, *Mentha sp.*, *Althaea sp.*, buğdaygiller, *Asteraceae* ve/veya *Labieae* ve tercihen *Avena sativa*, *Echinaceae purpurea*, *Urtica dioica*, *Plantabo lanceolata*, *Equisetum arvense*.

- 25 Özel bir uygulama biçiminde aşağıdakiler söz konusu olacak: *Avena sativa*, (Yulaf, dışarıda kalan kısımlar), *Melilotus officinalis* (Kokulu yonca, dışarıda kalan kısımlar), *Tropaeolum majus* (Latinçiçeği, dışarıda kalan çiçekli kısımlar), *Echinaceae sp.* (Kirpi otu, çiçekli kömeç), *Urtica dioica* (Isırgan, dışarıda kalan kısımlar), *Plantago sp.* (Sinirotu, dışarıda

kalan kısımlar), *Calendula officinalis* (Aynısefa, çiçekler), *Melissa officinalis* (Melisa, dışarıda kalan kısımlar), *Physalis* sp. (meyveleri), *Vaccinium macrocarpon* (meyveleri), *Sambucus nigra* (meyveleri ve/veya çiçekleri), *Zingiber officinale* (Zencefil, kök sapları), *Betula* sp. (Kayın ağacı, yapraklar) ve/veya *Curcuma* sp. (kök sapları).

Tercih edilen bir uygulama biçiminde taze bitkiler, polifenoloksidaz, peroksidaz, mirosinaz, β -glükozidaz, lipoksigenaz gibi aktif bileşenleri endojen enzimleri ile hassas bir biçimde bozulmaya giren bitkiler grubundan seçilmektedir:

- 10 - *Avena sativa*
- *Tropaeolum majus*
- *Echinaceae* sp.
- *Urtica dioica*
- *Plantago* sp.
- 15 - *Urtica dioica*
- *Mentha* sp.
- *Melissa officinalis*
- *Betula* sp.
- *Poaceae*
- 20 - *Asteraceae*
- *Labiaceae*

Buluşa göre özel bir uygulamada yulaf filizleri söz konusu olacaktır.

“Yulaf filizi” ibaresiyle bu buluş çerçevesinde başaklanmadan önceki yulaf bitkisi anlaşılmaktadır, başka bir ifadeyle, çimlenmeden sonraki etapta (çimlenmeden 2 hafta ile 2 ay sonra) ve başaklanmaya kadar olan uzama süresinde söz konusu olan bitki durumu anlaşılmaktadır. Bitki sapının uzaması ve çiçeklenmeden önce başaklanması anlamına gelen büyüme etabına “uzama” diyoruz. Tali metabolitler WO2010/054879

numaralı patent belgesinde yulaf filizi ekstresinin bileşenleri olarak anlatılmıştır: avenakosid tipinde flavonoidler ve saponinler.

Buluşun bir başka tasarım biçimine göre toplanan bitkiler -40°C'lik bir konjelasyon tüneline doğru taşınmak üzere 4°C'lik bir ara depoda 5 stoklanır.

Bitkilerin nem tenörleri teknik çerçevesinde tam etkinlik sağlanması için en az %30 olmalıdır.

Dolayısıyla bu yöntem herhangi bir kurutulma etabına maruz bırakılmamış ve dolayısıyla natif moleküllerini muhafaza eden taze 10 bitkilerle çalışmaya olanak sağlamaktadır. Ekstraksiyon çözücü olmadan gerçekleştirilir, yöntem çok basittir, bitkinin ekstruder içindeki kalma süresi birkaç saniyeyle birkaç dakika, tercihen de 10 saniye ile 5 dakika arasında süreklilik arz ederek değişir ve böylece 20 ile 500kg/saat çalışma performansı ile 10 ile 300 lt bitki suyu/saat elde edilebilen 15 ekstruderlerin boyutuna göre değişen işlem debileri elde edilmiş olur.

İki vidalı mekanik ekstrüzyon yöntemi malzeme üzerinde bir basınç oluşturan ve hücre patlamasına yol açan bitki buşonu biçiminin ortaya çıkmasını sağlıyor. Bu yöntemde bitki parçalanmakta ve önemli ölçüde aktif bileşenli ve suda çok az çözülebilen tenör elde edilmektedir. Bu 20 yöntem basit sıkma veya tek vidalı ekstrüzyon işlemine oranla önemli avantajlar sağlamaktadır.

Dahası, ekstrüzyon etabında meydana gelen ısı değişiklikleri bitkide posa-bitki suyu karışımını akışkan hale getirmeye ve böylece bitki suyunun zamlı kıvamıyla kalınlaşması durumunda randımanının 25 artırılmasına olanak sağlar. Yöntem boyunca uygulanan ısı ayrıca endojen enzimlerini inaktive etmeye ve molekülleri natif formlarında tutmaya olanak sağlar. Mirosinazlarla (turpgiller) bozulan glikosinolatlar, polifenol oksidazlarla (Echinacée) okside olmuş kafeik asit türevleri (Nüsslein B., Kurzmann M., Bauer R., Kreis W. Enzymatic degradation of

Cichoric acid in Echinacea purpurea préparations (2000) J. Nat. Prod., 63, s.1615-1618), bir deglukoizdaz ile aktive olan bazı fitoaleksinler (*Avenacosides dans l'avoine*)... (Morant A.V., Jorgensen K., Jorgensen C., Paquette S.M., Sanchez-Perez R., Moller B.L., Bak S. β -Glucosidases as detonators of plant chemical defense (2008) Phytochemistry, 69 (9), ss.1795-1813) gibi hızlı bir biçimde inaktive olan bazı bileşikler için bu çok önemlidir.

Katı kalıntıların suyunu ayırma işlemine dayanan bitki suyu toplama yöntemi daha sonra arındırma ve filtreleme işlemleriyle devam eder.

- 10 “Arındırma” ibaresiyle ekstruder çıkışında bitki suyunda mevcut hücre parçacıklarının eliminasyonu anlaşılır. Bu eliminasyon santrifüj etkisi ile gerçekleştirilen arıtma teknolojisi sayesinde yapılır. Burada amaç filtreleme ortamında engeller teşkil edebilecek katı kalıntıların elimine edilmesi söz konusudur. Bu eliminasyon ayrıca bir katkı maddesiyle
- 15 doğrudan filtreleme işlemiyle de yapılabilir.

- “Filtreleme” ibaresiyle frontal veya tanjansiyel filtreleme anlaşılır. Burada filtrelemede kullanılan madde önemlidir (perlit, diyatome vb...). Bu filtreleme son katı kalıntıların tutulmasına olanak sağlar. Burada amaç son derece berrak bir akışkan elde etmektir. İlk filtrelemeden sonra
- 20 membran üzerinde moleküllerin boyutlarına göre bir kesme eşiği belirlenerek ikinci bir filtreleme yapılabilir. Reçine veya silis üzerinde yapılan bir filtreleme işlemi de tek başına denenebilir veya birinci filtrelemeden sonra uygulanabilir. Böylece ilgi bileşiği zenginleştirilir (örneğin: adsorpsiyon reçineleri gibi).

- 25 Özel bir tasarım biçiminde arındırma-filtreleme etabı ekstruderin sonuna entegre edilen filtreli bir tabaka yardımıyla yapılabilir.

“Stabilizasyon” ibaresiyle bu buluşa göre aşağıdaki açıklamalar anlaşılır:

- sıvı bir ekstrenin alınması için:

✓ Bitki suyunun soğutulması, daha sonra konjelasyonu

✓ Bitki sularının 0,22 µm değerindeki sterilizan filtreleme işleminden geçirilmesi, pastörizasyonu, U.H.T. sterilizasyonu, ultra filtreleme ve işlemiden sonra her türlü kontaminasyona engel olan uygunlaştırılmış bir ortamda muhafaza edilmesi: vakum altında ve

5

✓ Stoklamanın 4°C ile -20°C (konjelasyon) arasındaki çevre ısısında yapılabilir.

✓ Böylece koruyucu (glükoller veya sorbik asit, sitrik asit vb) veya

10

- Kıvamlı bir ekstrenin elde edilmesi için: %65'e eşit veya bundan yüksek kuru madde halinde bir tenör elde edecek biçimde konsantrasyon işlemi gerçekleştirilir.

- Kuru bir ekstrenin elde edilmesi için vakum altında kurutma teknolojisi, liyofilizasyon teknolojisi veya atomizasyon teknolojisi kullanılabilir.

15

Yukarıda da anlatıldığı gibi elde edilen ekstratlar ister sıvı, ister kıvamlı isterse kuru olsun kozmetik veya topik veya oral yolla verilen farmasötik veya gıda alanında bileşik olarak kullanılabilirler.

Buluşa göre yöntemin önceki yöntemlere (sıkma ve ekstrüzyon, tek vida) göre başlıca avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

20

- Alınan taze bitkinin durumuna göre en iyi randımanın (suyun ağırlığı / söz konusu bitkinin ağırlığı) elde edilmesi; ve/veya

- bileşen açısından zengin bir suyun elde edilmesi; ve/veya

- taze bitkinin ezilmesi esnasında serbest kalan enzimler tarafından bozulmayan moleküller ihtiva eden suyun elde edilmesi.

25

Örnek 1:

Büyümeden iki ay sonra silodan alınan çözülmüş (2°C'de 24 saat) taze yulafın (Avena sativa L.) dışarıda kalan 12,75 kg'lık kısımları korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin beş adet

EP 3 046 429 B1

bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 30°C/120°C/120°C/120°C/60°C'dir.

Yöntem şeması aşağıdaki gibi oluşmaktadır (ekstrüzyon etabının toplam süresi = 20 dakika; 38 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 22 kg bitki suyu/saat):

Dışarıda kalan kısımlar => Ekstrüzyon 120°C => çıkarılan posa



=> BRÜT su (randıman %57,2 (p/p))

=> Durulama

=> Sterilizan filtreleme



%11 kuru madde içeren duru su (MS)

(randıman %53,1 (p/p))

=> %5,8 MS/taze bitki

Ekstrüzyondan sonra ele alınan bitki dikkate alındığında %57,2 p/p su elde edilir. Daha sonra %53,1 nihai randıman oranıyla berrak bir bitki suyu elde etmek maksadıyla durulama ve sterilizan filtreleme etapları gerçekleştirilir. Elde edilen su içinde %11 oranında kuru madde mevcuttur, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %5,8 (p/p) oranında olur.

Aynı hammaddeden sıkma (ezme - sıkma - filtreleme) ile elde edilen suyun randımanı %50 oranındadır ve %4,5 oranında kuru madde içerir, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %2,25 (p/p) oranındadır.

Bu çerçevede ele alındığında ekstrüzyon teknolojisi daha fazla ve bileşikler, hatta daha fazla biyoaktif bileşik açısından daha zengin bitki suyu elde etmeye olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda örnek 1'e göre elde edilen bitki suyunun flavonoid tenörü %0,26 olurken, aynı bitki ile ve

EP 3 046 429 B1

sıkma yöntemiyle elde edilen bitki suyu tenörü sadece %0,02 olmaktadır. Bu durumda flavonoid tenörünün 10 kat daha fazla olduğu net bir biçimde görülmektedir.

Flavonoid tenörü için sıcak ekstrüzyonun önemini vurgulamak gerekir:

- 5 ortam ısısı daha fazla bileşik çıkarılmasını (dört kat daha fazla flavonoid elde edilir) ve enzimlerle bozulmamış natif moleküller elde edilmesini sağlar.

- 10 Sıkma ile çok çabuk deglikozile olan yulaf saponinleri ailesinden avenakosidler ile de aynı biçimde bir sonuç elde edilmektedir. Natif moleküller sadece termomekanik işlemle elde ediliyor: 120°C ve 200°C'de ekstrüzyonla elde edilen bitki suları 100 gram kuru madde için 89 ve 93 mg aralığında avenakosid (A ve B) ihtiva etmektedir ve bunlar endojen deglikozidaslar ile bozulmamaktadır.

					Flavonoid %'si			
Teknik	Parametreler	Su Rnd.	MS	Rnd MS/ Taze Bitki	MS	/Su	/MF	Avenakosid
Sıkma	Ezme + sıkma ve filtreleme	51	3,78	1,94	0,44	0,02	0,01	Deglikoz avenakosid
Ekstrüzyon	25°C	59,70	7,50	4,47	0,80	0,06	0,04	%0
	120°C	53,13	11	5,84	2,40	0,26	0,15	%89 mg ES
	200°C	48,07	10	4,81	2,30	0,22	0,12	%93 mg ES
Ekstraksiyon H2O	1H reflü			3,10	1,10		0,03	
*: filtrelemeden sonra								

15 Örnek 2:

3,14 kg çözölmüş (2°C'de 18 saat) taze kirpiotu kömeci (Echinacea purpurea (L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin beş adet bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 100°C/100°C/100°C/100°C/60°C'dir.

- 20 Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 25 dakika; 7 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 3 kg su/saat.

EP 3 046 429 B1

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	
48,1	EKSTRÜZYON	%16,20
26,9	DURULAMA	%10,81
25	FİLTRELEME	%10,09

Ekstrüzyondan sonra ele alınan bitki dikkate alındığında %48,1 p/p su elde edilir. Daha sonra %25 nihai randıman oranıyla berrak bir bitki suyu elde etmek maksadıyla durulama ve sterilizan filtreleme etapları gerçekleştirilir. Elde edilen su içinde %10,09 oranında kuru madde mevcuttur, başka bir ifadeyle, çıkarılan kuru madde randımanı yaklaşık %2,5 (p/p) oranında olur.

Bu suyun kafeik asit tenörü aşağıdaki gibidir:

- sikorik asit: %1,7 / kuru madde, %0,17 p/v

- kaftarik asit: %1,21, %0,12 p/v

Bitki suyu çevre ısısında çıkarıldığı zaman sikorik ve kaftarik asit tenörü enzimlerin aksiyonu nedeniyle neredeyse sıfırdır. Taze kömeçlerin sıkılması sonucunda su elde edildiği zaman bu moleküllerin tenör oranı da sıfırdır.

Bu çerçevede sıkma esnasında serbest kalan enzimler (fenol oksidaz) bu molekülleri hızlı bir biçimde okside ederler (Nüsslein B., Kurzmann M., Bauer R., Kreis W. Enzymatic degradation of Cichoric acid in Echinacea purpurea preparations (2000) J. Nat. Prod., 63, s. 1615-1618, R. Bauer Standardization of Echinacea Expressed Juice with Reference to Cichoric Acid and Alkamides, Journal of herbs, Spices & Medicinal Plants Cilt 6, Iss. 3, 1999).

Ekstrüzyon çevre ısısında veya 60°C'den düşük bir ısıda gerçekleştirildiği zaman enzimler inaktive olmazlar ve ilgi moleküllerini bozarlar. Bu örnekte sadece 100°C veya 200°C'de gerçekleştirilen ekstrüzyonlar

EP 3 046 429 B1

herhangi bir bozulma olmadan bitkiden sikorik veya kaftarik asitlerin çıkarılmasına olanak sağlarlar (bkz. özet tablo).

Piyasada mevcut kirpiotu sularının çoğunda bu moleküller yok, sadece dışarıda kalan kuru kısımlardan alkolle elde edilen ekstreler bu aktif bileşikleri ihtiva ederler.

Şunu da belirtmek gerekir ki çözücü olarak sadece bitkide doğal olarak bulunan suyun kullanıldığı ekstrüzyon yönteminde sulu bir ekstraksiyon yöntemine oranla çok daha ilgi bileşiği elde edilir.

					İfade edilen/kuru madde		İfade edilen/kuru madde	
Teknik	Parametreler	Su Rnd.	MS %'si	Rnd MS/ Taze Bitki	Kaftarik Asit	Sikorik Asit	Kaftarik Asit	Sikorik Asit
		%					mg/g	
Sıkma	Ezme ve Sıkma	36	7,21	2,60	0,00	0,00	0	0
Ekstrüzyon	20°C	26,7	8,41	2,24	0,06	0,04	0,014	0,009
	100°C	25,00	10,09	2,72	1,21	1,70	0,33	0,46
	200°C	12,46	12,90	1,61	1,96	3,61	0,33	0,61
Ekstraksiyon Kuru Bitki	Su reflü			4,73	0,22	0,05	0,1	0,023

Örnek 3:

5,11 kg dışarıda kalan kısımlarından çözülmüş (2°C'de 20 saat) Melisa (Melissa officinalis L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C/120°C/120°C/120°C/60°C'dir.

Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 7 dakika; 46 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 29 kg su/saat.

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	%6,5
62,7	EKSTRÜZYON	
49,2	DURULAMA	
48,8	FİLTRELEME	

EP 3 046 429 B1

Bu koşullarda yapılan ekstrüzyon yaklaşık %50 oranında bir randımana sahip olan ve %6,5 kuru madde ihtiva eden bitki suyu elde edilmesini sağlar. Bu madde birçok bileşiğın dışında ayrıca %70 etanol gibi hidro-alkolik karışımları olan ve genelde söz konusu olan rozmarinik asit ihtiva eder. Ekstrüzyonla çıkarılan kuru maddedeki rozmarinik asit tenörü, organik çözücü olmadan, burada %2,4'tür (p/p), başka bir ifadeyle, elde edilen değer %70 etanolle yapılan ekstraksiyonla kıyaslanabilir bir değerdir.

Örnek 4:

4,5 kg taze zencefil kök sapı (Zingiber Officinale Roscoe) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 60°C/60°C/60°C/60°C/60°C'dir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	
58,9	EKSTRÜZYON	
50,83	DURULAMA	
50,8	FİLTRELEME	
		%5,2

(ekstrüzyon etabının toplam süresi: 5 dakika; 54 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 32 kg su/saat.

Örnek 5:

5,32 kg taze zerdeçal kök sapı (Curcuma Longa L.) korotatif iki vidalı ve ortak girişli CLEXTRAL BC45 ekstruderinin birinci bölgesinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C/120°C/120°C/120°C/120°C'dir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir: (ekstrüzyon etabının toplam süresi: 10 dakika; 32 kg bitkinin işlem debisi/saat ve 13 kg su/saat.

EP 3 046 429 B1

MALZEME DURUMU	YÖNTEM	KURU MALZEME
100	TAZE BİTKİ	%7,5
40,6	EKSTRÜZYON	
34,6	DURULAMA	

Elde edilen bitki suyu ekstrüzyonla çıkarılan ve askıda olan lipofil bileşiklerini muhafaza etmek maksadıyla bitki suyu filtreden geçirilmez:

5 kurkumin ve türevleri.

Dozaj (%8,36) elde edilen bitki suyundaki tenörün ne kadar önemli olduğunu gösteriyor. Bu oran piyasada satılan bir suyun kuru maddesi içindeki sudan (zerdeçal suyu ve sitrik asit ihtiva eden %4,52'lik bir oran) daha fazladır.

Teknik Parametreler		Su Rnd.	MS %'si	Zerdeçal (m/v)	Zerdeçal (m/MS)
				%	
Piyasadaki Su	Konjelasyon/ Dekonjelasyon/ DIC*/ Sıkma / Sitrik asitle sıkma		4,01	0,181	4,52
Ekstrüzyon	120° C	34,6	7,5	0,627	8,36
*: Kontrollü enstantane detant					

10

Örnek 6:

20,5 kg dışarıda kalan kısımlardan Sinir otu (Nem oranı %76) korotatif iki vidalı ve ortak girişli Clextral BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birincisinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C'dir.

15 Ekstruder çıkışından %43,8 bitki suyu elde edilir. Yöntem ve malzeme durumu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

YÖNTEM	MALZEME DURUMU	MS (KURU MALZEME)
Çözülmüş Bitki	100	
Ekstrüzyon	45,4	%8,11
Santrifüjleme	42,3	%7,34
Filtreleme AF 15	41,4	
UF 0,3µ	38,4	

EP 3 046 429 B1

Filtreleme AF 140	36,6	%7,11
UF 10kDa		%6,20

Bir ultra filtreleme etabı en iyi organoleptik kalitede usare elde etmeye olarak sağlamaktadır. Bu usare %6,2 kuru madde ihtiva eder. Bu kuru maddede ayrıca ilgi aktifleri olan iridoitler (%1,8) ve fenolik asitler (%0,3) vardır. Bu değerler %30 EtOH hidroalkolik ekstre ile elde edilen değerlere yakın, sulu bir ekstreden ise yüksek değerlerdir. Dolayısıyla burada bir hidroalkolik ekstreye eşdeğer kalitede ve çözücüsüz bir ekstre elde ediyoruz.

10 Örnek 7:

18,8 kg dışarıda kalan kısımlardan *Isırgan otu* (Nem oranı %76) korotatif iki vidalı ve ortak girişli Clextral BC45 ekstruderinin 5 adet bölgesinden birincisinin içine konur. Farklı bölgelere uygulanan ortam ısısı 120°C'dir. Ekstruder çıkışından 9,4 kg bitki suyu elde edilir ve bu da %50 oranında bir randıman demektir.

Santrifüjlemeden sonra %5,7 oranında kuru madde içeren bu bitki suyu pastörizasyondan sonra olduğu gibi kullanılabilir.

Örnek 8: kapsül

20

Örnek 3'e göre liyofilize melisa suyu	200 mg
Amidon	45 mg
Magnezyum stearat	2 mg

25 Örnek 9: Krema

Ağırlık olarak %

Örnek 1'e göre yulaf suyu	%1-5
Tribehenin PEG-20 ester	%2-7

EP 3 046 429 B1

	İzodesil neopentanoat	%2-9
	Gliserin	%0,5-10
	Glikol palmitat	%1-6
	Setil alkol	%0,5-3
5	Disodyum EDTA	%0,05-0,25
	Koruyucu	%0,5-3
	Parfüm	%0,2-0,5
	Ksantan zamk	%0,1-0,4
	Su	%qs

10

15

20

25

İstemler:

1. Taze bitkilerden bitki suyu elde etme yönteminin **belirleyici özelliği**, söz konusu taze bitkilerin termomekanik bir işleme tabi tutularak korotatif ve ortak girişli iki vidalı birinci bölgesinin bulunduğu iki vidalı ekstruder içine sularının çıkarılmasıdır. Bu bölgede endojen enzimlerinin inaktive edilmesine ve ilgi bileşikleri moleküllerinin natif formlarıyla muhafaza edilmesine olanak sağlayan termik bir işlem uygulanarak ve çözücü kullanılmadan taze bitkinin öğütülmesi gerçekleşmekte ve sonucunda bitki suyu elde edilmektedir.
2. İstem 1'e göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termik işlemin 60°C ile 300°C, tercihen de 60°C ile 120°C arasında gerçekleşmesidir.
3. İstem 1'e göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termomekanik işleme tabi tutulan taze bitkilerin, dışarıda kalan kısımlarıyla ve/veya toprak altında kalan kısımlarıyla veya dondurulmuş veya çözülmüş halleriyle işleme tabi tutulmalarıdır.
4. 1-3 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, termomekanik işleme tabi tutulan taze bitkilerin Avena sativa, Melilotus officinalis, Tropaeolum majus, Echinaceae sp., Urtica dioica, Plantago sp., Erigeron canadensis, Equisetum arvense, Calendula officinalis, Melissa officinalis, Physalis sp., Vaccinum macrocarpon, Sambucus nigra, Zingiber officinale; Curcuma sp., Betula sp., Mentha sp., Althaea sp., buğdaygiller, Asteraceae ve/veya Labieae.
5. Yukarıdaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, elde edilen bitki suyunun daha sonra bir durulama, filtreleme ve/veya stabilizasyon etabından geçirilmesidir.

6. 1-5 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ekstruderde katı/sıvı ayrımının yapıldığı iki vidalı bir bölgenin olmasıdır.
7. 1-6 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı birinci bölgenin taze bitkinin bulunduğu ekstruderin besleme kısmında bulunmasıdır.
8. İstem 6'ya göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ikinci bölgenin ekstruderin çıkışında bulunmasıdır.
9. 1-8 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ekstruderin en az bir, tercihen de birbirine bitişik birden çok bölgesinin bulunmasıdır.
10. İstem 9'a göre yöntemin **belirleyici özelliği**, farklı bölgelerin ortam ısısına sahip olmaları, başka bir ifadeyle ısıtma ve/veya soğutma sistemlerine ilişkin kumanda ve kontrol unsurlarının bulunmasıdır.
11. 1-10 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, iki vidalı ekstruderin filtreleme görevi gören en az bir bölgesinin bulunmasıdır.
12. İstem 10'a göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ısıtma unsurlarının tercihen birinci bölgede bulunan bir ısıtma kolyesinden oluşmasıdır.
13. 6-12 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ekstruderin birinci bölgesinde besleme, nakliye ve taze bitkilerin öğütülmesine olanak sağlayan mekanik makaslama ve termomekanik işlemin bulunmasının ve bitki suyunun çıkarılmasının yanında sıvı/katı ayırım işleminin ikinci bölgede gerçekleşmesi olarak karşımıza çıkan diğer bir **belirleyici özellik** söz konusudur.
14. 1-13 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, birinci bölge üzerinde sıralı birden çok kaplama bulunması ve

EP 3 046 429 B1

bunların ısılarının 60°C ile 120°C kademeli olarak artan ısı katlarını oluşturmasıdır.

- 5 **15.** 6-14 arasındaki istemlerden birine göre yöntemin **belirleyici özelliği**, ikinci bölgede 30°C ile 120°C arasında kombine ısıya sahip en az bir kaplamanın bulunmasıdır.

10

15

20

25

TARİFNAMEDE ALINTI YAPILAN REFERANSLAR

5 *Başvuru sahibi tarafından alıntı yapılan referansların listesi sadece okuyucuya kolaylık sağlaması amacıyla verilmiş olup, Avrupa patent belgesinin bir parçası değildir. Tasarımında çok büyük özen gösterilmiş olsa da, birtakım hatalar ya da atlamalar yapılmış olabilir ve OEB bu konuda sorumluluk üstlenmemektedir.*

Tarifnamede alıntı yapılan patent belgeleri

- EP 0279984 A
- SU 1669978
- SU 1541071
- SU 1518142
- SU 496193
- SU 3986 103
- EP 906113 A
- WO 2012098167 A
- US 5403613 A
- WO 9733596 A
- WO 20100544879 A

10 Tarifnamede alıntı yapılan patent dışı belgeler

- **DZIEZAK, J. D.** Single and twin-screw extruders in food processing. Food Technol. Nisan 1989, 164-174.
- **N'DIAYE, S.; RIGAL, L.; LAROCQUE, P.; VIDAL, P.F.** Extraction of hemicelluloses from poplar populus tremuloides, using an extruder type twin-screw reactor: A feasibility study. Bioresearch Technology, 1996, cilt 57, 61-67).
- **N'DIAYE, S.; RIGAL, L.** Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicellulose in a twin-screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase. Bioresource Technology, 2000, cilt 75 (1), ss. 13-18)
- **MARECHAL V.; RIGAL L.** Characterization of by-products of sunflower culture - Commercial applications for stalks and heads. Industrial Crops and Products, 1999, cilt 10(3), 185-200.
- **SRITI J.; TALOU T.; FAYE M.; VILAREM G.; MARZOUK B.** Oil extraction from coriander fruits by extrusion and comparison with solvent extraction processes. Industrial Crops and Products, 2011, cilt 33, 659-664.
- **WHITE BRITTANY L.; HOWARD LUKE L.; PRIOR RONALD L.** Polyphenolic composition and antioxidant capacity of extruded cranberry pomace. J. Agric. Food Chem. 2010, cilt 58, 4037-4042.
- **KHANAL RC; HOWARD LR; PRIOR RL.** Procyanidin content of grape seed and pomace, and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing. J. Food Sci. 2009, cilt 74, H174-82.
- **MEER,** Juice from Cannabis Plants for Food/Beverage, Feed or Biogas.
- **NÜSSEIN B.; KURZMANN M.; BAUER R.; KREIS W.** Enzymatic dégradation of Cichoric acid in Echinacea purpurea préparations. J. Nat. Prod. 2000, cilt 63, 1615-1618.
- **MORANT A.V.; JORGENSEN K.; JORGENSEN C.; PAQUETTE S.M.; SANCHEZ-PEREZ R.; MOLLER B.L.; BAK S.** β -Glucosidases as detonators of plant chemical defense. Phytochemistry, 2008, cilt 69 (9) 1795-1813.
- **R. BAUER.** Standardization of Echinacea purpurea Expressed Juice with Reference to Cichoric Acid and Alkamides. Journal of herbs, Spices & Medicinal Plants, 1999, cilt 6 (3).