

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



**BÖĞÜRTLEN (*RUBUS L.*) MEYVESİNDEN DERİN ÖTEKTİK
ÇÖZÜCÜLER İLE ANTOSİYANİNLERİN
EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE
SAFLAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Oscar ZANNOU

Danışman
Prof. Dr. İlkay KOCA

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Oscar ZANNOU tarafından, Prof. Dr. İlkey KOCA danışmanlığında hazırlanan “BÖĞÜRTLEN (*RUBUS L.*) MEYVESİNDEN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ANTOSİYANİNLERİN EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE SAFLAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 5.7.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Teziolarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Ordu Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY
... / ... / ...
Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığımı taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır

İmza

.../.../2022

Oscar ZANNOU

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: BÖĞÜRTLEN (*RUBUS L.*) MEYVESİNDEN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ANTOSİYANİNLERİN EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE SAFLAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 30/05/2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 7

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza

.../.../2022

Prof. Dr. İlkey KOCA

ÖZET

BÖĞÜRTLEN (*RUBUS L.*) MEYVESİNDEN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ANTOSİYANİNLERİN EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE SAFLAŞTIRILMASI

Oscar ZANNOU
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Doktora, Haziran/2022
Danışman: Prof. Dr. İlkay KOCA

Doğal derin ötektik çözücüler (NADES'ler), fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan yeni yeşil çözücülerdir. Bu çalışmanın amacı, farklı NADES'lerle böğürtlendenden pigment eldesi ve karakterizasyonudur. Bunun için 16 farklı NADES ve 3 geleneksel çözücü kullanılmıştır. Geleneksel çözücülere göre NADES'lerle daha yüksek toplam fenolik madde, toplam flavonoid, toplam antosiyanin, DPPH serbest radikal giderme etkisi, indirgeme gücü ve metal şelatlama aktivite değerleri elde edilmiştir. NADES'ler, daha yüksek miktarlarda siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozit özü çıkaran daha asidik NADES'lerle birlikte, hedeflenen antosiyaninlerin geri kazanılması için en belirgin çözücülerdi. Kolin klorür-asetik asit (CHAC) toplam antosiyanin, kolin klorür-gliserol (CHGLY) toplam fenolik ve toplam antosiyanin ekstraksiyonu için diğer çözücülerden daha iyi performans sergilemiştir. Bu nedenle CHAC ve CHGLY çözücülerini çalışmanın 2. basamağı olan optimizasyon için seçilmiştir. Bu çözücülerle molar oran (HBA=1: HBD=0.5, 2, 3.5, 5 ve 6.5), su içeriği (10, 20, 30, 40 ve 50%), solvent miktarı (5, 15, 25, 35 ve 45 g) ve ekstraksiyon süresi (5, 15, 25, 35 ve 45 min) değişken olarak seçilip yanıt yüzey metodolojisi, merkezi kompozit tasarımı kullanılarak optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar CHGLY için molar oran, su içeriği, solvent oranı ve ekstraksiyon süresi sırasıyla 1:4.22 molar, %20, 15g ve 15 dakika; CHAC için 1:3.5 molar, %40, 30 ve 15 dakika olarak kaydedilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktlarda stabilite ve biyoyararlılık analizleri yapılmış, ayrıca iki sulu faz tekniği kullanılarak saflaştırma yapılmıştır. Siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür için biyoyararlılık değerleri sırasıyla ağızda %13.17±0.01-21.04±0.72, %22.02±1.38-28.81±1.05, %16.37±0.84-18.51±1.10 ve %25.84±0.31-32.27±0.78; mide ortamında %24.95±0.65-33.54±0.54, %29.17±2.74-33.54±0.54, %10.71±0.00-26.89±0.01 ve %34.16±2.56-42.05±0.17; ince bağırsak ortamındaki %13.19±0.08-18.12±0.21, %26.06±0.20-33.56±0.05 ve %20.63±0.07-25.96±0.65 aralığında saptanmıştır. Isıl, depolama ve ışık stabilite testleri, antosiyanin bileşiklerinin NADES'ler tarafından iyi korunduğunu göstermiştir. Antosiyaninlerinin sulu iki fazlı sistemle saflaştırılması başarılı olup üst fazda siyanidin-3-glikozit için en yüksek saflık CHAC ve CHGLY'de sırasıyla %68.85±1.05 ve %89.04±3.35 olarak belirlenmiştir. Siyanidin-3-glikoziti sırasıyla siyanidin-3-rutinozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozit izlemiştir.

Anahtar Sözcükler:Böğürtlen, derin ötektik çözücüler, yeşil ekstraksiyon, antosiyaninler, antioksidan aktivite

ABSTRACT

OPTIMIZATION AND PURIFICATION OF ANTHOCYANINS EXTRACTED WITH DEEP EUTECTIC SOLVENTS FROM BLACKBERRY (*RUBUS L.*) FRUIT

Oscar ZANNOU
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Food Engineering
Ph.D., June/2022
Supervisor: Prof. Dr. İlkey KOCA

Natural deep eutectic solvents (NADESs) are new green solvents used for the extraction of phenolic compounds. In this work, an efficient and greener strategy for extracting blackberry anthocyanins using NADESs was investigated. For this purpose, 16 different NADES and 3 traditional solvents were used. NADESs were the most prominent for the recovery of the bioactive compounds and gave the highest antioxidant activities. The more acidic NADESs exhibited the highest quantities of cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, cyanidin chloride and pelargonidin-3-glucoside. CHAC and CHGLY were chosen for the optimization process since CHAC performed better for the extraction of anthocyanin and CHGLY gave better results for the total phenolic and total anthocyanin. Molar ratio (HBA=1: HBD=0.5, 2, 3.5, 5 and 6.5), water content (10, 20, 30, 40 and 50%), solvent ratio (5, 15, 25, 35 and 45 g) and extraction time (5, 15, 25, 35 and 45 min) were chosen as the variables and optimization was carried out using Response Surface Methodology (RSM) by applying the central composite design. The optimum conditions for CHGLY were 1:4.22 molar, 20%, 15g and 15 min for molar ratio, water content, solvent ratio and extraction time, respectively. The optimum conditions for CHAC were 1:3.5 molar, 40%, 30g and 15 min for molar ratio, water content, solvent ratio and extraction time, respectively. The extracts obtained under optimum conditions were subjected to stability tests, bioavailability and purification using the two-aqueous phase technique. The thermal, storage and light stability tests showed that NADESs well protected the anthocyanin compounds. The purity of the examined anthocyanin compounds was greatly high in the top phase, suggesting that the purification process was successful. In the top phase, the highest purity was determined for cyanidin-3-glucoside as $68.85\pm 1.05\%$ and $89.04\pm 3.35\%$ in CHAC and CHGLY, respectively. Cyanidin-3-glucoside was followed by the cyanidin-3-rutinoside, cyanidin chloride and pelargonidin-3-glucoside, respectively.

Keywords: Blackberry, deep eutectic solvents, green extraction, anthocyanins, antioxidant activity

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Değerli hocam Prof. Dr. İlkay KOCA'ya daimi yardımları ve sayısız tavsiyeleri için çok teşekkür ederim. Bana her zaman doğru yolu gösterdiğiniz, deneyimlerinizi paylaştığınız ve tüm dikkatinizi bana verdiğiniz için hepimize teşekkür ederim sevgili hocam.

Gıda Mühendisliği Bölümü'nden arkadaşlarım Dr. Hojjat PASHAZADEH, Dr. Mohamed GHELLAM, Şule BIYIK, Ayşegül ÖZKAN ve Beyza KABA'ya da sonsuz destekleri için ayrıca teşekkür ederim.

Ayrıca Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü ve diğer bölümlerde görev yapan tüm araştırma görevlilerine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Rahmetli anne babama, erkek ve kız kardeşlerime, eşime ve çocuklarıma, ayrıca arkadaşlarıma çalışma yıllarım boyunca bana hep destek oldukları ve sürekli cesaret verdikleri için çok derin şükranlarımı ifade etmeliyim. Sevginiz için sonsuza dek minnettar olacağım.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Ofisi'ne bu projeyi finanse ettiği için teşekkür ederim (Proje No: PYO. MUH.1904.20.010).

Haziran 2022, Samsun

Oscar ZANNOU

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Böğürtlen (<i>Rubus</i> L)	5
2.1.1. Böğürtlen Hakkında Genel Bilgi.....	5
2.1.2. Besleyici Özellikleri.....	7
2.1.2.1. Kimyasal özellikleri	7
2.1.2.2.1. Antosiyaninler.....	10
2.1.2.2.2. Diğer Biyoaktif Bileşikler ve Biyolojik Aktivitesi	13
2.2. Derin ötektik çözücüler.....	16
2.2.1. Derin ötektik çözücüler hakkında genel bilgi	16
2.2.2. DES veya NADES uygulaması.....	16
2.2.3. DES veya NADES kullanarak antosiyaninlerin ekstraksiyonu.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal	29
3.2. Yöntemler	29
3.2.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziksel Ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	29
3.2.1.1. Meyve Ağırlığı.....	29
Rastgele seçilen taze meyveler 0.01 g hassasiyette bir elektronik terazi ile tartılıp meyve ağırlıkları kaydedilmiştir.	29
3.2.1.2. Kilogramdaki Meyve Sayısı.....	29
3.2.1.3. En-Boy Uzunluğunun Belirlenmesi	29
3.2.1.4. Kuru Madde Tayini.....	29
3.2.1.5. Suda Çözünür Katı Madde Miktarının Belirlenmesi	30
3.2.1.6. pH Analizi.....	30
3.2.2. Meyvelerde Şeker, Doğal Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	30
3.2.2.1. Toplam Şeker Miktarı	30
3.2.2.2. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini.....	30
3.2.2.3. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini.....	31
3.2.2.4. Toplam Antosiyanin Miktarının (TAC) Belirlenmesi.....	31
3.2.2.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi	31
3.2.2.6. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	32
3.2.3. NADES Hazırlaması.....	32
3.2.4. NADES'lerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	33
3.2.4.1. Reoloji.....	33
3.2.4.2. pH Tayini	33
3.2.4.3. İletkenlik	33
3.2.4.4. Fourier Dönüştürülmüş Kızılötesi (FTIR) Analizi.....	33
3.2.5. Böğürtlen Pulpundan Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	33
3.2.6. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi.....	33
3.2.6.1. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini.....	33
3.2.6.2. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini.....	34
3.2.6.3. Toplam Antosiyanin (TAC) Miktarının Belirlenmesi.....	34
3.2.6.4. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi	34
3.2.6.5. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	34
3.2.6.6. Fe ²⁺ Şelatlama Aktivitesi (FCA).....	34

3.2.7. Bireysel Antosiyanin Bileşiklerinin Belirlenmesi.....	34
3.2.8. NADES İle Ekstraksiyon İçin Optimizasyon.....	35
3.2.9. Optimum Koşullarından Elde Edilen NADES'lerin Özelliklerinin Belirlenmesi	36
3.2.9.1. Reoloji.....	36
3.2.9.2. pH Tayini	36
3.2.9.3. İletkenlik	36
3.2.10. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	36
3.2.10.1. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UAE).....	36
3.2.10.2. Homojenizasyon Destekli Ekstraksiyon (HAE).....	37
3.2.10.3. Karıştırma Destekli (SAE) Ekstraksiyon	37
3.2.10.4. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleriyle Elde Edilen Ekstratlarda Yapılan Analizleri.....	37
3.2.10.4.1. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini.....	37
3.2.10.4.2. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini.....	37
3.2.10.4.3. Toplam Antosiyanin (TAC) Miktarının Belirlenmesi.....	37
3.2.10.4.4. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi.....	38
3.2.10.4.5. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	38
3.2.10.4.6. ABTS Radikalini Giderme Etkisi.....	38
3.2.10.4.7. Bireysel Antosiyanin Bileşiklerin Belirlenmesi	38
3.2.11. Stabilite Testleri	38
3.2.11.1. Isıl Stabilitesi	38
3.2.11.2. Oda Sıcaklığında Depolama Stabilitesi.....	38
3.2.10.3. Oda Sıcaklığında Antosiyaninlerin Işık Stabilitesi	38
3.2.11.4. Degradasyon Kinetiği ve Termodinamik Özelliklerinin Belirlenmesi	39
3.2.12. Biyoyararlılık Testi	40
3.2.13. İki Sulu Faz ile Antosiyaninlerin Ön Saflaştırması.....	41
3.2.14. İstatistiksel Analiz.....	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	43
4.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziksel, Kimyasal Ve Antioksidan Özellikleri	43
4.2. NADES'lerin Fizikokimyasal Özellikleri.....	44
4.2.1. FTIR Spektrumları	44
4.2.2. pH Sonuçları	47
4.2.3. İletkenlik	47
4.2.4. Viskozite	48
4.3. Konvansiyonel Çözücüler ve NADES'ler İle Biyoaktif Bileşiklerin Eldesi	49
4.3.1. Toplam Fenolik Madde (TPC).....	49
4.3.2. Toplam Flavonoid	50
4.3.3. Toplam Antosiyanin.....	51
4.3.4. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	52
4.3.4.1. DPPH Serbest Radikalini Yok Etme Etkisi	52
4.3.4.2. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	53
4.3.4.3. Demir Şelatlama Aktivitesi (FCA)	54
4.3.5. Böğürtlenin Antosiyanin Profilinin Karakterizasyonu.....	54
4.4. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Antosiyanin Ekstraksiyonunun Optimizasyonu.....	57
4.4.1. Modelin Doğrulanması	57
4.4.2. Toplam Antosiyanin Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi	65
4.4.3. Siyanidin- 3-glikozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi	68
4.4.4. Siyanidin-3-rutinozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi.....	70
4.4.5. Pelargonidin-3-glikozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi	74
4.4.6. Siyanidin Klorür Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi	77
4.4.7. Optimum Koşullar ve Sonuçların Validasyonu	80
4.5. Optimum NADES'lerin pH, Viskozite Ve Elektrik İletkenliği.....	80
4.6. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	81
4.7. Optimum Koşullarda Elde Edilen Antosiyaninlerin <i>in vitro</i> Gastrointestinal Sindirimleri	82

4.7.1. Ağız Boşluğunda Biyoyararlılık	83
4.7.2. Mide Ortamında Biyoyararlılık.....	84
4.7.3. Bağırsakta Biyoyararlılık	85
4.8. Isıl Stabilite	86
4.8.1. Antosiyaninlerin Isıl Yolla Bozunma Kinetiği	86
4.8.2. Isıl Stabilite Testinin Termodinamik Özellikleri	95
4.8.2.1. Birinci Dereceden Reaksiyon Sabiti, k	95
4.8.2.2. Aktivasyon Enerjisi (Ea).....	109
4.8.2.3. Gibbs Serbest Enerji Değişimi (ΔG), Entalpi Değişimi (ΔH) Ve Entropi Değişimi (ΔS).....	110
4.9. Depolama Stabilitesi	114
4.10. Antosiyaninlerin Işık Stabilitesi.....	117
4.11. Böğürtlen Antosiyaninlerinin Sulu İki Fazlı Sistemle Saflaştırılması	120
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	123
KAYNAKLAR	126
ÖZ GEÇMİŞ.....	145



SİMGELER VE KISALTMALAR

Ea	: Aktivasyon enerjisi
ΔS	: Aktivasyon entropisi
C _{bot}	: Alt fazdaki konsantrasyonu
AOAC	: Association of Agricultural Chemists
ABTS	: 2,2'-azinobis 3-etil-bezotiazolin 6 sülfonat
C ₀	: Başlangıçtaki antosiyanin
k	: Birinci dereceden reaksiyon hız sabiti
Kc	: Dağılım katsayısı
dak	: Dakika
ISE	: Demir sülfat eşdeğeri
DES	: Derin ötektik çözücü
DDPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
NADES	: Doğal derin ötektik çözücü
FRAP	: Demir indirgeme antioksidan gücü
V	: Ekstrakt hacmi
ECE	: Epikateşin eşdeğeri
me	: Ekstraktın kütlesi
C	: Ekstaktın antosiyanin miktarı
ΔH	: Entalpi
R	: Evrensel gaz sabitini
F	: F değeri
FCA	: Fe ²⁺ Şelatlama aktivitesi
FTIR	: Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
k ₀	: Frekans faktörü
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
Rk	: Geri kazanım
ΔG	: Gibbs serbest enerjisi
g	: Gram
HCl	: Hidroklorik asit
HAE	: Homojenizasyon Destekli Ekstraksiyon
SAE	: Karıştırma destekli ekstraksiyon
kg	: Kilogram

μL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
ε	: Molar absorpsiyon katsayısı
T	: Mutlak sıcaklık
PLG-3-GLU	: Pelargonidin-3-glikozit
nm	: Nanometre
N	: Newton
R^2	: Regresyon katsayısı
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
cm	: Santimetre
s	: Saniye
CYN-3-GLU	: Siyanidin-3-glikozit
CYN-3-RUT	: Siyanidin-3-rutinozit
CGE	: Siyanidin-3-glikozit eşdeğeri
CYN-CHL	: Siyanidin klörür
Bx°	: Suda çözünür katı madde miktarı
t	: Süre
ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
TAC	: Toplam antosiyaninler
TPC	: Toplam fenolik madde
TFC	: Toplam flavonidler
TPTZ	: 2,4,6- tripiridil s-triazin
TE	: Troloks eşdeğeri
UAE	: Ultrason destekli ekstraksiyon
C_{top}	: Üst faz daki konsantrasyonu
$t_{1/2}$: Yarılanma ömrü
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Böğürtlen bitkisinin genel görünüşü.....	6
Şekil 2.2. Antosiyaninlerin genel yapısı (Castañeda-Ovando vd., 2009)	10
Şekil 3.1. Böğürtlen meyvesinin görünüşü	29
Şekil 4.1. NADES'lerin FTIR spektrumları; a) kolin klorür-üre, b) kolin klorür-asitleri, c) kolin klorür-alkoller, d) kolin klorür-şekerler ve e) asitler-şekerler.....	46
Şekil 4.2. Farklı çözücülerle elde edilen böğürtlenin toplam fenolik içeriği	50
Şekil 4. 3. Farklı çözücülerden elde edilen böğürtlenin toplam flavonoid içeriği	51
Şekil 4. 4. Farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların toplam antosiyanin içeriği.....	52
Şekil 4. 5. CHAC, CHCI, CHGLU, CHGLY, TARXYL, MAXYL, LASOR ve CIXYL'nin antosiyanin ekstraksiyon güvenilirliğini gösteren FTIR spektrumları	57
Şekil 4. 6. CHGLY ile elde edilen TAC üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	66
Şekil 4. 7. CHAC ile elde edilen TAC üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	67
Şekil 4. 8. CHGLY ile elde edilen siyanidin-3-glikozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri.....	69
Şekil 4. 9. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-glikozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri.....	70
Şekil 4. 10. CHGLY ile elde edilen siyanidin-3-rutinozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	72
Şekil 4. 11. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-rutinozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	73
Şekil 4. 12. CHGLY ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	75
Şekil 4. 13. CHAC ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri	76
Şekil 4. 14. CHGLY ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri.....	78
Şekil 4. 15. CHAC ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri.....	79
Şekil 4. 16. Siyanidin-3-glikozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt	88
Şekil 4. 17. Siyanidin-3-rutinozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt	90
Şekil 4. 18. Pelargonidin-3-glikozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt	92
Şekil 4. 19. Siyanidin kloritinin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt	94
Şekil 4. 20. Depolama süresince CYN-3-GLU konsantrasyonundaki değişim	115
Şekil 4. 21. Depolama süresince CYN-3-RUT konsantrasyonundaki değişim.....	115
Şekil 4. 22. Depolama süresince PLG-3-GLU konsantrasyonundaki değişim	115

Şekil 4. 23. Depolama süresince CYN-CHL konsantrasyonundaki değişim.....	116
Şekil 4. 24. Farklı solventlerle elde edilen CYN-3-GLU'in ışık stabilite grafiği.....	118
Şekil 4. 25. Farklı solventlerle elde edilen CYN-3-RUT'in ışık stabilite grafiği.....	119
Şekil 4. 26. Farklı solventlerle elde edilen PLG-3-GLU'in ışık stabilite grafiği.....	119
Şekil 4. 27. Farklı solventlerle elde edilen CYN-CHL'in ışık stabilite grafiği	119



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2. 1. Doğal olarak oluşan antosiyanidinlerin yapıları (Andersen, 2001; Castañeda-Ovando vd., 2009).....	11
Tablo 2. 2. Suya kıyasla çeşitli NADES'lerden sağlanan pektin verimi (Elgharbawy vd., 2019).....	18
Tablo 2. 3. Bitkisel kaynaklardan antosiyanin ekstraksiyonunda kullanılan DES'ler.....	27
Tablo 3. 1. NADES'lerin bileşimleri, molar oranı ve kısaltmaları.....	32
Tablo 3. 2. Bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlu değerleri.....	35
Tablo 4. 1. Böğürtlen meyvelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	43
Tablo 4. 2. Böğürtlen meyvelerinin antioksidan özellikleri.....	44
Tablo 4. 3. NADES'lerin fizikokimyasal özellikleri.....	47
Tablo 4. 4. NADES'lerden ve geleneksel çözücülerden elde edilen böğürtlen ekstraktlarının antioksidan özellikleri.....	53
Tablo 4. 5. NADES'lerden ve geleneksel çözücülerden elde edilen böğürtlenin antosiyanin bileşimleri.....	55
Tablo 4. 6. CHGLY için bağımsız faktörler ve deneysel sonuçlar.....	58
Tablo 4. 7. CHAC için bağımsız faktörler ve deneysel sonuçlar.....	59
Tablo 4. 8. CHGLY için ANOVA sonuçları (X_1 : Molar oran, X_2 : Su içeriği, X_3 : Solvent oranı, X_4 : Süre).....	61
Tablo 4. 9. CHAC için ANOVA sonuçları (X_1 : Molar oran, X_2 : Su içeriği, X_3 : Solvent oranı, X_4 : Süre).....	63
Tablo 4. 10. Optimum koşullarda elde edilen NADES'lerin pH, viskozite ve elektrik iletkenliği.....	81
Tablo 4. 11. Böğürtlenden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların özellikleri.....	82
Tablo 4. 12. Böğürtlen antosiyaninlerinin sindirim sisteminde biyoyararlılığı.....	84
Tablo 4. 13. CHGLY ve GLYW çözeltileriyle ekstrakte edilen antosiyaninlerin termodinamik özellikleri.....	96
Tablo 4. 14. CHAC, ACW ve sulu çözeltileriyle ekstrakte edilen antosiyaninlerin termodinamik özellikleri.....	103
Tablo 4. 15. Farklı çözücülerde bireysel antosiyaninlerin depolama hız sabiti ve yarılanma süresi.....	116
Tablo 4. 16. NADES'lerle ekstrakte edilen antosiyaninlerin ışık stabilitesine ait hız sabitleri ile yarılanma ömürleri.....	119
Tablo 4. 17. Sulu İki faz sistemle saflaştırılan ekstraktların ayırma katsayısı, saflık ve geri kazanımları.....	121

1. GİRİŞ

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin çoğu, uzun ekstraksiyon süresi, yüksek miktarda organik çözücü tüketimi ve ısıl bozulmaya yol açma gibi birçok dezavantaja sahiptir (Azmir vd., 2013). Polifenollerin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan birçok organik çözücü, uçucu, patlayıcı ve toksik olup çevre kirliliğine yol açmaktadır (Chemat vd., 2012). Bu nedenle, geleneksel organik çözücülere alternatif olarak düşük toksisite ve maliyete sahip çevre dostu çözücülerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir (El Kantar vd., 2019). Günümüzde sürdürülebilir ve yeşil teknolojiler, sayısız avantaja sahip olmaları nedeniyle kimya da dahil olmak üzere doğa bilimlerinde kilit konular haline gelmiştir (Clarke vd., 2018). Yeşil kimyanın temel hedefi, yenilenebilir kaynakları elde ederken enerji tüketimini azaltmak, kimyasal işlemler için tehlikeli maddelerin kullanımının ve üretiminin azaltılmasını sağlamaktır (Wei vd., 2015). Diğer ifadeyle yeşil kimya, çevresel etkileri azaltmayı, güvenliği artırmayı, maliyeti en aza indirmeyi ve sağlığı korumayı amaçlamaktadır. İyonik sıvılar (IL'ler), süperkritik akışkanlar, sıvı polimerler, biyokütle bazlı sıvılar ve derin ötektik çözücüler (DES'ler) yeşil çözücülerin başlıcalarıdır. IL'lerin toksisitesi, daha az biyobozunurluğu, yüksek maliyeti ve saflık şartı kullanımlarını büyük ölçüde sınırlamaktadır (Romero vd., 2008; Wei vd., 2015). DES'lerin, antioksidan özellikteki fitokimyasalların ekstraksiyonu için geleneksel ve diğer yeşil çözücülere belirgin üstünlüğü vardır (López vd., 2020; Paradiso vd., 2019, 2016; Wei vd., 2015).

DES'ler, hidrojen bağı donörü (HBD) ve hidrojen bağı alıcısı (HBA) içeren iki veya daha fazla bileşenin karışımından oluşur ve hidrojen bağı ile supramoleküler bir yapı oluşturulmasından kaynaklanmaktadır (López vd., 2020). DES'lerin erime noktaları her iki bileşenden daha düşüktür (Martins vd., 2019; Wei vd., 2015). Kolay hazırlanabilir, doğal, yenilenebilir, toksik olmayan ve nispeten ucuz bileşenlerin karışımlarıdır (Cunha ve Fernandes, 2018; El Kantar vd., 2019). Ayrıca ısıl ve kimyasal kararlılık, yüksek çözünürlük, düşük uçuculuk, biyobozunurluk, düşük buhar basıncı, esneklik, güçlü biyouyumluluk ve tasarlanabilirlik ile karakterize edilirler (Chakroun vd., 2019; Skarpalezos ve Detsi, 2019). Son zamanlarda DES'ler, biyotoksik metal tespiti (da Silva et vd., 2020a; Perna vd., 2020), biyodizelin metal işleme ve saflaştırılması (Smith vd., 2014), nanopartiküllerin stabilizasyonu (Iqbal vd., 2020), çevresel kirleticilerin yok edilmesi ve azeotropaların ayrılması (Kussainova

ve Shah, 2020; Pena-Pereira ve Namiešnik, 2014; Shi vd., 2020), polar organometalik kimya (Perna vd., 2020) ve biyokataliz bileşiklerin izolasyonu ve fraksiyonlanması (Chen vd., 2020; Hong vd., 2020; Tan vd., 2018; Wang vd., 2020; Zhou vd., 2018; Zuo vd., 2018) ve kapsüllemenin kolaylaştırılması (Di Pietro vd., 2019; Mano vd., 2017, 2015) olmak üzere birçok alanda uygulama bulmuştur. DES'ler polifenollerin ekstraksiyonunda da kullanılmaya başlanmış, geleneksel çözücülerden daha yüksek verim sağlanmıştır. Algler (Saha vd., 2019), zeytin üretim atık ve yaprakları (Athanasiadis vd., 2018; Buldo vd., 2019; Chakroun vd., 2019), soğan kabukları (Pal ve Jadeja, 2020), bezelye kapçıkları (Wei vd., 2015), biberiye (Barbieri vd., 2020), üzüm kabuğu (Cvjetko Bubalo vd., 2016) ve fıstık (Balaraman vd., 2020) polifenollerinin ekstraksiyonu ve tespitinde başarıyla kullanılmıştır. DES'lerin polifenollerin ekstraksiyonu için uygunluğuna rağmen, yüksek viskoziteleri, uygulamada ve verimde ciddi bir sorun haline gelmiştir.

DES'lerin yüksek viskozitesi, bu çözücülerin akışkanlığı, bir miktar su ilave edilerek arttırılabilse de endüstride uygulanmaları için ciddi engeller oluşturmaktadır (López vd., 2020). Bunu aşmak için, hidrofilik DES'ler geliştirilmiş ve suyun yapıları ve özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Dai vd., 2015; Li vd., 2020; Liu vd., 2019; Saha vd., 2019). Polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için mol oranı veya yüzde olarak çeşitli su içerikleri önerilmiştir. Buna göre, Cvjetko Bubalo vd. (2016), üzüm kabuğu polifenollerinin ekstraksiyonu için kolin klorür: okzalik asit (1:1) içindeki su içeriğinin %25 olmasını umut verici DES şeklinde bildirmişlerdir. Portakal kabuğu ve biberiyeden polifenollerin ekstraksiyonu için kolin klorür: etilen glikol (1:4), kolin klorür: gliserol (2:1), kolin klorür: laktik asit (3:1) ve kolin klorür: 1,2-propandiol (2:1) DES'leri içindeki su içeriği % 10 olarak önerilirken (Barbieri vd., 2020; Ozturk vd., 2018), bezelye polifenollerinde kolin klorür: maltoz (1:2) için % 20 su önerilmiştir (Wei vd., 2015). Ayrıca, fitokimyasal izolasyonu için gliserol: glisin: su (7:1:3) (Athanasiadis vd., 2018), kolin klorür: üre: su (1: 2: 4) (Pal ve Jadeja, 2020), ksilitol: kolin klorür: su (1:2:3) ve sitrik asit: kolin klorür: su (1:1:6) (López vd., 2020) molar oranındaki DES'ler ön plana çıkmıştır.

Rubus L. veya böğürtlen, Rosaceae'nin en yaygın türlerinden biridir. Böğürtlen, genellikle dik, sürüngen, çok yıllık, yaprak döken, dikenli, hızla 3 m'ye kadar büyüeyebilen kemerli gövdeye sahip çalı tipi bir bitkidir. Hoş lezzeti ve üstün besin profili nedeniyle global olarak ticareti yapılan meyvelere sahiptir (Zia-Ul-Haq vd.,

2014). Bitkiler genellikle iki yıllık sap veya baston olarak adlandırılan yarı odunsu yapıdadırlar. Böğürtlenin kökeninin Ermenistan'a dayandığı düşünülmektedir. Oradan tüm dünyaya, özellikle Avrupa, Asya, Okyanusya ve Kuzey ve Güney Amerika'ya yayılmıştır (Swanston-Flat vd., 1990; Hummer vd., 2007). Bu meyveler taze veya reçel, şarap, çay, dondurma, tatlılar, çekirdeksiz jöleler ve unlu mamüller gibi gıda ürünlerine işlenirler. Meyvelerden ekstrakte edilen pigment, pişmiş ürünler, jöleler, sakızlar, meyve şarapları ve içeceklerde doğal bir renklendirici olarak kullanılır (Zia-UI-Haq vd., 2014). Kültüre alınmış böğürtlenlerde meyve ağırlığı (1.5-6.6 g), toplam çözünür katı madde (%8.98- 20.2), pH (3.3-3.6) ve titrasyon asitliği (%1.0-3.1) değişkendir (Cangi ve İslam, 2003; Gercekcioglu vd., 2003;Agaoglu vd., 2007). Böğürtlen meyveleri karbonhidrat, askorbik asit, şeker, karotenoid, protein ve mineral kaynağıdır (Zia-UI-Haq vd., 2014). Böğürtlenlerde tespit edilen ana fitokimyasal bileşiklerin başında, çeşitli fenolik asitler, flavonoidler, tokoferoller ve karotenoidler gelmektedir. Flavonoidler içinde yer alan antosiyanidin, böğürtlenin temel bileşenleri arasındadır.

Antosiyanidin doğal suda çözünür pigmentlerden biridir ve fenolik bileşik olan flavonoidlere aittir (Da-Costa-Rocha vd., 2014). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, pelargonidin, peonidin, siyanidin, malvidin, petunidin ve delphinidin gibi en yaygın antosiyaninlerin, üzüm, ahududu, mor lahana ve böğürtlen gibi meyve ve sebzelerde bulunduğu bildirilmiştir (Clifford, 2000). Bitkiye renk vermesinin yanında, antosiyaninler de bazı sağlık yararlarıyla bağlantılı antioksidan ve biyoaktif özelliklere sahiptir. Anti-diyabetik, anti-enflamatuar ve anti-kanser etkileri gösterirler (Tsuda vd., 2003; Mozaffari-Khosravi vd., 2009). Böğürtlenlerde bulunan ana antosiyaninler, siyanidin-3-glikozit (% 90.72), siyanidin-3-ksilozit (% 3.44), siyanidin-3-malonilglikozit (% 2.97), siyanidin-3-dioksalilglikozit (% 2.04) ve siyanidin-3-sambubiozittir (% 0.84) (Zia-UI-Haq vd., 2014).

Günümüze kadar birçok araştırmacı, geleneksel çözücüler kullanarak böğürtlenden antosiyaninlerin ve polifenollerin ekstraksiyonunu yapmıştır (Sellappan vd., 2002; Fan-Chiang ve Wrolstad, 2005; Wang ve Xu, 2007; Machado vd., 2015). Bu çalışmada, daha önce literatürde yer almayan böğürtlenden (*Rubus L.*) derin ötektik solvent bazlı ultrason destekli polifenollerin ekstraksiyonu hedeflenmiştir. Bunun için 16 doğal hidrofilik derin ötektik çözücü (NADES) hazırlanmıştır. Kolin klorür, hidrojen bağı alıcısı (HBA) olarak kullanılırken üre, şekerler (glikoz ve D-

sorbitol), karboksilik asitler (laktik asit, asetik asit, malik asit, sitrik asit ve tartarik asit) ve alkoller (ksilitol, gliserol, bütandiol ve etilen glikol) hidrojen bağı vericileri (HBD) olarak kullanılmıştır. Ayrıca, laktik asit, asetik asit, malik asit, sitrik asit ve tartarik asit, hidrojen bağı alıcısı (HBA) olarak kullanılırken ksilitol ve D-sorbitol hidrojen bağı vericileri (HBD) olarak kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak geleneksel çözücü olan etanol, metanol ve saf su seçilmiştir. Yüzey yanıt tasarım metodolojisi ve merkezi kompozit tasarımı kullanılarak antosiyaninlerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum şartlarda 2 farklı NADES ile ekstrakte edilen böğürtlenlerin antosiyaninleri stabilite testlerine tabi tutulmuştur. Ayrıca, antosiyaninlerin *in vitro* sindirimi ve ön saflaştırması araştırılmıştır. Özetle bu çalışmada temel olarak;

- 1- Böğürtlen (*Rubus L.*) meyvesinden doğal ve çevre dostu çözücüler kullanarak pigment ekstraksiyonu,
2. Yüzey yanıt tasarım metodolojisi ve Merkezi kompozit tasarımı kullanılarak NADES'lerle pigment optimizasyonu,
- 3- En verimli NADES'ler ile böğürtlenden elde edilen antosiyaninlerin ısı, ışık ve depolama stabilitesinin araştırılması,
- 4- En verimli NADES'ler ile böğürtlenden elde edilen antosiyaninlerin *in vitro* sindirimi özelliklerinin araştırılması,
- 5- En verimli NADES'lerle böğürtlenden elde edilen antosiyaninlerin iki sulu faz metod kullanarak ön saflaştırması gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Böğürtlen (*Rubus L*)

2.1.1. Böğürtlen Hakkında Genel Bilgi

Rubus spp., Rosaceae'ye ait cinslerden biri olup 740'tan fazla türe sahiptir (Surya vd., 2018). Bu cins içerisinde bulunan 12 adet alt cinsten, Eubatus ve Idaebatus ve bunlara giren türler önem taşımaktadır (Oruç ve Oruç, 2013). Eubatus alt cinsinde yer alan böğürtlen (*Rubus* spp.); Rosales takımının Rosaceae familyasına dahildir (Eyduvan vd., 2008). *Eubatus* alt cinsi taksonomistler tarafından çok farklı sınıflara ayrılmaktadır. Çok karmaşık bu sınıflandırma içinde böğürtlenlerin genel tanımlanmasında *Rubus fruticosus* kullanılmaktadır (Ağaoğlu, 1986).

Rubus cinsi; meyve, süs, istilacı ve orman bitkisi olarak ekonomik ve ekolojik öneme sahiptir. Birçok ülkede *Rubus*'a ait bazı yabancı bitki türleri kültüre alınmıştır (Surya vd., 2018). Bu türlerden en meşhuru, somatik hücre sayısı 21, 28, 35, 42, 56, 63, 70, 77, 84 olan böğürtlendendir (Zia-Ul-Haq vd., 2014).

Lezzetli tadı, hoş aroması ve dengeli besin içeriği nedeniyle dünya çapında aranan bir meyve olan (Zia-Ul-Haq vd., 2014) böğürtlen, Avrupa, Asya, Okyanusya ve Kuzey ve Güney Amerika'ya kadar dağılım göstermekte (Swanston-Flat vd., 1990; Hummer vd., 2007) ve yetiştiriciliğine olan ilgi de gün geçtikçe artmaktadır. Bu artışın sebepleri şu şekilde sıralanmaktadır;

- 1) dünyanın birçok bölgesi için yeni bir mahsuldür,
- 2) kırmızı ahududu ile birçok ortak özelliği vardır, bir bölgede ahududu üretimi geliştikçe onu genellikle böğürtlen takip etmektedir,
- 3) böğürtlenin üretim maliyeti, kırmızı ahududulardan daha azdır ve yeniden dikilmeleri gerekmez ve çok fazla haşere kontrol girdisine ihtiyaç duyulmaz,
- 4) daha iyi sevk edilen, erken olgunlaşan, daha geç olgunlaşan, tadı daha iyi olan, dikensiz vb. farklı özellikte çeşitler geliştirilmiştir,
- 5) böğürtlenin nutrasötik değerine ilişkin artan farkındalıktır (Clark ve Finn, 2008).

Böğürtlen bitkisi (Şekil 2.1), bir sürgün döneminde 3 m'ye kadar hızla büyüeyebilen, kavisli gövdeye sahip, dik, yarı dik veya sürünen tipte, çok yıllık,

yaprak dökken dikenli bir çalıdır. Tipik olarak bienal sap veya baston denilen yarı odunsu yapıya sahiptir. Gövdesi yeşilimsi, morumsu veya kırmızı renklidir (Zia-Ul-Haq vd., 2014).



Şekil 2. 1. Böğürtlen bitkisinin genel görünüşü

Böğürtlenin yaprakları beş parçalı, üst yüzeyi parlak koyu yeşil, alt yüzü ise daha açık renkli olup beyaz tüylerle kaplıdır. En uç yaprakçık geniş, yumurta şeklindedir. Yaprakçıklar genel olarak kalın, dalgalı, kıvrımlı ve dişli görünüştedir. Dikenli böğürtlen çeşitlerinde dikenler, büyüyen bitkinin tırmanmasına yardımcı olmaktadır (Ağaoğlu, 1986).

Böğürtlen çiçeklerinin taç yaprakları beyaz ile pembe arasında renk tonlarına sahiptir. Çiçek üzerinde erkek ve dişi organlar bir arada bulunur. Bir çiçekte yaklaşık 60-90 adet dişi, 60-100 adet erkek organ vardır. Meyveleri parlak, koyu mor ve siyah arasında olup genelde yuvarlağımsı veya yuvarlak şekillidirler. Çeşitlere bağlı olarak uzun konik şeklinde olanlar da vardır (Ağaoğlu, 1986). Böğürtlen türleri üzerinde yapılan pomolojik çalışmalar, meyve ağırlığı, meyve eni ve meyve uzunluğunun sırasıyla 1.80-3.90g, 14.87-16.56 mm ve 18.12-21.21 mm arasında değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır (Çolak, 2018). Meyve ağırlığı da 1 ile 4 g arasında değişmektedir (Eyduran vd., 2010).

Böğürtlenin anavatanıyla ilgili bilgiler farklıdır. Bazı araştırmacılar anavatanının Ermenistan olduğunu bildirirken (Zia-Ul-Haq vd., 2014), bazıları Güney, Batı ve Orta Avrupa şeklinde bildirmiştir (Oruç ve Oruç, 2013).

Böğürtlenler, Avrupa ve Kuzey Amerika böğürtlenleri şeklinde iki büyük gruba ayrılmaktadır. Avrupa böğürtlenleri *Coryli* ve *Moriferi folii* olarak iki seksiyona ayrılır. Günümüzde *Rubus bollei*, *Rubus ulmi*, *Rubus fulius*, *Rubus tomentosus* ve *Rubus moschus* olmak üzere beş diploit tür bulunur. Kuzey Amerika böğürtlenleri de 4 ana gruba ayrılır: 1- Eldorado ve Early Harvest çeşitlerinin bulunduğu dik ve yarı dik karakterli doğu grubu, 2- Procumbentes sürünücü doğu böğürtlenleri veya daha çok Lucretia benzeri Dewberry'ler, 3- Triviales, sürünücü güneydoğu böğürtlenleri veya Manatee'nin dahil olduğu Güney Dewberry'ler, 4- Ursuni, Kuzey Amerika Pasifik Sahili sürünücü böğürtlenler grubu ki Loganberry grubunu oluşturur (Gerçekcioğlu, 1996).

Böğürtlen, taze olarak tüketilmekte veya reçel, şarap, çay, dondurma, tatlılar, jöleler ve unlu mamüller gibi gıdalara işlenmektedir. Meyvelerden elde edilen pigmentler, fırınlanmış ürünlerde, jölelerde, sakızlarda, meyve şaraplarında ve içeceklerde doğal renklendirici olarak kullanılmaktadır (Zia-Ul-Haq vd., 2014).

2.1.2. Besleyici Özellikleri

2.1.2.1. Kimyasal özellikleri

Böğürtlen, karbonhidratlar, organik asitler, mineraller ve vitaminlerce zengin meyveler olup bileşimi çeşide, yetiştirme koşullarına, olgunluk aşamasına, hasat ve muhafaza koşullarına göre değişkenlik göstermektedir (Kaume vd., 2012; Zia-Ul-Haq vd., 2014). Günümüze kadar yapılan çalışmalara göre toplam çözünür katı madde (%8.98-20.2), pH (3.3-3.6) ve toplam asitlik (%1.0-3.1) değerlerini birbirinden çok farklı bulunmuştur (Cangi ve İslam, 2003; Gerçekcioğlu vd., 2003). Çolak (2018), 5 yıl boyunca bileşimini izlediği Jumbo çeşidinde toplam çözünür katı madde, pH ve toplam asitlik değerlerini sırasıyla %9.50-10.80, 3.34-3.69 ve %2.05-2.42 olarak saptamıştır. Altuntaş ve Pırlak (2020), toplam çözünür katı madde, pH ve toplam asitliği Jumbo çeşidinde %16.03, 3.71 ve %0.60, Chester çeşidinde %14.20, 3.57 ve %0.38, Arphe'de %17.13, 3.93 ve %0.33, Boata çeşidinde ise %16.53, 3.90 ve %0.34 olarak bildirmişlerdir. Ağlar vd. (2021), Kelkit Vadisi'nde doğal olarak

yetişen böğürtlenin çözünür katı madde içeriğini %9.2 ve toplam asitliğini ise %1.34 olarak belirlemişlerdir.

Siriwoharn vd. (2006), böğürtlende kuru ağırlık bazında %6.69 protein belirlemişlerdir. Stajcic vd. (2012), Čačanska bestrna ve Thornfree böğürtlenlerinin kimyasal bileşimini araştırmışlar ve toplam çözünür katı madde, kül, selüloz, pektin, pektik asit, protopektin, toplam asitlik, toplam şeker, indirgen şeker, sakaroz, proteini sırasıyla 11.96-15.57 g/100g, 0.29-0.41 g/100g, 2.20-2.97 g/100g, 0.29-0.30g/100g, 0.07-0.14g/100g, 0.15-0.17g/100g, 1.36-1.39g/100g, 5.36-5.98g/100g, 1.32-1.46g/100g, 3.71-4.43 g/100g ve 1.40-1.49 g/100 g arasında saptamışlardır. Aynı şekilde, de Souza vd. (2014), böğürtlenin nem, protein, lipid, karbonhidrat, besinsel lif, kül ve enerji değerini sırasıyla 87.92 g/100g, 1.27 g/100g, 0.42 g/100g, 10.18 g/100g, 4.47 g/100g, 0.21g/100g ve 49.57 kCal olarak belirlemişlerdir. Moraes vd. (2020), farklı böğürtlen çeşitlerinde karbonhidrat, nem, toplam lif, çözünür lif, çözünmeyen lif, protein, lipid ve kül değerlerini sırasıyla 7.50-11.60 g/100g, 85.80-90.30 g/100g, 4.90-7.10 g/100g, 0.50-3.10 g/100g, 3.90-5.40 g/100g, 1.00-1.49 g/100g, 0.35-1.00 g/100g ve 0.22-0.49 g/100g olarak bildirmişlerdir. Kafkas vd. (2006), Navaho, C. Thornless, Jumbo, Bursa 2 ve Loch Ness böğürtlen genotipleri için toplam şeker değerlerini sırasıyla 62.50 mg/g, 43.60 mg/g, 43.50 mg/g, 38.20 mg/g ve 52.50 mg/g olarak bulmuşlardır. Benzer şekilde, de Souza vd. (2014), Brezilya böğürtlenlerinde toplam şekeri 44.70 mg/g olarak belirlemişlerdir. Böğürtlenin başlıca şekerleri fruktoz, glikoz ve sakarozdur ve bunların oranları çeşitler arasında farklılık göstermekle birlikte sırasıyla 8.84-33.80 mg/g, 1.48-26.10 mg/g ve 1.20-44.39 mg/g olarak bildirilmiştir (Kafkas vd., 2006; Sensoy vd., 2015). Meyve açık kırmızıdan koyu mavimsi mor aşamalara kadar olgunlaştıkça, glikoz, fruktoz, toplam şekerler ve toplam çözünür katı madde belirgin şekilde artmaktadır (Kaume vd., 2012).

Böğürtlen yetiştiği yere, genotipe bağlı olarak malik asit, sitrik asit gibi ve çeşitli fenolik asitler içermektedir. Kafkas vd. (2006), farklı böğürtlen çeşitlerinde malik asit miktarını 0.60-11.00 mg/g olarak belirlemişlerdir. Sensoy vd. (2015) ise böğürtlen baskın organik asitin sitrik asit (5.69 ile 12.02 g/kg) olduğunu, bunu malik asit (1.41 ile 6.35 g/kg), süksinik asit (1.23-3.28 g/kg), okzalik asit (0.05-0.19 g/kg) ve fumarik asit (0.01-0.07 g/kg) izlediğini bildirmişlerdir. Fan-Chiang ve Wrolstad (2010), 52 böğürtlen örneğinde uçucu olmayan organik asitleri, 280

mg/100g malik asit; 293 mg/100g laktoizositrik asit; 599 mg/100 g izositrik asit ve 572 mg/100 g sitrik asit olarak belirlemişlerdir. Ayrıca eser miktarda şikimik, fumarik ve süksinik asit tespit etmişlerdir. Böğürtlenin ekşiliği, askorbik asit, sitrik asit, izositrik asit, laktoisositrik asit, malik asit, şikimik asit, fumarik asit ve süksinik asit dahil olmak üzere uçucu olmayan organik asitlerden kaynaklanır. Laktoizositrik asit, böğürtlen için ayırıcı bir organik asit belirteçidir (Lee, 2017). Pantelidis vd. (2007), Yunanistan'dan toplanan 17 çeşit böğürtlenin C vitamini içeriğini 14.30-103.30 mg/100g aralığında bulmuşlardır. Altuntaş ve Pırlak (2020), çeşitli böğürtlen türlerinde C vitamini 24.98-26.67 mg/100g aralığında bildirirlerken; Ağlar vd. (2021), Kelkit Vadisi'nde doğal olarak yetişen böğürtlende C vitamini 20.1 mg/100g olarak belirlemişlerdir. De Souza vd. (2014), Brezilya'da yetişen böğürtlende C vitaminini 52.41 mg/100g olarak bildirmişlerdir.

Böğürtlende bulunan organik asitler, antosiyaninleri ve askorbik asidi stabilize etmek, taze ve işlenmiş meyvelerin raf ömrünü uzatmak için önemlidir. Meyvelerdeki organik ve fenolik asit oranındaki denge, meyve kalitesinin genel indeksi için değerlendirilirken, düşük pH, düşük kalitenin bir göstergesi olarak kabul edilir. Meyveler için bir diğer önemli kalite indeksi toplam çözünür katıların toplam titre edilebilir asitliğe oranıdır. Bu oran böğürtlenlerde meyve olgunlaştıkça yükselir, şekerlerdeki büyük artışı ve inorganik asitleri azaltır (Kaume vd., 2012).

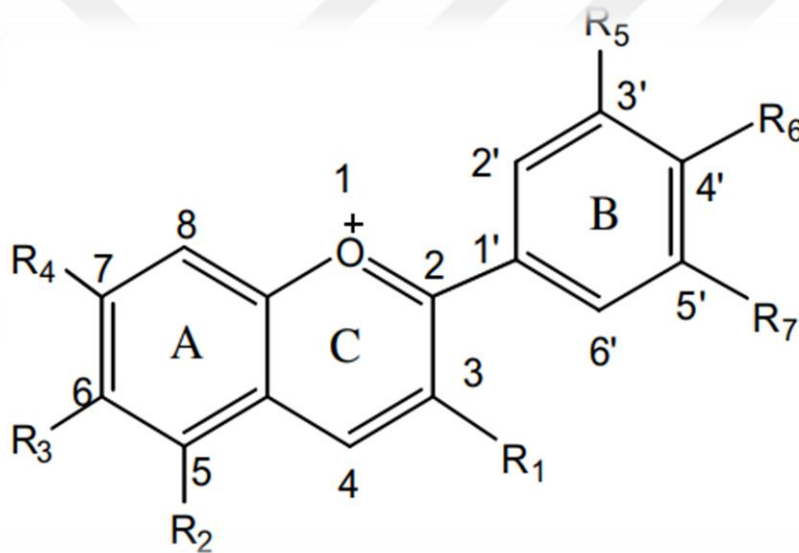
Guedes vd. (2013), 10 böğürtlen çeşidinin fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), çinko (Zn), mangan (Mn), bakır (Cu) ve demir (Fe) gibi mineral madde içeriklerini sırasıyla ortalama 16.94 mg/100g, 129.80 mg/100g, 16.26 mg/100g, 15.95 mg/100g, 0.10 mg/100g, 0.87 mg/100g, 0.23 mg/100g ve 2.44 mg/100g bulmuşlardır. De Souza vd. (2014), P, K, Ca, Mg, Zn ve Fe değerlerini sırasıyla 7.25 mg/100g, 79.73 mg/100g, 7.25 mg/100g, 15.70 mg/100g, 0.20 mg/100g ve 1.28 mg/100g olarak bulmuşlardır. Moraes vd. (2021), dört Brezilya böğürtlen çeşidinin mineral profilini incelemişler ve böğürtlende Al, Ba, Ca, Cu, Fe, Cr, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Sr ve Zn elementlerinin mikromineraler, K, Ca, Mg ve Na'nın ise makromineraler olduğunu bildirmişlerdir.

2.1.2.2. Fitokimyasal Özelliği

Böğürtlende bulunan başlıca fitokimyasallar fenolik asitler, flavonoidler, tokoferoller, karotenoidlerdir. Burada fenolik bileşikler kısaca incelenmiştir.

2.1.2.2.1. Antosiyaninler

Flavonoidlerin alt grubuna dahil olan antosiyaninler, böğürtlenin temel bileşenleridir. Antosiyaninler (Yunanca anthos, çiçek ve Yunanca kyanos, mavi), orijinal olarak peygamber çiçeğinin (*Centaurea cyanus*) mavi pigmentini tanımlamak için kullanılmış bir terimdir (Stract ve Wray, 1989). Doğada günümüze kadar yaklaşık 500 farklı antosiyanin saptanmış olup (Stract ve Wray, 1989; Andersen ve Jordheim, 2006; Da-Costa-Rocha vd., 2014), taç yaprakları, meyveler, yapraklar ve köklere kırmızıdan mora kadar değişik renk veren, suda çözünür pigmentlerdir (Stract ve Wray, 1989; Da-Costa-Rocha vd., 2014). Antosiyaninler (Şekil 2.2), bir aglikon (antosiyanidin), şeker/şekerler ve çoğu durumda açıl gruplardan oluşur (Andersen, 2001).



Şekil 2. 2. Antosiyaninlerin genel yapısı (Castañeda-Ovando vd., 2009)

Antosiyanidinler, oksijen içeren bir heterosiklik halkaya [C] bağlı bir aromatik halkadan [A] oluşur ve bu halka da bir C-C bağıyla üçüncü bir aromatik halkaya [B] bağlanır (Konczak ve Zhang, 2004). Pelargonidin, peonidin, delfinidin, petunidin, malvidin, aurantinidin, 6-hidroksisiyanidin, 6-hidroksidelfinidin, apigenidin, luteolinidin, trisetinidin, 5-metilsiyandin, rosinidin, pulchellidin, europinidin, capensinidin, hirsutidin ve ricciniodin A tanımlanmış yaygın monomerik antosiyanidinlerdendir (Tablo 2.1) (Andersen, 2001).

Tablo 2. 1. Doğal olarak oluşan antosiyanidinlerin yapıları (Andersen, 2001; Castañeda-Ovando vd., 2009)

No	Antosiyanidin	İkame						
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
1	Pelargonidin (Pg)*	OH	OH	H	OH	H	OH	H
2	Siyanidin (Cy)*	OH	OH	H	OH	OH	OH	H
3	Peonidin (Pn)*	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H
4	Delfinidin (Dp)*	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
5	Petunidin (Pt)*	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH
6	Malvidin (Mv)*	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe
7	Aurantininidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H
8	6-Hidroksisiyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH
9	6-Hidroksi delfinidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH
10	6-Hidroksipelargonidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H
11	Apigenininidin	H	OH	H	OH	H	OH	H
12	Luteolinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	H
13	Tricetinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH
14	5-Metilsiyamidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H
15	Rosinidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H
16	Pulchellidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH
17	Europininidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH
18	Capensininidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe
19	Hirsutidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe
20	Ricciniodin A	OH	H	OH	OH	H	OH	H
21	Carajurin	H	H	OH	OH	H	Ome	OMe
22	Arrabidin	H	H	OH	OH	H	OH	OMe
23	3'-Hidroksiarabidin	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe

Antosiyaninlerin stabilitesi pH, depolama sıcaklığı, kimyasal yapı, konsantrasyon, ışık, oksijen, çözücüler, enzimlerin varlığı, flavonoidler, proteinler ve metalik iyonları gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişir (Rein, 2005).

Renk verme özelliği dışında antosiyaninler, anti-diyabetik, anti-inflamatuar ve anti-kanser etkileri gibi biyoaktif özelliklere sahip olup sağlık üzerine yararlı antioksidan bileşiklerdir (Tsuda vd., 2003; Mozaffari-Khosravi vd., 2009; Yang vd., 2010).

Böğürtlen antosiyaninlerinin yaklaşık %94'ü açillenmemiş formda bulunur ve bunların %90'ı monoglikozitler, %10'u diglikozitler şeklindedir. Böğürtlen antosiyaninleri, genel olarak C3'e glikoz, rutinoz, ksiloz ve arabinoz eklenmesiyle oluşan siyanidin türevleridir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, böğürtlen antosiyaninlerinin siyanidin 3-glikozit, siyanidin 3-galaktozit, siyanidin 3-ksilozit, siyanidin 3-dioksalil-glikozit, siyanidin 3-rutinozit, siyanidin 3-soforozit, siyanidin 3-glikozil rutinozit, siyanidin 3-arabinosid, malvidin 3-arabinozit, malvidin 3-arabinozit, pelargonidin 3-glikozit, siyanidin 3-(3-malonil) glikozit ve siyanidin 3-(6-malonil) glikozitten oluştuğu bildirilmiştir. Bir zwitteriyonik antosiyanin olan siyanidin 3-dioksaloilglikozit ise böğürtlene özgüdür. Yapılan çalışmalar,

böğürtlenin antosiyanin profilinin çeşit, çevre koşulları, yetiştirme alanı, olgunluk derecesi ve işlemedeki farklılıklara bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (Kaume vd., 2012).

Antosiyaninler böğürtlen olgunlaşması sırasında sentezlenir ve bu da koyu mavimsi mor bir rengin oluşmasına neden olur. Görsel renk değişimine paralel olarak, meyve pembe/açık kırmızıdan koyu mavimsi mor aşamalara kadar olgunlaştıkça toplam antosiyaninler belirgin şekilde artar (Kaume vd., 2012). Bu konuda çalışma yapan Rutz vd. (2012) olgunlaşmamış böğürtlende 30.62 mg/100g antosiyanin saptarken, orta olgunlukta 87.51 mg/100g, olgunlarda ise 104.57 mg/100g saptamışlardır. Zielinski vd. (2015), Brezilya böğürtleninin antosiyanin içeriğinin olgunlaşmayla birlikte 4.19 mg/100g'dan 205.75 mg/100g'a değiştiğini belirlemişlerdir. Cho vd. (2004), 6 farklı böğürtlen genotipinde toplam antosiyanin içeriğini 114.4 ile 241.5 mg/100g arasında bulmuşlardır. Cuevas-Rodriguez vd. (2010a), yabani ve kültüre alınmış Meksika böğürtlenlerindeki antosiyanin içeriğinin 3.40 ile 9.20 mg/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Böğürtlenlerde genetik farklılıklar nedeniyle siyanidin türevleri de değişebilmektedir (Kaume vd., 2012). Cho vd. (2004), 6 böğürtlen genotipinde siyanidin aglikon dağılımını siyanidin 3-glikozit (%75-84), siyanidin 3-rutinozit (%1-12), siyanidin 3-dioksaloyglikozit (%4-8), siyanidin 3-dioksaloilglikozit (%3-8) ve siyanidin 3-(malonil)glikozit (%2-3) olarak belirlemişlerdir. Fan-Chiang ve Wrolstad (2005), 51 böğürtlen çeşidinin antosiyanin profilini; siyanidin 3-glikozit (%44-55), siyanidin 3-rutinozit (iz miktardan-%53'e kadar), siyanidin 3-ksilozit (%0-11), siyanidin 3-(malonil)glikozit (iz miktardan-%5'e kadar) ve siyanidin 3-dioksaloilglikozit (%0-15) olarak saptamışlardır. Benzer şekilde Cuevas-Rodriguez vd. (2010b), siyanidin 3-O-glikozit (%34.60-79.40), siyanidin 3-O-rutinozit (%5.70-26.70) siyanidin 3-O-arabinozit (%5.70-17.70) ve siyanidin 3-O-(6-Omalonil) glikozit (%6.60-11.30) şeklinde tespit etmişlerdir. Osvaldt Rosales vd. (2021), HPLC-DAD ve LC-MS/MS ile yaptıkları çalışmada, böğürtlenle zenginleştirilmiş ekstrakttaki ana antosiyaninin, böğürtlende bulunan toplam antosiyaninlerin neredeyse %90'ını kapsayan siyanidin-3-O-glikozit olduğunu rapor etmişlerdir.

2.1.2.2.2. Diğer Biyoaktif Bileşikler ve Biyolojik Aktivitesi

Böğürtlen meyvesinin biyoaktif bileşiklerini ve biyolojik aktivitesini saptamak için birçok çalışma yapılmıştır. Biyoaktif bileşenlerinden en önemlisi daha önce de ifade edildiği gibi antosiyaninlerdir. Antosiyaninler dışında da antioksidan aktiviteye etki eden birçok fenolik bileşik bulunmaktadır ki bunlardan en önemlileri ellagitanninler ve fenolik asitlerdir.

Böğürtlende 7 ile 64 mg/100 g arasında değişen miktarda fenolik asitler bulunur. Bu asitler, hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asitlerin ester ve glikozitleri şeklinde, bağlı formda nadiren serbest olarak bulunur. Toplam fenolik asitlerin %53.1'i esterler, %43.6'sı glikozitler ve %3.3'ü serbest asitler şeklinde mevcuttur. Böğürtlende hidroksibenzoik asitlerden p-hidrobenzoik, protokateşik, gallik, vanillik, salisilik ve gentisik asit bulunur. Salisilik asidin glikozidik ve ester formları en yaygın olanlarıdır. Hidroksisinnamik asitlerden ise kafeik, m-kumarik, p-kumarik ve ferulik asit, serbest, ester ve glikozidik formlarda bulunur. m-kumarik, 3,4-dimetoksi sinamik ve hidroksinamik asitlerin ester formları baskındır (Kaume vd., 2012).

Ellagik asit, böğürtlenlerde görülen başlıca fenolik asit olup hidroksibenzoik asitin bir temsilcisidir, daha çok ellagitannin yapısında yer alır (Kaume vd., 2012). Suda çözünürlüğü zayıf olduğu için analiz edilmesi zor bir bileşiktir (Lee, 2017). Siriwoharn vd. (2006), böğürtlendeki ellajik asit içeriğini 0.05-7.41 g/100g olarak belirlemişlerdir.

Ellagitanninler, patojen saldırısından korumak ve erken tohum çimlenmesini engellemek gibi birçok rollere sahiptir. Şarap ve meyve suyu işleme sırasında tortu olarak görülen bu bileşikler bulanıklığa yol açar. İşlem sonrası atık olarak ortaya çıkan bu tortular (yani ellagik asit ve ellagitannin), katma değerli ürünler için gelecekteki potansiyel bileşenlerdir. Böğürtlen ellagitanninleri konusunda yaygın çalışma olmamasına rağmen diğer kaynaklardan edilen bilgilere göre bunlar, bazen algılanamayan lezzetten bazen de acılık ve burukluğa kadar çeşitlilik gösteren etkilere sahiptirler. Ellagitanninler, *Rubus* meyvelerinin tüm fraksiyonlarında bulunursa da en yüksek konsantrasyonlar çekirdek fraksiyonlarındadır. Meyve olgunlaştıkça miktarı önemli ölçüde azalır. Gıda işleme sırasında yüksek sıcaklıkta bozunma (örneğin pastörizasyon), çözültiden çökelme ve ellajik aside hidroliz

yoluyla azalır (Lee, 2017). Ellagitanninler, tanenler içerisinde yer almakta olup hidrolize edilebilir taninlerdir. Tanenler, birçok meyvede bulunan bir grup polifenoller olup oligomerik ve polimerik bileşenleri içerir. Tanenler antinötrisyonel özelliğe sahiptir ve -NH peptid gruplarını çökeltir, midede hidrolizini engeller. Yapılarına göre kondanse tanenler yani proantosiyanidinler ve hidrolize olabilen tanenler yani gallotanenler olarak iki gruba ayrılır. Proantosiyanidinler, flavonoidlerin ve özellikle flavan-3-ollerin oligomerleri ve polimerleridir. Hidrolize edilebilir tanenler ise glikosile edilmiş gallik asitlerdir. Üzüm meyveleri, prosiyanidinler ve propelargonidinler olarak iki ana tip proantosiyanidin içermektedir. Prosiyanidinler ve propelargonidinler, sadece sırasıyla (epi)kateşin ve (epi)afzeleşin birimlerinden oluşur. Hidrolize edilebilir taninler özellikle de çeşitli moleküler ağırlıktaki ellagitanninler, böğürtlende kayda değer miktarlarda bulunur (Kaume vd., 2012). Bu konuda çalışma yapan, Cuevas-Rodriguez vd. (2010a), böğürtlen çeşitlerindeki proantosiyanin içeriğini 118.3 ile 1363.8 mg/g arasında bildirmişlerdir.

Böğürtlende bulunan diğer biyoaktif maddeler karotenoidler ve lignanlardır. Böğürtlende bulunan karotenoidlerin başlıcaları lutein, betakaroten, zeaksantin ve beta kriptoksantindir (Lee, 2017).

Lignanlar, fitoöstrojenler olarak tanınan bifenolik bileşiklerdir ve meme kanseri gibi hormonla ilişkili kanserlerin ve kardiyovasküler hastalık ve osteoporoz gibi diğer durumların önlenmesinde önemli bir rol oynarlar. Böğürtlen, hem secoisolariciresinol (3.72 mg/100g) hem de matairesinol (<0.01 mg/100g) içermektedir. Bu lignanların, bağırsak mikrobiyotası tarafından lignan senterolakton ve enterodiol'e dönüştürüldüğü bilinmektedir (Kaume vd., 2012).

İçerdiği biyoaktif bileşikler özellikle antosiyaninler nedeniyle yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olan böğürtlen, sağlık üzerine yararlı etkiler göstermektedir (Kaume vd., 2012). Bowen-Forbes vd. (2010), böğürtlen ve ahududu meyvelerinin yüksek antosiyanin içeriği nedeniyle antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-kanser özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda, böğürtlen türlerinin iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, ekstraktların çoğunluğunun 50 µg/mL'de %50'nin üzerinde lipid peroksidasyonu inhibe edici, 100 µg/mL'de orta düzeyde COX inhibe edici aktivite (%27.5-33.1) gösterdiğini ve kanser hücresi büyümesini inhibe etme, kolon, meme, akciğer ve mide insan tümör

hücrelerini sırasıyla %50, 24, 54 ve 37 oranında inhibe etme konusunda büyük potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Rutz vd. (2012), olgunlaşma derecesinin böğürtlenin biyoaktif bileşikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmişler ve toplam fenolik madde, toplam karotenoid, toplam tokoferol ve antioksidan aktivite (DPPH) değerlerini 217.91-607.89 mg/100g, 1.42-2.57 µg/g, 0.376-2.448 mg/100g ve 85.95-114.82 mM/100g aralıklarını bulmuşlardır. Aynı çalışmada böğürtlenlerde, gallik asit (75.47-144.30 mg/100g), hidroksibenzoik asit (40.97-62.70 mg/100g), kateşin (19.08-35.65 mg/100g), kafeik asit (1.17-18.75 mg/100g), lutein + zeaksantin (0.230-0.622 µg/g), β-karoten (0.078-0.400 µg/g), α-tokoferol (0.188-1.152 mg/100g), δ-tokoferol (0.094- 0.768 mg/100g) ve γ + β-tokoferol (0.094-0.528 mg/100g) içeriklerini de belirlemişlerdir. Zielinski vd. (2015), Brezilya'da yetiştirilen böğürtlen çeşitlerinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi seviyeleri üzerinde olgunlaşmanın etkisini araştırmışlardır. Toplam fenolik içeriğinin olgunlaşma sırasında 68.04 ile 187.67 mg/100g arasında değiştiğini, antioksidan aktivitenin (FRAP) değerinin ise olgunlaşma aşamasına bağlı olarak 25.69-38.92 µM/g arasında olduğunu bulmuşlardır. Cuevas-Rodriguez vd. (2010b), Meksika böğürtlenlerinin yabani genotiplerinin antosiyanin ve proantosiyanidin fraksiyonlarının yüksek antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Xie vd. (2017), böğürtlen ekstraktının *in vivo* antitromboz etkilerini araştırmışlar ve böğürtlenin, damar endotel aktif maddesinin düzenlenmesi, kan akışının aktivasyonu ve pıhtılaşma önleyici etki ile ilişkili trombüs oluşumu üzerinde inhibitör etkileri olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde, Wang vd. (2017) böğürtlenden BSP-1a, BSP-1b, BSP-2 ve BSP-3 gibi dört polisakkarit izole etmişler ve bunların antitrombotik aktivitesini araştırmışlardır. BSP-1b, BSP-2 ve BSP-3'ün trombüs oluşumu üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu ve antitrombotik etkilerin vasküler endotel aktif maddesinin düzenlenmesi, kan akışını aktive etmesi ve antikoagülasyon etkisi ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Sánchez-Velázquez vd. (2020), Meksika yabani böğürtlenlerinin HepG2 ve glioma hücre dizileri üzerindeki antioksidan ve anti-proliferatif etkilerini incelemişlerdir. *In vitro* deney sonuçları, yüksek antioksidan kapasite gösterirken, hücre canlılığının azaldığını (>%50), ayrıca malondialdehit oluşumu ile lipid peroksidasyon seviyelerinin (~%59) arttığını kaydetmişlerdir.

2.2. Derin ötektik çözücüler

2.2.1. Derin ötektik çözücüler hakkında genel bilgi

Derin ötektik çözücüler (DES'ler), bir ötektik karışım oluşturan Lewis veya Brønsted asit ve bazlarının çözeltileridir (Smith vd., 2014). Ana bileşenlerin yapısı veya nispi oranını değiştirerek derin ötektik çözücüler istenilen oranda ayarlanabilir. Bu özellikleri nedeniyle biyo-kataliz, organik sentez ve elektrokimyasal işlemler gibi çok çeşitli potansiyel uygulamalara sahiptir (Smith vd., 2014; Gurkan vd., 2019; Svirgelj vd., 2021). Diğer solventlere kıyasla gelişmiş biyolojik bozunabilirlik ve daha düşük toksisite sergilerler, bu özellikleri ile yeşil kimyada yerini almaktadır (Svirgelj vd., 2021). Derin ötektik çözücülerin ana bileşenleri, karmaşık bir hidrojen bağlama ağı oluştururlar, bu da ana bileşiklere oranla donma noktası depresyonu ile sonuçlanır (Abbott vd., 2004). Erime noktaları, kendini oluşturan bileşiklerinin erime noktalarından daha düşüktür. Örneğin, hidrojen bağ alıcı özellikte olan kolin klorürün erime noktası 302 °C, hidrojen bağ verici olan ürenin erime noktası 133 °C iken, bu bileşiklerle hazırlanan ötektik çözücünün (kolin klorür: üre, mol oranı 1:2) erime noktası 12 °C'dir ve birçok ötektik çözücü oda sıcaklığında sıvı formdadır (Kutlu vd., 2021).

DES'ler, yüksek ısı kararlılık, düşük uçuculuk, düşük buhar basınçları ve ayarlanabilir polarite gibi bazı özellikleri açısından benzerlik gösterdiği iyonik sıvılar gibi yeşil çözücülerin bir sınıfıdır (Hansen vd., 2021; Płotka-Wasyłka et al., 2020). Bununla birlikte, iyonik sıvılar daha pahalıdır, genellikle biyolojik olarak parçalanamaz ve yüksek derecede toksiktir (Hansen vd., 2021; Xu vd., 2015). DES'ler, hidrojen bağ donörü (HBD) ve hidrojen bağ alıcısından (HBA) oluşan ve hidrojen bağları ile supramoleküler bir yapı oluşturan iki veya daha fazla bileşenin karışımından üretilir (López vd., 2020). Son zamanlarda, doğal derin ötektik çözücüler (NADES) terimi, genellikle organik asitler, şekerler, alkoller, aminler ve amino asitler gibi bitki bazlı birincil metabolitler olan iki veya daha fazla bileşikten oluşan DES'leri belirtmek için kullanılmıştır (Choi vd., 2011; Dai vd., 2013a).

2.2.2. DES veya NADES uygulaması

DES'ler, biyodizel, aromatik hidrokarbonlar, gaz, biyoaktif bileşikler ve metaller gibi çeşitli alanlarda uygulanmaktadır (Tang vd., 2015). Son zamanlarda, DES'ler biyotoksik metal tespiti (da Silva vd., 2020a; Perna vd., 2020), metal işleme

ve biyodizelin saflaştırılması (Smith vd., 2014), nanopartiküllerin stabilizasyonu (Iqbal vd., 2020), polifenoller (Barbieri vd., 2020), çevresel kirleticilerin uzaklaştırılması ve azeotropaların ayrılması (Kussainova ve Shah, 2020; Pena-Pereira ve Namieśnik, 2014; Shi vd., 2020), polar organometalik kimya ve biyokataliz (Perna vd., 2020), bileşiklerin izolasyonu ve fraksiyonlanması (Tan vd., 2018; Wang vd., 2020; Zhou vd., 2018; Zuo vd., 2018; Chen vd., 2020; Hong vd., 2020) ve kapsüllemenin kolaylaştırılması (Mano vd., 2015, 2017; Di Pietro vd., 2019) gibi birçok alanda uygulanmaktadır. Shahbaz vd. (2011), HBA olarak metil trifenil fosfonyum bromür ve HBD olarak gliserol, etilen glikol ve trietilen glikol kullanarak üç farklı DES hazırlamışlar ve Palm yağı bazlı biyodizelden gliserolü ayırmada bu DES'leri kullanmışlardır. Çalışma sonucunda etilen glikolle ve trietilen glikol hazırlanan DES'lerin gliserolün uzaklaştırılmasında daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Ranjan vd. (2022), atık yemeklik yağdan biyodizel üretmek için gliserol-kolin klorür bazlı DES'leri kullanmışlar ve en yüksek biyodizel verimini 65 °C ve 90 dakika koşullarında %95 olduğunu bulmuşlardır. Pang vd. (2012), DES'le yağlardan fenoller ayırmada amonyum tuzları kullanmışlar, fenoller (fenol ve kresoller) yağlardan ayırmada en etkili DES'in kolin klorür ile hazırlanacağını bildirmişlerdir. Farajzadeh vd. (2016), polisiklik aromatik hidrokarbonların sulu örneklerden sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonu için kolin klorür ve p-klorofenolden oluşan DES'yi başarıyla uygulamışlardır.

Liew vd. (2018), pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) kabuklarından pektin eldesinde sitrik asit ve DES'lerin ekstraksiyon verimlerini karşılaştırmışlardır. DES olarak laktik asit:glikoz:su (6:1:6 mol oranı), laktik asit:glikoz:su (5:1:3 mol oranı), laktik asit:glikoz (5:1 mol oranı), laktik asit:glisin:su (3:1:3) ve laktik asit:glisin (9:1) karışımları kullanmışlardır. DES'lerden laktik asit:glisin:su ve laktik asit:glisin kullanılanlarda kristalleşme ve jelleşmeye yol açması nedeniyle pomelo kabuklarından pektinin çıkartılamadığı, laktik asit:glikoz:su (6:1:6 mol oranı), laktik asit:glikoz:su (5:1:3 mol oranı), laktik asit:glikoz (5:1 mol oranı) ile hazırlanan DES'lerle sırasıyla %23.04, %13.34 ve %7.39 verim elde edildiğini ancak sitrik asidin pektin ekstraksiyonunda DES'e kıyasla daha iyi bir performans ve daha fazla enerji tasarrufuna sahip olduğunu kaydetmişlerdir. Elgharbawy vd. (2019), pomelo kabuklarından pektin ekstraksiyonunda sonoreaktörle birlikte farklı NADES'leri kullanmışlardır (Tablo 2.2.). Ekstraksiyon için en iyi seçeneklerin kolin klorür:malonik asit ve kolin klorür:glikoz:su olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada,

pH<3.0 ve 1:4.5 (h/h) NADES-su oranı ile 80 °C'de optimizasyondan sağlanmış, bu koşullarda %94 pektin ve %52 esterifikasyon derecesi elde edilmiştir.

Tablo 2.2. Su ve çeşitli NADES'lerden sağlanan pektin verimi (Elgharbawy vd., 2019).

No	Co-solvent	Oran	Pektin miktarı (g)	Pektin verimi (%)
1	Kolin klorür:malonik asit	1:1	1.45 ± 0.05	96.37 ± 2.00
2	Kolin klorür:fruktoz:su	5:2:5	1.07 ± 0.05	71.49 ± 1.00
3	Kolin klorür:gliserol:su	1:2:1	0.63 ± 0.02	41.71 ± 1.00
4	Kolin klorür:fruktoz:su	5:2	0.44 ± 0.02	29.25 ± 1.00
5	Kolin klorür:sakaroze:su	4:1:4	0.78 ± 0.03	51.73 ± 1.00
6	Kolin klorür:glukoz:su	5:2:5	1.45 ± 0.05	96.73 ± 2.00
7	Kolin klorür:glukoz	5:2	0.76 ± 0.02	50.54 ± 1.00
8	Su	-	0.21 ± 0.01	13.73 ± 1.00
9	Kolin klorür:sitrik asit	1:1	0.65 ± 0.01	43.18 ± 1.00
10	Kolin klorür:malik asit	1:1	0.67 ± 0.02	44.96 ± 1.00
11	Kolin klorür:okzalik asit	1:1	0.49 ± 0.02	32.91 ± 1.00
12	D-Malik asit	1:1	1.15 ± 0.05	76.53 ± 1.00
13	Okzalik asit	1:1	0.91 ± 0.05	60.56 ± 1.00
14	Fruktoz	1:1	0.45 ± 0.02	29.80 ± 1.00
15	Malonik asit	1:1	0.56 ± 0.02	37.01 ± 1.00
16	Kolin klorür	1:1	0.047 ± 0.00	3.16 ± 1.00
17	Sitrik asit	1:1	0.52 ± 0.02	34.45 ± 1.00
18	Fruktoz:sitrik asit	1:1	0.37 ± 0.02	36.97 ± 1.00

Shafie vd. (2019), *Averrhoa bilimbi*'den pektin eldesinde farklı molar oranlarda (3:1, 2:1, 1:1, 1:2 ve 1:3) kolin klorür-sitrik asit kullanmışlardır. Çalışmada, değişken olarak DES yüzdesi, ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve DES'in molar oranını seçmişlerdir. Optimum koşulları; DES yüzdesi %3.74 (a/h), ekstraksiyon süresi 2.5 saat, sıcaklık 80 °C ve molar oran 1:1 olarak belirlemişlerdir. Chen ve Lahaye (2020), elma posasını NADES'ler (kolin klorür:laktik asit, kolin klorür:okzalik asit ve kolin klorür:üre, 1:2 molar oranı) ile ön işleme tabi tuttuktan sonra sıcak su ile pektin ekstraksiyonu yapmışlardır. Ön işlemi, 40-80 °C'de 0.5-2 saat süre bekleterek gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda, kolin klorür:laktik asit ve kolin klorür:üre kullanılarak yapılanların, su kullanılarak yapılan kontrol grubuna yakın verimler sağladığını saptamışlardır. Kolin klorür:okzalik asit ile ön işlem, polisakkaritlerin bozulmasına ve kaybına yol açarken, kolin klorür:laktik asit ön işlemi, klasik yöntemle elde edilenlere benzer yüksek metoksilli pektin eldesi sağladığını gözlemlemişlerdir. Kolin klorür:üre ön muamelesi, kolin eklenmesi sabunlaşmaya yol açarak pektinin bileşimini etkilediğini kaydetmişlerdir.

Çeşitli bitkisel materyallerden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için DES'lerin uygulanması başarılı ve kanıtlayıcı sonuçlar göstermiştir. Konvansiyonel organik çözücülere kıyasla daha yüksek ekstrakte edilebilirlik verimleri nedeniyle

fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için DES'ler en uygun yöntemlerden biri olarak bildirilmiştir (Wan Mahmood vd., 2019; Zannou vd., 2020). Ayrıca, NADES'ler yüksek çözünürlük gücü ve stabilize etme yeteneği nedeniyle biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu ve bitkisel materyallerin sürdürülebilir değerlendirilmesi için mükemmel ortam hazırladığını da kaydetmişlerdir (Wei vd., 2015; Fernández vd., 2018).

Cvjatko Bubalo vd. (2016), üzüm kabuğundan fenolik bileşikleri özütlemeye mikrodalga (MAE) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemleriyle birlikte DES'leri kullanmışlardır. DES olarak kolin klorür:gliserol (1:2), kolin klorür:okzalik asit (1:1), kolin klorür:malik asit (1.5:1), kolin klorür:sorboz (1:1) ve kolin klorür:prolin:malik asit (1:1:1) kullanmışlardır. Su ve metil alkolle karşılaştırıldığında DES'lerin çoğunun, delfinidin-3-*O*-monoglikozit, siyanidin-3-*O*-monoglikozit, petunidin-3-*O*-monoglikozit, peonidin-3-*O*-monoglikozit, malvidin-3-*O*-monoglikozit, malvidin-3-*O*-asetilmonoglikozitler, peonidin-3-(6-*O*-*p*-kumaroil)mono glikozitler, malvidin-3-(6-*O*-*p*-kumaroil)monoglikozitler, (+)-kateşin ve kersetin-3-*O*-glikozit'in geri kazanımında artışa yol açtığı kaydedilmiştir. Ayrıca, %25 su içeren kolin klorür:okzalik asit, en umut verici DES olduğunu, ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin ise en iyi yöntemi olduğu bildirmişlerdir.

Bakirtzi vd. (2016), rezene, mercanköşk, nane ve adaçayı gibi aromatik bitkilerden polifenollerini elde etmek için laktik asit bazlı NADES'leri kullanmışlardır. NADES olarak laktik asit:kolin klorür, laktik asit:sodyum asetat, laktik asit:amonyum asetat ve laktik asit:glisin:suyun 3:1, 3:1, 3:1 ve 3:1:3 molar oranlarını denemişlerdir. Laktik asit:glisin:suyun yanı sıra laktik asit:sodyum asetat ve laktik asit:amonyum asetatın yüksek verim sergilediğini bildirmişlerdir.

Dai vd. (2014), aspiden doğal pigmentlerin eldesinde kullanılan şeker bazlı NADES'lerin su veya %40 etanol çözeltisine göre daha stabil olduğunu saptamışlardır. NADES'in stabilizasyonu, su içeriğinin azaltılması ve viskozite artışıyla artırılabilirliğini bildirmişler ve NADES tarafından sağlanan güçlü stabilizasyon yeteneğinin, çözünen maddeler ve NADES molekülleri arasında güçlü hidrojen bağı etkileşimlerinin oluşmasından kaynaklandığını vurgulamışlardır.

Zeytin yaprağından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda Alañón vd. (2018), HBA olarak kolin klorür ve HBD olarak laktik asit, okzalik asit, tartarik asit, 1,4-

Butandiol, etilen glikol, ksilitol, 1,2-propandiol, maltoz ve üreden oluşan farklı DES'leri kullanmışlardır. Geleneksel çözücülerle karşılaştırıldığında, denenen DES'lerden en etkili olanının kolin klorür:etilen glikol olduğuna işaret etmişlerdir. Chanioti vd. (2018), homojenat (HAE), mikrodalga (MAE), ultrason (UAE) veya yüksek hidrostatik basınç (HHPAE) destekli ekstraksiyonlar ile birlikte farklı NADES'leri (HBA olarak kolin klorür ve HBD olarak sitrik asit, laktik asit, maltoz ve gliserol) kullanarak zeytin pirinasından fenolik bileşiklerin geri kazanımını araştırmışlardır. Zeytin pirinasından fenolik bileşiklerin geri kazanımında en etkili NADES'lerin kolin klorür:sitrik asit ve kolin klorür:laktik asit olduğunu, HAE tekniğinin MAE, BAE ve HHPAE'ye kıyasla daha yüksek verim sağladığını belirlemişlerdir. Barbieri vd. (2020), *Rosmarinus officinalis*'ten fenolik bileşikleri elde etmede ultrason destekli ekstraksiyon ile birlikte kolin klorür bazlı derin ötektik çözücüyü kullanmışlardır. Çalışmada gliserol:kolin klorür (1:2 v/w) ve su (%10 w/w), laktik asit:kolin klorür (1:3 v/w) ve su (%10 w/w), 1, 2-propandiol:kolin klorür (1:2 v/w) ve su (%10 w/w) ve okzalik asit:kolin klorür (1:1 v/w) ve su (%10 w/w) olmak üzere 4 farklı DES'i denemişlerdir. Gliserol:kolin klorür hariç diğer DES'lerle elde edilenlerin etil alkol ekstraktından daha fazla fenolik madde ve antioksidan kapasiteye sahip olduğunu saptamışlardır. Ek olarak, etil alkol ile elde edilen ekstraktı elde edilenlere göre daha düşük stabilizasyon kapasitesine sahip olduğunu saptamışlardır. Bentley vd. (2020), *M. flabellifolia* yapraklarından dört farklı NADES solüsyonu (sakaroz-fruktoz-glikoz, prolin-malik asit, sakaroz-sitrik asit ve glikoz-kolin klorür) ile fenolik bileşikleri ekstrakte etmişlerdir. NADES'lerin fenolik bileşikleri ekstrakte etmede son derece etkili olduğunu ve daha önce tanımlanmayan birkaç bileşiği de açığa çıkardığını bildirmişlerdir.

Alsaud vd. (2021), manuka ağacının (*Leptospermum scoparium*) yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda farklı polialkoller ve karboksilik asitlerle kombine kolin klorür ve tetrabütülamonyum klorür bazlı DES'leri kullanmışlardır. Çalışma sonunda, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda en yüksek verimi kolin klorür:etilen glikolün (56.87 mg GAE/g) gösterdiğini, onu kolin klorür:laktik asit (52.51 mg GAE/g) ve kolin klorür:1,3-propandiol (50.67 mg GAE/g)'ün izlediğini saptamışlardır. Ayrıca, bu DES'lerin, fenolik bileşikler için etil alkolden daha verimli olduğunu bildirmişlerdir. Oliveira vd. (2021), HBA olarak mentol ve kolin klorür ve HBD olarak laktik asit, laurik asit ve asetik asit kullanarak

hazırladığı DES'ler ile ultrason destekli ekstraksiyon kullanarak *Curcuma longa*'nın rizom, yaprak ve çiçeklerinden biyoaktif bileşikleri elde etmişlerdir. Antioksidan, flavonoid, antimikrobiyal etki, Fe²⁺ şelatlama, kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu, sitotoksosite ve genotoksosite etkilerini araştırdıkları çalışmada, hiçbir ekstraktın sitotoksosite ve genotoksosite aktiviteleri göstermemesine rağmen DES'lerin en iyi performansı gösterdiğini rapor etmişlerdir. Tong vd. (2021), aspiden biyoaktif bileşikleri çıkarmak ve biyoyararlığını test etmek için ultrason destekli ekstraksiyon (BAE) ile birlikte farklı NADES'leri kullanmışlardır. Ekstraktlardaki hidroksisafflor sarı A (HSYA) ve anhidrosafflor sarı B'nin (ASYB) oral biyoyararlanımları sıçanlar üzerinde test etmişlerdir. En yüksek HSYA (32.83 mg/g) ve ASYB (8.80 mg/g) verimlerini L-prolin-asetamid ile elde etmişlerdir. Yaptıkları farmakokinetik çalışmalarda, L-prolin-asetamid ekstraktının oral yoldan verilmesinden sonra HSYA ve ASYB'nin kan seviyelerinin sulu ekstraktınkinden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Doldolova vd. (2021), zerdeçalın kurkumin ve antioksidan kapasitesini araştırmada mikrodalga destekli ekstraksiyon ile birlikte farklı NADES'ler kullanmışlardır. Kolin klorür, laktik asit, fruktoz ve sakarozun ikili kombinasyonlarını içeren NADES'ler kullanılarak yapılan çalışmada, fruktoz ve kolin klorür içeren NADES dışındakilerin %80'lik metil alkole göre daha yüksek toplam antioksidan kapasite ve kurkumin içerdiğini saptamışlardır.

2.2.3. DES veya NADES kullanarak antosiyaninlerin ekstraksiyonu

Jeong vd. (2015), üzüm kabuğundan antosiyanin ekstraksiyonda geleneksel çözücülerle HDA olarak kolin klorid, HDB olarak DL-malik asit, sitrik asit, gliserol, D-(+)-glikoz, D-(-)-fruktoz, D-(+)-galaktoz, D-(-)-riboz, sakaroz, D-(+)-maltoz ve maltitol kullanılarak hazırlanan on farklı DES'nin verimini karşılaştırmışlardır. Sitrik asit, D-(+)-maltoz ve fruktoz içeren DES'lerin çok etkili olduğunu saptamışlardır. Sitrik asit ve D-(+)-maltozdan oluşan 4:1 molar oranında yeni tasarlanmış bir DES ile yaptıkları ekstraksiyonun, %80 metil alkol gibi geleneksel çözücüyle yapılandan çok daha fazla antosiyanin ekstrakte ettiklerini bildirmişlerdir.

Dai vd. (2016), bir dizi NADES ile *Catharanthus roseus*'un taç yapraklarından antosiyaninleri ekstrakte etmişlerdir. Çalışmada, antosiyanin verimleri ile birlikte NADES içindeki stabilitelelerini de incelemişlerdir. Antosiyaninler için laktik asit:glikoz ve 1,2-propandiol:kolin klorürün, geleneksel organik çözücüler ile benzer bir ekstraksiyon gücü, hatta NADES'lerin, geleneksel organik çözücülere kıyasla

daha yüksek stabilite sağladığını bildirmişlerdir. Kullanılan NADES'ler arasında, laktik asit:glikozun, siyanidinler için asitlendirilmiş etil alkolden en az üç kat daha yüksek stabilize etme yeteneğine sahip olduğunu saptamışlardır.

Bosiljkov vd. (2017), şarap tortularından antosiyanin eldesinde NADES'leri ve ultrason destekli ekstraksiyonu kullanmışlardır. NADES hazırlamada, HBA olarak kolin klorür, HBD olarak sitrik asit, malik asit, okzalik asit, glikoz, fruktoz, ksiloz ve gliserolden yararlanmışlardır. Kullanılan NADES tipinin antosiyanin ekstraksiyonunu çok etkilediğini kaydetmişler, en iyi ekstraksiyon verimini sırasıyla kolin klorür:malik asit, ardından kolin klorür:okzalik asit, kolin klorür:sitrik asit, kolin klorür: gliserol, kolin klorür:fruktoz, kolin klorür:ksilitol ve kolin klorür:glikoz ile elde etmişlerdir. Belirli bir su içeriği ve molar orandaki NADES'lerin çoğunun etil alkolden daha verimli olduğunu bildirmişlerdir.

Kou vd. (2019), kolin klorür:1,2-propandiol, kolin klorür:gliserol, kolin klorür:glikoz, kolin klorür:etilen glikol, kolin klorür:1,3-bütandiol, kolinden klorür:1,4-bütandiol, kolin klorür-1,6-heksandiol, kolin klorür-sakaroz, kolin klorür:laktik asit ve kolin klorür:sitrik asitten oluşan DES'leri kullanarak frenk üzümünden antosiyaninleri ekstrakte etmişlerdir. Uygulanan DES'lerin antosiyanin verimlerinde farklılıklar tespit etmişlerdir. Frenk üzümü antosiyaninlerinde ekstraksiyon verimleri karşılaştırıldığında; organik asit bazlı DES'lerin (kolin klorür:laktik asit ve kolin klorür:sitrik asit), polioliol bazlı ve şeker bazlı DES'lerden daha iyi olduğu görülmüştür. Çalışmada optimizasyon işlemi için kolin klorür:laktik asit seçilerek yapılan optimizasyondan çalışmasında antosiyanin verimi 2.03 mg/g olarak saptanmıştır. Benzer şekilde, delfinidin-3-glikozit, delfinidin-3-rutinozit, siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozit verimleri sırasıyla 0.32 mg/g, 0.47 mg/g, 0.18 mg/g ve 0.43 mg/g ve saflıkları %95'in üzerinde bulunmuştur.

Guo vd. (2019), duttan antosiyanin ekstrakte etmek için kolin klorür:laktik asit, kolin klorür:tartarik asit, kolin klorür:sitrik asit, kolin klorür:ksilitol, kolin klorür:mannitol, kolin klorür:gliserol, kolin klorür:fruktoz, kolin klorür:glikoz, betain:glikoz, tartarik asit:glikoz, sitrik asit:glikoz, laktik asit:glikoz ve kolin klorür:sitrik asit:glikoz dahil birçok NADES'i kullanmışlar ve antosiyanin ekstraksiyonunda NADES'lerin çoğunun etil alkolden daha verimli olduğunu görmüşlerdir. 1:1:1 molar orana sahip kolin klorür:sitrik asit:glikozdan oluşan NADES'in en verimli olduğunu saptamışlar, gelenksel solventlerin 1.24 katı daha

fazla (6.05 mg/g) antosiyanin elde etmişlerdir. NADES ile elde edilen antosiyaninlerin geleneksel organik çözücülerle elde edilenlere nazaran daha stabil olduğunu bildirmişlerdir.

Panić vd. (2019), üzüm posasından antosiyaninleri geri kazanmada kolin klorür:sitrik asit, kolin klorür:malik asit, kolin klorür:prolin:malik asit, prolin:malik asit, betain:malik asit, betain:sitrik asit, malik asit:glikoz:gliserol ve malik asit:glikozu kapsayan DES'leri kullanmışlardır. Kolin klorür:sitrik asit çözücüsünün fiyat, fizikokimyasal özellikler ve antosiyanin geri kazanımı ve stabilitesi açısından en verimli olduğunu bildirmişlerdir.

Bentley vd. (2020), *M. flabellifolia* yapraklarından antosiyanin eldesinde sakaroz:fruktoz:glikoz, prolin:malik asit, glikoz: sitrik asit ve glikoz:kolin klorürü kapsayan dört farklı NADES solüsyonu kullanmış ve sonuçları geleneksel organik çözücülerle elde ettikleri ekstraktlarla karşılaştırmışlardır. NADES kullanarak ekstrakte edilenlerde daha önce tanımlanmayan birkaç bileşiğe rastlamışlardır. Ayrıca, daha asidik NADES kullanımıyla daha yüksek miktarlarda antosiyanin ve polimerik pigmentler elde edilebileceğini de bildirmişlerdir.

Bi vd. (2020), duttan antosiyaninlerin ekstraksiyonunda bazı DES'leri kullanmışlar ve verim yanında bu bozunma kinetiği ve stabilitesini incelemişlerdir. NADES olarak kolin klorür:üre, kolin klorür:gliserin, kolin klorür:etilen glikol, kolin klorür:propilen glikol, kolin klorür:malonik asit, kolin klorür:asetik asit, kolin klorür:laktik asit, kolin bitartrat:asetik asit, kolin bitartrat:laktik asit ve kolin asetat:laktik asiti kullanmışlardır. Hem hidrojen bağı alıcılarının hem de hidrojen bağı donörlerinin, DES'lerin yoğunluğunu, su içeriğini ve viskozitesini etkilediğini bildirmişler ve DES'lerle elde edilen antosiyaninin, asitlendirilmiş etil alkolle elde edilenlerden daha yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Kolin klorür-laktik asit (1:2) kullanılarak RSM ile optimize ettikleri koşullarda (57.24 °C'de 31.54 dakika, 10.76 mL/g) 6.84 mg/g antosiyanin ekstrakte etmişlerdir. Özellikle, kolin klorür:laktik asit ile ekstrakte edilen antosiyaninlerin klasik çözücülere göre daha düşük ısıl bozunma hızı sabiti, daha yüksek yarılanma ömrü ve raf ömrü süresi sergilediğini rapor etmişlerdir.

Da Silva vd. (2020b), yabanmersininden antosiyaninlerin ekstraksiyonunda NADES ve simpleks centroid tasarımı kullanarak optimize etmişlerdir. NADES

olarak kolin klorür:gliserol:sitrik asit kullanmışlar optimum molar oranları 0.5:2:0.5 olarak belirlemişlerdir. Geleneksel organik çözücüyle (metanol:su:formik asit) karşılaştırıldığında, bu NADES'in daha yüksek verim verdiğini bildirmişlerdir. Kolin klorür:gliserol:sitrik asitin, organik çözücüye göre daha yüksek oranda arabinosit ve daha düşük oranda galaktoz antosiyaninleri verdiklerini de rapor etmişlerdir.

Grillo vd. (2020), yaban mersini işleme kalıntılarında antosiyaninlerin geri kazanılmasında kolin klorür:malik asit, kolin klorür:sitrik asit, kolin klorür:laktik asit, kolin klorür:gliserol ve kolin klorür:glikoz kapsayan beş farklı NADES ve sonuçları karşılaştırmak için asitlendirilmiş alkol çözeltileri kullanmışlardır. Çalışmada mikrodalga (MAE) ve ultrason (UAE) destekli ekstraksiyon teknikleri denemişlerdir. Hem MAE hem de UAE, NADES'lerle birleştiğinde, geleneksel ekstraksiyondan daha üstün bir performans sağlamıştır. MAE ve UAE teknikleriyle sırasıyla toplam antosiyanin içeriği 25.83 ve 21.18 mg/g olarak belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca ekstraktların antiproliferatif aktivitesini de belirleyen araştırmacılar, konvansiyonel olmayan ekstraktların, geleneksel olarak ekstrakte edilenlere göre daha güçlü antiproliferatif aktivite sergilediğini kaydetmişlerdir.

Kurtulbaş vd. (2020), *Hibiscus sabdariffa*'dan fenolik madde ve antosiyanin eldesinde mikrodalga destekli ekstraksiyon ile birlikte sitrik asit bazlı DES'leri (HBA olarak sitrik asit, HBD olarak gliserol ve etilen glikol) kullanmışlardır. Sitrik asit:etilen glikolün biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda en iyi performans gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışma koşullarını mikrodalga gücü, çözücü:su hacmi açısından Box-Behnken yüzeyi tepki yaklaşımı ile optimize etmişlerdir. Toplam fenolik madde, toplam antosiyanin ve antioksidan aktivite (DPPH) maksimum verimlerini, optimum koşullarda (%50 su içeren 35 mL DES, 550 W mikrodalga gücü) sırasıyla 31.897 mg GAE/g, 2.961 mg C3G/g ve %95.887 olarak bulmuşlardır.

Zannou vd. (2020), *Hibiscus sabdariffa*'dan biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasında sodyum asetat (HBA) ve formik asitten (HBD) oluşan hidrofilik DES'i ve sonuçları karşılaştırmak için destile su, %70 etil alkol ve %80 metil alkol gibi geleneksel çözücülerini kullanmışlardır. Kullanılan DES'in toplam fenolik madde, toplam flavonoid, toplam antosiyanin ve DPPH serbest radikalini giderme ve demir indirgeme antioksidan güç açısından daha verimli olduğunu kaydetmişlerdir. Yüzey yanıt metodolojisi (RSM) ve Box-Behnken metodu kullanarak yaptıkları

optimizasyonda, optimum ekstraksiyon koşullarını 1:3.6 molarite oranı, %0 su ilavesi ve 10 mL solvent olarak kaydetmişlerdir. Optimum noktadaki toplam fenolik madde, toplam flavonoid, toplam antosiyanin, DPPH serbest radikalini giderme ve demir indirgeme antioksidan gücü sırasıyla 233.26 mg GAE/g, 10.14 mg ECE/g, 10.62 mg D3S/g, 493.45 mmol ISE/g ve 334.41 mmol TE/g olarak belirlemişler, DES ile ekstrakte edilen antosiyaninlerin stabilite testleri sonucunda daha kararlı olduklarını bildirmişlerdir.

Alrugaibah vd. (2021), turna yemişi posasından prosiyanidin ve antosiyaninlerin ekstraksiyonunda on farklı NADES kullanmışlar, RSM ve yapay sinir ağlarını (YSA) uygulayarak optimize etmişlerdir. Test edilen tüm NADES'lerin turna yemişi posasından prosiyanidin ve antosiyaninlerin ekstraksiyonunda başarılı olduğunu bildirmişler ve en yüksek prosiyanidin miktarını (32.5 mg/g), kolin klorür:betain hidroklorür:levulinik asit (1:1:2) ve 32 mL su/100 mL koşullarında elde etmişlerdir. Elde edilen verimin, %75 etanol ile elde edilenin 3.26 katı olduğunu kaydetmişlerdir. En yüksek antosiyanin verimine (1.58 mg/g), glikoz:laktik asit (1:5) ve 20 mL/100 mL su ile ulaşmışlar, bu verimin %75 etanol ile ulaşılandan 1.79 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Fu vd. (2021), yabanmersini posasından antosiyaninleri elde etmede farklı molar oranlarda çeşitli NADES'leri test etmişlerdir. NADES'lerin ekstraksiyon verimlerini arttırmak için ultrason destekli ekstraksiyon ile birlikte uygulamışlardır. NADES'lerin yaban mersini posasından antosiyaninleri verimli bir şekilde ekstrakte etmede kullanılabileceğini göstermişler, kolin klorür:okzalik asitin antosiyaninleri yüksek oranda ekstrakte eden en iyi NADES olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmada kolin klorür:okzalik asitin ekstraksiyon koşullarını da optimize etmişler ve en yüksek toplam antosiyanin içeriği verimini optimum koşullarda (3.2 dakikalık ultrasonik süre, 325 W ultrasonik güç, 349.15 K sıcaklık, 60 mL/g solvent-katı) elde etmişlerdir. Optimum koşullar altında, deneysel toplam antosiyanin içeriği (24.27±0.05 mg C3GE/g) teorik sonuçla (24.28 mg C3GE/g) uyumlu bulmuşlardır. Ayrıca, yabanmersini posasından esas olarak delfinidin, petunidin ve malvidin bileşiklerinden oluşan 10 farklı antosiyanin tanımlamışlardır.

Türker ve Doğan (2021), siyah havuçtan antosiyanin ekstraksiyonunda yeşil yöntemler olarak ultrason destekli (UAE) ekstraksiyon ile DES'lerin birlikte uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Bu amaçla kolin klorür:gliserol, kolin

klorür:sitrik asit, kolin klorür:tartarik asit, DL-malik asit ve D-(-)-fruktozdan oluşan 1:1 molar oranında kolin klorür bazlı DES'ler hazırlanmışlardır. Deneysel verilerden, siyah havuçlardan antosiyaninlerin ekstraksiyonunda DES'lerin en verimli olduğu sonucuna varmışlar, en verimli DES'in kolin klorür:sitrik asit olduğunu bildirmişlerdir. Biyobozunurluk testi sonucunda, 28 gün sonra tüm DES'lerin %80'den fazla parçalanabildiğini dolayısıyla yeşil çözücüler olduğunu rapor etmişlerdir. Termogravimetrik analiz, tüm DES'lerin ve bileşenlerinin tek bir aşamada bozduğunu ve DES bileşiminde asit varsa polimerik renk oranının daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Benvenuti vd. (2022), bir Brezilyan üzümü meyvesi jaboticaba'nın kabuklarından antosiyaninlerin ekstraksiyonunda basınçlı sıvı ekstraksiyon (PLE) ve sulu DES çözeltileri kullanmışlardır. Bu amaçla 1:2 molar oranda kolin klorür:propilen glikol ve 1:1 molar oranda kolin klorür:malik asitten oluşan iki DES kullanmışlardır. Farklı DES solüsyonları ve PLE ile elde ettikleri ekstraktları, verim, termostabilite, antioksidan, antidiyabetik ve obezite önleyici aktiviteler açısından geleneksel solventlerle (su ve asitlendirilmiş su) karşılaştırılmışlardır. DES çözeltilerinin geleneksel çözücülerden %50'ye kadar daha yüksek antosiyanin verimi sağladığını, kolin klorür:malik asitin yüksek antosiyanin stabilitesi ($E_a = 77.5$ kJ/mol) sağladığını, kullanılan DES'lerin renk, anti-diyabetik ve anti-obezite potansiyeli açısından umut verici çözücü olduğunu bildirmişlerdir.

Zannou vd. (2022a), kolin klorür ve gliserol bazlı NADES'i, hodan çiçeklerinden antosiyanin eldesinde kullanmışlardır. Çalışmada, ekstraksiyon verimi, antioksidan aktivite ve biyoyararlanım açısından sonuçları geleneksel çözücülerle (su, metil ve etil alkol) elde ettikleriyle karşılaştırmışlardır. Kolin klorür ve gliserolle ekstrakte edilenlerin toplam antosiyanin, toplam fenolik madde, toplam flavonoid, bireysel antosiyaninler (siyanidin-3-glikozit, siyanin klorür, siyanidin-3-rutinozit ve pelargonidin-3-glikozit) açısından geleneksel çözücülerden daha verimli olduğunu kaydetmişlerdir. Kolin klorür ve gliserolün, sindirim sistemi yoluyla hodan antosiyaninleri üzerinde koruyucu bir etki gösterdiğini de rapor etmişlerdir.

Görüldüğü gibi son yıllarda DES ve NADES çözeltileri diğer biyoaktif bileşikler yanında antosiyaninlerin ekstraksiyonunda da yaygın şekilde kullanılmaya başlamıştır. Günümüze kadar bu amaçla kullanılan DES'ler Tablo 2.3'te özetlenmiştir. Bu çözücülerin bazısı geleneksel çözücülere göre önemli ölçüde verim

artışına yol açtığı gibi biyotik etkenlere karşı da stabildirler. Hatta, *in vitro* biyoyararlılık testleri mide asitliğine karşı da dirençli olduklarını göstermektedir. Bu sonuçlar, renklendirici potansiyelleri dışında fonksiyonel özelliği olan antosiyaninlerin antioksidan özellikleri düşünüldüğünde, DES kullanımının geleneksel çözücülerinin yerini alabileceğini göstermektedir.

Tablo 2.3. Bitkisel kaynaklardan antosiyanin ekstraksiyonunda kullanılan DES'ler.

HBA:HBD (molar oran)	Çalışılan materyal	Kaynak
Kolin klorür:malik asit (1:1) Kolin klorür:sitrik asit (1:1) Kolin klorür:gliserol (1:1) Kolin klorür:glikoz (5:2) Kolin klorür:fruktoz (5:2) Kolin klorür:galaktoz (5:2) Kolin klorür:ribose (5:2) Kolin klorür:sukroz (1:1) Kolin klorür:maltoz (4:1) Kolin klorür:maltitol (4:1)	Üzüm kabuğundan antosiyanin ekstraksiyonu	Jeong vd., 2015
Kolin klorür:1,2-propandiol (1:1, 1:1.5, 1:2, 1:3) Laktik asit:glikoz (5:1) Prolin:malik asit (1:1) Kolin klorür:malik asit (1:1, 1.5:1) Kolin klorür:glikoz (5:2) Glykoz:fruktoz:sukroz (1:1:1)	<i>Catharanthus roseus</i> 'tan antosiyaninlerin ekstraksiyonu	Dai vd., 2016
Kolin klorür:ksiloz Kolin klorür:fruktoz Kolin klorür:glikoz Kolin klorür:sitrik asit Kolin klorür:malik asit Kolin klorür:gliserol Kolin klorür:oksalik asit	Şarap tortusundan antosiyaninler ekstraksiyonu	Bosiljkov vd. 2017
Kolin klorür:sitrik asit (2:1) Kolin klorür:malik asit (1:1) Kolin klorür:prolin:malik asit (1:1:1) Prolin:malik asit (1:1) Betain:malik asit (1:1) Betain:sitrik asit (1:1) Malik asit:glikoz:gliserol (1:1:1) Malik asit:glikoz (1:1)	Kırmızı üzüm posasından (<i>Vitis vinifera</i> cv. Plavac mali) antosiyaninlerin ekstraksiyonu	Panić vd. (2019)
Kolin klorür:laktik asit (1:1) Kolin klorür:tartarik asit (1:1) Kolin klorür:sitrik asit (1:1) Kolin klorür:mannitol (1:1) Kolin klorür:ksilitol Kolin klorür:gliserol (1:1) Kolin klorür:fruktoz (1:1) Kolin klorür:glikoz (1:1) Betain:glikoz (1:1) Tartarik asit:glikoz (1:1) Sitrik asit:glikoz (1:1) Laktik asit:glikoz (1:1)	Dut antosiyanin ekstraksiyon	Guo vd. (2019)
Kolin klorür:üre (1:2) Kolin klorür:gliserin (1:2)		

<p>Kolin klorür:etilen glikol (1:2) Kolin klorür:propilen glikol (1:2) Kolin klorür:malonik asit (1:2) Kolin klorür:asetik asit (1:2) Kolin klorür:laktik asit (1:2) Kolin bitartrat:asetik asit (1:4) Kolin bitartrat:laktik asit(1:2) Kolin asetat:laktik asit (1:2)</p>		
<p>Kolin klorür:gliserol (1:2) Kolin klorür:gliserol (1:3) Kolin klorür:1,3-butanediol (1:2) Kolin klorür:1,3-butanediol (1:3) Kolin klorür:1,4-butanediol (1:2) Kolin klorür:1,4-butanediol (1:3) Kolin klorür:glikol (1:2) Kolin klorür:glikol (1:3) Kolin klorür:glikoz (1:1) Kolin klorür:glikoz (1:2)</p>	Ahudududan antosiyaninlerin ekstraksiyonu	Xue vd. (2020)
<p>Kolin klorür:malik asit (3:2) Kolin klorür:okzalik asit (1:1) Kolin klorür:laktik asit(1:1) Kolin klorür:sitrik asit (1 : 1) Kolin klorür:sorbik asit (1:1) Kolin klorür:tartarik asit (1 : 1) Kolin klorür:propilen glikol (1 : 2) Kolin klorür:gliserol (1 : 2) Kolin klorür:bütandiol (2 : 2) Kolin klorür:maltoz (4:1) Kolin klorür:glikoz (1:1) Kolin klorür:glikoz (1:1)</p>	Yabanmersini posasından antosiyanin ekstraksiyonu	Fu vd. (2021)
<p>Kolin klorür: levulinik asit: etilen glikol (1:1:2), %20 su Kolin klorür: betain hidroklorür: levulinik asit (1:1:2), %32 su Kolin klorür: 1,2-propanediol: laktik asit (1:1:2), %10 su Kolin klorür: laktik asit (1:2), %20 su Kolin klorür: 1,4-bütandiol (1:4), %35 su Kolin klorür: betain hidroklorür: etilen glikol (1:1:2), %20 su Kolin klorür: prolin: malik asit (1:1:1), %30 su Kolin klorür:gliserol (1:2), %50 su Glikoz: laktik asit (1:5), %20 su Sitrik asit: maltoz (4:1), %35.5 su</p>	Turna yemişi posasından prosiyanidin ve antosiyanin ekstraksiyonu	Alrugaibah vd. (2021)
<p>Laktik asit:gliserol (1:1) Laktik asit:gliserol (1:2) Laktik asit:gliserol (2:1) Tartarik asit:gliserol (1:2) Tartarik asit:gliserol (1:3) Tartarik asit (1:4) Laktik asit:glikoz (8:1) Gliserol:glikoz (8:1) Kolin klorür:sitrik asit (5:4) Kolin klorür:gliserol (4:6)</p>	<i>L. chequen</i> meyvesinden antosiyaninlerin ekstraksiyonu	Velásquez vd. (2021)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan böğürtlen meyveleri (*Rubus L.*, Şekil 3.1) Ağustos ayında Samsun'dan toplanmıştır. Çalışmada yabancı genotipler kullanılmıştır. Yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra sonra pulp halinde getirmiş ve analiz edilinceye kadar -20 °C'de bekletilmiştir.



Şekil 3. 1. Böğürtlen meyvesinin görünüşü

3.2. Yöntemler

3.2.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziksel Ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.1.1 Meyve Ağırlığı

Rastgele seçilen taze meyveler 0.01 g hassasiyette bir elektronik terazi ile tartılıp meyve ağırlıkları kaydedilmiştir.

3.2.1.2. Kilogramdaki Meyve Sayısı

Bu amaçla rastgele seçilen 100 gram taze meyve 0.01 g hassasiyette bir elektronik terazi ile tartılarak sayılmış, kilogramdaki tane sayısı hesaplanmıştır.

3.2.1.3. En-Boy Uzunluğunun Belirlenmesi

Rastgele seçilen 100 adet taze meyvenin 0.01 mm hassasiyette bir dijital kumpasla eni ve boyu ölçülmüştür.

3.2.1.4. Kuru Madde Tayini

Darası alınan nikel kaplara taze örnekler belirli bir miktarda tartılmış, vakumlu etüvde (Nüve EV-018, Türkiye) 70 °C ve 100 mmHg basınçta sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur (AOAC, 2000).

3.2.1.5. Suda Çözünür Katı Madde Miktarının Belirlenmesi

Pulp haline getirilen meyveler filtre kağıdından süzildikten sonra Abbe refraktometresinin (Atago, Japonya) prizmasına damlatılarak suda çözünür katı madde içeriği belirlenmiştir (AOAC, 2000).

3.2.1.6. pH Analizi

1:10 oranında seyreltilen meyvelerde pH metre yardımıyla okuma yapılmıştır (AOAC, 2000).

3.2.2. Meyvelerde Şeker, Doğal Antioksidanlar ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Toplam şeker, toplam fenolik madde, toplam flavonoid toplam antosiyanin ve antioksidan aktivite analizleri için, 1 g meyve pulpu alınıp, 10 ml %80 metanol, 70% etil alkol veya saf su ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında (25 °C) 20 dakika ultrasonik su banyo suda bekletildikten sonra teflon filtreden geçirilerek analizlerde kullanılmıştır.

3.2.2.1. Toplam Şeker Miktarı

Ekstraktların toplam şeker miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Dubois vd., 1951). Uygun miktarlarda saf su ile seyreltilmiş 0.3 mL örnek üzerine 0.6 mL % 5 (w:v) fenol çözeltisi ve 3 mL sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan örneklerin absorbansı bir su banyosunda 37 °C'de 30 dakika inkübasyon sonunda 490 nm'de belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında 0.11-110 ppm arasındaki konsantrasyonlarda dekstroz kullanılmıştır. Sonuçlar mg glikoz eşdeğeri şeker/g kuru ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.2. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini

Toplam fenolik madde içeriği, alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile reaksiyon sonucunda oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Uygun oranda seyreltilmiş örneklerin üzerine Folin-Ciocalteu ayraç eklenerek karanlık ortamda 5 dakika bekletilmiş, daha sonra oluşan karışıma doymun Na_2CO_3 çözeltisi eklenip iyice karışması sağlanarak

karanlık bir ortamda 2 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda 760 nm dalga boyunda tanık ile karşılaştırmalı şekilde okunmuştur. Kimyasal saf gallik asit ile çizilmiş standart kalibrasyon eğrisi yardımıyla toplam fenolik madde miktarı mg/kg olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.3. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini

Toplam flavonoid içeriği, değiştirilmiş bir protokol kullanılarak belirlenmiştir (Hossain ve Shah, 2015; Lakka vd., 2019). 1 mL seyreltilmiş örneklerin üzerine 0.3 mL %5 NaNO₂ eklenerek karanlık ortamda 5 dakika bekletilmiş, ardından 0.5 mL %5 AlCl₃ ilave ederek karanlık ortamda 6 dakika bekletilmiştir. Daha sonra oluşan karışıma doygun 0.5 mL 1 M NaOH çözeltisi eklenip iyice karışması sağlanarak karanlık bir ortamda 10 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda 510 nm dalga boyunda tanığa karşı okunmuştur. Kimyasal saf epikateşin ile çizilmiş standart kalibrasyon eğrisi yardımıyla toplam flavonoid madde miktarı mg/g olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.4. Toplam Antosiyanin Miktarının (TAC) Belirlenmesi

Toplam antosiyanin miktarı pH diferansiyel yöntem kullanılarak belirlenmiş ve siyanidin-3-glikozit cinsinden hesaplanmıştır (Lee vd., 2005). Örnekler parçalanıp saf su ile seyreltildikten sonra pH 4.5 ve pH 1.0 tampon çözeltileriyle karıştırılıp filtre edilmiş ve spektrofotometrede 520 nm ve 700 nm' deki absorbans değerleri okunarak aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Toplam Antosiyanin} = \frac{A_t \times M_A \times SF \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (3.1)$$

Denklemden;

$$A_t = \text{Absorbans farkı } (A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5})$$

l= Optik yol (cm)

SF= Seyreltme faktörü

M_A= Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı (445.2)

ε= Siyanidin-3-glikozitin molar absorbansı (29 600)

3.2.2.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi

Ekstraktlar uygun oranda seyreltilerek 10:1:1 (v:v:v) oranında 300 mM asetat tamponu: 20 mM FeCl₃: 10 mM TPTZ çözeltisi (40 mM HCl'de çözündürülmüş)

karışımı ile karıştırılmış ve bir spektrofotometrede (ThermoSpectronic, İngiltere) 593 nm’de absorbansı okunmuştur. FeSO₄ ile çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla antioksidan güç hesaplanmıştır (Benzie ve Szeto, 1999).

3.2.2.6. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Örneklerin DPPH radikalini indirgeme aktivitesini belirlemede Brand-Williams vd. (1995)’ nin bildirdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Metil alkolle ekstrakte edilen örnekler, 15000 rpm’ de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra hazırlanan ekstraktan 50 µL alınıp, 1 mL 100 µM DPPH çözeltisi ile karıştırılmış, 120 dakika bekletildikten sonra 517 nm’de absorbansı belirlenmiştir. İnhibisyon sonuçları Troloks standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisinde yerine konulmuş ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi hesaplanmıştır.% İnhibisyonu belirlemede aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{İnhibisyon(\%)} = \left(\frac{\text{Kontrol örneğinin absorbansı} - \text{Örneğin absorbansı}}{\text{Kontrol örneğinin absorbansı}} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.3. NADES Hazırlaması

NADES'ler, Chanioti ve Tzia (2018) tarafından bildirildiği gibi hazırlanmıştır. %20 destile su ilavesiyle 1:2 molar hidrojen bağı alıcı (HBA) ve hidrojen bağı verici (HBD) oranında 16 farklı NADES hazırlanmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3. 1. NADES'lerin bileşimleri, molar oranı ve kısaltmaları

No	HBA	HBD	Molar oranı	Su oranı (%)	Kısaltmalar
1	Kolin klorür	Üre	1:2	20	CHUR
2	Kolin klorür	Glikoz	1:2	20	CHGLU
3	Kolin klorür	Ksilitol	1:2	20	CHXYL
4	Kolin klorür	Laktik asit	1:2	20	CHLA
5	Kolin klorür	Asetik asit	1:2	20	CHAC
6	Kolin klorür	Sitrik asit	1:2	20	CHCI
7	Kolin klorür	Gliserol	1:2	20	CHGLY
8	Kolin klorür	Bütandiol	1:2	20	CHBUT
9	Kolin klorür	Etilen glikol	1:2	20	CHETHGLY
10	Laktik asit	Sorbitol	1:2	20	LASOR
11	Asetikasit	Sorbitol	1:2	20	ACSOR
12	Tartarik asit	Ksilitol	1:2	20	TARXYL
13	Tartarik asit	Sorbitol	1:2	20	TARSOR
14	Sitrik asit	Ksilitol	1:2	20	CIXYL
15	Malik asit	Ksilitol	1:2	20	MAXYL
16	Malik asit	Sorbitol	1:2	20	MASOR

3.2.4. NADES'lerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.4.1. Reoloji

NADES'lerin viskoziteleri Reometre (Buchi, CH-9230 Flawil 1, İsviçre) ile ölçülmüştür. Tüm ölçümler 20 °C'de yapılmıştır (Zannou ve Koca, 2020).

3.2.4.2. pH Tayini

AOAC (2000)'a göre hazırlanan örnekte pH, pH metre (ORION 3-Star, USA) yardımıyla belirlenmiştir.

3.2.4.3. İletkenlik

Elektriksel iletkenlik özellikleri elektrokimyasal analizör (Consort bvba, c6010, Belçika) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.4.4. Fourier Dönüştürülmüş Kızılötesi (FTIR) Analizi

NADES'lerin ve ekstraktların FTIR analizi, bir FTIR spektrometresi (Perkin Elmer, Spectrum-Two, ABD) kullanılarak 4000 ve 400 cm⁻¹ dalga sayılarında gerçekleştirilmiştir (Zannou vd., 2020).

3.2.5. Böğürtlen Pulpundan Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, destile su, metanol ve etanol (geleneksel organik çözücüler) ve NADES'ler ile ultrasonik su banyosunda (WUCA03H, ultrasonik temizleyici seti, Daihan Scientific Co., Ltd) gerçekleştirilmiştir. Bunun için 0.5 g meyve tartılıp, 10 g geleneksel ve NADES çözücülerini ile karıştırılmıştır. Karışım, 20 dakika boyunca 25 °C'de ultrasonik banyoda bekletilmiştir.

3.2.6. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi

Çalışmada geleneksel çözücü olarak destile su, etanol, metanol ve NADES'ler kullanılmış ve antioksidan özellikleri belirlenmiştir.

3.2.6.1. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini

Toplam fenolik madde içeriği, alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile reaksiyon sonucunda oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.6.2. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini

Toplam flavonoid içeriği, değiştirilmiş bir protokol kullanılarak belirlenmiştir (Hossain ve Shah, 2015; Lakka vd., 2019). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.3'de açıklanmıştır.

3.2.6.3. Toplam Antosiyanin (TAC) Miktarının Belirlenmesi

Toplam antosiyanin miktarı, pH diferansiyel yöntem kullanılarak belirlenmiş ve siyanidin-3-glikozit cinsinden hesaplanmıştır (Lee vd., 2005). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.4'de açıklanmıştır.

3.2.6.4. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi

Demir indirgeme antioksidan gücünü belirlemede, Benzie ve Szeto (1999)'nin yöntemleri modifiye edilerek kullanılmıştır ve bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.6.5. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Örneklerin DPPH radikalini indirgeme aktivitesini belirlemede, Brand-Williams vd. (1995)'nin yöntemleri modifiye edilerek kullanılmıştır ve bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.6.6. Fe²⁺Şelatlama Aktivitesi (FCA)

Bu analiz, Dinis vd. (1994) ve Santos vd. (2017) tarafından önerilen yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 0.5 mL seyreltilmiş ekstrakta, 1.6 mL saf su ve 0.05 mL FeCl₂ (2 mM) eklenmiş, 30 saniye sonra 0.1 mL ferrozin (5 mM) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 562 nm'de absorbansı okunmuştur. FCA değerleri, g başına mg Trolox eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edilmiştir. Fe²⁺ -ferrozin kompleksi oluşumunun yüzdesi şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\text{Fe}^{2+} \text{ şelatlama oranı (\%)} = \left[\frac{(A_{\text{Ekstre, FeCl}_2 \text{ ve ferrozin içeren solüsyon}} - A_{\text{Ferozin içermeyen solüsyon}})}{A_{\text{kontrol}}} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.7. Bireysel Antosiyanin Bileşiklerinin Belirlenmesi

Bireysel antosiyaninlerin belirlenmesinde, Bosiljkov vd. (2017)'nin bildirdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Antosiyaninler, 520 nm dalga boyunda bir diode array detektörü (DAD) ile bir yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi (Agilent 1260; Agilent Technologies) kullanılarak belirlenmiştir.

Antosiyeninler bir Inertsil ODS-4 kolonunda (3 µm, 4.6 x 50 mm; GL Sciences Kat No: 5020- 0404) 1 mL.dk⁻¹ akış hızında ayrılmıştır. Mobil fazlar şunlardır: (A) %94 2 mM sodyum asetat ve %6 asetik asit (v/v); (B) asetonitril. Solvent B'ye göre şu gradient elüsyon programı kullanılmıştır: 0-20 dakika, %14-%23; 20-40 dakika, %23-35; 40-50 dakika, %40; 50-60 dakika, %60; 60-65dk, %95; 65-80 dk, %100. Kolon sıcaklığı 30 °C'ye ayarlanmıştır. Bireysel antosiyeninler, alıkonma süreleri ilgili standartlarıyla karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Tanımlanan antosiyeninler, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan harici standartların (siyanidin-3-glkozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glkozit) bir karışımı kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.8. NADES İle Ekstraksiyon İçin Optimizasyon

Optimizasyon kolin klorür-asetik asit (CHAC) ve kolin klorür-gliserol (CHGLY) çözücüleri ile yapılmıştır. CHAC toplam antosiyenin, CHGLY toplam fenolik ve toplam antosiyenin ekstraksiyonu için diğer çözücülerden daha iyi performans verdiği için seçilmiştir. Yanıt yüzeyi metodolojisi (RSM), merkezi kompozit tasarımı (Design expert software 11.0) kullanılarak optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Deney tasarımında dört bağımsız değişken kullanılmıştır. Bunlar X₁ (molar oran), X₂ (su içeriği, %), X₃ (çözücü miktarı, g) ve X₄ (ekstraksiyon süresi, dak) şeklindedir. Gerçek ve kodlanmış değerler Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3. 2. Bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlu değerleri

Kodlu değerler	Gerçek değerler			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
-1.41	0.5	10	5	5
-1	2	20	15	15
0	3.5	30	25	25
+1	5	40	35	35
+1.41	6.5	50	45	45

X₁ (Molar oran); X₂ (Su içeriği, %); X₃ (Çözücü miktarı, g); X₄ (Süre, dakika).

Bağımsız değişkenlerin kombinasyonu (molar oran (1:0.5, 2, 3.5, 5 ve 6.5), su içeriği (10, 20, 30, 40 ve %50), çözücü miktarı (5, 15, 25, 35 ve 45 g), ekstraksiyon süresi (5, 15, 25, 35 ve 45 dk) ve merkezi noktada üç tekrarlı olarak 27 deney noktası çalışılmıştır. Yanıt (Y) olarak toplam antosiyenin içeriği (TAC) ve bireysel antosiyeninler (siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür) alınmış, çalışmalar 3 tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar,

ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Deneysel veriler aşağıdaki ikinci dereceden polinom modeline uyarlanmıştır:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_{ii} + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (3.4)$$

Burada;

Y, yanıt; X, bağımsız değişken; β_0 , model katsayısı (intercept); β_i , β_{ii} , β_{ij} interaksiyon katsayısı; k, bağımsız faktörlerin sayısı; ε deneysel hatadır. Bağımsız değişkenler ile yanıtlar arasındaki ilişki Design-Expert programında varyans analizi (ANOVA) testi kullanılarak incelenmiştir.

3.2.9. Optimum Koşullarından Elde Edilen NADES'lerin Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.9.1. Reoloji

NADES'lerin viskoziteleri Reometre (Buchi, CH-9230 Flawil 1, İsviçre) ile ölçülmüştür. Tüm ölçümler 20 °C'de yapılmıştır (Zannou ve Koca, 2020)

3.2.9.2. pH Tayini

AOAC (2000)'a göre hazırlanan örnekte pH, pH metre (ORION 3-Star, USA) yardımıyla belirlenmiştir.

3.2.9.3. İletkenlik

Elektriksel iletkenlik özellikleri elektrokimyasal analizör (Consort, c6010) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.10. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Optimum koşullarda, ultrason destekli (UAE), homojenizasyon destekli (HAE) ve karıştırma destekli (SAE) ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırmıştır.

3.2.10.1. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UAE)

Ekstraksiyon, NADES'ler ile ultrasonik su banyosunda (WUCA03H, ultrasonik temizleyici seti, Daihan Scientific Co., Ltd) gerçekleştirilmiştir. 0.5 g pulp tartılıp, 30.18 g CHAC ile karıştırılıp 20 dakika 25 °C'de ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Diğer yandan, 0.5 g pulp, 15 g CHGLY ile karıştırılıp 20 dakika 25 °C'de ultrasonik banyoda bekletilmiştir.

3.2.10.2. Homojenizasyon Destekli Ekstraksiyon (HAE)

Homojenizasyon Destekli Ekstraksiyon, NADES'ler ile homojenizatörde (Unidrive X1000, CAT Scientific, Inc., Paso Robles, California) gerçekleştirilmiştir. Tüpler bir homojenizatöre yerleştirilmiş ve 20 dakika 25 °C'de, 100 rpm'de ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Bunun için 0.5 g pulp, 30.18 g CHAC ile karıştırılıp 20 dakika 25 °C'de homojenizatörde bekletilmiştir. Diğer yandan, 0.5 g pulp, 15 g CHGLY ile karıştırılıp 20 dakika 25 °C'de homojenizatörde bekletilmiştir.

3.2.10.3. Karıştırma Destekli (SAE) Ekstraksiyon

Karıştırma destekli ekstraksiyon (SAE), NADES'ler ile karıştırıcıda (Arec.x, Velp Scientifica, Usmate (MB), Italy) gerçekleştirilmiştir. 0.5 g pulp, 30.18 g CHAC ile karıştırılıp 20 dakika boyunca 25 °C ve 250 rpm'de karıştırıcıda bekletilmiştir. Diğer yandan, 0.5 g pulp, 15 g CHGLY ile karıştırılıp 20 dakika 25 °C ve 250 rpm'de karıştırıcıda bekletilmiştir.

3.2.10.4. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleriyle Elde Edilen Ekstratlarda Yapılan Analizleri

3.2.10.4.1. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini

Toplam fenolik madde içeriği, alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile reaksiyon sonucunda oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.10.4.2. Toplam Flavonoid (TFC) Tayini

Toplam flavonoid içeriği, değiştirilmiş bir protokol kullanılarak belirlenmiştir (Hossain ve Shah, 2015; Lakka vd., 2019). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.3'de açıklanmıştır.

3.2.10.4.3. Toplam Antosiyanin (TAC) Miktarının Belirlenmesi

Toplam antosiyanin miktarı pH diferansiyel yöntem kullanılarak belirlenmiş ve siyanidin-3-glikozit cinsinden hesaplanmıştır (Lee vd., 2005). Bu yöntem, bölüm 3.2.2.4'de açıklanmıştır.

3.2.10.4.4. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Analizi

Demir indirgeme antioksidan gücünü belirlemede Benzie ve Szeto (1999)' nin yöntemleri modifiye edilerek kullanılmış ve bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.10.4.5. DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Örneklerin DPPH radikalini indirgeme aktivitesini belirlemede Brand-Williams vd. (1995)'nin yöntemleri modifiye edilerek kullanılmış ve bölüm 3.2.2.2'de açıklanmıştır.

3.2.10.4.6. ABTS Radikalini Giderme Etkisi

ABTS radikalini giderme etkisi, Re vd. (1999) ve Kong ve Ismail (2011) tarafından kullanılan yöntemler modifiye edilerek belirlenmiştir. ABTS stok solüsyonu (7.4 mM) ve potasyum persülfat solüsyonunun (2.6 mM) 1:1 karışımı 24 saat ışık olmayan bir yerde bekletilip sonra 734 nm'de optik yoğunluğu 0.700 ± 0.02 'e ayarlanmıştır. ABTS çözeltisinin 1.2 mL' si 0.1 ml ekstrakt ile karıştırılıp 1 saat bekletildikten sonra 734 nm' de absorbans okunmuş ve sonuçlar mmol troloks eşdeğeri cinsinden verilmiştir.

3.2.10.4.7. Bireysel Antosiyanin Bileşiklerin Belirlenmesi

Bireysel antosiyaninler, modifikasyonlarla birlikte Bosiljkov vd. (2017)'ne göre yapılmış ve bölüm 3.2.7'de açıklanmıştır.

3.2.11. Stabilite Testleri

Optimum koşullarda elde edilen ekstraktlarda ısıl, depolama ve ışık stabilite testleri yapılmıştır.

3.2.11.1. Isıl Stabilitesi

Isıl stabilite için böğürtlen ekstraktları ağzı kapalı cam tüplere konulup 40, 60, 80 ve 100 °C'de 30, 60 ve 80 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda hızla soğutulup antosiyanin degradasyonu incelenmiştir.

3.2.11.2. Oda Sıcaklığında Depolama Stabilitesi

Depolama stabilitesini araştırmak için oda sıcaklığında (25 °C) karanlıkta depolanan ekstraktlarda 0, 7, 14 ve 28. günde bireysel antosiyanin analizi yapılmıştır.

3.2.10.3. Oda Sıcaklığında Antosiyaninlerin Işık Stabilitesi

Böğürtlen antosiyaninlerinin ışık stabilitesini belirlemek için, ekstraktlar oda sıcaklığında 28 gün boyunca ve 3000 Lux ışık şiddetinde bir lamba (IP65, 10W, 85-265v, YCL Led Projektör, İstanbul, Türkiye) altında kesintisiz şekilde depolanmıştır. Depolanan ekstraktlarda 0, 7, 14 ve 28. günde bireysel antosiyanin analizi yapılmıştır.

3.2.11.4. Degradasyon Kinetiği ve Termodinamik Özelliklerinin Belirlenmesi

Antosiyanin degradasyonu 1.dereceden kinetik modeline uygun davranış göstermiş ve şu formülle hesaplanmıştır:

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -k \cdot t \quad (3.5)$$

Formülde; C_0 , başlangıç antosiyanin içeriğini ($t = 0$); C , t süredeki antosiyanin içeriğini; $t =$ süre (saniye)/(saat); k , degradasyon hızı sabitini (s^{-1})/(saat $^{-1}$) ifade etmektedir.

Yarı ömür değeri, değişik sıcaklıklar altında ($t_{1/2}$), aşağıdaki denklem ile degradasyon hızı sabitinden yararlanılarak hesaplanmıştır:

$$t_{1/2} = \frac{-\ln(0.5)}{k} \quad (3.6)$$

Aktivasyon enerjisi (E_a), Arrhenius denkleminde giderek belirlenmiştir:

$$k = k_0 e^{-E_a/RT} \quad (3.7)$$

Formülde; k , degradasyon hızı sabitini (s^{-1}) / (saat $^{-1}$); k_0 , frekans faktörü (s^{-1}) / (saat $^{-1}$); E_a , aktivasyon enerjisini (kJ/mol); R , evrensel gaz sabitini (8.314 J/mol. K); T , mutlak sıcaklığı (K) ifade etmektedir. Degradasyonun Termodinamiği Gibbs serbest enerjisi (ΔG) (kJ/mol), entalpi (ΔH) ve aktivasyon entropisi (ΔS) (kJ.mol.K $^{-1}$) gibi antosiyanin degradasyonunun termodinamik parametreleri degradasyon hızı sabiti (s^{-1})/(saat $^{-1}$) ve aktivasyon enerjisi (E_a) kullanılarak Ariahu vd. (2021)' a göre hesaplanmıştır.

$$\Delta G = -R \times T \times \ln (k \times h_p K_B \times T) \quad (3.8)$$

$$\Delta h = E_a - (R \times T) \quad (3.9)$$

$$\Delta S = (\Delta h - \Delta G T) \quad (3.10)$$

Formülde; h_p Planck sabiti (6.62×10^{-34} Js) ve k_B Boltzman sabitini (1.38×10^{-23} J/K) ifade etmektedir.

3.2.12. Biyoyararlılık Testi

Antosiyanin biyoyararlılığı, insan gastrointestinal sistemini simüle ederek *in vitro* olarak incelenmiştir. Ağız, mide ve bağırsak sindiriminin simülasyon protokolü, önceki çalışmaların (Goñi vd., 2006; Jain vd., 2020; Liang vd., 2021; Mao ve McClements, 2012; Zhao vd., 2020a) modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir.

Oral Faz (ağızda): Eşit hacimde numune solüsyonu ile yapay salya (sodyum klorür 1.594 g/L, amonyum nitrat 0.328 g/L, potasyum fosfat 0.636 g/L, potasyum klorür 43 0.202 g/L, potasyum sitrat 0.308 g/L, üre 0.198 g/L, münin 30g/L, α -amilaz 2 g/L, pH 6.8) karıştırılmış ve karışımın 1M NaOH ile pH'ı 6.8'e ayarlanıp 37°C'de sürekli çalkalanarak (200 rpm) 5 ve 15 dakika inkübe edilmiştir.

Gastrik Faz (midede): Eşit hacimde oral faz sindiriminden alınan numunelerle simüle edilmiş mide sıvısı (sodyum klorür 2 g/L, hidroklorik asit 7 mL/L, pepsin 3.2 g/L) karıştırılıp 1M HCl ile pH'ı 2.5 'e ayarlanmış ve 37°C'de sürekli çalkalanarak (200 rpm) 1, 2 ve 3 saat inkübe edilmiştir.

Bağırsak Fazı: Gastrik fazından elde edilen numunelerin 1M NaOH ile pH'ı 7'e ayarlanmış ve sürekli karıştırılarak 4 mL safra tuzu çözeltisi (5g/L) ve 1 mL kalsiyum klorür çözeltisi (0.75 M) ilave edilmiştir. Daha sonra karışımın pH'sı tekrar 7'ye ayarlanmıştır. Ortama 2.5 mL lipaz solüsyonu (4.8 g/L) eklenip, 1, 2 ve 3 saat boyunca çalkalanarak (200 rpm) 37°C'de inkübe edilmiştir. NaOH çözeltisi (0.25M) eklenerek pH 7'de sabit tutulmuştur.

Biyoyararlılık ve Antosiyanin Tayini: Her faz ve her inkübasyon süresinden elde edilen karışım, 4°C'de 40 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Antosiyanin içeren misel temsil eden süpernatant alınmış ve HPLC ile antosiyanin içeriği belirlenmiştir. Antosiyanin biyoyararlılığı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{Biyoyararlılık} = \frac{C_{\text{misel}}}{C_0} \quad (3.11)$$

Formülde, C_{misel} , misel fraksiyonundaki antosiyanin miktarı (mg/kg); C_0 , optimum noktadan elde edilen antosiyanin (mg/kg) konsantrasyonunu göstermektedir.

3.2.13. İki Sulu Faz ile Antosiyaninlerin Ön Saflaştırması

İki sulu faz ile antosiyaninlerin ön saflaştırması için Odabaş ve Koca (2020)'nın bildirdiği optimum noktadaki koşullar modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. İki Sulu faz çözücü hazırlamak için % 26.85 etil alkol (w:w), % 19.15 amonyum sülfat (w:w) ve % 54 saf su (w:w) birleştirmiş ve 30 dakika 250 rpm ve 25 °C'de karıştırılmıştır. Ayrıca, 100 g iki sulu faz çözücü alıp 5 g optimum koşullarında elde edilen ekstraktla birleştirip 30 dakika 250 rpm ve 25 °C'de karıştırılmıştır. Daha sonra ayırma hunisi kullanarak fazları ayrılmıştır. HPLC yardımı ile her fazdaki antosiyanin bileşikleri belirlenmiştir. Her fazdaki toplam şeker miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Saflık, dağılım katsayısı (Kc) ve Geri kazanım (R) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır.

Toplam şeker miktarı: Ekstraktların toplam şeker miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Dubois vd., 1951). Bu yöntem 3.2.2.1'de açıklanmıştır.

Saflık: Ekstraktların saflık (%) değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Qin vd, 2017).

$$\text{Saflık (\%)} = \frac{100 \times C \times V}{m_e} \quad (3.12)$$

Formülde, C: Ekstraktın antosiyanin miktarı (g/kg), V: Ekstraktın hacmi (mL), me: Ekstraktın kütlesi (g).

Dağılım katsayısı: Dağılım katsayısı (Kc) sulu iki faz sistemlerinin çözücü olarak kullanıldığı ekstraksiyon yöntemlerinde antosiyaninlerin ve şekerlerin dağılım katsayıları aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Liu vd., 2013).

$$K_C = \frac{C_{top}}{C_{bot}} \quad (3.13)$$

Formülde, C_{top} ve C_{bot} sırasıyla üst faz ve alt fazdaki konsantrasyonlardır.

Geri kazanım: Geri kazanım (Rk) sulu iki faz sistemlerinin çözücü olarak kullanıldığı ekstraksiyon yöntemlerinde antosiyaninlerin ve şekerlerin geri kazanımı aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Wu vd., 2011).

$$R_k = \left(\frac{C_t V_t}{C_t V_t + C_b V_b} \right) \times 100 \quad (3.14)$$

Formülde, C_t ve C_b sırasıyla üst faz ve alt fazdaki konsantrasyonlardır. V_t ve V_b sırasıyla üst ve alt fazdaki hacimleridir.

3.2.14. İstatistiksel Analiz

Tüm sonuçlar, üç tekrürün ortalaması \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler tek yönlü varyans analizi ANOVA kullanılarak yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılık Duncan çoklu testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. RSM ve deneysel veri analizi için Design-Expert yazılımı (sürüm 13.0, Stat-Ease Inc., Minneapolis, ABD) kullanılmıştır. Faktörler arasındaki istatistiksel ilişkiyi belirlemek için ANOVA kullanılmıştır. Modellerin yeterliliği R^2 , düzeltilmiş R^2 , tahmin edilen R^2 , varyasyon katsayısı (CV), yeterli kesinlik, p değeri ve Fisher testi değeri (F değeri) ile belirlenmiştir. Modellerin anlamlılığı ve regresyon katsayıları $p < 0.05$ önemlilik derecesinde değerlendirilmiştir. Değişkenlerin davranışları ve tepkileri pertürbasyon grafikleri ile kontrol edilmiştir. İstenilirlik fonksiyonu uygulanarak optimum koşullar belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziksel, Kimyasal Ve Antioksidan Özellikleri

Analizi yapılan meyvelerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 4.1'de, antioksidan özellikleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Böğürtlen meyvelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Parametre	Özellik
Kilogramdaki tane sayısı, adet	766.67±89.97
En(mm)	13.78± 1.45
Boy(mm)	12.25 ±2.17
Kuru madde(%)	20.58±2.03
Çözünür katı madde(%)	9.57±0.61
pH	3.19±0.09

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, meyve ağırlığı ortalama 1.30 ± 0.09 g, kilogramdaki tane sayısı 766.67 ± 89.97 olarak bulunmuştur. Böğürtlenin meyve ağırlığı üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında; Altuntaş ve Pırlak (2020) Boata, arphe, chester ve jumbo çeşitlerinde sırasıyla 0.72, 1.19, 2.81 ve 3.60 g bulmuştur. Yılmaz vd. (2009) 0.02 ile 0.43 g arasında değişen değerler bildirmişlerdir. Ayrıca, Eydurun vd. (2008) Arapaho, siyah satin, cherokee, dikensiz chester, dikensiz dirksen, jumbo, navaho ve lochness çeşitlerinde meyve ağırlığını sırasıyla 2.97-3.25 g, 1.56-2.34 g, 2.00-2.78 g, 4.84-5.48 g, 4.36-5.35 g, 3.86-4.36, 2.73-3.25 g, 2.42-3.23 g ve 3.22-3.65 g olarak bulmuşlardır. Tane ağırlığı çeşide bağlı olmasına rağmen, mevcut çalışmada bulunan tane ağırlığı incelenen literatürle uyumludur.

Tablodan görüldüğü gibi böğürtlen meyveleri asidik bir pH'ya sahiptir. Reyes-Carmona vd. (2005), Meksika ve Amerikan böğürtlenlerinin pH ve toplam çözünür katı maddelerinin sırasıyla %2.33-4.28 ve %7.5-16.1 aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Tosun vd. (2008), farklı olgunlaşma aşamalarında böğürtlenin fitokimyasal özelliklerinde büyük farklılıklar olduğunu bildirmişler; kuru madde, toplam çözünür katı madde ve pH'nın sırasıyla %15.43-21.30, %7.00-11.11 ve 2.64-3.20 aralığında olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, Hassimotto vd. (2008), pH'nın 3.23 ile 3.42 ve toplam çözünür katıların 6.19 ile 9.32 °Brix arasında olduğunu bildirmişlerdir. Yılmaz vd. (2009), Türkiye'nin güneyindeki böğürtlenlerin fizikokimyasal özelliklerini değerlendirmişler ve meyve ağırlığı, meyve eni, meyve boyu, toplam çözünür katı madde miktarı ve pH değerlerinin sırasıyla 0.02-0.43 g, 0.25-0.42 mm, 0.21-0.44 mm, %0.78 ve %0.11 olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, Gibson vd. (2013) hem 3.2'den 3.63'e değişen pH'nın hem de 7'den 11 °Brix'e

değişen toplam çözünür katı maddenin meyveler olgunlaştıkça arttığını belirlemişlerdir. Görüldüğü gibi bulgular, incelenen literatür bilgileriyle uyumludur.

Tablo 4. 2. Böğürtlen meyvelerinin antioksidan özellikleri

Çözücü	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg ECE/g)	TAC (mg C3G/g)	DPPH (mmol TE/g)	FRAP (mmol ISE/ g)
Saf su	29.84±0.91b	0.75±0.08b	0.92±0.04b	21.80±2.10b	26.69±2.29b
% 80 metanol	52.94±5.80a	1.01±0.08a	1.40±0.07a	56.62±0.51a	34.90±0.95a
% 70 etanol	54.64±3.28a	0.99±0.02a	1.14±0.03a	59.99±2.32a	35.89±0.91a

* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$)

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi, toplam fenol, toplam flavonoid, toplam antosiyanin, DPPH ve FRAP değerleri sırasıyla 29.84-54.64 mg GAE/g, 0.75-1.01 mg ECE/g, 0.92-1.14 mg C3G/g, 21.80- 59.99 mmol TE/g ve 26.69-35.89 mmol ISE/g arasında saptanmıştır. Hassimoto vd. (2008), Brezilya böğürtlen çeşitlerinde toplam fenol ve toplam antosiyanin miktarını sırasıyla 341.00-499.00 mg/100g ve 116.00-194.00 mg/100g bulmuşlardır. Tosun vd. (2008), böğürtlen toplam fenol miktarını 9368.25-14572.44 mg/kg ve toplam antosiyanin miktarını 1009.02-7.926.71 mg/kg bulmuşlardır. Benzer şekilde, Koca ve Karadeniz (2009), farklı böğürtlen çeşitlerinde toplam fenolü 1.73-3.26 mg/g, toplam antosiyanini 0.95-1.99 mg/g ve FRAP'ı 35.05-43.44 μ mol/g aralığında belirlemişlerdir. Lugasia vd. (2011), Macaristan'da yetişen böğürtlen toplam fenolü 143.00 ve 482.00 mg/100g ve toplam antosiyanini 50.00 ve 233.00 mg/100g arasında saptamışlardır. Bulgular, literatürdeki sonuçlarla karşılaştırıldığında, böğürtlenin antioksidan özelliklerinin çeşitlere, yetiştirme parametrelerine ve lokasyonlara bağlı olarak büyük ölçüde değiştiği görülmektedir.

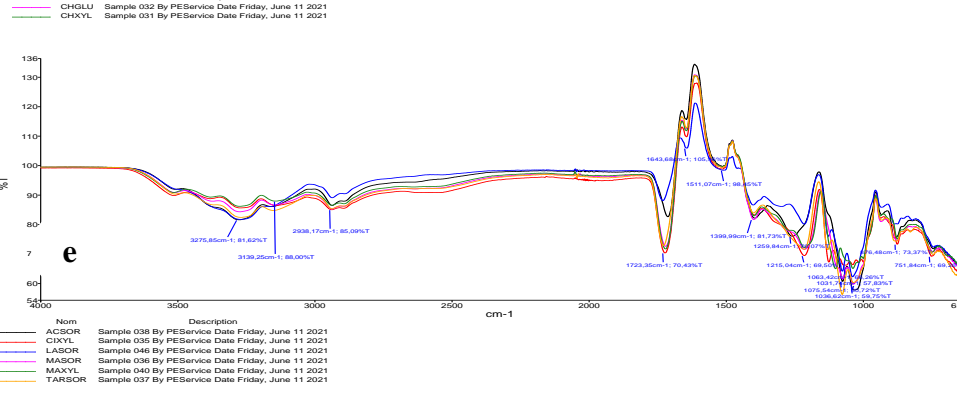
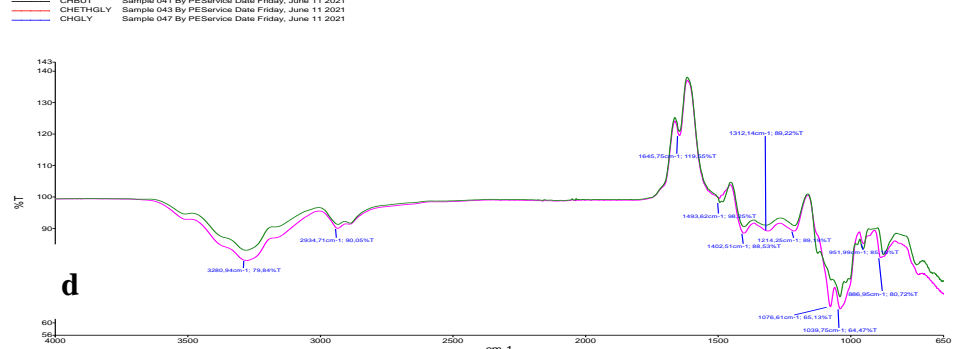
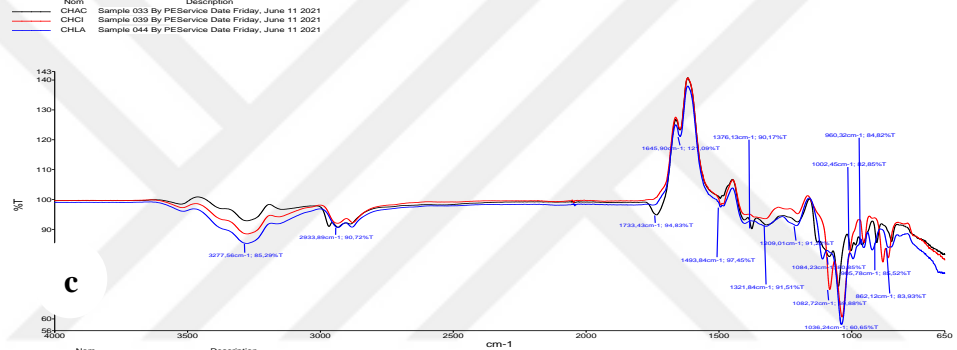
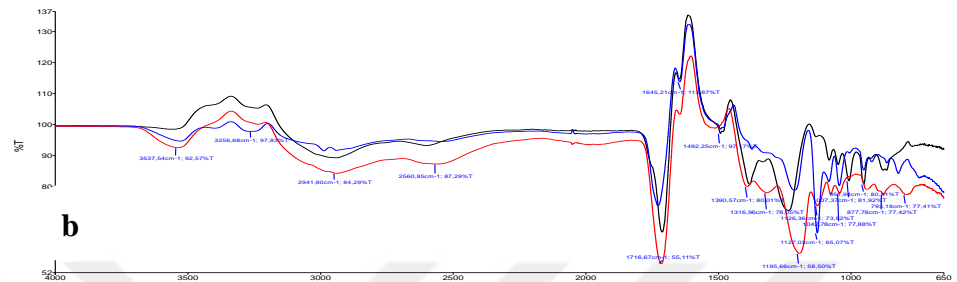
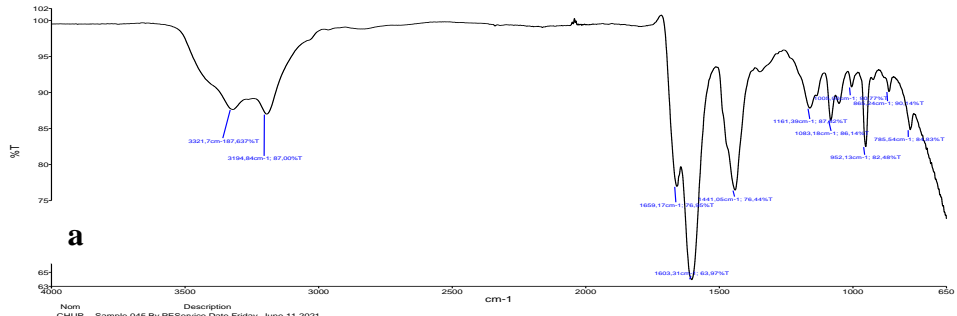
4.2. NADES'lerin Fizikokimyasal Özellikleri

4.2.1. FTIR Spektrumları

Kolin klorür-üre, kolin klorür-organik asitler, kolin klorür-şekerler ve organik asitler-şekerler NADES'lerinin FTIR spektrumları sırasıyla Şekil 4.1a-e'de gösterilmiştir. Şekil 4.1'de görülebileceği gibi, NADES'ler, 3500-3200 cm^{-1} dalga sayısında düşük yoğunluklu OH gerilme bantları göstermiştir. Bu da çok düşük bir su içeriğine sahip olduğu anlamına gelmektedir (Ghaedi vd., 2017; da Silva vd., 2020b). Viskozitelerini ayarlamak ve kullanımlarını kolaylaştırmak için NADES'lere %20 oranında su eklenmiştir. NADES'lerin 3300-3100 cm^{-1} dalga sayısında OH germe titreşimi, HBA ve HBD arasında hidrojen bağı oluşumunu göstermiş (Ghaedi vd.,

2017; Ozturk vd., 2018), yani NADES solventlerinin sentezini doğrulamaktadır. Şekil 1a'da, 3455 cm^{-1} 'deki dalga sayısı, ürenin N-H gerilme titreşimine aittir (Manivannan ve Rajendran, 2011). 3200-2932 cm^{-1} 'deki pikler, C-H gerilme bantlarına aittir. Şekil 1b ve e'de, 1723 cm^{-1} dalga sayısındaki pik, karboksilik asit (COO) grubu ile ilişkilidir ve karışımlarda organik asidin varlığını doğrulamaktadır. Tüm NADES'lerde 1645 cm^{-1} dalga sayısı civarında elde edilen pikler, C=C gerilme titreşimleri ile ilgilidir. Şekil 1a'da, 1603 cm^{-1} 'de gözlenen yoğun pik, ürenin N-H deformasyon frekansının göstergesidir (Manivannan ve Rajendran, 2011). Ayrıca 1500-600 cm^{-1} bölgesinde elde edilen pikler, NADES'lerin C-O, CH, C-C ve OCO gerilme, deformasyon veya eğilme titreşimlerinin göstergesidir (Fu vd., 2021).





Şekil 4. 1. NADES'lerin FTIR spektrumları; a) kolin klorür-üre, b) kolin klorür-asitleri, c) kolin klorür-alkoller, d) kolin klorür-şekerler ve e) asitler-şekerler

4.2.2. pH Sonuçları

Farklı NADES'lerin pH değerleri incelendiğinde, en yüksek pH (9.99 ± 0.01) CHUR'a aittir. Kolin klorür-şeker, kolin klorür-organik asit ve kolin klorür-alkol bazlı NADES'lerde sırasıyla 2.29-5.05, 0.76-1.32 ve 5.36-7.04 pH değerleri tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Organik asitlere, sorbitol veya ksilitolun katıldığı NADES'lerde pH değeri 1.03 ile 2.20 arasında değişmiştir. En düşük pH'a sahip çözeltiler asit bazlı olanlardır. Onları şeker ve alkol bazlı NADES'ler izlemiştir. Adeyemi vd. (2018), alkanolamin-kolin klorür derin ötektik çözücülerde pH'ının 10 ile 13 arasında olduğunu saptamışlardır. García vd. (2016), kolin klorür-laktik asit (1:2) ve kolin klorür-malonik asit (1:1) NADES'ler için sırasıyla 2 ve 0.5 pH değerlerini bulmuşlardır. Görüldüğü gibi, NADES'lerin yapısında bulunan bileşenler, nihai çözücülerin pH'ını doğrudan etkilemektedir. Saptanan değerler, birçok çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur (Chen vd., 2019; Zannou ve Koca, 2020).

Tablo 4. 3. NADES'lerin fizikokimyasal özellikleri

No:	NADESs	NADES'lerin fizikokimyasal özellikleri		
		Viskozite (mPa)	pH	İletkenlik ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
1	CHUR	14.35 \pm 0.07	9.99 \pm 0.01	1114.33 \pm 53.54
2	CHGLU	1093.00 \pm 4.58	5.30 \pm 0.07	307.00 \pm 8.54
3	CHXYL	585.33 \pm 3.79	5.05 \pm 0.01	190.80 \pm 4.00
4	CHLA	9.36 \pm 0.08	0.76 \pm 0.01	1135.67 \pm 71.60
5	CHAC	8.75 \pm 0.09	1.32 \pm 0.01	1059.33 \pm 16.20
6	CHCI	168.33 \pm 1.15	-0.46 \pm 0.01	138.00 \pm 3.61
7	CHGLY	23.48 \pm 0.12	5.36 \pm 0.02	777.00 \pm 13.75
8	CHBUT	0.39 \pm 0.05	5.99 \pm 0.08	695.00 \pm 3.46
9	CHETHGLY	7.55 \pm 0.37	7.04 \pm 0.01	1141.67 \pm 53.41
10	LASOR	347.67 \pm 0.58	1.81 \pm 0.02	3.50 \pm 0.05
11	ACSOR	466.67 \pm 0.58	2.20 \pm 0.03	0.88 \pm 0.00
12	TARXYL	771.33 \pm 0.58	1.03 \pm 0.01	9.86 \pm 0.15
13	TARSOR	2063.67 \pm 1.53	1.20 \pm 0.08	6.57 \pm 0.03
14	CIXYL	244.00 \pm 0.00	1.12 \pm 0.02	15.90 \pm 0.06
15	MAXYL	484.33 \pm 0.58	1.31 \pm 0.01	4.98 \pm 0.03
16	MASOR	742.00 \pm 1.00	1.43 \pm 0.02	3.63 \pm 0.02

4.2.3. İletkenlik

İncelenen çözücülerin elektrik iletkenliği Tablo 4.3'den görülmektedir. HBA olarak kolin klorürün kullanıldığı NADES'ler 138.00 ile 1141.67 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ arasında değişen yüksek elektrik iletkenliğine sahiptir. Bu çalışmada en yüksek iletkenliği CHETGLY (1141.67 \pm 53.41 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) göstermiş, onu CHLA (1135.67 \pm 71.60 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), CHUR (1114.33 \pm 53.54 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), CHAC (1059.33 \pm 16.20 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) CHGLY (777.00 \pm 13.75 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) ve CHBUT (695.00 \pm 3.46 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) izlemiştir. Bu bulgu,

CHETGLY'nin NADES'te en serbest hareket eden daha fazla çözülmüş iyon içerdiğini göstermektedir. Ibrahim vd. (2019), kolin klorür (1 mol), etilen glikol (2 mol) ve su içeriğinden (6.504 mg/g DES) oluşan derin ötektik çözücü için $7160 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ iletkenlik bildirmişlerdir. Sonuçlar, Ibrahim vd. (2019) su içeriğindeki farklılık nedeniyle farklıdır. Al Omar vd. (2016) ve Harifi-Mood ve Buchner (2017), DES'deki su miktarının ve sıcaklığın iletkenliği büyük ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir. Al Omar vd. (2016), kolin klorür (1 mol) ve gliserolden (2 mol) oluşan NADES için iletkenliği 298 K'de $985 \mu\text{S cm}^{-1}$ ve 348 K'da $4880 \mu\text{S cm}^{-1}$ olarak rapor etmişlerdir. Kolin klorürlü NADES'lerin yüksek elektrik iletkenliğine, organik asitli NADES'lerin ise düşük elektrik iletkenliğine sahip olduğu görülmüştür. Bu bulgular Dai vd. (2015)'nin sonuçlarıyla uyumludur. Araştırmacılar, baz-polialkol > baz-organik asit \approx baz-şeker > organik asit-amino asit > organik asit-şeker > şeker-şeker dizisinde NADES'lerin iletkenliğinin azaldığını bildirmişlerdir.

İletkenlik, çözeltide çözülmüş kimyasalların varlığına dayanır. İletkenlik ne kadar yüksek olursa, çözeltideki iyonik türlerin daha fazla çözüldüğünü ve çözelti içinde serbestçe hareket ettiğini gösterir (Ibrahim vd., 2019).

Cui vd. (2017), kolin klorür ve p-toluen sülfonik asit (1:2 molar), kolin klorür ve trikloroasetik asit (1:2 molar), kolin klorür ve monokloroasetik asit (1:2 molar) ve kolin klorür ve propiyonik asit (1:2 molar) oluşan asidik NADES'ler için iletkenliği $123-1068 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, $14-85 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, $57-214 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ve $82-221 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ aralığında bildirmişlerdir. Sonuçlar, literatürle karşılaştırıldığında, iletkenliğin NADES'in bileşenlerine, viskozitesine ve su içeriğine ve ayrıca sıcaklığa bağlı olarak büyük ölçüde değiştiği görülmüştür.

4.2.4. Viskozite

Viskozite, NADES'lerin en temel özelliklerinden biridir (Tablo 4.3). NADES uygulaması için önemli bir engeldir. NADES'in viskozitesi, su içeriği ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir. Viskoz NADES, kütle transferini engelleyerek biyoaktif bileşiklerin geri kazanımını olumsuz yönde etkilemektedir (Dai vd., 2013ab, Wei vd., 2015; Zannou vd., 2020). Bu çalışmada, NADES'lerin viskoziteleri, viskoziteyi azaltmak ve ekstraksiyon verimini iyileştirmek için %20 saf su eklenmiştir. Bununla birlikte, NADES'lerin viskozitesi, bileşimlerine bağlı olarak büyük ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$). İncelenen NADES'lerin viskozitesi 0.39 ve

2063.67 mPa aralığında bulunmuştur (Tablo 4.3). Kolin klorür-şeker veya organik-şeker bazlı NADES'ler yüksek viskozite sergilerken, kolin klorür-organik asit veya kolin klorür-alkol bazlı olanlar düşük değerler göstermiştir. En yüksek viskoziteyi TARSOR sergilemiş, bunu CHGLU, TARXYL, MASOR, CHXYL, MAXYL, ACSOR, LASOR ve CISOR izlemiştir. NADES'lerin yüksek viskozitesi, moleküler hareketliliğin kaybıyla sonuçlanan hidrojen bağlarının oluşumuna bağlanabilir. NADES'lerin daha yüksek viskoz karakterleri, kimyasal yapılarındaki zincir uzunluğuyla da ilişkili olabilir (Gajardo-Parra vd., 2020). Ayrıca, NADES'lerin yüksek viskozitesi, HBA ve HBD'nin molar oranından kaynaklanabilir. Molar oran, çok viskoz veya doymuş NADES elde etmekten kaçınacak aralıkta olmalıdır.

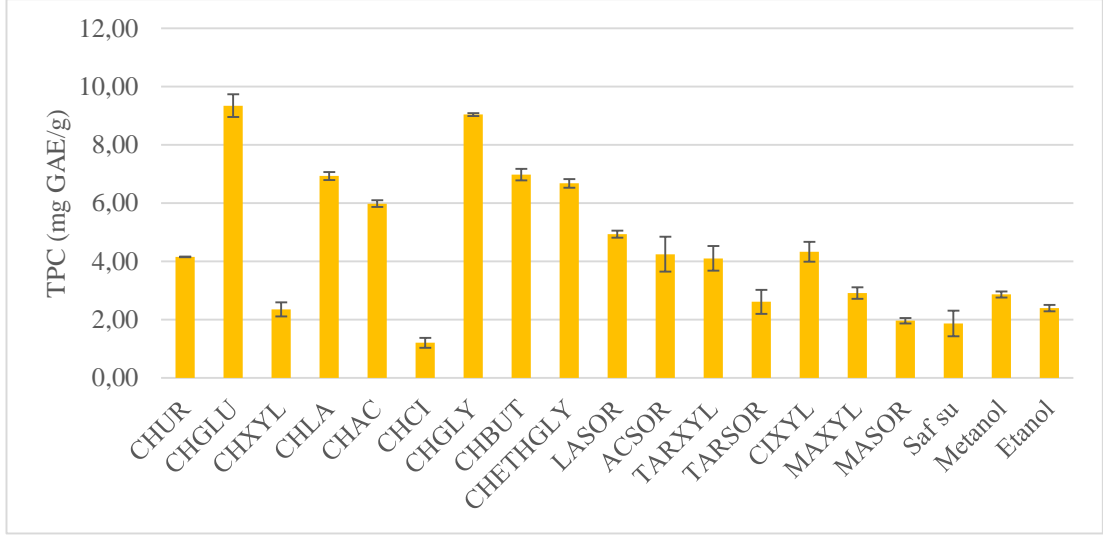
4.3. Konvansiyonel Çözücüler ve NADES'ler İle Biyoaktif Bileşiklerin Eldesi

Geleneksel çözücü ve NADES çözeltileri ile biyoaktif bileşenler ekstrakte edilmiştir.

4.3.1. Toplam Fenolik Madde

NADES'lerin ve geleneksel çözücülerin ekstraksiyon performanslarını gösteren sonuçlar Şekil 4.2'de verilmiştir. NADES'ler toplam fenol değerleri 1.20 ile 9.35 mg GAE/g arasında değişirken, su, metanol ve etanol ekstraktlarında sırasıyla 1.87, 2.86 ve 2.35 mg GAE/g bulunmuştur. NADES'ler, biraz daha düşük verim gösteren CHCI, TARSOR, MASOR, MAXYL dışında su, metanol ve etanolden daha yüksek toplam ekstrakte etmiştir. NADES'lerin yüksek ekstrakte edebilirlik performansları, eklenen %20 oranındaki destile su ilavesiyle ilişkilendirilebilir. Hidrofilik NADES'lerin, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için geleneksel çözücülerden daha uygun çözücüler olduğu bildirilmiştir (El Kantar vd., 2019; Saha vd., 2019; Zannou vd., 2020). NADES'lerin yüksek ekstrakte edebilirlik performansı, fenolik bileşiklerle güçlü bir şekilde etkileşime giren ve ekstraksiyonlarını kolaylaştıran çoklu hidrojen bağlarının varlığıyla da ilişkilendirilebilir (Bakirtzi vd., 2016; Lakka vd., 2019; Liu vd., 2019).

6 en iyi performansı gösteren NADES sırasıyla CHGLU (9.35 mg GAE/g) ve CHGLY (9.04 mg GAE/g), ardından CHBUT (6.98mg GAE/g), CHLA (6.93 mg GAE/g), CHEthGLY (6.68 mg GAE/g) ve CHAC (5.98 mg GAE/g)'dir.

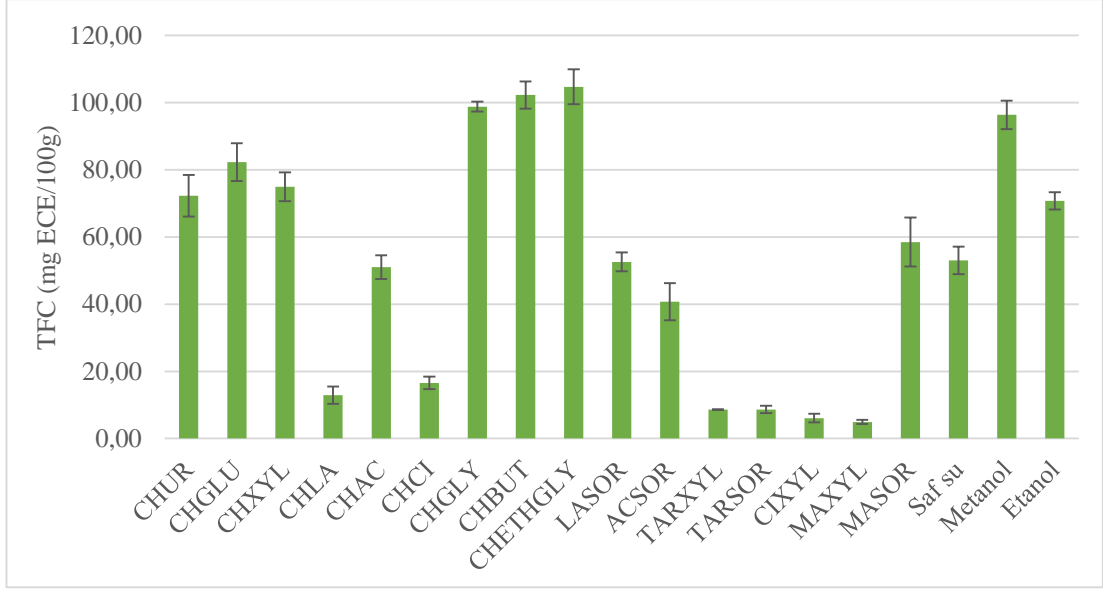


Şekil 4. 2. Farklı çözücülerle elde edilen böğürtlenin toplam fenolik içeriği

4.3.2. Toplam Flavonoid

Böğürtlenden NADES ve destile su, metanol ve etanol gibi geleneksel çözücülerle elde edilen toplam flavonoidler birbiriyle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.3'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, flavonoidlerin ekstraksiyon çözücülere göre önemli ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$).

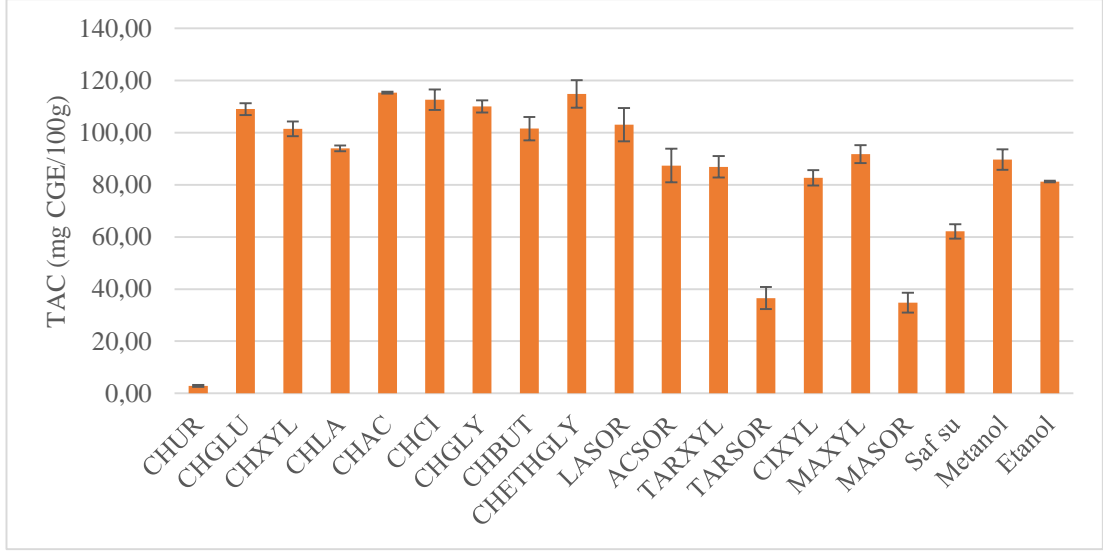
Su, metanol ve etanol sırasıyla 53.02, 96.35 ve 72.30 mg ECE/100g flavonoid ekstrakte ederken, NADES'ler 4.95 ile 104.72 mg ECE/100g arasında flavonoid ekstrakte etmiştir. NADES, CHETHGLY (104.72 mg ECE/100g), CHBUT (102.26 mg ECE/100g) ve CHGLY (98.81 mg ECE/100g) su, metanol ve etanolden daha verimli bulunmuştur. Bu sonuçlar, çalışılan NADES'lerin flavonoidlerle çoklu hidrojen bağlama ağları ve çözünürlüğünün etkisi ile ilişkilendirilebilir (Hao vd., 2020; Yu vd., 2020; Cheng vd., 2020). NADES'ler CHETHGLY, CHBUT ve CHGLY en yüksek performansları sergilemelerine rağmen, MAXYL en düşük performans sergilemiştir. Açıkça, test edilen NADES'lerin ekstraksiyon potansiyeli HBD ve HBA'dan büyük ölçüde etkilenmektedir. Bir yandan kolin klorür ve alkol bazlı NADES'ler daha fazla toplam flavonoid ekstrakte etmiş, onu sırasıyla kolin klorür-şeker ve kolin klorür-karboksilik asit bazlı NADES'ler takip etmiştir. Öte yandan, karboksilik asit-şeker bazlı NADES'ler daha düşük verim sağlamıştır. Bu sonuçlar, Shang vd. (2018)'nin bulguları ile uyumludur. Araştırmacılar, amin-alkol bazlı NADES'lerin şeker-karboksilik asit bazlı flavonoid ekstraksiyonu açısından daha yüksek performans gösterdiğini belirtmişlerdir.



Şekil 4. 3. Farklı çözücülerden elde edilen böğürtlenin toplam flavonoid içeriği

4.3.3. Toplam Antosiyanin

Örneklerin toplam antosiyanin içerikleri Şekil 4.4'te verilmiştir. NADES'ler tarafından geri kazanılan toplam monomerik antosiyanin içerikleri, 2.82 ile 115.37 mg CGE/100g arasında değişirken, su, metanol ve etanol ekstraktlarında sırasıyla 62.14, 89.73 ve 81.27 mg CGE/100g olarak saptanmıştır. NADES'ler, CHUR, MASOR ve TARSOR dışındaki geleneksel çözücülere kıyasla antosiyaninleri daha yüksek veya yakın miktarda ekstrakte etmiştir. En düşük toplam antosiyanin (2.82 mg CGE/100g), yüksek pH'ı (9.99) nedeniyle CHUR ile belirlenmiştir. Monomerik antosiyaninlerin artan pH değerlerinin yapıyı değiştirdiği ve 7'nin altındaki pH değerlerinde bozunduğu bildirilmiştir (Cvjetko Bubalo vd., 2016; Bosiljkov vd., 2017). MASOR ve TARSOR, pH'ı 2'nin altında olan organik asit bazlı NADES'ler olmasına rağmen, yüksek viskoziteye sahiptiler.



Şekil 4. 4. Farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların toplam antosiyanin içeriği

Antosiyaninlerin en yüksek değerleri CHAC (115.37 mg CGE/100g), CHETHGLY (114.88 mg CGE/100g), CHCI (112.67 mg CGE/100g), CHGLY (110.04 mg CGE/100g), CHGLU (109.06 mg CGE/100g), LASOR (103.10 mg CGE/100g), CHBUT (101.56 mg CGE/100g), CHXYL (101.49 mg CGE/100g)'te bulunmuştur. Genel olarak, organik asit bazlı NADES'ler, böğürtlen antosiyaninin geri kazanılması için en yüksek verime sahiptir. Bu bulgular, asidik NADES'lerin daha yüksek miktarlarda antosiyaninler ve polimerik pigment eldesi için etkinliğini değerlendiren önceki çalışmalar tarafından da desteklenmektedir (Bosiljkov vd., 2017; Bentley vd., 2020; Bi vd., 2020; Fu vd., 2021). Ayrıca, alkol bazlı NADES'ler (CHETHGLY ve CHGLY), güçlü hidrojen bağlama ağları, polariteleri ve nispeten düşük viskoziteleri nedeniyle daha yüksek miktarlarda böğürtlen antosiyaninlerini ekstrakte etmiştir. En yüksek toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antosiyanin sırasıyla CHGLU, CHETHGLY ve CHAC'de belirlenmiştir. Biyoaktif bileşiklerin özütü için NADES'lerin bu varyasyonu, hedeflenen analitin geri kazanılması için NADES'lerin seçiciliğini gözler önüne sermiştir.

4.3.4. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.3.4.1. DPPH Serbest Radikalini Yok Etme Etkisi

Numunelerin DPPH serbest radikal yok etme aktivitesinin sonuçları Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Görülebileceği gibi, numunelerin DPPH'si ekstraksiyon için kullanılan solvent tipine bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$). CHUR, MAXYL ve MASOR'dan elde edilen ekstraktlar dışında, NADES'lerden elde edilen

ekstraktlar, geleneksel solventlere kıyasla daha yüksek antiradikal aktivite sergilemiştir. Benzer şekilde, sulu, metanolik ve etanolik özütlerle, benzer NADES'ler kullanılarak çeşitli bitki materyallerinden elde edilen özütlerin karşılaştırıldığı birkaç çalışmada, daha yüksek antiradikal aktivite bildirilmiştir (Bakirtzi vd., 2016; Pal ve Jadeja, 2020; Alsaud vd., 2021; Oliveira vd., 2021). NADES'lerden elde edilen ekstraktlar 13.84 ile 68.77 mmol TE/g arasında değişen antiradikal aktivite sağlamış ve geleneksel çözücülerden elde edilen ekstraktlarda sırasıyla destile su, metanol ve etanol için 16.47, 23.10 ve 17.47 mmol TE/g olarak saptanmıştır. CHCI (68.77mmol TE/g), CHAC (53.02 mmol TE/g), CHLA (50.22 mmol TE/g), CHGLY (48.21 mmol TE/g), ACSOR (43.56 mmol TE/g), CHXYL (40.47 mmol TE/g) ve CHBUT (40.26 mmol TE/g) özütlerinde yüksek antiradikal aktivite belirlenmiştir.

Tablo 4.4. NADES'lerden ve geleneksel çözücülerden elde edilen böğürtlen ekstraktlarının antioksidan özellikleri

No	Solventler	Antioksidan Aktivite		
		DPPH, mmol TE/g	FRAP (mmol ISE/g)	FCA (mg TE/100g)
1	CHUR	16.96±0.92gh	15.36±1.24i	5.13±0.31i
2	CHGLU	35.78±3.43e	32.13±3.02d	10.48±0.42hi
3	CHXYL	40.47±9.14de	33.24±3.19d	19.26±2.51hi
4	CHLA	50.22±2.77c	51.95±2.15c	964.76±41.79e
5	CHAC	53.02±2.30b	53.47±2.061c	341.51±0.00g
6	CHCI	68.77±2.29a	23.90±0.86gh	1.97±0.21i
7	CHGLY	48.21±1.90bc	28.65±0.65def	43.59±0.00hi
8	CHBUT	40.26±3.14de	24.23±2.35fgh	0.19±0.01i
9	CHETHGLY	25.71±2.52f	29.38±1.57de	20.93±1.67hi
10	LASOR	29.20±1.51f	52.05±1.21c	508.67±0.00f
11	ACSOR	43.56±6.92cd	73.95±4.36b	4687.67±83.58a
12	TARXYL	18.00±0.50gh	83.08±3.78a	1.99±0.10i
13	TARSOR	29.26±6.32f	5.79±0.57j	3684.71±83.58b
14	CIXYL	26.37±3.94f	13.10±0.47i	1762.37±83.58c
15	MAXYL	13.84±1.39h	6.20±0.40j	94.21±2.09hi
16	MASOR	15.81±1.69h	8.67±0.89j	123.46±2.09h
17	Saf su	16.47±0.30gh	20.22±1.02h	0.04±0.00i
18	Metanol	23.10±2.32fg	26.61±2.01efg	1595.21±83.58d
19	Etanol	17.47±0.40gh	23.40±1.14gh	21.35±2.93hi

a-i= Aynı sütundaki farklı harfler çözücüler arasındaki önemli farklılıkları gösterir (p< 0.05); n.d.= Tespit edilmedi.

4.3.4.2. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

FRAP sonuçları Tablo 4.4'de verilmiştir. Numunelerin FRAP değerleri, çözücü tiplerine bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir (p<0.05). NADES'lerden elde edilen ekstraktlar, 5.79 ile 83.08 mmol ISE/g arasında değişen demir indirgeme aktivitesi sağlamıştır ve bunlardan 9 tanesi, destile su (20.22 mmol ISE/g), metanol (26.61 mmol ISE/g) ve etanol (23.40 mmol ISE/g)'dan daha iyi aktivite göstermiştir.

Yüksek demir indirgeme aktivitesi TARXYL'de belirlenmiş, bunu ACSOR, CHAC, LASOR ve CHLA izlemiştir. Bu NADES'lerin etkinlikleri, böğürtlenden fenolik bileşikleri ekstrakte etme yetenekleriyle ilişkilendirilse de, yüksek antiradikal aktivite sağlayan NADES'lerin, yüksek demir indirgeme kapasitesi veren çözücülerden farklı olduğu bulunmuştur. Aynı durum, ekstraksiyon ortamı olarak NADES kullanan çeşitli bitkilerin antioksidan aktivitelerini araştıranlar tarafından da vurgulanmıştır (Bakirtzi vd., 2016; Barbieri vd., 2020; Alsaud vd., 2021).

4.3.4.3. Demir Şelatlama Aktivitesi (FCA)

NADES ve geleneksel çözücülerle elde edilen ekstraktların demir şelatlama kapasiteleri Tablo 4.4'de sunulmuştur. Numunelerin demir şelatlama değerleri, çözücü türlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$). Demir şelatlama değeri, en düşük destile su (0.04 mg TE/100g), en yüksek ACSOR (4687.67 mg TE/100g), CIXYL (1762.37 mg TE/100g) ve metanol (1595.21 mg TE/100g) ekstraktlarında belirlenmiştir. Buna ek olarak CHLA, LASOR, CHAC ve MASOR da yüksek demir şelatlama kapasitesi sergilemiştir. Pavlović vd. (2016), farklı böğürtlen çeşitlerinin yapraklarında %1.55 ile %8.86 arasında değişen demir şelatlama kapasitesi belirlemişlerdir. Aynı şekilde Junior vd. (2021), böğürtlen çekirdeklerinde 17.12 ile 261.12 mg/100g arasında değişen demir şelatlama değerleri bildirmişlerdir. Organik asit bazlı NADES'leri içeren ekstraktların daha yüksek demir şelatlama aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Organik asit bazlı NADES'lerin özellikle daha yüksek metal şelatlama kapasitesine sahip fenolik bileşikleri ekstrakte ettiğini düşündürmektedir. Bizim bulgularımıza benzer şekilde Oliveira vd. (2021), organik asit bazlı NADES'lerin daha yüksek metal şelatlama kapasitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

4.3.5. Böğürtlenin Antosiyanin Profilinin Karakterizasyonu

Böğürtlenin antosiyaninlerinin profili, diode array dedektörü (DAD) ile birleştirilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir. Tüm çözücülerde siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozit olmak üzere dört antosiyanin tanımlanmıştır. Aynı antosiyaninler tanımlanmış olmasına rağmen, konsantrasyonları çözücü tipine bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$). NADES'ler, su, metanol ve etanol ile karşılaştırıldığında, en yüksek

antosiyenin geri kazanımını sağlamıştır. Organik asit bazlı NADES'ler, özellikle TARSOR, ACSOR, MAXYL, CIXYL, CHLA ve CHAC böğürtlen örneklerinde antosiyenin eldesinde en iyi verimi sağlamıştır. Bu NADES'ler antosiyeninlerin ekstraksiyonu ve korunması için uygun olanıdır. Bunlar, en düşük pH'a (0.47-1.32) sahiptirler. Bulgularımıza benzer şekilde, birkaç çalışma asidik NADES'lerle elde edilen ekstraktların en yüksek antosiyenin bileşiklerine sahip olduğunu bildirmiştir (Bi vd., 2020; Zannou vd., 2020; Fu vd., 2021). Asidik NADES'lere ek olarak, CHGLY, CHBUT ve CHETHGLY esas olarak güçlü hidrojen bağlama ağları, polariteleri ve düşük viskoziteleri nedeniyle nispeten yüksek performans göstermiştir. 7'den yüksek bir pH antosiyeninler için zararlı olduğundan, yüksek pH'ı (9.99) nedeniyle CHUR ile hiçbir antosiyenin belirlenmediğini belirtmek gerekir (Cvjetko Bubalo vd., 2016; Bosiljkov vd., 2017).

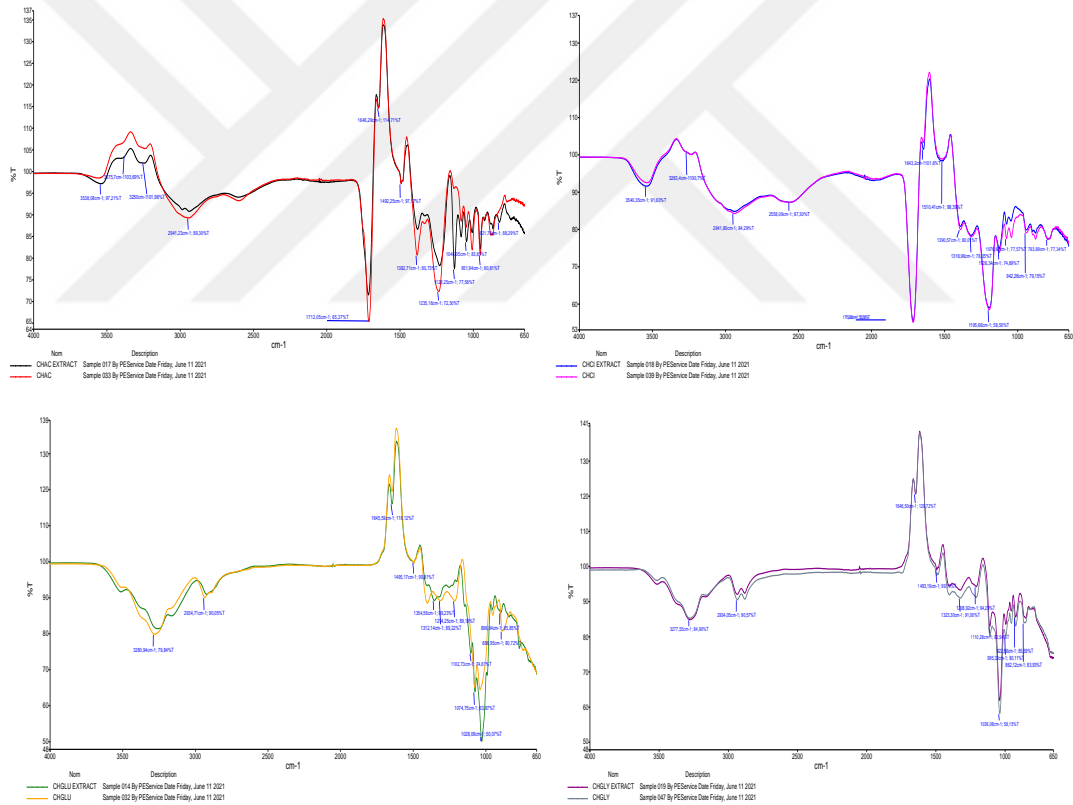
Tablo 4. 5. NADES'lerden ve geleneksel çözücülerden elde edilen böğürtlenin antosiyenin bileşimleri

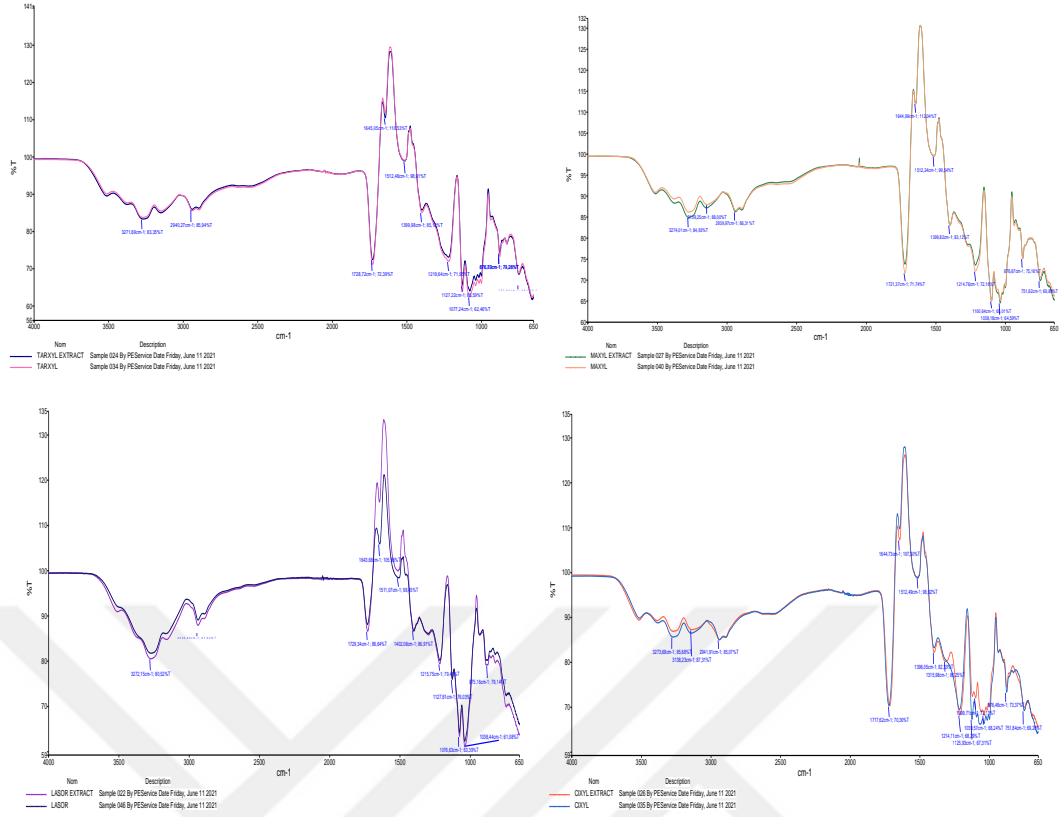
Solventler	CYN-3-GLU	CYN-3-RUT	PLG-3-GLU	CYN-CHL
CHUR	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
CHGLU	855.40±1.34f	82.20±1.52d	13.93±0.89bc	52.84±0.15f
CHXYL	773.77±2.75i	83.65±1.11d	11.00±1.02ef	49.89±0.39gh
CHLA	875.55±1.55e	91.78±1.88c	9.20±1.10fg	79.98±0.75b
CHAC	832.21±4.30g	79.95±2.44d	5.65±0.99h	47.19±1.15ji
CHCI	887.81±1.43d	103.92±0.93b	2.06±1.21i	60.15±0.90e
CHGLY	852.58±3.36f	82.38±1.90d	11.01±0.10de	52.75±0.24f
CHBUT	802.21±0.36h	81.50±2.97d	4.85±0.33h	46.79±0.50j
CHETHGLY	837.95±1.10g	82.46±1.81d	7.72±0.91g	48.27±1.33hij
LASOR	876.04±1.43e	92.49±0.20c	8.80±0.08fg	63.45±0.12d
ACSOR	965.56±2.84b	95.01±1.05c	13.62±0.16bc	62.12±0.69d
TARXYL	688.78±4.07k	71.57±0.21e	4.65±0.36h	49.03±2.64hi
TARSOR	1768.57±4.34a	161.71±0.18a	36.11±1.56a	113.02±0.14a
CIXYL	969.27±5.20b	94.92±0.89c	13.64±2.18bc	65.42±1.01c
MAXYL	947.96±5.89c	83.40±2.87d	13.83±1.77bc	62.19±0.62d
MASOR	685.56±5.24k	62.52±1.21i	7.65±0.30g	51.70±0.14fg
Su	114.5±0.87m	20.45±0.25g	8.48±0.16fg	26.56±0.23m
Metanol	711.30±8.43j	67.84±0.28f	14.52±0.24b	40.83±0.51k
Etanol	602.98±7.40l	58.09±0.49h	12.30±0.08cd	34.40±0.10l

a-m= Aynı sütundaki farklı harfler, çözücüler arasındaki önemli farklılıkları gösterir (P < 0.05); n.d.= Tespit edilmedi.

Siyanidin-3-glikozitin, test edilen tüm çözücüler için böğürtlen içindeki en baskın antosiyenin bileşiği olduğu ve bunu sırasıyla siyanidin-3-rutinozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozitin izlediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, çeşitli böğürtlen çeşitlerinin ana antosiyeninleri olarak siyanidin-3-glikoziti bildiren önceki çalışmalarla uyumludur (Siriwoharn vd., 2004; Fan-Chiang ve Wrolstad, 2006; Lee vd., 2015; Da Fonseca Machado vd., 2018).

Bireysel antosiyaninlerin geri kazanımı açısından en önemli NADES'lerin (TARXYL, CHAC, CHGLU, CHGLY, CHCI, MAXYL, LASOR ve CIXYL) ve bunların ekstraktlarının FTIR spektrumları, Şekil 4.5'te verilmiştir. Görüldüğü gibi, ekstraktlar NADES'lerle benzeşmektedir. Bu, NADES'lerin çözünenleri kendi bileşenleri olarak yerleştirdiğini göstermektedir. 1720-600 cm^{-1} bölgesindeki bantlar bulunan temsili spektrum, aromatik halkanın C-O gerilmesi, antosiyaninlerdeki iki fenil halkasının deformasyonu (Navikaite vd., 2016), $-\text{C}=\text{C}$ - fenil halkasındaki gerilme titreşimleri (Romera-Fernández vd., 2012) ve antosiyaninlerin iskelet molekülü olan benzopiran'ın aromatik halkasındaki $-\text{C}=\text{C}$ - (Klimaviciute vd., 2015) ile ilişkilendirilebilir. Siyanidinler 3400-3100 cm^{-1} (OH), 2900-2840 cm^{-1} (C-H alifatik), 1660 cm^{-1} (C=C aromatik) ve 870-675 cm^{-1} (CH aromatik) pikleriyle ilişkilendirilebilir (Wahyuningsih vd., 2017).





Şekil 4. 5. CHAC, CHCI, CHGLU, CHGLY, TARXYL, MAXYL, LASOR ve CIXYL'nin antosiyanin ekstraksiyon güvenilirliğini gösteren FTIR spektrumları

4.4. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Antosiyanin Ekstraksiyonunun Optimizasyonu

Doğal derin ötektik çözücü (NADES) kullanılarak biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edildiği birçok çalışmada; molar oranı, su içeriği, çözücü oranı /çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresinin çok etkili olduğu gösterilmiştir (Wu vd., 2020; Gao vd., 2020; Zannou vd., 2020, 2022a). Optimizasyon için kolin klorür-asetik asit (CHAC) ve kolin klorür-gliserol (CHGLY) çözücüleri seçilmiştir. CHAC toplam antosiyanin, CHGLY toplam fenolik ve toplam antosiyanin ekstraksiyonu için diğer çözücülerden daha iyi performans göstermiştir. Önceki çalışmalardan yola çıkılarak molar oran, su içeriği, çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresi değişken olarak alınmıştır.

4.4.1. Modelin Doğrulanması

Kolin klorür-gliserol (CHGLY) ile yapılan çalışmada; toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür içerikleri sırasıyla 76.12-324.60 mg CGE/100g, 244.97-1635.75 mg/kg, 35.65-169.29 mg/kg, 1.29-68.95 mg/kg ve 30.25-104.62 mg/kg arasında bulunmuştur

(Tablo 4.6). En düşük toplam antosiyanin 18. noktada (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 45 g solvent miktarı, 25 dakika ekstraksiyon süresi), siyanidin-3-glikozit 14.noktada (1:2 molar, %20 su içeriği, 35g solvent oranı, 35 dak), siyanidin-3-rutinozit 18. noktada (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 45g solvent oranı, 25 dak), pelargonidin-3-glikozit 18. noktada (:3.5 molar, %30 su içeriği, 45g solvent oranı, 25 dak) ve siyanidin klorür 17.noktada (1: 6.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent oranı, 25 dak) belirlenmiştir. En yüksek değerler toplam antosiyanin için 17 (1:6.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent miktarı, 25 dak), siyanidin-3-glikozit için 27 (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent oranı, 45 dak), siyanidin-3-rutinozit için 2 (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 5g solvent miktarı, 25 dak), pelargonidin-3-glikozit için 7 (1:2 molar, %20 su içeriği, 15g solvent miktarı, 35 dak) ve siyanidin klorür için 13. noktada (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent oranı, 25 dak) saptanmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4. 6. CHGLY için bağımsız faktörler ve deneysel sonuçlar

No	Molar oran (molar)	Su içeriği (%)	Solvent oranı (g)	Süre (dak)	TAC (mg CGE/100g)	CYN-3-GLU (mg/kg)	CYN-3-RUT (mg/kg)	PLG-3-GLU (mg/kg)	CYN-CHL (mg/kg)
1	2	40	15	35	244.53	816.54	93.03	17.20	40.02
2	3.5	30	5	25	120.52	480.72	141.80	4.59	80.15
3	5	20	35	35	283.03	1545.07	45.75	2.32	60.36
4	0.5	30	25	25	252.58	570.48	51.12	12.84	28.39
5	5	40	15	35	258.19	440.67	78.26	7.43	59.54
6	3.5	30	25	5	221.62	1513.72	82.19	14.59	27.87
7	2	20	15	35	183.00	967.44	104.21	68.95	38.75
8	5	40	35	35	256.29	538.95	85.89	28.96	69.45
9	5	20	15	35	272.43	1218.85	77.78	19.16	44.28
10	2	40	15	15	205.7	1428.43	97.74	2.46	36.70
11	3.5	30	25	25	113.35	781.46	91.79	23.25	23.75
12	5	40	15	15	102.07	523.70	83.27	26.18	39.85
13	3.5	30	25	25	111.95	715.36	94.09	21.90	25.83
14	2	20	35	35	120.59	259.44	41.95	25.61	23.45
15	3.5	50	25	25	122.25	1016.25	47.89	61.37	23.96
16	5	20	15	15	192.25	615.89	83.86	15.14	39.82
17	6.5	30	25	25	324.60	448.70	50.22	5.01	67.84
18	3.5	30	45	25	96.11	893.06	33.76	24.12	88.91
19	2	20	15	15	143.21	619.39	105.50	11.93	40.38
20	3.5	30	25	25	116.63	355.83	89.93	20.06	28.56
21	2	40	35	15	118.03	713.19	34.53	26.92	19.62
22	3.5	10	25	25	188.77	358.28	45.63	19.00	24.31
23	2	40	35	35	108.25	221.35	70.62	26.28	20.16
24	5	20	35	15	164.33	829.03	45.62	10.98	69.06
25	2	20	35	15	177.37	949.42	37.39	15.31	28.22
26	5	40	35	15	129.11	860.57	39.19	25.05	61.55
27	3.5	30	25	45	97.43	897.74	91.89	26.74	20.69

Kolin klorür-asetik asit (CHAC) ile yapılan ekstraksiyonda; toplam antosiyanin 82.16-303.37 mg CGE/100g, siyanidin-3-glikozit 223.70-1745.07 mg/kg, siyanidin-3-rutinozit 35.65-169.75 mg/kg, pelargonidin-3-glikozit 1.29-68.95 mg/kg ve siyanidin klorür 30.25-104.62 mg/kg olarak belirlenmiştir (Tablo 4.7). En düşük toplam antosiyanin, 25 (1:2 molar, %20 su içeriği, 35g solvent miktarı, 15 dk); siyanidin-3-glikozit, 12 (1:5 molar, %40 su içeriği, 15g solvent miktarı, 15 dak); siyanidin-3-rutinozit, 14 (1:2 molar, %20 su içeriği, 35g solvent oranı, 35 dak); pelargonidin-3-glikozit, 18 (1: 3.5 molar, %30 su içeriği, 45g solvent miktarı, 25 dak) ve siyanidin klorür, 17. noktada (1:6.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent oranı, 25 dak) belirlenirken, en yüksek toplam antosiyanin, 3 (1:5 molar, %20 su içeriği, 35g solvent oranı, 35 dak); siyanidin-3-glikozit, 3 (1:5 molar, %20 su içeriği, 35g solvent miktarı, 35 dak); siyanidin-3-rutinozit, 13 (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent miktarı, 25 dak); pelargonidin-3-glikozit, 7 (1:2 molar, %20 su içeriği, 15g solvent miktarı, 35 dak) ve siyanidin klorür içerikleri 13. noktada (1:3.5 molar, %30 su içeriği, 25g solvent miktarı, 25 dak belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7. CHAC için bağımsız faktörler ve deneysel sonuçlar

No	Molar oran (molar)	Su içeriği (%)	Solvent miktarı (g)	Süre (dak)	TAC (mg CGE/100g)	CYN-3-GLU (mg/kg)	CYN-3-RUT (mg/kg)	PLG-3-GLU (mg/kg)	CYN-CHL (mg/kg)
1	2	40	15	35	138.59	716.54	58.83	27.20	67.40
2	3.5	30	5	25	104.92	480.72	71.21	4.59	83.32
3	5	20	35	35	303.37	1745.07	65.36	2.32	79.07
4	0.5	30	25	25	189.42	570.48	68.92	12.84	59.77
5	5	40	15	35	102.51	440.67	63.20	27.43	52.73
6	3.5	30	25	5	208.20	1713.72	75.288	14.59	83.75
7	2	20	15	35	197.84	967.44	73.16	68.95	102.60
8	5	40	35	35	214.53	1538.95	67.27	28.96	49.40
9	5	20	15	35	153.17	718.85	111.18	19.16	70.86
10	2	40	15	15	299.47	1828.43	62.03	2.46	89.24
11	3.5	30	25	25	193.89	781.46	169.75	43.25	103.64
12	5	40	15	15	103.27	223.70	61.17	56.18	67.43
13	3.5	30	25	25	202.84	715.36	168.81	51.90	104.62
14	2	20	35	35	89.63	259.44	35.65	50.61	99.33
15	3.5	50	25	25	193.90	1016.25	104.77	61.37	66.38
16	5	20	15	15	108.06	615.89	63.31	15.14	63.62
17	6.5	30	25	25	198.37	448.70	66.47	5.012	30.25
18	3.5	30	45	25	88.07	244.97	79.82	1.29	89.15
19	2	20	15	15	215.78	1524.89	54.66	26.38	84.40
20	3.5	30	25	25	195.68	739.68	161.39	43.63	99.40
21	2	40	35	15	196.90	1033.63	169.29	9.48	75.62
22	3.5	10	25	25	194.95	733.63	57.79	61.31	102.63
23	2	40	35	35	104.57	548.43	60.87	31.31	49.75
24	5	20	35	15	162.25	632.30	70.91	2.81	79.75
25	2	20	35	15	82.16	328.02	67.12	2.74	103.14

26	5	40	35	15	139.43	739.22	161.74	45.38	84.73
27	3.5	30	25	45	208.53	1735.75	68.44	25.94	75.37

CHGLY için, RSM'nin ANOVA sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir. Yanıtlar için geliştirilen modeller $p < 0.0001$ düzeyinde önemli, F değeri 18.34-107.47, R^2 0.9554-0.9921, düzeltilmiş R^2 0.9119-0.9829, tahmini R^2 0.7448-0.9548 ve 6.39-11.43'lük düşük varyasyon katsayısı ve önemsiz uyum eksikliği (lack of fit) ($p > 0.05$) belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8. CHGLY için ANOVA sonuçları (X₁: Molar oran, X₂: Su içeriği, X₃: Solvent oranı, X₄:Süre)

Model	TAC			CYN -3- GLU			CYN -3- RUT			PLG- 3- GLU			CYN - CHL		
	SS	F- Value	p- Value	SS	F- Value	p- Value	SS	F- Value	p- Value	SS	F- Value	p- Value	SS	F- Value	p- Value
	1.26·10 ⁵	821.2 2	< 0.0001	3.89· 10 ⁶	19.31	< 0.000	1917 5.07	20.21	< 0.0001	9867. 85	82.68	< 0.000	1047 9.89	49.67	< 0.0001
X ₁	7040.74	641.8 9	< 0.0001	295.8 9	0.0206	0.888 3	92.53	1.37	0.2653	97.65	11.45	0.005 4	3163. 05	209.9 0	< 0.0001
X ₂	2341.56	213.4 8	< 0.0001	1320 2.82	0.92	0.356 6	84.30	1.24	0.2865	41.11	4.82	0.048 5	0.15	0.009 7	0.9232
X ₃	2464.30	224.6 7	< 0.0001	7739 0.01	5.39	0.038 7	1209 6.53	178.5 3	< 0.0001	11.89	1.39	0.260 6	37.62	2.50	0.1401
X ₄	11963.38	1090. 68	< 0.0001	2240 9.65	1.56	0.235 5	336.1 0	4.96	0.0458	198.7 8	23.32	0.000 4	1.73	0.11	0.7408
X ₁ X ₂	5956.09	543.0 0	< 0.0001	7.82· 10 ⁵	54.42	< 0.000	44.70	0.66	0.4325	1185. 94	139.12	< 0.000	60.65	4.02	0.0679
X ₁ X ₃	6006.91	547.6 4	< 0.0001	3.04· 10 ⁵	21.14	0.000 6	746.0 7	11.01	0.0061	235.7 0	27.65	0.000 2	1248. 23	82.83	< 0.0001
X ₁ X ₄	13232.18	1206. 35	< 0.0001	2.44· 10 ⁵	16.98	0.001 4	0.07	0.001	0.9743	1184. 22	138.91	< 0.000	41.93	2.78	0.1212
X ₂ X ₃	249.92	22.78	0.0005	3396. 85	0.24	0.635 5	385.9 1	5.70	0.0344	2116. 23	248.24	< 0.000	33.56	2.23	0.1614
X ₂ X ₄	4916.00	448.1 8	< 0.0001	6.77· 10 ⁵	47.09	< 0.000	358.4 9	5.29	0.0402	547.2 1	64.19	< 0.000	110.6 6	7,34	0.0190
X ₃ X ₄	985.76	89.87	< 0.0001	2805. 56	0.20	0.666 4	683.3 7	10.09	0.0080	94.04	11.03	0.006 1	59.49	3.95	0.0703
X ₁ X ₁	41052.21	3742. 65	< 0.0001	1.06· 10 ⁵	7.38	0.018 7	2110. 07	31.14	0.0001	290.7 6	34.11	< 0.000	570.9 4	37.89	< 0.0001
X ₂ X ₂	1000.36	91.20	<	9255.	0.64	0.437	2545.	37.56	<	1889.	221.69	<	14.43	0.96	0,3471

			0.0001	46		8	25		0.0001	82		0.000				
X₃ X₃	292.13	26.63	0.0002	2.45· 10 ⁵	17.06	0.001 4	9.53	0.14	0.7142	574.2 0	67.36	< 0.000 1	4348. 50	288.5 6	< 0.0001	
X₄ X₄	30564.79	2786. 53	< 0.0001	8.18· 10 ⁵	56.92	< 0.000 1	15.53	0.23	0.6408	15.66	1.84	0.200 3	13.18	0.87	0.3680	
Kalıntı	131.63			1.72· 10 ⁵			813.0 8			102.3 0			180.8 3			
Lack of Fit	120.07	2.08	0.3683	1.70· 10 ⁵	15.22	0.063 2	804.3 9	18.52	0.0523	100.6 4	12.18	0.078 2	169.1 7	2.90	0.2835	
Saf hata	11.56			2235. 41			8.69			1.65			11.66			
Cor total	1.26·10 ⁵			4.06· 10 ⁶			1998			9970. 15			1066 0.73			
R²	0.9990			0.957 5			0.959 3			0.989 7			0.983 0			
Düzeltilmiş R²	0.9977			0.907 9			0.911 9			0.977 8			0.963 2			
Tahmini R²	0.9943			0.757 2			0.767 2			0.941 5			0.906 1			
Adeq Precision	99.16			15.52			16.71			31.12			22.39			
C.V. %	1.75			15.36			11.43			12.90			9.26			

CHAC ile elde edilen yanıtlar için geliştirilen modeller $p < 0.0001$ düzeyinde önemli ve F değeri 18.43-48.05 arasında değişen değerler ile anlamlıydı. Bu modeller 0.9556-0.9825 yüksek R^2 , 0.9037-0.9620 düzeltilmiş R^2 , 0.7457-0.9003 tahmini R^2 , 5.51-19.78 düşük varyasyon katsayısı ve önemsiz uyum eksikliği (lack of fit) belirlenmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4. 9. CHAC için ANOVA sonuçları (X₁: Molar oran, X₂: Su içeriği, X₃: Solvent oranı, X₄:Süre)

	TAC			CYN-3-GLU			CYN-3-RUT			PLG-3- GLU			CYN CHL		
Model	88165.0	18.43	<	6.39·10 ⁶	48.05	<	42248.7	20.77	<	11584.4	27.98	<	9786.28	36.40	<
	7		0.000			0.000	5		0.000	0		0.000			0.000
			1			1			1			1			1
X₁	17.47	0.051	0.824	26382.79	2.78	0.121	250.96	1.73	0.213	58.33	1.97	0.185	1394.30	72.61	<
		1	9			5			3			5			0.000
															1
X₂	9.49	0.027	0.870	29603.65	3.12	0.102	2751.75	18.94	0.000	68.05	2.30	0.155	1997.75	104.0	<
		8	4			9			9			2		4	0.000
															1
X₃	147.72	0.432	0.523	19427.48	2.04	0.178	1174.50	8.08	0.014	239.96	8.12	0.014	48.69	2.54	0.137
		3	3			2			8			7			3
X₄	0.2490	0.000	0.978	118.72	0.012	0.912	1479.46	10.18	0.007	580.84	19.64	0.000	364.54	18.98	0.000
		7	9		5	8			8			8			9
X₁ X₂	6448.68	18.87	0.001	2.06·10 ⁵	21.71	0.000	378.45	2.61	0.132	2419.39	81.82	<	292.96	15.26	0.002
			0			6			5			0.000			1
												1			
X₁ X₃	33395.4	97.74	<	1.91·10 ⁶	200.7	<	19.88	0.136	0.717	3.61	0.122	0.732	183.04	9.53	0.009
	5		0.000		5	0.000		8	9	3.61	0	9			4
			1			1									
X₁ X₄	17176.9	50.27	<	1.24·10 ⁶	130.5	<	346.56	2.39	0.148	1994.68	67.46	<	6.44	0.335	0.573
	9		0.000		9	0.000			4			0.000		2	3
			1			1						1			
X₂ X₃	150.16	0.439	0.519	1.43·10 ⁵	15.06	0.002	4803.08	33,06	<	333.20	11027	0.005	203.73	10.61	0.006
		5	9			2			0.000			7			9
									1						
X₂ X₄	7860.46	23.01	0.000	85571.33	9.01	0.011	3404.88	23.44	0.000	535.61	18.11	0.001	880.55	45.86	<
			4			0			4			1			0.000
															1
X₃ X₄	4416.76	12.93	0.003	4.58·10 ⁵	48.25	<	5818.32	40.05	<	6.50	0.220	0.647	186.26	9.70	0.008
			7			0.000			0.000		0	5			9
						1			1						
X₁ X₁	141.27	0.413	0.532	74913.93	7,89	0,015	12401.1	85.37	<	1686.16	57.03	<	4176.28	217.4	<
		5	3			8	7		0.000			0.000		9	0.000
									1			1			1
X₂ X₂	127.12	0.372	0.553	21953.52	2.31	0.154	9152.92	63.01	<	378.71	12.81	0.003	361.88	18.85	0.001
		1	3			4			0.000			8			0

X₃ X₃	15462.6 2	45.25	< 0.000 1	1.96·10 ⁵	20.67	0.000 7	10470.6 9	72.08	< 0.000 1	2301.52	77.84	< 0.000 1	289.63	15.08	0.002 2
X₄ X₄	23.27	0.068 1	0.798 5	1.28·10 ⁶	134.2 6	< 0.000 1	11351.4 4	78.14	< 0.000 1	782.31	26.46	0.000 2	611.63	31.85	0.000 1
Kalıntı	4100.15			1.140·10 ⁵			1743.25			354.82			230.43		
Lack of Fit	4055.37	18.11	0.053 4	1.12·10 ⁵	10.00	0.094 3	1701.27	8.10	0.114 8	307.01	1.28	0.515 0	215.06	2.80	0.291 8
Saf hata	44.78			2235.41			41,99			47.81			15.37		
Cor total	92265.2 2			6.51·10 ⁶			43992.0 1			11939.2 2			10016.7 1		
R²	0.9556			0.9825			0.9604			0.9703			0.9770		
Düz. R²	0.9037			0.9620			0.9141			0.9356			0.9502		
Tah. R²	0.7457			0.9003			0.7751			0.8429			0.8729		
Adeq Precision	15.88			21.99			15.03			16.80			22.35		
C.V. %	10.87			11.42			13.92			19.78			5.59		

ANOVA sonuçları, yüksek F değeri, önemsiz uyum eksikliği ($p > 0.05$) modellerin anlamlı olduğu ($p < 0.0001$) görülmüştür. Ayrıca, R^2 ve düzeltilmiş R^2 , 0.9'a yakın bir değer çıkmıştır, bu da deneysel ve tahmini değerlerin yüksek derecede bir korelasyon sergilediğini göstermiştir. Tahmini R^2 ile düzeltilmiş R^2 arasındaki farkın 0.2'den az bulunması, tahmini R^2 'nin düzeltilmiş R^2 ile makul bir uyum içinde olduğunu ve ikinci dereceden polinom regresyon modelinin iyi bir uygunluk ve uyarlanabilirliğe sahip olduğunu göstermektedir (Ismail vd., 2019; Fu vd., 2021). Ayrıca, düşük varyasyon katsayısı, ortalama değerlerde düşük bir varyasyonu, daha yüksek derecede kesinlik ve deneysel verilerin güvenilirliğini göstermektedir (Wu vd., 2020).

4.4.2. Toplam Antosiyanin Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi

CHGLY ile yapılan ekstraksiyonda toplam antosiyanin üzerine, interaksiyonları, doğrusal ve ikinci dereceden etkileri önemli olmuştur. Regresyon katsayısı (β) değerleri, toplam antosiyaninin temel olarak X_1X_1 'ye bağlı olduğunu, bunu X_4X_4 , X_4 , X_1X_3 , X_1X_4 , X_2X_4 , X_1 , X_3 ve X_2 'in izlediğini göstermiştir. CHGLY'nin toplam antosiyanini ile birimler arasındaki ilişki, aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklem ile tanımlanmıştır:

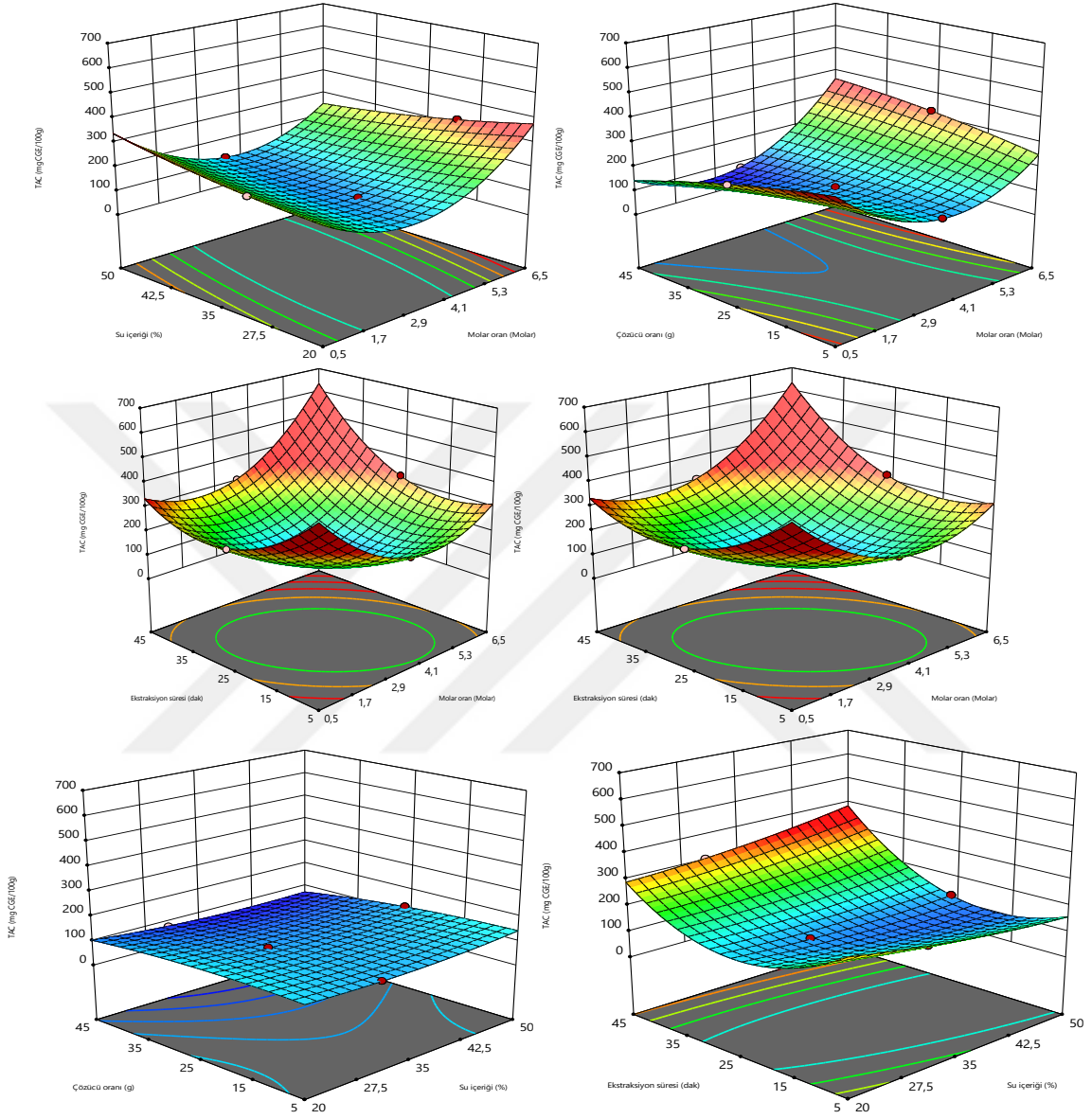
$$TAC_{CHGLY} = 113.98 + 17.13X_1 - 9.88X_2 - 10.13X_3 + 22.33X_4 - 19.29X_1X_2 + 19.38X_1X_3 + 28.76X_1X_4 - 3.95X_2X_3 + 17.53X_2X_4 - 7.85X_3X_4 + 43.87X_1X_1 + 6.85X_2X_2 - 3.70X_3X_3 + 37.85X_4X_4 \quad (4.1)$$

CHAC için, toplam antosiyanin üzerine hiçbir değişkenin linear etkisi önemli olmamıştır. Ancak X_1X_2 , X_1X_3 , X_1X_4 , X_2X_4 ve X_3X_4 interaksiyonlarının yanı sıra X_3X_3 kuadratik etkisi önemli olmuştur. Regresyon katsayısı (β) değerleri, CHAC'ın toplam antosiyanininin temel olarak X_1X_3 'e, ardından X_1X_4 , X_3X_3 , X_2X_4 , X_1X_2 ve X_3X_4 'e bağlı olduğunu göstermiştir. CHAC'ın toplam antosiyanin içeriğiyle değişkenler arasındaki ilişki, aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklem ile tanımlanmıştır:

$$TAC_{CHAC} = 197.47 - 0.85X_1 - 0.63X_2 - 2.48X_3 - 0.10X_4 - 20.08X_1X_2 + 45.69X_1X_3 + 32.77X_1X_4 + 3.06X_2X_3 - 22.16X_2X_4 + 16.61X_3X_4 - 2.57X_1X_1 - 2.44X_2X_2 - 26.92X_3X_3 + 1.04X_4X_4 \quad (4.2)$$

Bağımsız değişkenlerin toplam antosiyanin üzerindeki interaksiyonu göstermek için 3B yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir. CHGLY için Şekil 4.6'te görüldüğü gibi, su içeriği artarken toplam antosiyanin artmış, molar oranı 1:4.1 molara kadar artmasıyla azalmış ve ardından hafif bir artış göstermiştir. Su içeriği ve ekstraksiyon süresi interaksiyonları incelendiğinde; ekstraksiyon süresi 30 dakikaya kadar artmasıyla antosiyanin içeriği azalmış ve ardından hafif bir artış göstermiştir. Molar oranı ve solvent miktarı interaksiyonunun etkisi incelendiğinde; molar oranı ve solvent oranı toplam antosiyanin üzerine negatif bir etkiye sahip olduğu, ancak 1:4.1 molardan sonra hafif bir artışa yol açtığı kaydedilmiştir. Molar oranı ve ekstraksiyon süresi, toplam antosiyanin 30 dakika ve 1:4.1 molardan sonra pozitif bir etkiye sahipti. Çözücü oranı ve ekstraksiyon süresi, toplam antosiyanin 30 dakikadan pozitif bir etkiye sahipti. Fu vd. (2021), kısa süreli ultrasonik etkiye maruz kalma, toplam antosiyanin

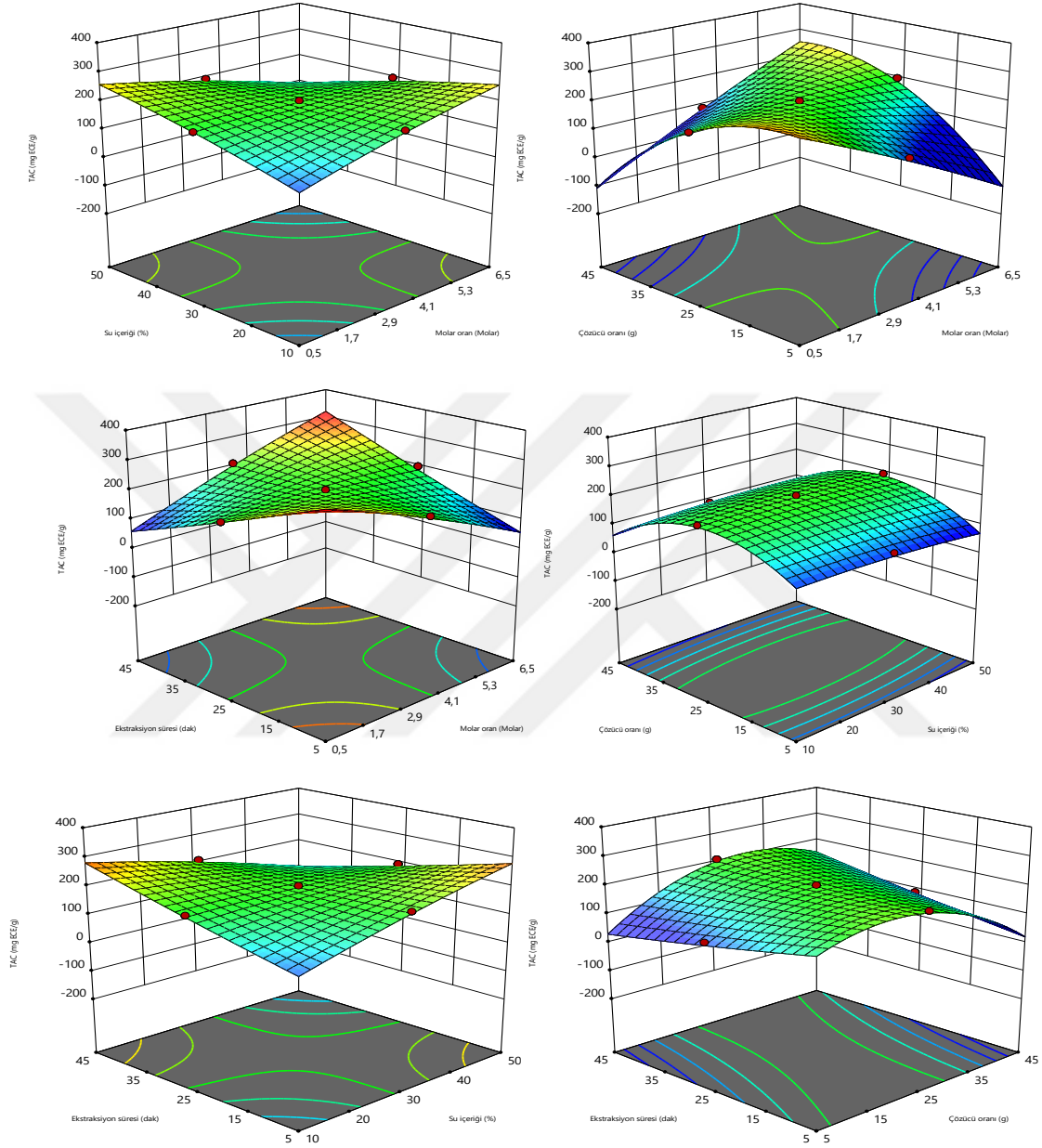
bozulmasını en aza indirirken kütle transferini artırabileceğini bildirmiştir ki buradaki sonuçları doğrular niteliktedir.



Şekil 4. 6. CHGLY ile elde edilen TAC üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

Şekil 4.7'de verildiği gibi, CHAC'ın toplam antosiyanin üzerine molar oran ve su içeriği, molar oran çözücü oranı ve su içeriği ve ekstraksiyon süresi interaksiyonunun etkileri, pozitif ve önemli bulunmuştur. Ancak, molar oran ve ekstraksiyon süresi ile su içeriği ve solvent oranı interaksiyonunun toplam antosiyanin üzerine etkileri, bu değişkenlerin

kombinasyonunun artmasıyla azalmıştır. Ekstraksiyon süresi ve çözücü miktarının toplam antosiyanin üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır.



Şekil 4. 7. CHAC ile elde edilen TAC üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

4.4.3. Siyanidin- 3-glikozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi

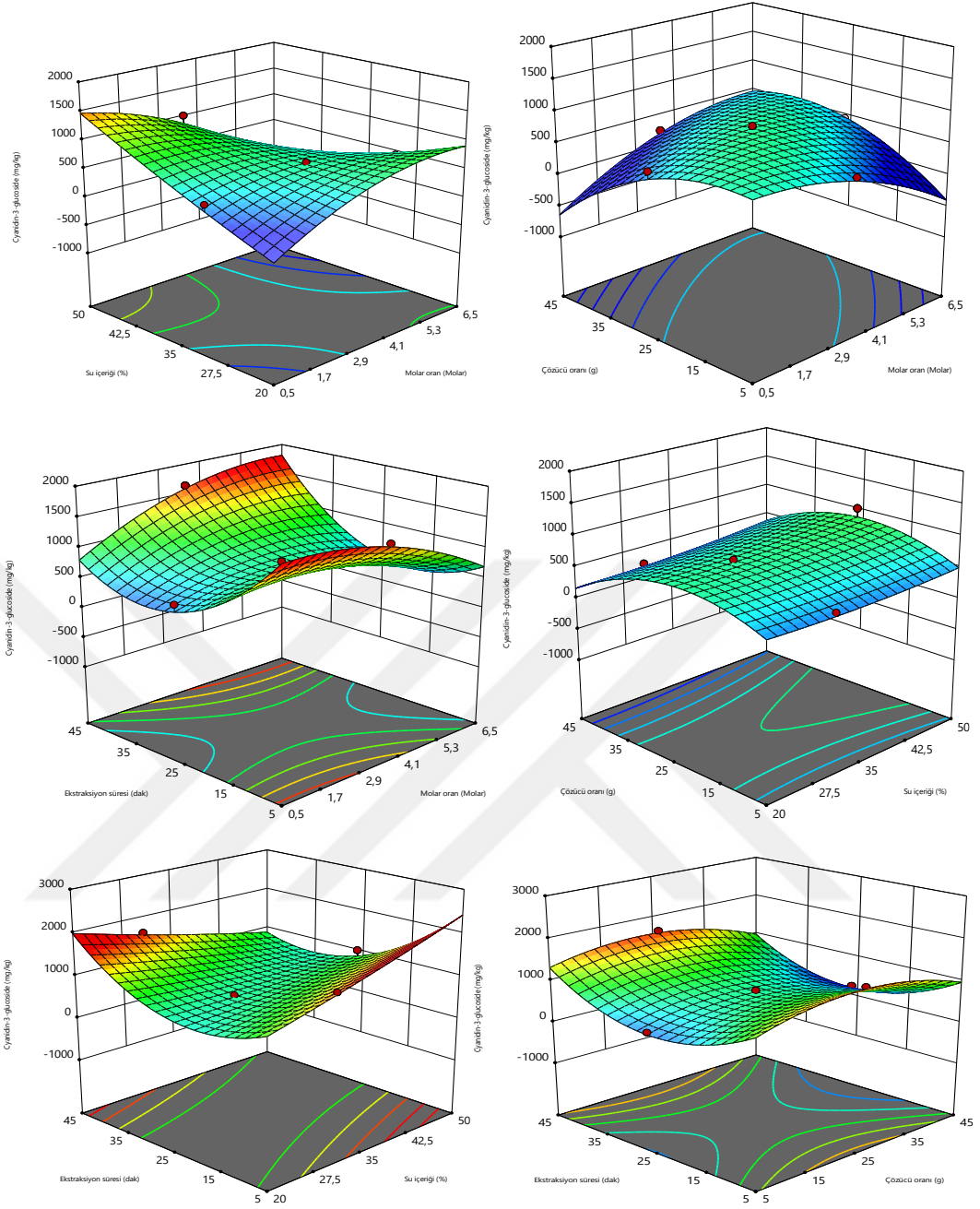
CHGLY ile ilgili olarak, siyanidin-3-glikozit üzerine X_3 'ün doğrusal, X_1X_2 , X_1X_3 , X_1X_4 ve X_2X_4 interaksyonu ve X_3X_3 ile X_4X_4 'ün ikinci dereceden etkisi önemli bulunmuştur. Siyanidin-3-glikozitin β değerleri, başta X_1X_2 , ardından X_2X_4 , X_1X_3 , X_4X_4 , X_1X_3 , X_1X_4 , X_3X_3 ve X_1X_1 ' değişkenlerine bağlı olduğunu göstermiştir. CHGLY ile bulunan siyanidin-3-glikozit ile değişkenler arasındaki ilişki aşağıdaki formülle tanımlanmıştır:

$$\begin{aligned} \text{Siyanidin} - 3 - \text{glikozit}_{CHGLY} = & 745.50 + 3.51X_1 + 23.45X_2 - 56.79X_3 + \\ & 30.56X_4 - 221.05X_1X_2 + 137.76X_1X_3 + 123.47X_1X_4 + 14.57X_2X_3 - \\ & 205.63X_2X_4 - 13.24X_3X_4 - 70.51X_1X_1 + 20.83X_2X_2 - 107.19X_3X_3 + \\ & 195.78X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.3)$$

CHAC ile ilgili olarak, X_3 doğrusal, X_1X_2 , X_1X_3 , X_1X_4 , X_2X_3 , X_2X_4 ve X_3X_4 interaksyonları yanı sıra X_1X_1 , X_2X_2 , X_3X_3 ve X_4X_4 ikinci dereceden etkilerinin siyanidin-3 glikozit üzerinde önemli olduğu bulunmuştur. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-glikozitin β değerleri, X_1X_3 'e, ardından X_1X_4 , X_4X_4 , X_3X_4 , X_1X_2 , X_2X_3 , X_3X_3 , X_2X_4 , X_1X_1 ve X_3 'e bağlı olduğunu göstermiştir. CHAC ile değişkenler arasındaki ilişki aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklemle verilmiştir:

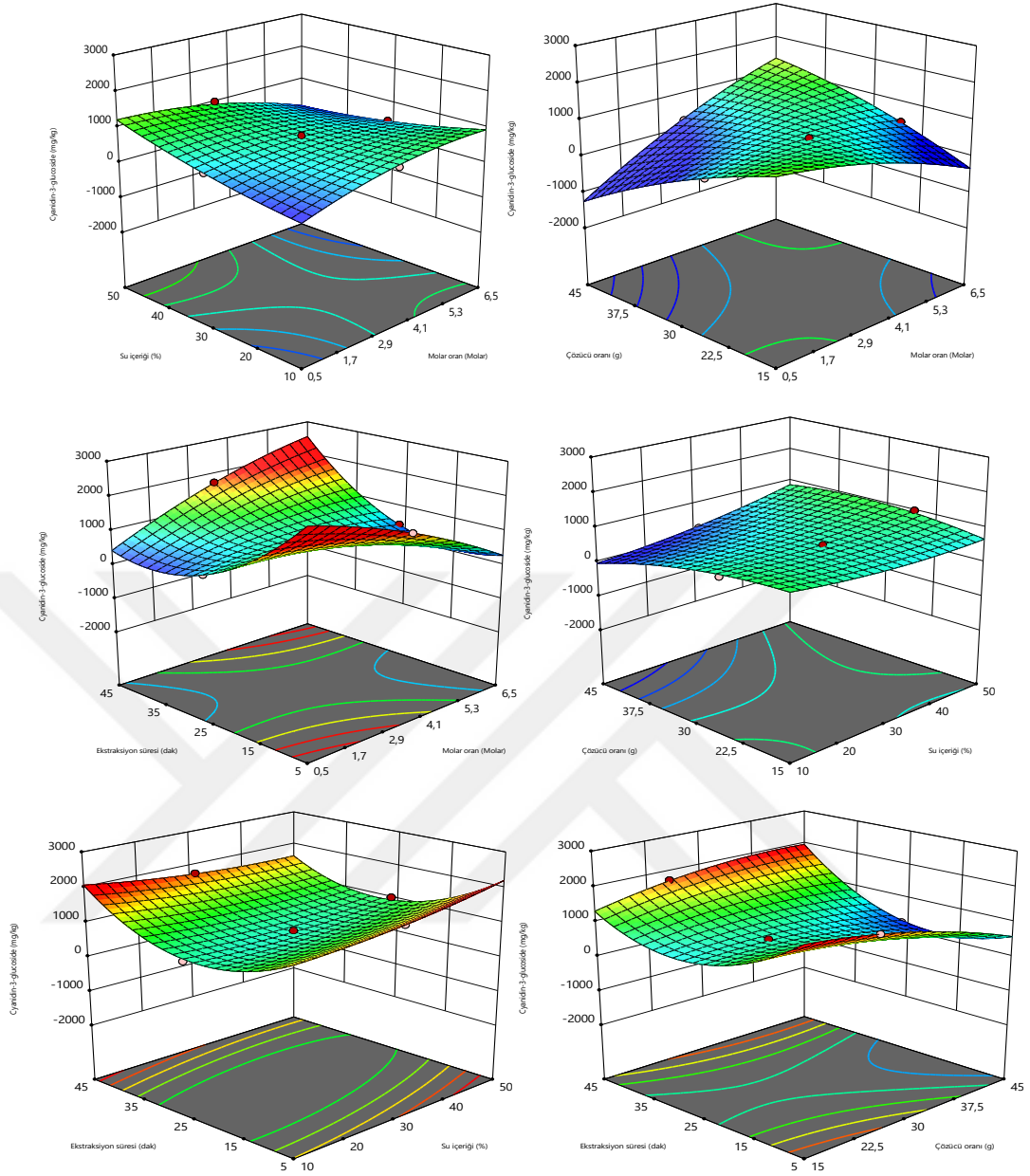
$$\begin{aligned} \text{Siyanidin} - 3 - \text{glikozit}_{CHAC} = & 745.50 - 33.16X_1 + 35.12X_2 - 28.45X_3 + \\ & 2.22X_4 - 113.55X_1X_2 + 345.26X_1X_3 + 278.47X_1X_4 + 94.57X_2X_3 - 73.13X_2X_4 + \\ & 169.26X_3X_4 - 59.26X_1X_1 + 32.08X_2X_2 - 95.94X_3X_3 + 244.53X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.4)$$

Bağımsız değişkenlerin siyanidin-3-glikozit üzerindeki eşzamanlı etkileri için 3B yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir. CHGLY için oluşturulan Şekil 4.8'te görüldüğü gibi, molar oran ve solvent miktarı, molar oran ve ekstraksiyon süresi, su içeriği ve solvent miktarı ile su içeriği ve ekstraksiyon süresi değişkenleri, siyanidin-3-glikozit üzerinde etkili olmuştur. Siyanidin-3-glikozit üzerinde, molar oranı ve su içeriği kombinasyonu pozitif etki göstermiştir. Molar oranı ve çözücü miktarı sırasıyla 1:4.1 molar ve 30g'a kadar siyanidin-3-glikozitte artış, ardından hafif azalışa yol açmıştır.



Şekil 4. 8. CHGLY ile elde edilen siyanidin-3-glikozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri

CHAC'ın siyanidin-3-glikoziti için çizilen 3B grafiklerden (Şekil 4.9) görülebileceği gibi, molar oran ve su içeriği, CHAC'ın siyanidin-3-glikoziti üzerinde pozitif etkiye sahipken, molar oranı ve solvent miktarı kombinasyonu olumsuz etkiye sahipti. Su içeriği ve çözücü oranı ise önemli bir etkiye sahip değildi. Molar oran ve ekstraksiyon süresi, su içeriği ve ekstraksiyon süresinin yanı sıra solvent oranı ve ekstraksiyon süresinin kombinasyonunun, CHAC'ın siyanidin-3-glikozit üzerine etkili olduğu, ekstraksiyon süresi 35 dakikaya kadar azaldığı sonra arttığı kaydedilmiştir.



Şekil 4. 9. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-glikozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri.

4.4.4. Siyanidin-3-rutinozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi

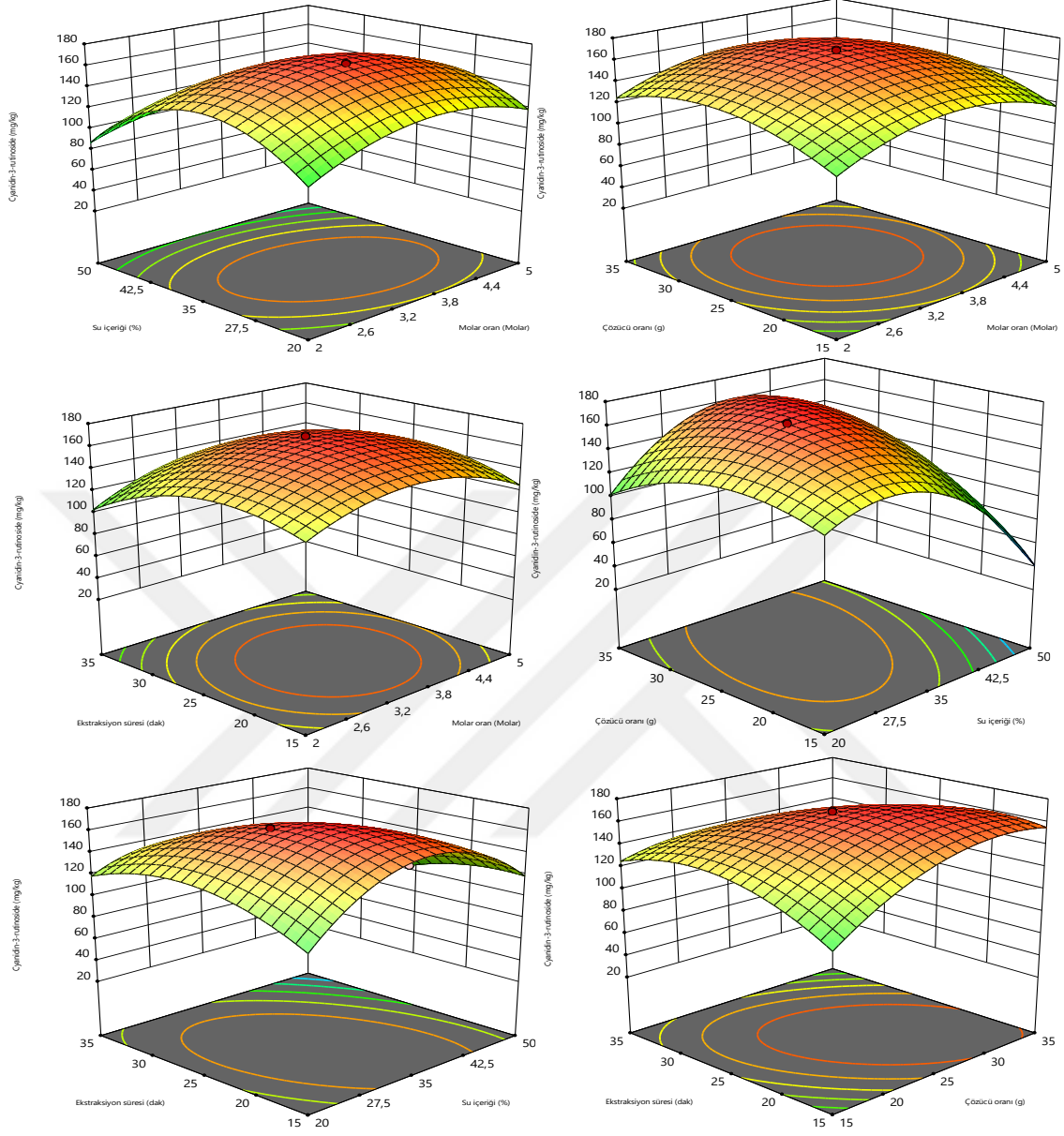
CHGLY kullanılarak elde edilen siyanidin-3-rutinozit için oluşturulan model için, X_3 ve X_4 'ün doğrusal, X_1X_3 , X_2X_3 , X_2X_4 ve X_3X_4 'ün interaksyon ve X_1X_1 ve X_2X_2 'nin ikinci dereceden etkisi önemli bulunmuştur. Siyanidin-3-rutinozitin β değerleri, ağırlıklı olarak X_3 'ten, ardından X_2X_2 , X_1X_1 , X_1X_3 , X_3X_4 , X_2X_3 , X_2X_4 ve X_4 'den etkilendiğini göstermiştir. CHGLY ile bulunan siyanidin-3-rutinozitin değişkenlerle arasındaki ilişki aşağıdaki formülle tanımlanmıştır:

$$\begin{aligned} \text{Siyanidin - 3 - rutinozit}_{CHGLY} = & 91.94 - 1.96X_1 + 1.87X_2 - 22.45X_3 + \\ & 3.74X_4 + 1.67X_1X_2 + 6.83X_1X_3 + 0.07X_1X_4 + 4.91X_2X_3 + 4.73X_2X_4 + \\ & 6.54X_3X_4 - 9.95X_1X_1 - 10.92X_2X_2 - 0.67X_3X_3 - 0.85X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.5)$$

CHAC ile ilgili olarak, X_2 , X_3 ve X_4 doğrusal, X_2X_3 , X_2X_4 ve X_3X_4 interaksyonları yanı sıra X_1X_1 , X_2X_2 , X_3X_3 ve X_4X_4 ikinci dereceden etkilerinin siyanidin-3 glikozit üzerinde önemli olduğu bulunmuştur. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-rutonizitin β değerleri, temel olarak X_1X_1 'e, ardından X_4X_4 , X_3X_3 , X_2X_2 , X_3X_4 , X_2X_3 , X_2X_4 , X_2 , X_4 ve X_3 'e bağlı olduğunu göstermiştir. CHAC ile siyanidin-3-rutonizitin değişkenler ile arasındaki ilişki aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklemde verilmiştir;

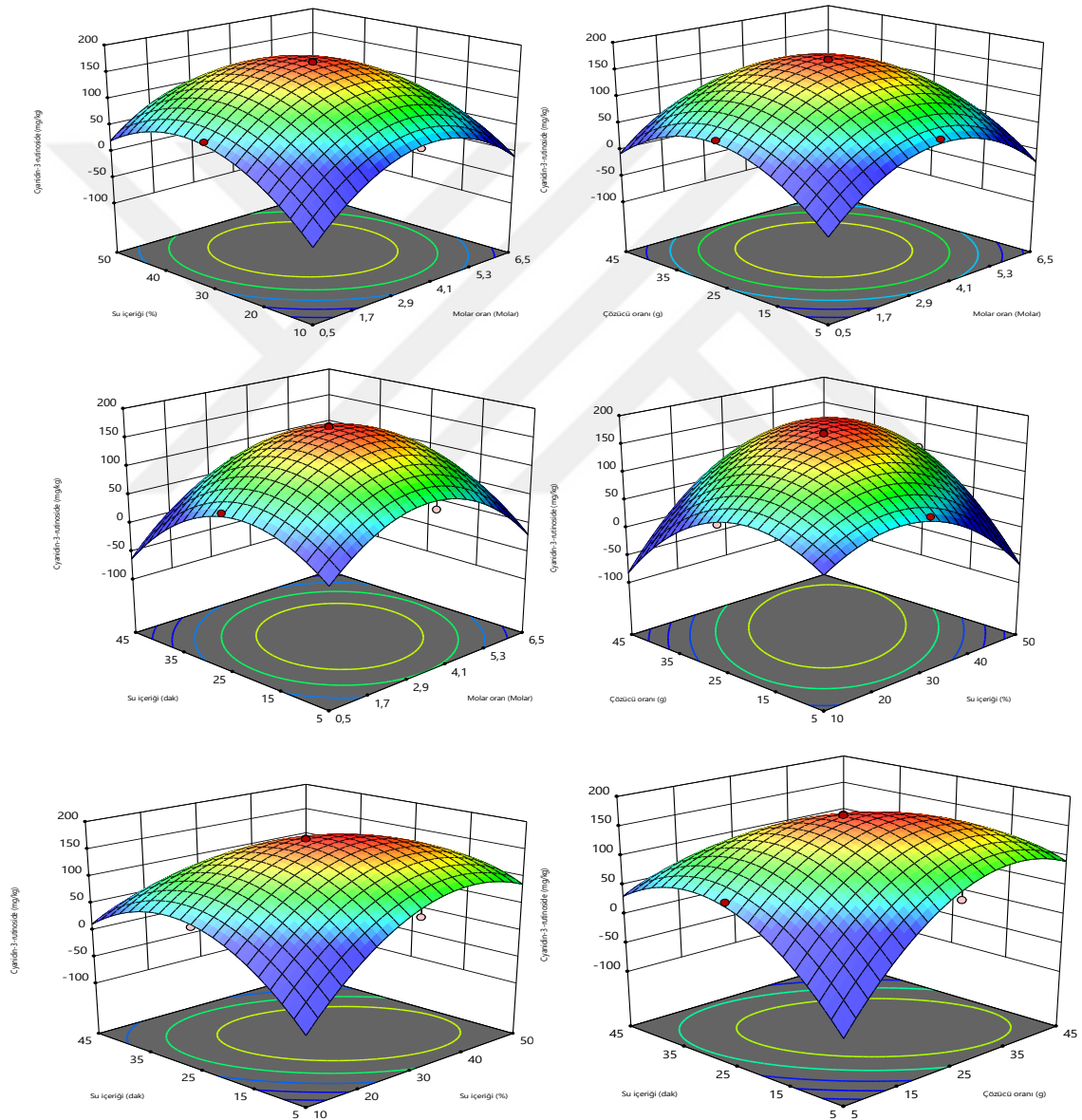
$$\begin{aligned} \text{Siyanidin - 3 - rutinozi}_{CHAC} = & 166.65 + 3.23X_1 + 10.71X_2 + 7.00X_3 - \\ & 7.85X_4 - 4.86X_1X_2 - 1.11X_1X_3 + 4.65X_1X_4 + 17.33X_2X_3 - 14.59X_2X_4 - \\ & 19.07X_3X_4 - 24.11X_1X_1 - 20.71X_2X_2 - 22.15X_3X_3 - 23.07X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.6)$$

Bağımsız değişkenlerin siyanidin-3-rutinozit üzerindeki eşzamanlı etkilerini belirlemek için, 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir. CHGLY için oluşturulan Şekil 4.10'ten görüldüğü gibi, molar oran ve su içeriği interaksyonu, molar oranın 1:5'e ve su içeriğinin %38'e kadar artmasıyla siyanidin-3-rutinozit artmış, ardından hafif bir azalma göstermiştir. Molar oran ve solvent miktarı interaksyonu, siyanidin-3-rutinozit üzerinde önemli etkiye sahipti. Solvent miktarı arttıkça azalmış, ancak molar oranın 1:5'e kadar artması ile artış göstermiştir. Benzer şekilde, siyanidin-3-rutinozit miktarı, molar oran ve ekstraksiyon süresi interaksyonundan etkilenmiş, molar oranın 1:5'e kadar artmasıyla artış gösterirken, 30 dakikaya kadar ekstraksiyon süresi ve %38'e kadar artan su içeriğinden etkilenmiştir. Siyanidin-3-rutinozit üzerine su içeriği ve çözücü miktarı etkili olmuş, çözücü oranı arttıkça azalmış, ancak su içeriği %38'e kadar arttıkça artmıştır. Ek olarak, siyanidin-3-rutinozit üzerinde ekstraksiyon süresi ve çözücü miktarı interaksyonu önemli olmuş, artan çözücü oranı ile azalmıştır.



Şekil 4. 10. CHGLY ile elde edilen siyanidin-3-rutinozid üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

CHAC'den elde edilen siyanidin-3-rutinozit için oluşturulan 3 boyutlu grafikler, molar oran ve su içeriği, molar oran ve çözücü miktarının yanı sıra molar oran ve ekstraksiyon süresinin kombinasyonunun, siyanidin-3-rutinozit üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Artan molar oran, su içeriği, solvent oranı ve ekstraksiyon süresi sırasıyla 1:5 molar, %38 su içeriği, 30g solvent miktarı ve 30 dakikaya kadar artış siyanidin-3-rutinozit miktarını artırmıştır. Benzer şekilde, su içeriği ve çözücü miktarı, su içeriği ve ekstraksiyon süresinin yanı sıra çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresi kombinasyonu da aynı eğilim sergilemiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4. 11. CHAC ile elde edilen siyanidin-3-rutinozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

4.4.5. Pelargonidin-3-glikozit Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi

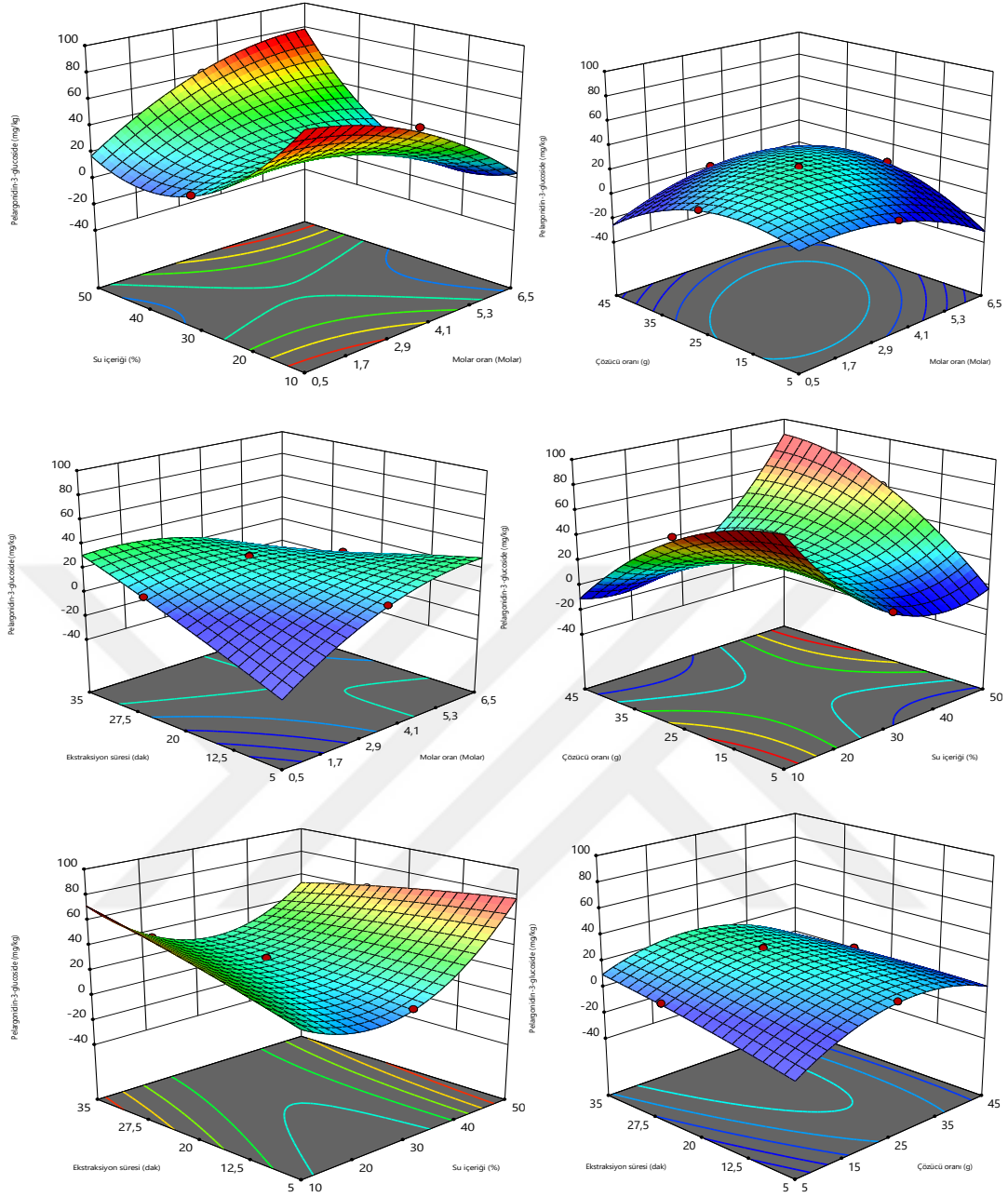
CHGLY kullanılarak elde edilen pelargonidin-3-glikozit için oluşturulan model için, X_1 , X_2 ve X_4 'ün doğrusal, X_1X_2 , X_1X_3 , X_1X_4 , X_2X_3 ve X_3X_4 'ün interaksiyon ve X_1X_1 , X_2X_2 ve X_3X_3 'nin ikinci dereceden etkisi önemli bulunmuştur. Pelargonidin-3-glikozit β değerleri, ağırlıklı olarak X_2X_3 'den, ardından X_2X_2 , X_1X_2 , X_1X_4 , X_2X_4 ve X_3X_3 'den etkilendiğini göstermiştir. CHGLY ile bulunan pelargonidin-3-glikozit ve değişkenler arasındaki ilişki aşağıdaki formülle tanımlanmıştır:

$$\begin{aligned} \text{Pelargonidin} - 3 - \text{glikozit}_{CHGLY} = & 22.93 - 2.02X_1 + 1.31X_2 - 0.70X_3 + \\ & 2.88X_4 + 8.61X_1X_2 + 3.84X_1 - 8.60X_1X_4 + 11.50X_2X_3 - 5.85X_2X_4 - \\ & 2.42X_3X_4 - 3.69X_1X_1 + 9.41X_2X_2 - 5.19X_3X_3 - 0.86X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.7)$$

CHAC ile ilgili olarak, pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerden X_3 ve X_4 doğrusal, X_1X_2 , X_1X_4 , X_2X_3 ve X_2X_4 interaksiyonları ile X_1X_1 , X_2X_2 , X_3X_3 ve X_3X_3 kuadratik etkide bulunmuşlardır. CHAC ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit β değerleri, temel olarak X_1X_2 'e, ardından X_1X_4 , X_3X_3 , X_1X_1 , X_4 , X_2X_3 ve X_2X_2 'e bağlı olduğunu göstermiştir. CHAC ile pelargonidin-3-glikozit ve değişkenler arasındaki ilişki aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklemde verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Pelargonidin} - 3 - \text{glikozit}_{CHAC} = & 46.26 - 1.56X_1 + 1.68X_2 - 3.16X_3 + \\ & 4.92X_4 + 12.30X_1X_2 - 0.47X_1X_3 - 11.17X_1X_4 + 4.56X_2X_3 - 5.79X_2X_4 + \\ & 0.64X_3X_4 - 8.89X_1X_1 + 4.21X_2X_2 - 10.39X_3X_3 - 0.06X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.8)$$

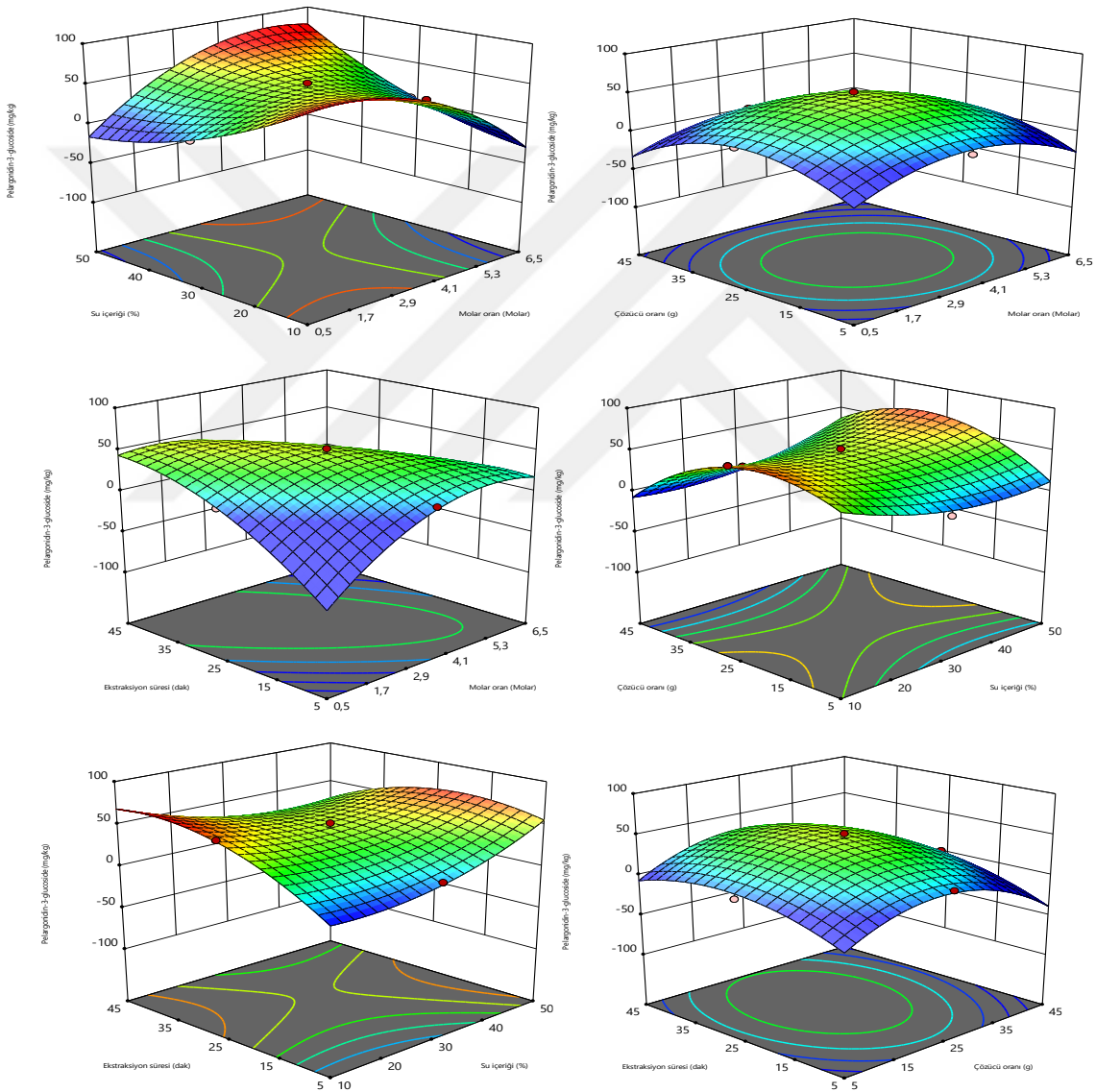
Pelargonidin-3-glikozit üzerindeki bağımsız değişkenlerin etkilerini belirlemek için 3B yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur. CHGLY için oluşturulmuş Şekil 4.12'de gördüğü gibi, molar oran ve su içeriği ile molar oran ve ekstraksiyon süresi pelargonidin-3-glikozit üzerinde etkili olmuş, molar oranın 1:5 molara kadar artmasıyla ve pigment konsantrasyonu artarken su içeriğinin 30g'a kadar artmasıyla pigment konsantrasyonu azalmış, ardından hafif bir artış göstermiştir. Molar oran ve solvent miktarı, pelargonidin-3-glikozit üzerinde pozitif bir etki göstermiş, solvent miktarı ve molar oranı sırayla 1:5 molara kadar ile 30g'a kadar artış göstermiştir.



Şekil 4. 12. CHGLY ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

CHAC ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini göstermek için 3B yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.13). Molar oran ve su içeriğinin interaksiyonu, pelargonidin-3-glikozit üzerine etkili olmuştur. Pelargonidin-3-glikozit, molar oranın 1:4.1 molar kadar artmasıyla artmış sonra azalmış, su içeriğinin %30'e kadar artmasıyla azalmış, ardından artmıştır. Pelargonidin-3-glikozit üzerinde molar oran ve solvent miktarı pozitif etkili olmuş, molar oranı 1:5 molar, solvent oranı 35 g'a kadar artış

sonra azalış göstermiştir. Ek olarak, molar oran ve ekstraksiyon süresi, pelargonidin-3-glikozit üzerine pozitif etkili olmuş, 1:5 molar oranına kadar pigment artmış sonra azalmıştır. Pelargonidin-3-glikozit miktarı üzerine, su içeriği ve çözücü miktarının etkili olduğu, çözücü oranının 30g'a kadar artmasıyla arttığı, su içeriğinin %38'e yükselmesiyle azaldığı, tespit edilmiştir. Su içeriği ve ekstraksiyon süresinin kombinasyonu pelargonidin-3-glikozit üzerinde önemli bir etkiye sahip değilken solvent miktarı ve ekstraksiyon süresi kombinasyonu etkili olmuş, solvent oranını 35 g'a kadar artırıldığında pelargonidin-3-glikozit artmış sonra azalmıştır.



Şekil 4. 13. CHAC ile elde edilen pelargonidin-3-glikozit üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

4.4.6. Siyanidin Klorür Üzerine Bağımsız Değişkenlerin Etkisi

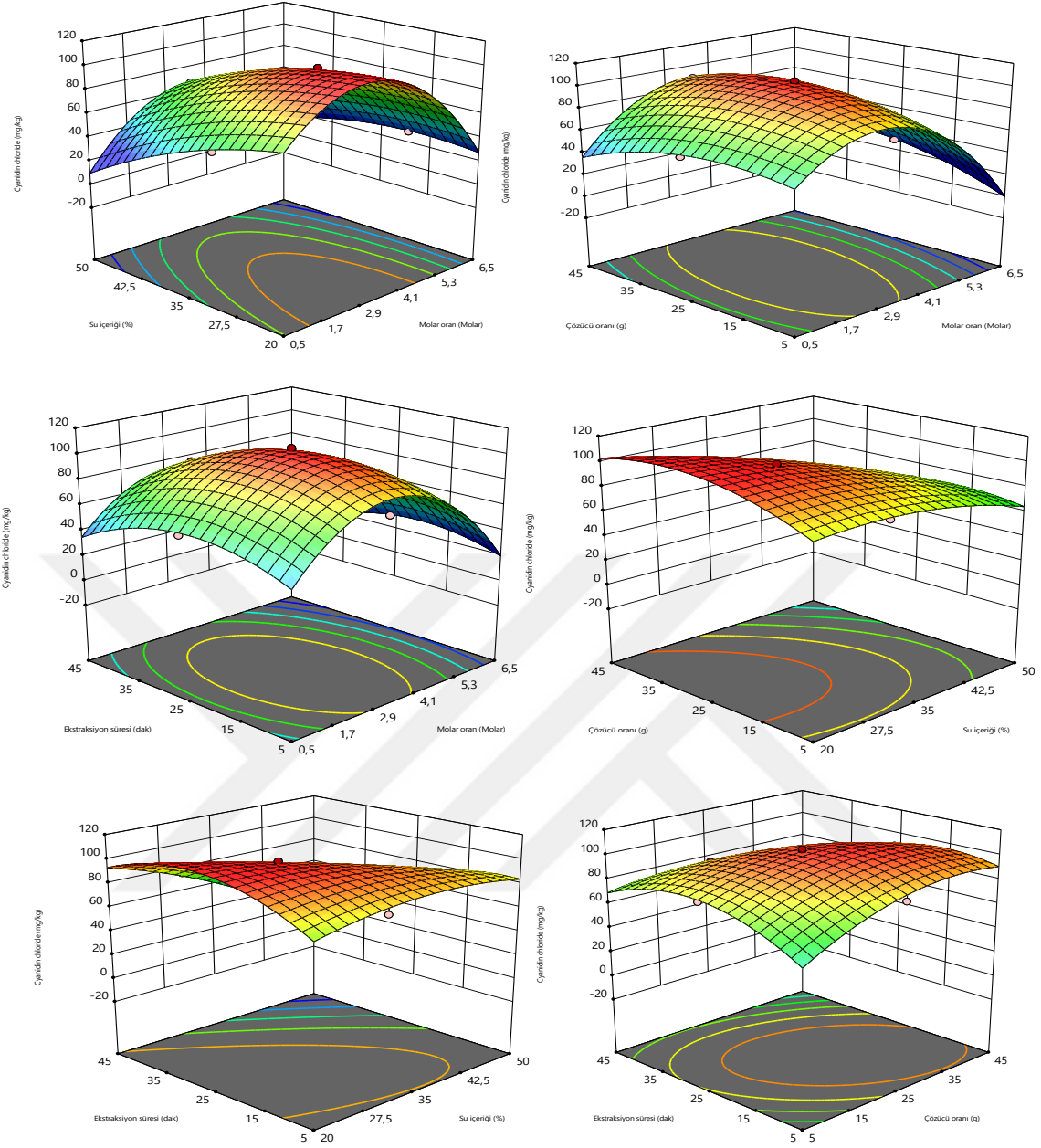
CHGLY kullanılarak elde edilen siyanidin klorür için oluşturulan model için, X_1, X_2 ve X_4 'ün doğrusal, $X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_2X_4$ ve X_3X_4 'ün interaksiyon ve X_1X_1, X_2X_2, X_3X_3 ve X_4X_4 'ün kuadratik etkisi önemli bulunmuştur. Siyanidin klorür için β değerleri, esas olarak X_1X_1 'den, ardından X_2, X_1, X_1X_3 ve X_1X_1 'den etkilendiği kaydedilmiştir. CHGLY ile bulunan siyanidin klorür için oluşturulan model aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklemde verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Siyanidin klorür}_{CHGLY} = & 102.55 - 7.62X_1 - 9.12X_2 + 1.42X_3 - 3.90X_4 + \\ & 4.42X_1X_2 + 3.38X_1X_3 - 0.63X_1X_4 - 3.57X_2X_3 - 7.42X_2X_4 - 3.41X_3X_4 - \\ & 13.99X_1X_1 - 4.12X_2X_2 - 3.69X_3X_3 - 5.35X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.9)$$

CHAC ile elde edilen siyanidin klorür ile ilgili olarak, X_1, X_2 ve X_3 doğrusal, $X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_2X_4$ ve X_3X_4 interaksiyon ve X_1X_1, X_2X_2, X_3X_3 ve X_4X_4 'ün ikinci dereceden etkisi önemli bulunmuştur. Ek olarak, β değerleri CHAC ile elde edilen siyanidin klorürün temel olarak X_1X_1 'e, ardından $X_2, X_1, X_2X_4, X_4X_4, X_1X_2, X_2X_2, X_4, X_3X_3,$ ve X_1X_3 'e bağlı olduğu saptanmıştır. CHAC ile bulunan siyanidin klorür için oluşturulan model aşağıdaki ikinci dereceden polinom denklemde verilmiştir:

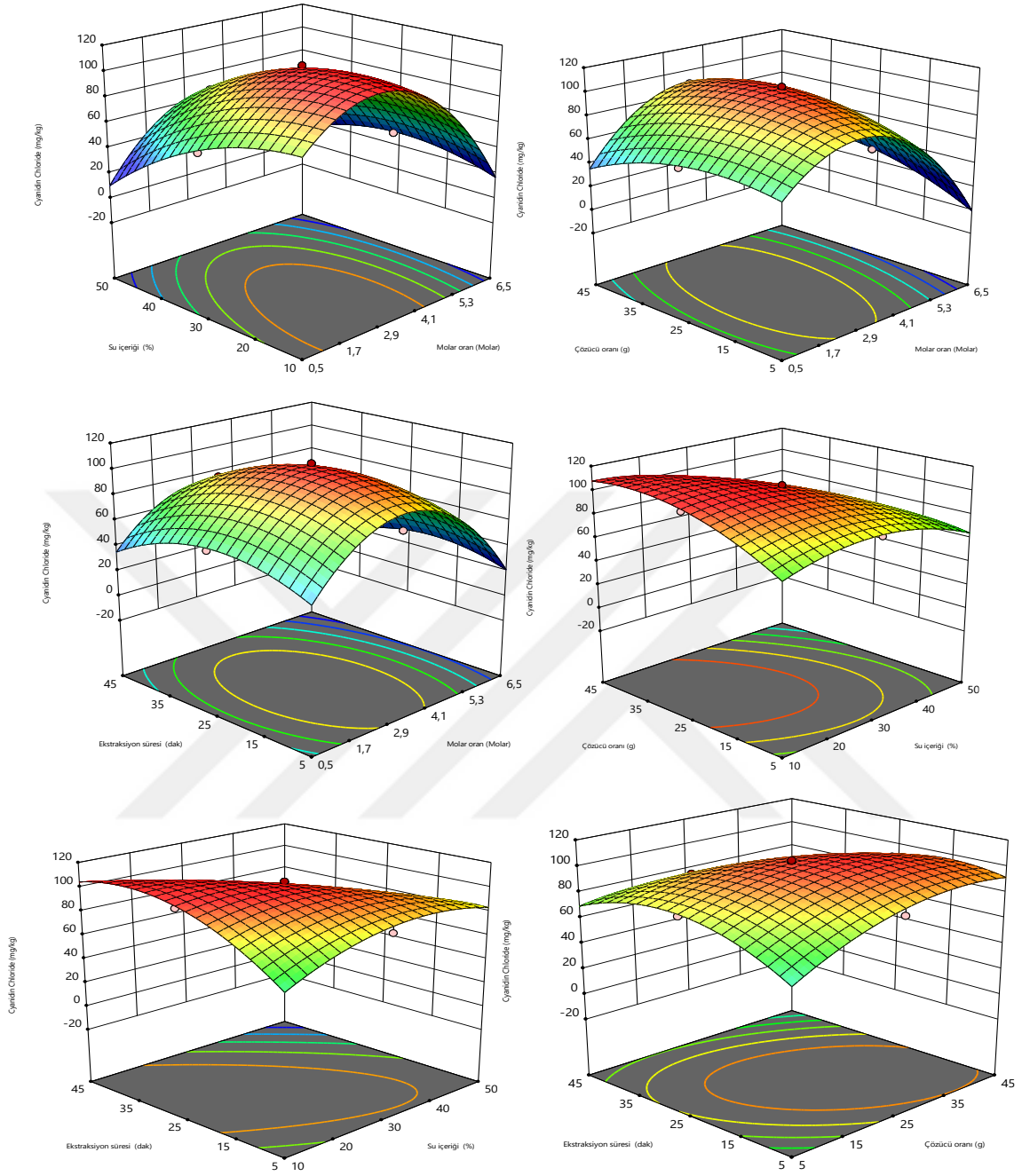
$$\begin{aligned} \text{Siyanidin klorür}_{CHAC} = & 102.55 - 7.62X_1 - 9.12X_2 + 1.42X_3 - 3.90X_4 + \\ & 4.28X_1X_2 + 3.38X_1X_3 - 0.63X_1X_4 - 3.57X_2X_3 - 7.42X_2X_4 - 3.41X_3X_4 - \\ & 13.99X_1X_1 - 4.12X_2X_2 - 3.68X_3X_3 - 5.35X_4X_4 \end{aligned} \quad (4.10)$$

CHGLY ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini göstermek için 3B yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.14). Siyanidin klorür üzerine molar oran ve su içeriğinin yanı sıra molar oran ve solvent miktarı interaksiyonun da etkili olduğu, molar oranın 1:4.8 molara kadar artmasıyla pigmentin arttığı, 35 g'a kadar artan solvent miktarı ile azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, su içeriği ve çözücü oranı ile ekstraksiyon süresi ve çözücü oranı interaksiyonu siyanidin klorür üzerine etkili olmuştur. 35 g'a kadar artan çözücü miktarı siyanidin klorür miktarını azaltmıştır. Ayrıca, molar oran ve ekstraksiyon süresi ile su içeriği ve ekstraksiyon süresinin siyanidin klorür üzerine etkili olmuştur.



Şekil 4. 14. CHGLY ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

CHAC ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini göstermek için 3B yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.15). Molar oran, su içeriği, çözücü miktarı ve ekstraksiyon süresinin sırasıyla 1:4.5 molar, %30, 30g ve 30 dakikaya kadar artışı siyanidin klorür miktarını artırmıştır.



Şekil 4. 15. CHAC ile elde edilen siyanidin klorür üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini gösteren 3B yanıt yüzey grafikleri

4.4.7. Optimum Koşullar ve Sonuçların Validasyonu

Optimum koşullar, bağımsız değişkenler ve önemli bulunan yanıtlar maksimum olacak şekilde istenilirlik fonksiyonuna dayanılarak belirlenmiştir. CHGLY için optimum koşullar molar oran, su içeriği, solvent miktarı ve ekstraksiyon süresi için sırasıyla 1:4.22 molar, %20, 15g ve 15 dakika olarak bulunmuştur. Bu koşullar altında; toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3 glikozit ve siyanidin klorür için öngörülen yanıtlar 193.03 mg CGE/100g, 1228.79 mg/kg, 104.57 mg/kg, 42.12 mg/kg ve 99.45 mg/kg olarak belirlenmiştir. CHAC için optimum koşullar molar oran, su içeriği, solvent oranı ve ekstraksiyon süresi için sırasıyla 1:3.5 molar, %40, 30 ve 15 dakika şeklinde saptanmıştır. Bu koşullar altında toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3 glikozit ve siyanidin klorür için öngörülen yanıtlar 229.46 mg CGE/100g, 1052.60 mg/kg, 175.06 mg/kg, 41.47 mg/kg ve 90.27 mg/kg şeklindedir. Teorik değerleri doğrulamak için aynı optimum koşullar altında üç tekrarlı olarak deney yapılmıştır. CHGLY için toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3 glikozit ve siyanidin klorür için yanıtlar 205.45±5.62 mg CGE/100g, 1193.32±72.65 mg/kg, 147.65±2.94 mg/kg, 52.27±2.09 mg/kg ve 81.45±1.00 mg/kg olarak bulunmuştur. CHAC için toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3 glikozit ve siyanidin klorür için yanıtlar 221.05±5.23 mg CGE/100g, 1208.08±13.76 mg/kg, 163.43±1.72 mg/kg, 53.78±1.37 mg/kg ve 91.98±0.62 mg/kg olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi, tahmin edilen ile deneysel değerler çok yakın bulunmuştur. Bu bize, RSM'nin fenolik bileşiklerin optimizasyonunu ve böğürtlen antosiyaninleri için güvenilir ve tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir.

4.5. Optimum NADES'lerin pH, Viskozite Ve Elektrik İletkenliği

Optimum koşullarda elde edilen NADES'ler pH, viskozite ve elektrik iletkenliklerine göre karakterize edilmiştir (Tablo 4.10). Optimum koşullar CHAC için 1:3.5 molar oran ve %40 su, CHGLY için 1:4.23 molar oran ve %20 su olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda CHAC ve CHGLY için pH sırasıyla 1.24±0.03 ve 3.80±0.03 olarak kaydedilmiştir. CHAC ve CHGLY için viskozite ve iletkenlik sırasıyla 1.21±0.17 ve 7.50±0.55 mPa; 34930±60.83 ve 4675.33±57.74 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ olarak bulunmuştur. CHAC ve CHGLY'nin 1:2 molar ve %20 su ile elde edildiği optimizasyon prosesinden önce CHAC ve CHGLY için sırasıyla pH 1.32±0.01 ve

5.36±0.02, viskozite 8.75±0.09 ve 23.48±0.12 mPa, iletkenlik 1059.33±16.20 ve 695.00±3.46 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, HBD ve su içeriğinin molar oranındaki değişiklik, NADES'lerin pH, viskozite ve elektrik iletkenliğinde önemli bir varyasyona yol açmış, iletkenlik artarken daha düşük pH ve viskozite göstermiştir. Bu, HBD (asetik veya gliserol) miktarındaki artışın hidrojen bağının kullanılabilirliğini artırdığını düşündürmüştür. Sonuçlar, tetrapropilamonyum bromür (HBA) ve gliserol (HBD) karıştırılarak oluşturulan NADES'in pH ve viskozitesinin HBD miktarının artmasıyla azaldığını, iletkenliğin ise arttığını bildiren Jibril vd. (2014) ile uyumludur. Ayrıca önceki çalışmalar, NADES'lerde yük taşıyan türlerin daha yüksek hareketliliği nedeniyle viskozite düşük olduğunda iletkenliğin arttığını göstermiştir (Abbott vd., 2004, 2007; Jibril vd., 2014).

Tablo 4. 10. Optimum koşullarda elde edilen NADES'lerin pH, viskozite ve elektrik iletkenliği

Özellikler	CHAC	CHGLY
pH	1.24±0.03b	3.80±0.03a
Viskozite (mPa)	1.21±0.17b	7.50±0.55a
İletkenlik ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	34930±60.83a	4675.33±57.74b

*Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$).

4.6. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Farklı ekstraksiyon tekniklerinin bögürtlenin biyoaktif bileşenleri üzerindeki etkisini belirlemek için CHAC ve CHGLY ile optimum koşullarda ultrason (UAE), homojenat (HAE) ve karıştırma destekli (SAE) ekstraksiyon teknikleri kullanılmış ve ekstraktlar bireysel antosiyaninler, toplam antosiyanin, toplam flavonoid, toplam fenol ve antioksidan aktivite değerleri açısından karşılaştırılmıştır (Tablo 4.11). Bögürtlenden biyoaktif bileşiklerin geri kazanımında, uygulanan ekstraksiyon yöntemleri istatistiksel açıdan birbirinden farklı sonuçlara yol açmıştır ($p<0.05$). Ekstraksiyon tekniklerinden UAE, en etkili teknik olarak bulunurken HAE ve SAE onu takip etmiştir. UAE yüksek verimi, ultrasonun hücre duvarlarını yıkmasından, HAE'nin ise yüksek dönüş ve karıştırma etkisinden kaynaklanmıştır (Zannou vd., 2022c). Önceki çalışmalar, ultrasonun kavitasyon, titreşim, ezme ve karıştırma etkilerinin hücre duvarını bozabileceğini ve bitki matrislerinden biyoaktif bileşenleri kolay çıkartabileceğini göstermiştir (Chen vd., 2015; Tambun vd., 2021; Frohlich vd., 2022). Wu vd. (2020), ultrason destekli ekstraksiyonu, maserasyon ve SAE ile karşılaştırdıkları çalışmada; DES ve UAE'nin birlikte uygulanması durumunda dikkat çekici şekilde yüksek toplam fenol, toplam flavonoid, DPPH, ABTS+, OH⁻ ve

FRAP değerleri elde edileceğini kaydetmişlerdir. Lin vd. (2021), ultrason destekli ekstraksiyonun, SAE, sokselet veya mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilenlerden daha yüksek flavonoid bileşikleri ve antioksidan aktivite içerdiğini bildirmişlerdir. Son zamanda yapılan alışmalar, NADES ortamında ultrason destekli ekstraksiyon kullanımının homojenat destekli ekstraksiyondan daha verimli olduğunu göstermiştir (Zannou vd., 2022cd). Bununla birlikte, Chanioti vd. (2018), homojenat destekli ekstraksiyon ile kolin klorür:sitrik asit veya kolin klorür:laktik asit birlikte uygulandığında; yüksek hidrostatik basınc, ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniklerinden daha yüksek toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerine ulaşıldığını bildirmişlerdir.

Tablo 4. 11. Böğürtlenden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların özellikleri

Özellik	CHGLY			CHAC		
	UAE	HAE	SAE	UAE	HAE	SAE
CYN-3-GLU	1193.32± 3.64a	986.56±7.1 0b	996.09±5.87b	1208.08±13.76 a	978.82±7.6 0b	955.81±9 .55b
CYN-3-RUT	147.65±2 .94a	119.24±1.3 8b	119.35±1.65b	163.43±1.72a	122.09±5.9 7b	116.62±3 .84b
PLG-3-GLU	52.27±2. 09a	34.92±0.62 b	33.29±0.07b	53.78±1.37a	34.62±0.07 b	27.35±08 2c
CYN-CHL	81.45±1. 00a	71.55±2.33 b	70.45±3.84b	91.98±0.62a	74.25±0.54 b	70.52±2. 33b
TAC	128.82±8 .46a	114.69±0.7 7a	136.97±4.61a	131.54±7.89a	102.19±6.1 5b	110.88±9 .22ab
TFC	320.07±9 .25a	254.66±6.1 7b	175.08±4.63c	243.90±2.06a	227.91±8.2 2b	119.62±1 .03c
TPC	12.81±0. 91a	10.24±0.13 b	8.88±0.13b	9,07±0.03a	8.54±0.13b	8.18±0.2 5b
DPPH	164.85±0 .60a	166.98±6.6 3b	135.85±6.63c	136.62±1.21a	126.25±2.2 1b	120.99±4 .02b
FRAP	180.27±1 .58a	175.62±0.2 6b	155.72±13.15 b	141.26±1.05a	140.52±3.8 6a	120.92±0 .35b
ABTS	66.68±0. 03a	49.47±1.84 a	50.96±8.95a	47.24±0.18a	41.85±1.67 ab	38.06±3. 68b

*Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$).

4.7. Optimum Koşullarda Elde Edilen Antosiyaninlerin *in vitro* Gastrointestinal Sindirimleri

Sindirim sisteminde, antosiyaninler, diğer flavonoid glikozitlerden farklı olarak pH ve sıcaklığa bağlı olarak yeniden düzenlemeye tabi tutulur (Fernandes vd., 2014). Bu alışmada, NADES'lerle elde edilen böğürtlen antosiyaninlerinin biyoyararlılığı, simüle edilmiş ağız boşluğu ile mide ve bağırsak ortamında incelenmiştir. Elde edilen CHAC ekstraktının *in vitro* biyoyararlılığı düşük bulunmuştur. Muhtemelen bu, CHAC ekstraktının çok düşük pH (pH=1.24)'a sahip olması ve ağız boşluğunda pH'ı

6.8'e yükseltmek için güçlü bir baz (NaOH) kullanımının gerekmesinden kaynaklanmaktadır. CHAC ekstraktının pH'ının ayarlanmasıyla, antosiyaninlerin yapısı değişmiş, bu da antosiyaninlerin bozunmasına yol açmıştır. Buna karşılık, CHGLY'den elde edilen ekstraktın CHAC ekstraktına göre daha yüksek bir pH'a sahip olması (3.80 pH) ve ağız boşluğunda 6.8 pH'a ayarlamak için daha az baza ihtiyaç duyulması, *in vitro* biyoyararlılık değerinin daha fazla olmasına yol açmıştır. Bu sonuçlar, gliserol bazlı NADES'lerle elde edilen antosiyanin ve fenolik bileşik içeren ekstraktların biyoyararlılığının daha yüksek olması anlamına gelmektedir ki gliserol bazlı NADES'lerin bu biyoaktif bileşikler üzerinde koruyucu bir etki yaptığını göstermektedir. Benzer durum önceki çalışmalarda da (Da Silva vd., 2020b; Zannou vd., 2022a; Zannou vd., 2022b) rapor edilmiştir.

4.7.1. Ağız Boşluğunda Biyoyararlılık

İnsanlarda sindirim, pH'sı 6.0 ile 7.0 arasında değişen ağızda başlamaktadır (Pedersen vd., 2002). Bu çalışmada, böğürtlen antosiyaninlerinin biyoyararlılığını belirlemek için pH 6.8 olan ortamda 5 ve 15 dakika tutulmuştur. Sonuçlar, 5 ve 15 dakikada elde edilen değerler arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$) (Tablo 4.12). Biyoyararlılık değerleri siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür için sırasıyla 13.17 ± 0.01 - 21.04 ± 0.72 , 22.02 ± 1.38 - 28.81 ± 1.05 , 16.37 ± 0.84 - 18.51 ± 1.10 ve 25.84 ± 0.31 - 32.27 ± 0.78 olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi, siyanidin klorür en yüksek biyoyararlılık tavrı sergilemiş, bunu sırasıyla siyanidin-3-rutinozit, siyanidin-3-glikozit ve pelargonidin-3-glikozit izlemiştir. Antosiyaninlerin pH'a karşı duyarlılığı nedeniyle ağız boşluğunda antosiyaninlerin yapısının değişebildiği ve 5-60 dakika içinde antosiyaninlerin %8-80'inin bozunduğu önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Kamonpatana vd., 2012, 2014; Lila vd., 2016). Ağız boşluğundaki mikroorganizmaların enzimatik yolla antosiyaninleri; protokateşik asit, protokateşik asit glukuronit, floroglusinol aldehit ve glukuronidatlanmış antosiyanin konjugatları gibi küçük molekül ağırlıklı bileşiklere parçaladığı rapor edilmiştir (Mallery vd., 2011; Kamonpatana vd., 2012). Bu çalışmada, ağız boşluğunda antosiyaninlerin biyoyararlılığı %6.37-32.27 arasında değiştiği gözönüne alınırsa CHGLY'nin koruyucu olduğu söylenebilir. Tagliazucchi vd. (2010), bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak, kırmızı sofralık üzüm antosiyaninlerinin biyoyararlılığını ağız boşluğunda %19 bulmuşlardır. Lingua vd. (2018), Syrah üzümünde antosiyaninlerin

ve siyanidin-3-glikozitin biyoyararlılığını ağızda sırasıyla %22 ve %2.74 (üzümde konsantrasyon= 17.17 mg/kg, ağızda= 0.47 mg/kg) olarak belirlemiştir. Bu çalışmada ilginç olarak, ağız boşluğunda 5 dakika süreyle gerçekleştirilen *in vitro* sindirim, incelenen antosiyanin bileşikleri için en yüksek biyoyararlılık değerleri kaydedilmiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4. 12. Böğürtlen antosiyaninlerinin sindirim sisteminde biyoyararlılığı

Bileşikler	Ağız		Mide			İnce bağırsak		
			1saat	2 saat	3 saat	1 saat	2 saat	3 saat
CYN-3 GLU	5 da k	21.04±0. 72a	27.57± 0.49b A	33.68±0. 21aA	24.95±0. 65cA	14.60±0. 50bA	17.37±0. 36aA	13.19±0. 08cA
CYN-3- RUT	5 da k	28.81±1. 05a	32.48± 1.57aA	38.85±2. 36aA	29.17±2. 74bA	26.06±0. 20bA	31.53±0. 74aA	26.19±0. 25bA
PLG-3- GLU	5 da k	18.51±1. 10a	18.91± 0.15b A	26.89±0. 01aA	18.96±0. 07bA	n.d	n.d	n.d
CYN- CHL	5 da k	32.27±0. 78a	38.03± 0.42ab A	40.16±1. 37aA	34.16±2. 56bA	29.85±0. 88aA	29.40±0. 30aA	20.63±0. 07bA
CYN-3 GLU	15 da k	13.17±0. 01b	33.54± 0.54aA	30.45±01 3bA	30.95±0. 36bA	18.12±0. 21aA	16.60±0. 06bA	16.31±0. 72bA
CYN-3- RUT	15 da k	22.02±1. 38b	42.09± 0.98aA	42.93±0. 24aA	35.50±0. 90bA	33.56±0. 05aA	33.14±0. 41aA	27.96±0. 42bA
PLG-3- GLU	15 da k	16.37±0. 84b	18.73± 0.71aA	10.71±0. 00bA	10.60±0. 08bA	n.d	n.d	n.d
CYN- CHL	15 da k	25.84±0. 31b	42.05± 0.17aA	40.99±0. 44aA	39.02±0. 43bA	33.10±1. 28aA	25.96±0. 65bA	20.77±0. 13cA

*Ağız boşluğu için, sütündeki a-b= aynı küçük harf, antosiyanin bileşikleri arasında 5. ve 15. dakikalarda önemli bir fark olmadığını gösterir (p> 0.05); ** Mide ve bağırsak için a-c= aynı satırlarda aynı küçük harf antosiyanin bileşikleri arasında önemli bir fark olmadığını gösterir (p> 0.05);*** Mide ve bağırsak için A-C= aynı satırlarda aynı büyük harf, ağızda kalma süresi farkı açısından antosiyanin bileşikleri arasında önemli bir fark olmadığını gösterir (p> 0.05).

4.7.2. Mide Ortamında Biyoyararlılık

Siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür gibi böğürtlen antosiyaninlerinin biyoyararlılığını belirlemek için simüle edilmiş mide ortamında 1, 2 ve 3 saat bekletilmiştir (Tablo 4.12). Ağız boşluğunda 5 ve 15 dakika sonra mide taklit ortamında 1 ve 2 saat tutulan ekstraktlarda, antosiyaninlerin biyoyararlılık değerleri inkübasyon süresi boyunca artmıştır. Düşük pH değerlerinde (mide ortamında) antosiyaninlerin stabil olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, Fernandes vd. (2018), toplam antosiyanin konsantrasyonunun mide ortamında sabit olduğunu, 60 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda azalmaya

başladığını bildirirken, Oidtmann vd. (2012) de antosiyaninlerin stabil olduğunu ve 120 dakika boyunca mide ortamında konsantrasyonlarının değişmeden kaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak önceki çalışmalarda da antosiyaninlerin mide koşullarında bozulmadığı rapor edilmiştir (McDougall vd., 2005; Oidtmann vd., 2012; Liang vd., 2012; Fernandes vd., 2018; Zhao vd., 2020b).

Tablo 4.12'den görüldüğü gibi, mide ortamında biyoyararlık değerleri siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür için sırasıyla 24.95 ± 0.65 - 33.54 ± 0.54 , 29.17 ± 2.74 - 33.54 ± 0.54 , 10.71 ± 0.00 - 26.89 ± 0.01 ve 34.16 ± 2.56 - 42.05 ± 0.17 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, Tagliazucchi vd. (2010), kırmızı sofralık üzümde bulunan antosiyaninlerin mide ortamında biyoyararlılığını %36, Lingua vd. (2018), Syrah üzüm antosiyaninlerinde %45 olduğunu bildirmişlerdir. Bu antosiyanin bileşiklerinin ağız boşluğunda sindirimden sonra arttığı görülmektedir (Tablo 4.12). Mide ortamındaki toplam antosiyaninler ve siyanidin-3-glikozitin sindirim sonrası ağızdaki değerlerden daha yüksek bulunduğu görülmektedir ki benzer durum literatürde de mevcuttur (Oliveira vd., 2015; Fraisse vd., 2021). Oliveira vd. (2015) ağızda sindirimden sonra antosiyaninlerin (siyanidin) artışının nedenini, α -amilaz ile rekabet nedeniyle pektin komplekslerinden salınmalarıyla ilişkili olabileceği şeklinde açıklamıştır.

4.7.3. Bağırsakta Biyoyararlılık

Tablo 4.12'den görüldüğü gibi, bağırsak ortamında antosiyanin bileşiklerinin biyoyararlılık değerleri diğer sindirim sistemlerinden daha düşüktür. Mideden bağırsak ortamına geçişi, antosiyaninlerde azalışa yol açmıştır. Lingua vd. (2018), mideden ince bağırsak sindiriminin sonuna kadar üzüm ve şaraplarda toplam fenolik içeriğinde sırasıyla %44 ve %46 azalma olduğunu bildirmişlerdir. İnce bağırsağın pH'ı 5.0-7.0, kalın bağırsağın pH'ı 7.0-8.0'dır (Han vd., 2019). Antosiyaninler nötr veya alkali ortamda kararsızdır ve yapıları ince bağırsak veya kalın bağırsak gibi nötr ortamda çökebilir (Fernandes vd., 2014; Han vd., 2019). Ek olarak, gastrointestinal sindirimindeki enzimler, örnek matrisinden fenoliklerin salınımını uyararak yapılarını bozabilmektedir (Bouayed vd., 2011; McDougall vd., 2005).

Bu çalışmada, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin klorür için ince bağırsak ortamındaki biyoyararlılık değerleri sırasıyla 13.19 ± 0.08 - 18.12 ± 0.21 , 26.06 ± 0.20 - 33.56 ± 0.05 ve 20.63 ± 0.07 - 25.96 ± 0.65 aralığında

saptanırken, pelargonidin-3-glikozit bağırsak ortamında tespit edilememiştir. Ağız boşluğunda sırasıyla 15 dakika ve 5 dakika inkübe edilen örnekler için en yüksek değerler 1 saat ve 2 saat sonunda bulunmuştur. Siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin klorür, bağırsak sindiriminden sonra en çok bulunan antosiyaninler olmuş, bunu siyanidin-3-glikozit izlemiştir. Bouayed vd. (2011), elma antosiyaninlerinin mide ortamından (1.04-1.14 mg/100g) sonra bağırsak sindiriminden sonra tespit edilemediğini belirtmiştir. Tagliazucchi vd. (2010), kırmızı sofralık üzüm antosiyaninlerinin pankreasta sindirildikten sonra biyoyararlılığının %7.6 olduğunu bildirmişlerdir. Fernandes vd. (2018), 120 dakikalık bağırsak sindiriminden sonra zenginleştirilmemiş ve zenginleştirilmiş böğürtlen pürelerinde toplam antosiyaninlerde biyoyararlılık sırasıyla %37 ve %44 olarak tespit etmişlerdir. Marques Peixoto vd. (2016), bağırsak sindiriminden sonra antosiyaninlerin biyoyararlılığını jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg), jambo (*Syzygium malccense* (L.) Merryl ve Ferry) ve jamelão (*Syzygium cumini* L. Skeels) için sırasıyla %10, 15 ve 45 olarak belirlemişlerdir. Kim vd. (2020), simüle edilmiş *in vitro* insan sindirimi sırasında dut ve aronya antosiyaninlerinin konsantrasyonlarındaki değişiklikleri izlemiştir. Bağırsakta sindirim sonrasında siyanidin-3-O-glikozit, siyanidin-3-O-rutinozit ve pelargonidin-3-O-glikozit miktarını sırasıyla dut ekstraktlarında 17.32, 3.600 ve 1.338 µg/g; aronya ekstraktlarında 7.754, 1.292 ve 0.292µg/g olarak tespit etmişlerdir. Literatürde bildirilenlerle bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında; siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin klorürün biyoyararlılığının uyumlu olduğu görülmüştür.

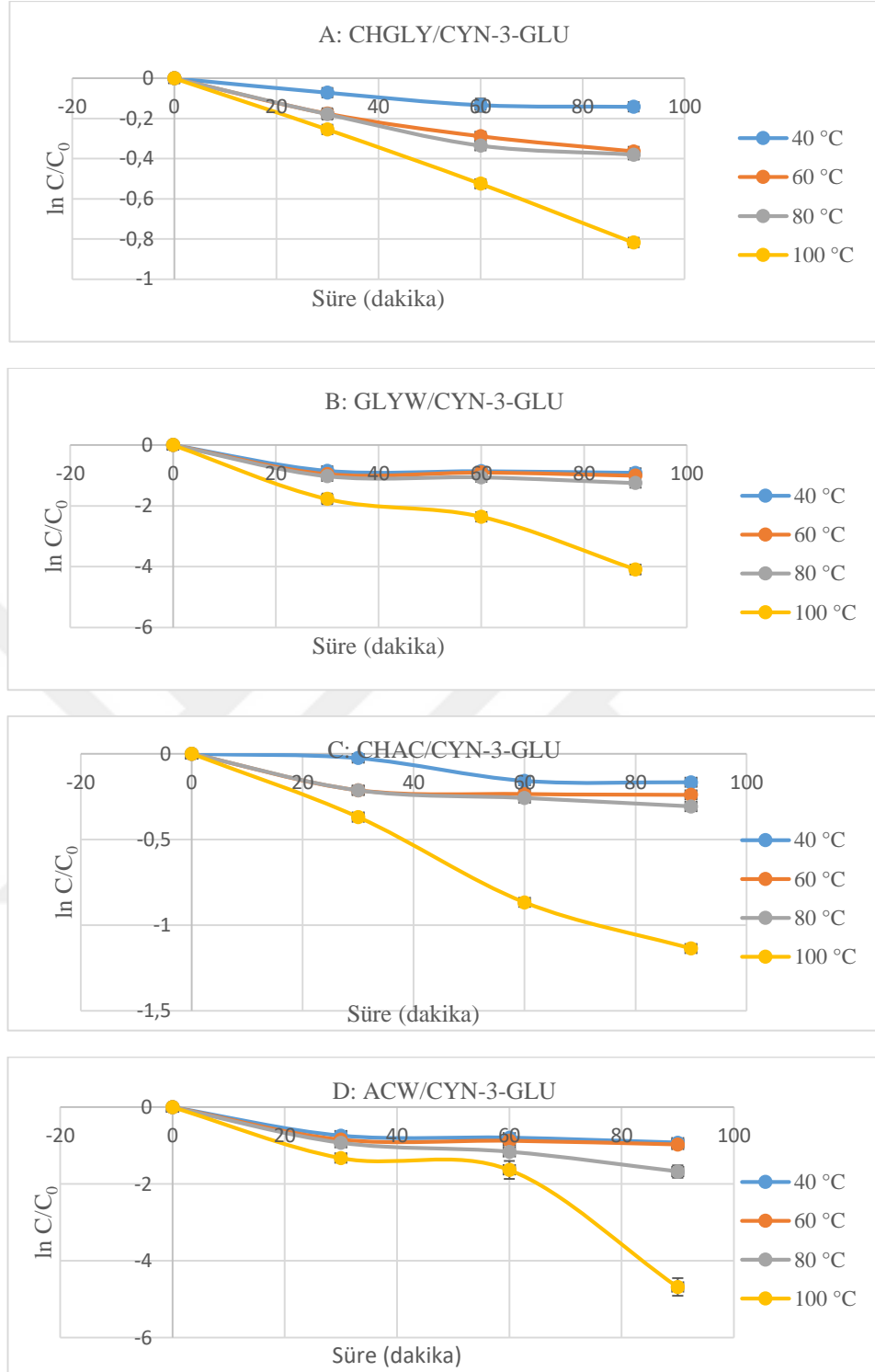
4.8. Isıl Stabilite

Siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür üzerindeki ısıl etkilerini belirlemek için optimum koşullarda elde edilen NADES ve aynı koşullarda hazırlanan sulu ekstraktlar, 40, 60, 80 ve 100 °C sıcaklıkta 30, 60 ve 90 dakika bekletilmiştir. CHGLY için sulu ekstraktı GLYW, CHAC için ise ACW olarak kodlanmıştır.

4.8.1. Antosiyaninlerin Isıl Yolla Bozunma Kinetiği

Siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün bozunma kinetiğinin sonuçları Şekil 4.16'de sunulmuştur. Siyanidin-3-glikozit en yüksek bozunma hızını 100 °C'de kaydedilmiş ve yüksek sıcaklıktan düşüğe doğru (80, 60 ve 40 °C) hız yavaşlamıştır. Test edilen tüm çözücülerde aynı eğilim gözlenmiştir. Fernandes vd. (2018), artan sıcaklık ve süreye paralel olarak siyanidin-3-glikozitin bozunma hız sabitinin arttığını da saptamışlardır. Literatürde, siyanidin-3-glikozitin ısı bozunmasının 70 ile 90 °C arasında yüksek olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2007; Fernandes vd., 2018).

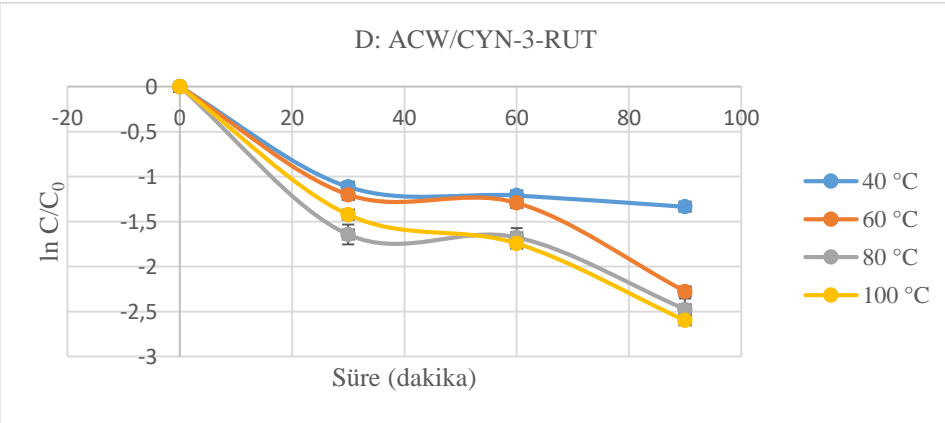
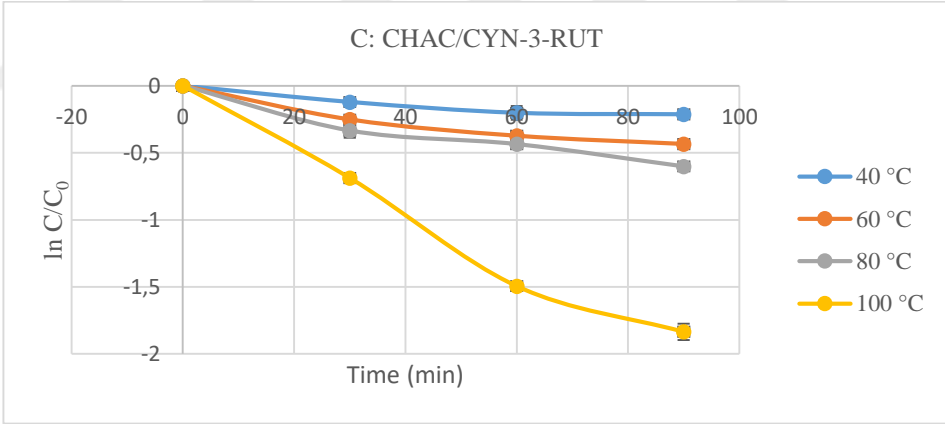
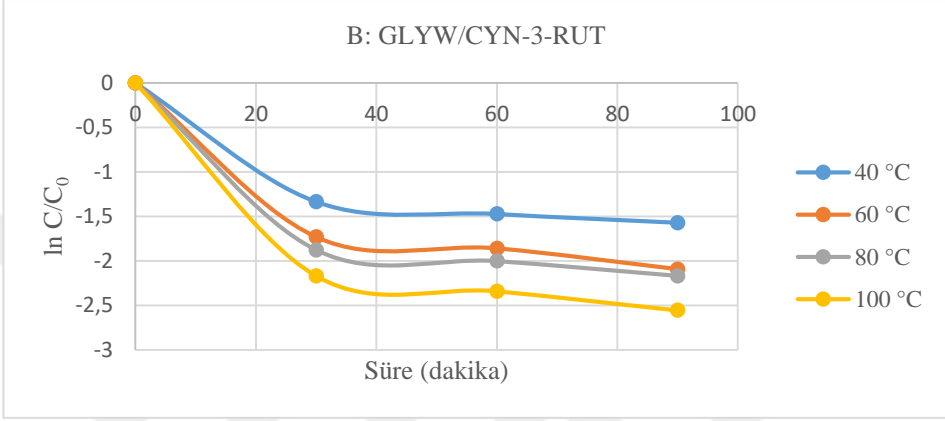
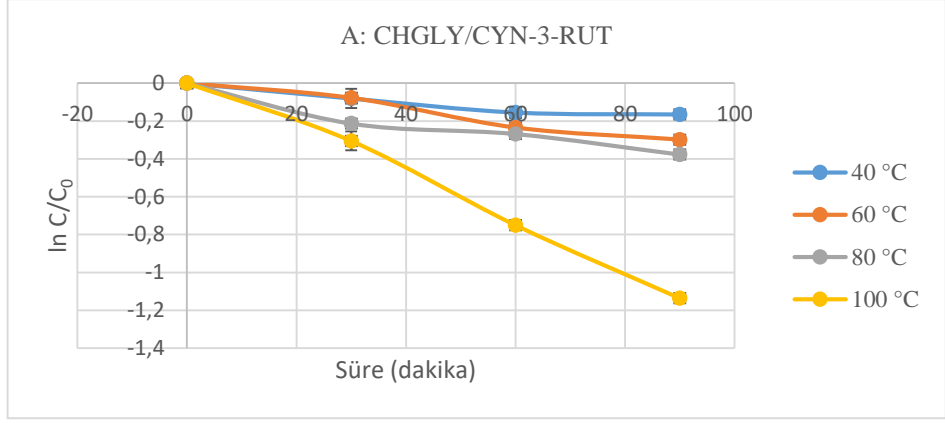
NADES'lerden CHGLY ve CHAC için 100 °C'de 90 dakika bekletilenlerde sırasıyla -0.8 ve -1.15 dak⁻¹'lik en düşük bozunma oranı belirlenmiş, NADES yüksek koruyucu etki sağlamıştır. Sonuçlar incelendiğinde; aynı koşullarda, siyanidin-3-glikozitin bozunmasının sulu ekstraktlarda (GLYW ve ACW) daha hızlı ve yüksek olduğu görülmüştür. NADES'lerle karşılaştırıldığında GLYW ve ACW, NADES'lere göre yaklaşık 3 kat daha fazla bozunma oranı (sırasıyla -4.1 ve -4.8 dak⁻¹) göstermiştir. NADES'lerdeki siyanidin-3-glikozit stabilizasyonu, NADES'lerle antosiyanin kompleksleşmesinden kaynaklanmış olabilir. Isı, ışık, oksidasyon ve enzimatik aktiviteler dahil olmak üzere birçok faktör, antosiyaninlerin flavilyum katyonunun yapısını oldukça kararsız hale getirebilmektedir (Trouillas vd., 2016). Fernandes vd. (2018), antosiyaninlerin ısı bozunmasının kovalent bağlarının açılmasına dayandığını belirtmişlerdir. NADES'te meydana gelen interaktif hidrojen bağı, ısı koşullar sırasında flavilyum katyonunun yerini alabilir (Guo vd., 2019). Bu nedenle, antosiyaninlerin ısı bozunma hızı sonuç olarak düşebilir (Guo vd., 2019; Zannou vd., 2020).



Şekil 4. 16. Siyanidin-3-glikozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt

Siyanidin-3-rutinozidin bozunma hızı, sıcaklık ve süreye paralel olarak artmıştır (Şekil 4.17). Siyanidin-3-rutinozitin ısı bozunması, NADES'lerde 100°C'de, sulu ekstraktlarda ise 60°C, 80°C ve 100°C'de yoğun olmuş, NADES ekstraktlarında bozunma hızı sabitleri, sulu çözeltilerle karşılaştırıldığında daha

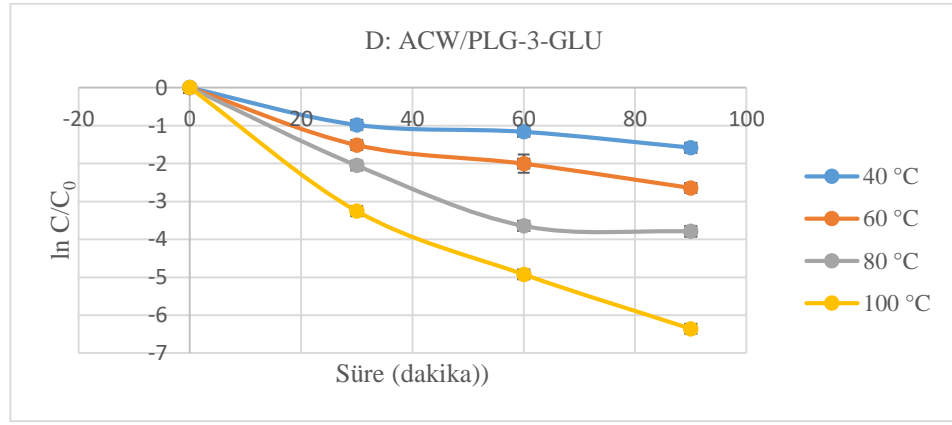
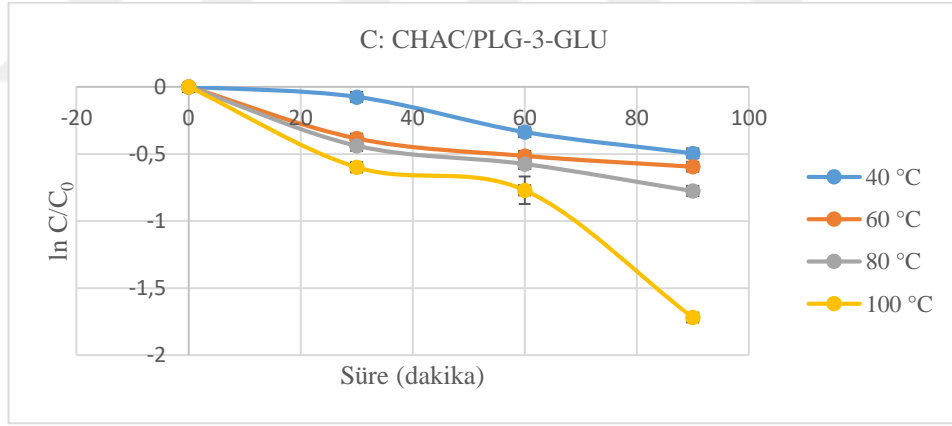
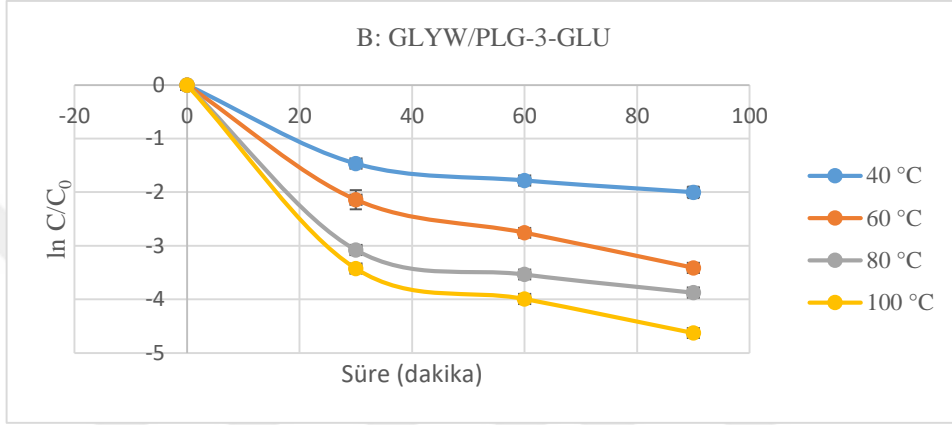
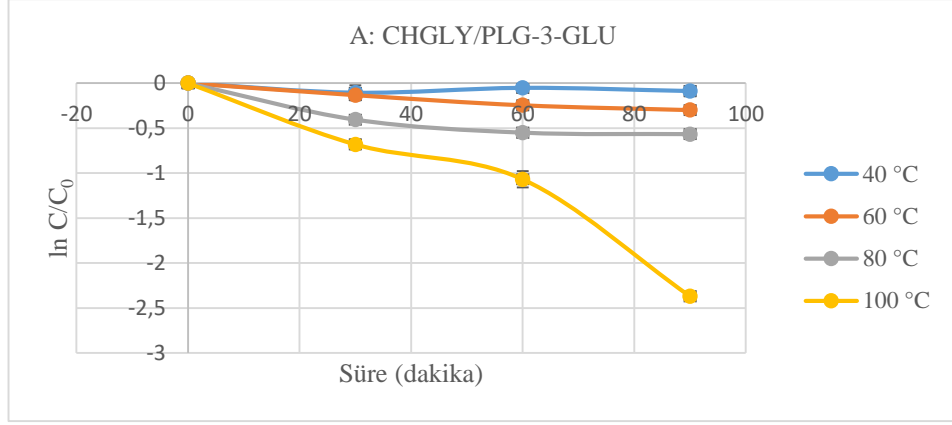
düşük bulunmuştur. Örneğin, 100 °C ve 90 dakikada, bozulma hızı CHGLY, CHAC, GLYW ve ACW için sırasıyla -1.15, -1.18, -2.6 ve -2.6 dak⁻¹olarak kaydedilmiştir. Sulu ekstraktların bozunma oranları, NADES'lerde bulunan değerlerden 2 kat daha yüksektir. Bu da NADES'lerin siyanidin-3-rutinozit için koruyucu olduğu anlamına gelmektedir. Dai vd. (2014), siyanidin'in NADES'te 60 °C'de asitlendirilmiş etil alkolden daha kararlı olduğunu belirtmişlerdir. Sui ve Zhou (2014), siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozitin bozunma hızınının 132.5 °C'de 0.0047 ve 0.0023 s⁻¹ olduğunu bildirmiştir. Şekil 4.17'de görüldüğü gibi, siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozitin bozunması NADES'lerde benzer olmasına rağmen, sulu çözeltilerde durum farklıydı. Siyanidin-3-glikozit siyanidin-3-rutinozite göre sulu ekstraktlarda daha hızlı bozunmuştur. Bu bulgular, siyanidin-3-rutinozitin siyanidin-3-glikozitten daha ısıya dayanıklı olduğunu göstermektedir ki bu durum önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Rubinskiene vd., 2005; Pacheco-Palencia vd., 2009).



Şekil 4. 17. Siyanidin-3-rutinozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt

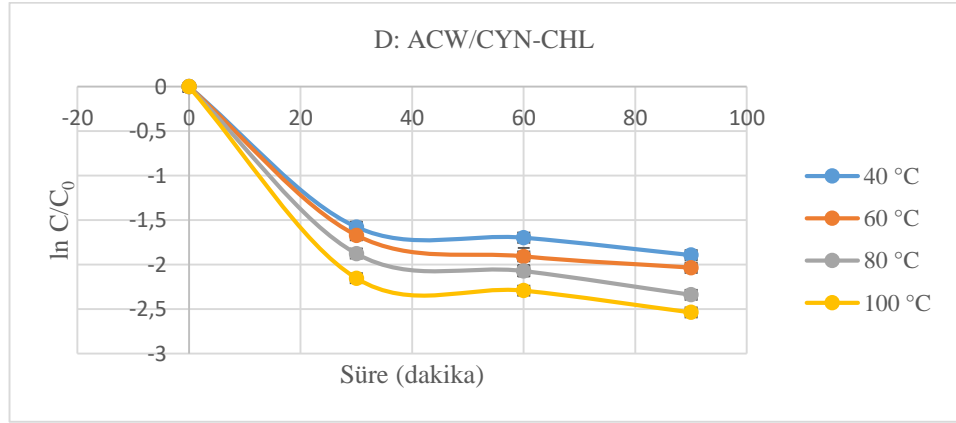
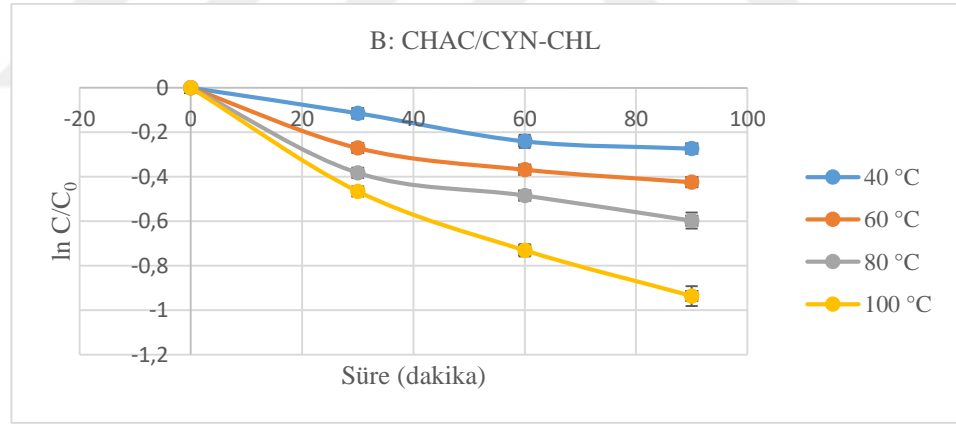
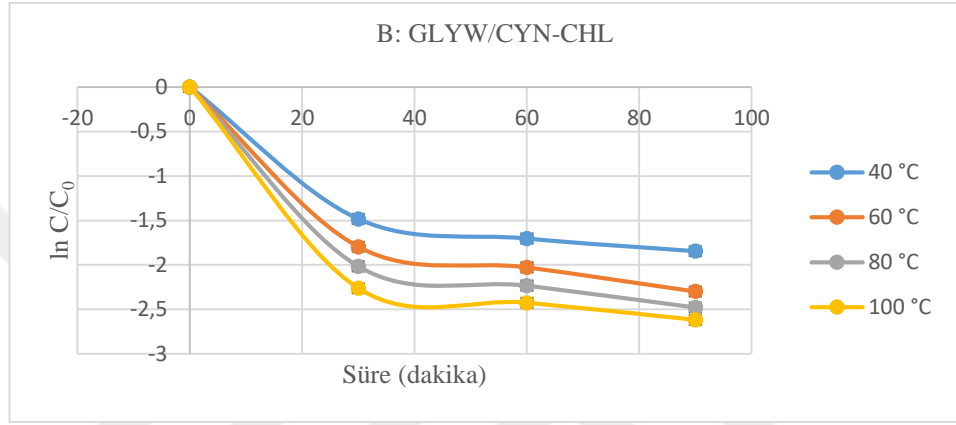
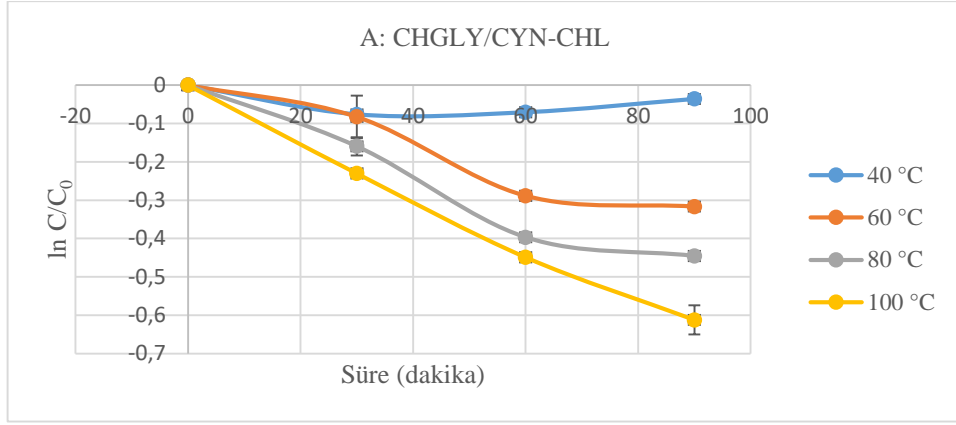
Pelargonidin-3-glikozitin ısıl bozunma hızı, artan ısıtma sıcaklığı ve süresiyle artmıştır (Şekil 4.18). Pelargonidin-3-glikozit, NADES'lerde 40, 60 ve 80 °C'de daha stabil iken, sulu ekstraktlarda 40 °C'de stabil olduğu görülmüştür. 100 °C'de ısıtma pelargonidin-3-glikozit için zararlıydı ve 60 dakikalık ısıtmadan sonra bozulması hızlanmıştır. 40, 60, 80 °C ve 100 °C'de bozunma hızları sırasıyla CHGLY'de -0.1, -0.25, -0.6 ve -2.4 dak⁻¹; CHAC'de -0.5, -0.6, -0.8 ve -1.7 dak⁻¹; GLYW'de -2, -3.4, -3.9 ve -4.6 dak⁻¹; ACW'de ise -1.5, -2.6, -3.8 ve -6.4 dak⁻¹olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, pelargonidin-3-glikozit, sulu çözeltilere kıyasla NADES'lerde korunmuştur.





Şekil 4. 18. Pelargonidin-3-glikozitin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt

Siyanidin klorürün bozunma hızları Şekilde verilmiştir (Şekil 4.19). Görüldüğü gibi, ısıtma süresi boyunca, NADES'lerde siyanidin klorürün bozunması 40 °C'de 90 dakika boyunca (-0.05 ve -0.25 dak⁻¹) çok yavaştır. NADES'lerde siyanidin klorürün en yüksek bozunma oranı (-0.6 ve -0.9 dak⁻¹) 100 °C'de 90 dakikada gözlenmiştir. CHGLY ile elde edilenlerde daha yüksek koruma kaydedilmiştir. Bunun anlamı CHGLY ortamında güçlü hidrojen bağı nedeniyle CHAC'den daha koruyucu olduğudur. Siyanidin klorürün bozunması sulu çözeltilerde daha fazlaydı, en düşük bozunma hızları (-1.8 dak⁻¹) 40 °C'de 90 dakikada ve en yüksek bozunma değerleri (-2.6 dak⁻¹) 100 °C'de 90 dakikada bulunmuştur. Önceki çalışmalar, gliserol ve asit bazlı NADES'lerin hidrojen bağlama yetenekleri sayesinde antosiyaninler gibi fenolik bileşiklerle güçlü molekül içi ve moleküller arası yapılar oluşturduğunu ortaya koymuştur (Chanioti vd., 2018; Da Silva vd., 2020b; Zannou vd., 2022ab). Bu yapıların oluşumu, NADES'lerde antosiyaninlerin stabilizasyonunu sağlamıştır.



Şekil 4. 19. Siyanidin kloritin bozunma kinetiği: (A) CHGLY, (B) GLYW, (C) CHAC ve (D) ACW ile elde edilen ekstrakt

4.8.2. Isıl Stabilite Testinin Termodinamik Özellikleri

Siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3 izotermal kinetiğinin birinci derece reaksiyon sabiti k , aktivasyon enerjisi (E_a), Gibbs değeri (ΔG), entalpi (ΔH), entropi (ΔS) gibi termodinamik özellikler siyanidin 3-glikozit, siyanidin 3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür için hesaplanmıştır.

4.8.2.1. Birinci Dereceden Reaksiyon Sabiti, k

Hız sabiti (k), ısıl bozunmanın tahmini sağlayan bir göstergedir ve k değeri ne kadar düşükse, antosiyaninin stabilitesi yani kararlılığı o kadar yüksektir (Loypimai vd., 2015). Termodinamik sonuçların analizleri, sıcaklık ve zamanın artmasıyla k değerlerinin arttığını göstermiştir, bu da siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün sıcaklıktan etkilendiğini yani hızlı bozunmasını göstermektedir. Literatürde, fenolik bileşiklerin k değerlerinin sıcaklığın artmasıyla arttığının gösteren benzer çalışmalar mevcuttur (Oancea vd., 2017, 2018; Dai vd., 2014; Olivares-Tenorio vd., 2017; Zannou vd., 2020).

CHGLY ile elde edilen ekstrakttaki siyanidin-3-glikozit için k değerleri 40 °C'de $2.62 \times 10^{-5} \pm 5.69 \times 10^{-10} - 3.96 \times 10^{-5} \pm 1.15 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $6.74 \times 10^{-5} \pm 0.00 - 9.77 \times 10^{-5} \pm 1.46 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $7.04 \times 10^{-5} \pm 2.06 \times 10^{-10} - 9.93 \times 10^{-5} \pm 1.43 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $1.41 \times 10^{-4} \pm 4.66 \times 10^{-9} - 1.51 \times 10^{-4} \pm 1.59 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.13). CHGLY'nin optimum koşullarda elde edilen sulu ekstraktındaki (GLYW) siyanidin-3-glikozit için k değerleri 40 °C'de $1.70 \times 10^{-4} \pm 1.63 \times 10^{-6} - 4.73 \times 10^{-4} \pm 3.02 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $5.30 \times 10^{-5} - 2.51 \times 10^{-4} \pm 1.96 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $2.31 \times 10^{-4} \pm 5.60 \times 10^{-6} - 5.59 \times 10^{-4} \pm 2.68 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $6.56 \times 10^{-4} \pm 7.10 \times 10^{-6} - 9.96 \times 10^{-4} \pm 9.70 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.13).

Tablo 4. 13. CHGLY ve GLYW çözeltileriyle ekstrakte edilen antosiyaninlerin termodinamik özellikleri

Bileşikler	Süre, dak	Sıcaklık, °C	K		$\Delta G, \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$		$\Delta H, \text{kJ}$		$\Delta S \text{ kJ}\cdot\text{mol}\cdot\text{K}^{-1}$		$E_a, \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	
			CHGLY	GLYW	CHGLY	Su	CHGLY	Su	CHGLY	Su	CHGLY	Su
CYN-3-GLU	30	40	$3.96 \cdot 10^{-5 \pm 8}$	$4.73 \cdot 10^{-4 \pm 5}$	$103.34 \pm 3.83 \cdot 10^{-1}$	$96.83 \pm 1.67 \cdot 10^{-1}$	18.34 ± 2.65	0.39 ± 1.80	$-0.27 \pm 7.23 \cdot 10^{-3}$	-	20.94 ± 2.65	3.00 ± 1.80
		60	$9.77 \cdot 10^{-5 \pm 8}$	$5.3 \cdot 10^{-4 \pm 7}$	$107.57 \pm 2.08 \cdot 10^{-1}$	$102.87 \pm 4.23 \cdot 10^{-3}$	18.17 ± 2.65	0.22 ± 1.80	$-0.27 \pm 8.57 \cdot 10^{-3}$	-	$0.31 \pm 5.22 \cdot 10^{-3}$	
		80	$9.93 \cdot 10^{-5 \pm 8}$	$5.68 \cdot 10^{-4 \pm 5}$	$114.15 \pm 2.12 \cdot 10^{-1}$	$109.01 \pm 1.39 \cdot 10^{-1}$	18.01 ± 2.65	0.06 ± 1.80	$-0.27 \pm 8.10 \cdot 10^{-3}$	-	$0.31 \pm 5.42 \cdot 10^{-3}$	
		100	$1.41 \cdot 10^{-4 \pm 9}$	$9.86 \cdot 10^{-4 \pm 5}$	$119.68 \pm 5.12 \cdot 10^{-2}$	$113.65 \pm 3.06 \cdot 10^{-1}$	17.84 ± 2.65	-0.11 ± 1.80	$-0.27 \pm 7.23 \cdot 10^{-3}$	-	$0.31 \pm 5.49 \cdot 10^{-3}$	
	60	40	$3.71 \cdot 10^{-5 \pm 9}$	$2.40 \cdot 10^{-4 \pm 6}$	$103.50 \pm 3.24 \cdot 10^{-1}$	$98.60 \pm 4.17 \cdot 10^{-2}$	19.83 ± 2.08	-1.93 ± 1.53	$-0.27 \pm 5.60 \cdot 10^{-3}$	-	22.44 ± 2.08	0.68 ± 1.53
		60	$8.01 \cdot 10^{-5 \pm 10}$	$2.51 \cdot 10^{-4 \pm 5}$	$108.11 \pm 1.32 \cdot 10^{-2}$	$104.95 \pm 2.17 \cdot 10^{-1}$	19.66 ± 2.08	-2.09 ± 1.53	$-0.27 \pm 6.28 \cdot 10^{-3}$	-	$0.32 \pm 4.74 \cdot 10^{-3}$	
		80	$9.32 \cdot 10^{-5 \pm 10}$	$2.94 \cdot 10^{-4 \pm 6}$	$114.32 \pm 1.52 \cdot 10^{-2}$	$110.94 \pm 3.09 \cdot 10^{-2}$	19.50 ± 2.08	-2.26 ± 1.53	$-0.27 \pm 5.84 \cdot 10^{-3}$	-	$0.32 \pm 5.24 \cdot 10^{-3}$	
		100	$1.46 \cdot 10^{-4 \pm 9}$	$6.56 \cdot 10^{-4 \pm 6}$	$119.58 \pm 1.28 \cdot 10^{-2}$	$114.91 \pm 3.36 \cdot 10^{-2}$	19.33 ± 2.08	-2.43 ± 1.53	$-0.27 \pm 5.60 \cdot 10^{-3}$	-	$0.32 \pm 4.41 \cdot 10^{-3}$	
	90	40	$2.62 \cdot 10^{-4 \pm 9}$	$1.70 \cdot 10^{-4 \pm 6}$	$104.36 \pm 1.28 \cdot 10^{-2}$	$99.50 \pm 2.50 \cdot 10^{-1}$	25.79 ± 2.08	-	$-0.25 \pm 5.60 \cdot 10^{-3}$	-	28.39 ± 2.08	1.48 ± 1.56

			5_{\pm} $5,69 \cdot 10^{-10}$	- $4_{\pm} 1.63 \cdot 10^{-6}$	$2.82 \cdot 10^{-2}$	10^{-2}	$9.06 \cdot 10^{-2}$	$1.12 \pm 1.56 \cdot 10^{-1}$	$1.99 \cdot 10^{-4}$	$0.32 \pm 4.17 \cdot 10^{-4}$	$9.06 \cdot 10^{-2}$	10^{-1}
		60	$6.74 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$1.86 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	108.59 ± 0.00	105.77 ± 0.00	$25.62 \pm 9.06 \cdot 10^{-2}$	- $1.29 \pm 1.56 \cdot 10^{-1}$	$-0.25 \pm 2.72 \cdot 10^{-4}$	- $0.32 \pm 4.67 \cdot 10^{-4}$		
		80	$7.04 \cdot 10^{-5} \pm 2.06 \cdot 10^{-10}$	$2.31 \cdot 10^{-4} \pm 5.60 \cdot 10^{-6}$	$115.15 \pm 4.31 \cdot 10^{-3}$	$111.65 \pm 7.11 \cdot 10^{-2}$	$25.46 \pm 9.06 \cdot 10^{-2}$	- $1.46 \pm 1.56 \cdot 10^{-1}$	$-0.25 \pm 2.69 \cdot 10^{-4}$	- $0.32 \pm 6.42 \cdot 10^{-4}$		
		100	$1.51 \cdot 10^{-4} \pm 1.59 \cdot 10^{-9}$	$7.58 \cdot 10^{-4} \pm 2.97 \cdot 10^{-5}$	$119.46 \pm 1.63 \cdot 10^{-2}$	$114.46 \pm 1.22 \cdot 10^{-1}$	$25.29 \pm 9.06 \cdot 10^{-2}$	- $1.62 \pm 1.56 \cdot 10^{-1}$	$-0.25 \pm 1.99 \cdot 10^{-4}$	- $0.31 \pm 7.43 \cdot 10^{-4}$		
CYN-3-RUT	30	40	$4.50 \cdot 10^{-5} \pm 2.80 \cdot 10^{-8}$	$7.42 \cdot 10^{-4} \pm 3.00 \cdot 10^{-5}$	$103.24 \pm 8.71 \cdot 10^{-1}$	$95.66 \pm 1.05 \cdot 10^{-1}$	20.55 ± 4.09	2.88 ± 1.06	$-0.26 \pm 1.03 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 3.72 \cdot 10^{-3}$	23.16 ± 4.09	5.48 ± 1.06
		60	$4.31 \cdot 10^{-5} \pm 6.45 \cdot 10^{-9}$	$9.61 \cdot 10^{-4} \pm 1.25 \cdot 10^{-5}$	$109.84 \pm 2.08 \cdot 10^{-1}$	$101.22 \pm 3.61 \cdot 10^{-2}$	20.39 ± 4.09	2.71 ± 1.06	$-0.27 \pm 1.16 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 3.29 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.20 \cdot 10^{-4} \pm 9.78 \cdot 10^{-9}$	$1.04 \cdot 10^{-3} \pm 1.10 \cdot 10^{-4}$	$113.62 \pm 1.21 \cdot 10^{-1}$	$107.24 \pm 3.11 \cdot 10^{-1}$	20.22 ± 4.09	2.54 ± 1.06	$-0.26 \pm 1.19 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 3.88 \cdot 10^{-3}$		
		100	$1.70 \cdot 10^{-4} \pm 2.77 \cdot 10^{-8}$	$1.20 \cdot 10^{-3} \pm 5.44 \cdot 10^{-7}$	$119.13 \pm 2.54 \cdot 10^{-1}$	$113.02 \pm 1.40 \cdot 10^{-3}$	20.05 ± 4.09	2.38 ± 1.06	$-0.27 \pm 1.03 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 2.84 \cdot 10^{-3}$		
	60	40	$4.31 \cdot 10^{-5} \pm 7.71 \cdot 10^{-9}$	$4.09 \cdot 10^{-4} \pm 4.04 \cdot 10^{-6}$	$103.09 \pm 2.34 \cdot 10^{-1}$	$97.21 \pm 2.57 \cdot 10^{-2}$	23.06 ± 1.27	$1.16 \pm 6.95 \cdot 10^{-1}$	$-0.26 \pm 3.30 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 2.14 \cdot 10^{-3}$	25.66 ± 1.27	$3.77 \pm 6.95 \cdot 10^{-1}$
		60	$6.53 \cdot 10^{-5} \pm 4.83 \cdot 10^{-9}$	$5.16 \cdot 10^{-4} \pm 1.70 \cdot 10^{-5}$	$108.68 \pm 1.03 \cdot 10^{-1}$	$102.94 \pm 9.15 \cdot 10^{-2}$	22.89 ± 1.27	$0.99 \pm 6.95 \cdot 10^{-1}$	$-0.26 \pm 4.11 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 2.36 \cdot 10^{-3}$		

		80	$7.45 \cdot 10^{-5} \pm 46.24 \cdot 10^{-9}$	$5.56 \cdot 10^{-4} \pm 2.03 \cdot 10^{-5}$	$114.99 \pm 1.23 \cdot 10^{-1}$	$109.08 \pm 1.07 \cdot 10^{-1}$	22.73 ± 1.27	$0.83 \pm 6.95 \cdot 10^{-1}$	$-0.26 \pm 3.94 \cdot 10^{-3}$	$- 0.31 \pm 2.27 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.08 \cdot 10^{-9} \pm 4.90 \cdot 10^{-9}$	$6.50 \cdot 10^{-4} \pm 1.27 \cdot 10^{-5}$	$118.47 \pm 3.65 \cdot 10^{-2}$	$114.94 \pm 6.07 \cdot 10^{-2}$	22.56 ± 1.27	$0.66 \pm 6.95 \cdot 10^{-1}$	$-0.26 \pm 3.30 \cdot 10^{-3}$	$- 0.31 \pm 1.70 \cdot 10^{-3}$		
	90	40	$3.06 \cdot 10^{-5} \pm 2.24 \cdot 10^{-10}$	$2.91 \cdot 10^{-4} \pm 6.99 \cdot 10^{-6}$	$103.96 \pm 9.55 \cdot 10^{-3}$	$98.10 \pm 6.26 \cdot 10^{-2}$	$28.63 \pm 1.60 \cdot 10^{-1}$	$2.04 \pm 3.90 \cdot 10^{-1}$	$-0.24 \pm 4.80 \cdot 10^{-4}$	$- 0.31 \pm 1.04 \cdot 10^{-3}$	$31.23 \pm 1.60 \cdot 10^{-1}$	$4.65 \pm 3.90 \cdot 10^{-1}$
		60	$5.53 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$3.87 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	109.13 ± 0	103.74 ± 0.00	$28.46 \pm 1.60 \cdot 10^{-1}$	$1.88 \pm 3.90 \cdot 10^{-1}$	$-0.24 \pm 4.79 \cdot 10^{-4}$	$- 0.31 \pm 1.17 \cdot 10^{-3}$		
		80	$6.97 \cdot 10^{-5} \pm 8.46 \cdot 10^{-10}$	$4.01 \cdot 10^{-4} \pm 1.72 \cdot 10^{-6}$	$115.18 \pm 1.78 \cdot 10^{-2}$	$110.03 \pm 1.26 \cdot 10^{-2}$	$28.29 \pm 1.60 \cdot 10^{-1}$	$1.71 \pm 3.90 \cdot 10^{-1}$	$-0.25 \pm 5.03 \cdot 10^{-4}$	$- 0.31 \pm 1.14 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.10 \cdot 10^{-4} \pm 2.61 \cdot 10^{-9}$	$4.73 \cdot 10^{-4} \pm 9.42 \cdot 10^{-8}$	$118.44 \pm 1.92 \cdot 10^{-2}$	$115.92 \pm 6.18 \cdot 10^{-4}$	$28.13 \pm 1.60 \cdot 10^{-1}$	$1.54 \pm 3.90 \cdot 10^{-1}$	$-0.24 \pm 4.80 \cdot 10^{-4}$	$- 0.31 \pm 1.04 \cdot 10^{-3}$		
PLG-3-GLU	30	40	$5.96 \cdot 10^{-5} \pm 4.57 \cdot 10^{-8}$	$8.15 \cdot 10^{-4} \pm 2.77 \cdot 10^{-5}$	102.68 ± 1.12	$95.41 \pm 8.87 \cdot 10^{-2}$	30.13 ± 7.61	$9.41 \pm 5.51 \cdot 10^{-1}$	$- 0.23 \pm 2.07 \cdot 10^{-2}$	$- 0.27 \pm 1.48 \cdot 10^{-3}$	32.73 ± 7.61	$12.01 \pm 5.51 \cdot 10^{-1}$
		60	$7.40 \cdot 10^{-5} \pm 7.02 \cdot 10^{-9}$	$1.19 \cdot 10^{-3} \pm 9.93 \cdot 10^{-5}$	$108.33 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	$100.63 \pm 2.32 \cdot 10^{-1}$	29.96 ± 7.61	$9.24 \pm 5.51 \cdot 10^{-1}$	$-0.24 \pm 2.32 \cdot 10^{-2}$	$- 0.27 \pm 2.35 \cdot 10^{-3}$		
		80	$2.25 \cdot 10^{-4} \pm 9.28 \cdot 10^{-9}$	$1.71 \cdot 10^{-3} \pm 0.00$	$111.73 \pm 6.05 \cdot 10^{-2}$	105.78 ± 0.00	29.79 ± 7.61	$9.07 \pm 5.51 \cdot 10^{-1}$	$-0.23 \pm 2.14 \cdot 10^{-2}$	$- 0.27 \pm 1.56 \cdot 10^{-3}$		
		100	$3.78 \cdot 10^{-4} \pm 3.01 \cdot 10^{-8}$	$1.99 \cdot 10^{-3} \pm 1.37 \cdot 10^{-4}$	$116.63 \pm 1.24 \cdot 10^{-1}$	$111.47 \pm 2.14 \cdot 10^{-1}$	29.63 ± 7.61	$8.91 \pm 5.51 \cdot 10^{-1}$	$-0.23 \pm 2.07 \cdot 10^{-2}$	$- 0.27 \pm 2.05 \cdot 10^{-3}$		

	60	40	$1.46 \cdot 10^{-5} \pm 1.39 \cdot 10^{-8}$	$4.95 \cdot 10^{-4} \pm 2.34 \cdot 10^{-5}$	106.69 ± 1.51	$96.71 \pm 1.23 \cdot 10^{-1}$	51.16 ± 8.72	4.48 ± 1.05	$-0.18 \pm 2.30 \cdot 10^{-2}$	$-0.29 \pm 2.94 \cdot 10^{-3}$	53.77 ± 8.72	7.09 ± 1.05
		60	$7.24 \cdot 10^{-5} \pm 6.88 \cdot 10^{-8}$	$7.66 \cdot 10^{-4} \pm 1.32 \cdot 10^{-5}$	109.22 ± 1.60	$101.85 \pm 4.77 \cdot 10^{-2}$	51 ± 8.72	4.31 ± 1.05	$-0.17 \pm 2.14 \cdot 10^{-2}$	$-0.29 \pm 3.28 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.53 \cdot 10^{-4} \pm 4.58 \cdot 10^{-9}$	$9.82 \cdot 10^{-4} \pm 1.76 \cdot 10^{-6}$	$112.87 \pm 4.39 \cdot 10^{-2}$	$107.40 \pm 5.26 \cdot 10^{-3}$	50.83 ± 8.72	4.15 ± 1.05	$-0.18 \pm 2.46 \cdot 10^{-2}$	$-0.29 \pm 2.98 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.97 \cdot 10^{-4} \pm 2.52 \cdot 10^{-8}$	$1.53 \cdot 10^{-3} \pm 1.06 \cdot 10^{-4}$	$117.38 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	$112.29 \pm 2.16 \cdot 10^{-1}$	50.66 ± 8.72	3.98 ± 1.05	$-0.18 \pm 2.30 \cdot 10^{-2}$	$-0.29 \pm 3.38 \cdot 10^{-3}$	$57.05 \pm 9.13 \cdot 10^{-1}$	$13.18 \pm 8.72 \cdot 10^{-1}$
	90	40	$1.64 \cdot 10^{-5} \pm 1.05 \cdot 10^{-8}$	$3.71 \cdot 10^{-4} \pm 1.99 \cdot 10^{-5}$	$105.89 \pm 8.95 \cdot 10^{-1}$	$97.47 \pm 1.40 \cdot 10^{-1}$	$54.44 \pm 9.13 \cdot 10^{-1}$	$10.58 \pm 8.72 \cdot 10^{-1}$	$-0.16 \pm 5.68 \cdot 10^{-5}$	$-0.28 \pm 2.34 \cdot 10^{-3}$		
		60	$5.55 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$8.35 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	109.13 ± 0.00	101.61 ± 0.00	$54.27 \pm 9.13 \cdot 10^{-1}$	$10.41 \pm 8.72 \cdot 10^{-1}$	$-0.16 \pm 2.74 \cdot 10^{-3}$	$-0.27 \pm 2.62 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.05 \cdot 10^{-4} \pm 1.01 \cdot 10^{-9}$	$7.17 \cdot 10^{-4} \pm 2.28 \cdot 10^{-6}$	$113.97 \pm 1.41 \cdot 10^{-2}$	$108.33 \pm 9.33 \cdot 10^{-3}$	$54.11 \pm 9.13 \cdot 10^{-1}$	$10.24 \pm 8.72 \cdot 10^{-1}$	$-0.17 \pm 2.63 \cdot 10^{-3}$	$-0.28 \pm 2.50 \cdot 10^{-3}$		
		100	$5.36 \cdot 10^{-4} \pm 2.92 \cdot 10^{-7}$	$8.06 \cdot 10^{-4} \pm 4.20 \cdot 10^{-5}$	$115.79 \pm 8.92 \cdot 10^{-1}$	$114.27 \pm 1.62 \cdot 10^{-1}$	$53.94 \pm 9.13 \cdot 10^{-1}$	$10.08 \pm 8.72 \cdot 10^{-1}$	$-0.17 \pm 5.68 \cdot 10^{-5}$	$-0.28 \pm 2.77 \cdot 10^{-3}$		
CYN-CHL	30	40	$4.26 \cdot 10^{-5} \pm 2.63 \cdot 10^{-8}$	$8.24 \cdot 10^{-4} \pm 1.20 \cdot 10^{-5}$	$103.37 \pm 8.62 \cdot 10^{-1}$	$95.38 \pm 3.80 \cdot 10^{-2}$	16.44 ± 8.54	$2.37 \pm 6.03 \cdot 10^{-2}$	$-0.28 \pm 2.45 \cdot 10^{-2}$	$-0.30 \pm 7.10 \cdot 10^{-5}$	19.05 ± 8.54	$4.98 \pm 6.03 \cdot 10^{-2}$
		60	$4.59 \cdot 10^{-5} \pm 3.08 \cdot 10^{-8}$	$9.97 \cdot 10^{-4} \pm 5.68 \cdot 10^{-5}$	110 ± 1.01	$101.12 \pm 1.58 \cdot 10^{-2}$	16.27 ± 8.54	$2.20 \pm 6.03 \cdot 10^{-2}$	$-0.28 \pm 2.26 \cdot 10^{-2}$	$-0.30 \pm 2.28 \cdot 10^{-4}$		

				10^{-6}								
		80	$8.86 \cdot 10^{-5} \pm 1.32 \cdot 10^{-8}$	$1.12 \cdot 10^{-3} \pm 1.22 \cdot 10^{-5}$	$114.49 \pm 2.20 \cdot 10^{-1}$	$107.02 \pm 3.20 \cdot 10^{-2}$	16.11 ± 8.54	$2.04 \pm 6.03 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 2.48 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 8.02 \cdot 10^{-5}$		
		100	$1.29 \cdot 10^{-4} \pm 4.93 \cdot 10^{-8}$	$1.26 \cdot 10^{-3} \pm 1.05 \cdot 10^{-5}$	$120.07 \pm 6.08 \cdot 10^{-1}$	$112.89 \pm 2.59 \cdot 10^{-2}$	15.94 ± 8.54	$1.87 \pm 6.03 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 2.45 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 2.31 \cdot 10^{-4}$		
	60	40	$1.90 \cdot 10^{-5} \pm 1.73 \cdot 10^{-8}$	$4.73 \cdot 10^{-4} \pm 1.10 \cdot 10^{-5}$	105.90 ± 1.41	$96.83 \pm 6.06 \cdot 10^{-2}$	$33.37 \pm 1.10 \cdot 10$	$0.01 \pm 4.72 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 3.06 \cdot 10^{-2}$	- $0.31 \pm 1.31 \cdot 10^{-3}$	$35.98 \pm 1.10 \cdot 10$	$2.62 \pm 4.72 \cdot 10^{-1}$
		60	$8.11 \cdot 10^{-5} \pm 1.71 \cdot 10^{-8}$	$5.56 \cdot 10^{-4} \pm 3.24 \cdot 10^{-6}$	$108.10 \pm 2.95 \cdot 10^{-1}$	$102.74 \pm 1.62 \cdot 10^{-2}$	$33.21 \pm 1.10 \cdot 10$	- $0.16 \pm 4.72 \cdot 10^{-1}$	- $0.22 \pm 3.39 \cdot 10^{-2}$	- $0.31 \pm 1.46 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.10 \cdot 10^{-4} \pm 1.77 \cdot 10^{-8}$	$6.20 \cdot 10^{-4} \pm 8.62 \cdot 10^{-7}$	$113.85 \pm 2.37 \cdot 10^{-1}$	$108.75 \pm 4.09 \cdot 10^{-3}$	$33.04 \pm 1.10 \cdot 10$	- $0.32 \pm 4.72 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 3.18 \cdot 10^{-2}$	- $0.31 \pm 1.32 \cdot 10^{-3}$		
		100	$1.36 \cdot 10^{-4} \pm 3.71 \cdot 10^{-8}$	$6.74 \cdot 10^{-4} \pm 3.54 \cdot 10^{-6}$	$119.85 \pm 4.28 \cdot 10^{-1}$	$114.83 \pm 1.63 \cdot 10^{-2}$	$32.87 \pm 1.10 \cdot 10$	- $0.49 \pm 4.72 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 3.06 \cdot 10^{-2}$	- $0.31 \pm 1.22 \cdot 10^{-3}$		
	90	40	$6.65 \cdot 10^{-6} \pm 3.03 \cdot 10^{-9}$	$3.42 \cdot 10^{-4} \pm 5.08 \cdot 10^{-6}$	$108.08 \pm 6.16 \cdot 10^{-1}$	$97.68 \pm 3.87 \cdot 10^{-2}$	44.22 ± 3.33	$0.96 \pm 2.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.20 \pm 8.65 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 6.45 \cdot 10^{-4}$	46.82 ± 3.33	$3.56 \pm 2.41 \cdot 10^{-1}$
		60	$5.86 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$4.26 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	108.97 ± 0.00	103.48 ± 0.00	44.05 ± 3.33	$0.79 \pm 2.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.19 \pm 9.98 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 7.23 \cdot 10^{-4}$		
		80	$8.25 \cdot 10^{-5} \pm 9.13 \cdot 10^{-10}$	$4.59 \cdot 10^{-4} \pm 1.23 \cdot 10^{-6}$	$114.68 \pm 1.63 \cdot 10^{-2}$	$109.64 \pm 7.86 \cdot 10^{-3}$	43.88 ± 3.33	$0.62 \pm 2.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.20 \pm 9.37 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 7.04 \cdot 10^{-4}$		
		100	$1.13 \cdot 10^{-4} \pm 7.06 \cdot 10^{-8}$	$4.66 \cdot 10^{-4}$	$120.36 \pm 9.67 \cdot 10^{-2}$	$115.97 \pm 1.60 \cdot 10^{-2}$	43.72 ± 3.33	$0.46 \pm 2.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.21 \pm 8.65 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 6.88 \cdot 10^{-4}$		

			10^{-9}	${}^4_{\pm}2.40 \cdot 10^{-6}$					10^{-3}	10^{-4}		
--	--	--	-----------	--------------------------------	--	--	--	--	-----------	-----------	--	--

CHAC ile elde edilen ekstraktlardaki siyanidin-3-glikozitin ısıl bozunması için k değerleri 40 °C'de $1.39 \times 10^{-5} \pm 5.71 \times 10^{-6}$ - $4.39 \times 10^{-5} \pm 1.96 \times 10^{-6}$ s⁻¹; 60 °C'de $4.44 \times 10^{-5} \pm 0.00$ - $1.18 \times 10^{-4} \pm 2.13 \times 10^{-6}$; 80 °C'de $5.70 \times 10^{-5} \pm 7.42 \times 10^{-7}$ - $1.25 \times 10^{-4} \pm 7.42 \times 10^{-7}$ ve 100 °C'de $2.05 \times 10^{-4} \pm 3.68 \times 10^{-6}$ - $2.41 \times 10^{-4} \pm 0.00$ s⁻¹ olarak saptanmıştır (Tablo 4.14). CHAC'ın optimum noktada elde edilen sulu ekstraktındaki (ACW) siyanidin-3-glikozit için k değerleri 40 °C'de $1.71 \times 10^{-4} \pm 0.00$ - $4.13 \times 10^{-4} \pm 3.57 \times 10^{-6}$; 60 °C'de $1.80 \times 10^{-4} \pm 0.00$ - $4.69 \times 10^{-4} \pm 1.82 \times 10^{-5}$; 80 °C'de $3.10 \times 10^{-4} \pm 2.94 \times 10^{-5}$ - $5.16 \times 10^{-4} \pm 2.52 \times 10^{-7}$ s⁻¹ ve 100°C'de $4.53 \times 10^{-4} \pm 6.53 \times 10^{-5}$ - $8.67 \times 10^{-4} \pm 4.21 \times 10^{-5}$ s⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.14). Görüldüğü gibi, NADES'lerden elde edilen siyanidin-3-glikozitin k değerleri, sulu ekstraktlardan elde edilenlerden genel olarak daha düşüktür. Bu durum, NADES'lerle elde edilen siyanidin 3-glikozitin daha yüksek ısıl stabiliteye sahip olduğunu işaret etmektedir. Li vd. (2021), siyanidin-3-glikoziti 90 °C'de 0, 10, 30, 60, 120 dakika ısıtmaya tabi tutmuşlar ve pH 3'ten 4'e getirildiğinde, siyanidin-3-glikozitin bozunma hızının (k) 4.16×10^{-3} 'ten 5.68×10^{-3} 'e yükseldiğini ve pH 3'te daha kararlı olduğunu bildirmişlerdir. Zhou vd. (2017), dutun içerdiği siyanidin-3-glikozitin 60 ve 75 °C'de ısıl kinetik bozunmasını araştırmışlar, bunun için 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8 ve 10 saat boyunca sıcak hava ve vakumlu kurutucuda numuneleri bekletmişlerdir. Araştırmacılar, dut siyanidin-3-glikozitinin ısıl bozulması için k değerlerini 0.3849 ile 1.5055 saat⁻¹ arasında bulmuşlardır. Hou vd. (2013), siyah pirinçten (*Oryza sativa* L.) izole edilen siyanidin-3-glikozitin bozunma kinetiğini incelemişler ve k değerlerini (pH 1-6 arasında) 80 °C'de 6.00-18.00 dak⁻¹, 90 °C'de 13.00-127.00 dak⁻¹ ve 100 °C'de 102.00-186.00 dak⁻¹ olarak saptamışlar ve sıcaklığın 80'den 100 °C'ye, pH'ın da 1.0'dan 6.0'a yükselmesiyle antosiyaninlerin bozunmasının hızlandığını bildirmişlerdir. Bulgular, literatürde bulunan sonuçlarla uyumludur.

Tablo 4. 14. CHAC, ACW ve sulu çözeltileriyle ekstrakte edilen antosiyaninlerin termodinamik özellikleri

Bileşikler	Süre, dak	Sıcaklık, °C	k		$\Delta G, \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$		$\Delta H, \text{kJ}$		$\Delta S, \text{kJ}\cdot\text{mol}\cdot\text{K}^{-1}$		$E_a, \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$			
			CHAC	ACW	CHAC	ACW	CHAC	ACW	CHAC	ACW	CHAC	ACW		
CYN-3-GLU	30	40	$1.39 \cdot 10^{-5} \pm 5.71 \cdot 10^{-6}$	$4.13 \cdot 10^{-4} \pm 3.57 \cdot 10^{-6}$	106.13 ± 1.10	$97.18 \pm 2.25 \cdot 10^{-2}$	41.75 ± 7.15	$6.76 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	-	$0.21 \pm 1.93 \cdot 10^{-2}$	-	$0.29 \pm 3.49 \cdot 10^{-4}$	44.35 ± 7.15	$9.37 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$
		60	$1.18 \cdot 10^{-4} \pm 2.13 \cdot 10^{-6}$	$4.69 \cdot 10^{-4} \pm 1.82 \cdot 10^{-5}$	$107.03 \pm 5.00 \cdot 10^{-2}$	$103.21 \pm 1.08 \cdot 10^{-1}$	41.58 ± 7.15	$6.60 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	-	$0.20 \pm 2.16 \cdot 10^{-2}$	-	$0.29 \pm 7.19 \cdot 10^{-4}$		
		80	$1.19 \cdot 10^{-4} \pm 1.25 \cdot 10^{-5}$	$5.16 \cdot 10^{-4} \pm 2.52 \cdot 10^{-7}$	$113.61 \pm 3.10 \cdot 10^{-1}$	$109.30 \pm 1.44 \cdot 10^{-3}$	41.41 ± 7.15	$6.43 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	-	$0.20 \pm 1.94 \cdot 10^{-2}$	-	$0.29 \pm 3.69 \cdot 10^{-4}$		
		100	$2.05 \cdot 10^{-4} \pm 3.68 \cdot 10^{-6}$	$7.36 \cdot 10^{-4} \pm 3.75 \cdot 10^{-7}$	$118.52 \pm 5.56 \cdot 10^{-2}$	$114.55 \pm 1.58 \cdot 10^{-3}$	41.25 ± 7.15	$6.26 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	-	$0.21 \pm 1.93 \cdot 10^{-2}$	-	$0.29 \pm 3.49 \cdot 10^{-4}$		
	60	40	$4.39 \cdot 10^{-5} \pm 1.96 \cdot 10^{-6}$	$2.21 \cdot 10^{-4} \pm 9.81 \cdot 10^{-7}$	$103.03 \pm 1.16 \cdot 10^{-1}$	$98.81 \pm 1.16 \cdot 10^{-2}$	$25.00 \pm 7.23 \cdot 10^{-1}$	8.95 ± 2.42	-	$0.25 \pm 1.94 \cdot 10^{-3}$	-	$0.29 \pm 7.68 \cdot 10^{-3}$	$27.61 \pm 7.23 \cdot 10^{-1}$	11.55 ± 2.42
		60	$6.53 \cdot 10^{-5} \pm 1.74 \cdot 10^{-6}$	$2.43 \cdot 10^{-4} \pm 2.09 \cdot 10^{-5}$	$108.68 \pm 7.41 \cdot 10^{-2}$	$105.04 \pm 2.39 \cdot 10^{-1}$	$24.84 \pm 7.23 \cdot 10^{-1}$	8.78 ± 2.42	-	$0.25 \pm 1.95 \cdot 10^{-3}$	-	$0.29 \pm 7.97 \cdot 10^{-3}$		
		80	$7.19 \cdot 10^{-5} \pm 1.81 \cdot 10^{-6}$	$3.23 \cdot 10^{-4} \pm 8.74 \cdot 10^{-7}$	$115.09 \pm 7.42 \cdot 10^{-2}$	$110.67 \pm 7.96 \cdot 10^{-3}$	$24.67 \pm 7.23 \cdot 10^{-1}$	8.62 ± 2.42	-	$0.26 \pm 2.26 \cdot 10^{-3}$	-	$0.29 \pm 6.82 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.41 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	$4.53 \cdot 10^{-4} \pm 6.53 \cdot 10^{-5}$	118.02 ± 0.00	$116.07 \pm 4.49 \cdot 10^{-1}$	$24.51 \pm 7.23 \cdot 10^{-1}$	8.45 ± 2.42	-	$0.25 \pm 1.94 \cdot 10^{-3}$	-	$0.29 \pm 7.68 \cdot 10^{-3}$		
		90	40	$3.08 \cdot 10^{-5} \pm 3.30 \cdot 10^{-6}$	$1.71 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	$103.95 \pm 2.80 \cdot 10^{-1}$	99.48 ± 0.00	28.59 ± 1.84	$23.66 \pm 7.87 \cdot 10^{-1}$	-	$0.24 \pm 4.99 \cdot 10^{-3}$	-		
	60		$4.44 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$1.80 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	109.74 ± 0.00	105.87 ± 0.00	28.43 ± 1.84	$23.49 \pm 7.87 \cdot 10^{-1}$	-	$0.24 \pm 5.53 \cdot 10^{-3}$	-	$0.25 \pm 2.36 \cdot 10^{-3}$		
	80		$5.70 \cdot 10^{-5} \pm 7.42 \cdot 10^{-6}$	$3.10 \cdot 10^{-4} \pm 2.94 \cdot 10^{-5}$	$115.77 \pm 3.83 \cdot 10^{-2}$	$110.80 \pm 2.79 \cdot 10^{-1}$	28.26 ± 1.84	$23.33 \pm 7.87 \cdot 10^{-1}$	-	$0.25 \pm 5.33 \cdot 10^{-3}$	-	$0.25 \pm 1.44 \cdot 10^{-3}$		

			10^{-7}	10^{-5}					10^{-3}	10^{-3}		
		100	$2.11 \cdot 10^{-4} \pm 1.32 \cdot 10^{-6}$	$8.67 \cdot 10^{-4} \pm 4.21 \cdot 10^{-5}$	$118.44 \pm 1.95 \cdot 10^{-2}$	$114.05 \pm 1.51 \cdot 10^{-1}$	$28.09 \pm 1.84 \cdot 10^{-1}$	$23.16 \pm 7.87 \cdot 10^{-1}$	- $0.24 \pm 4.99 \cdot 10^{-3}$	- $0.24 \pm 2.51 \cdot 10^{-3}$		
CYN-3-RUT	30	40	$6.71 \cdot 10^{-5} \pm 2.48 \cdot 10^{-6}$	$6.18 \cdot 10^{-4} \pm 4.53 \cdot 10^{-6}$	$101.92 \pm 9.63 \cdot 10^{-2}$	$96.13 \pm 1.91 \cdot 10^{-2}$	$25.58 \pm 7.05 \cdot 10^{-1}$	$1.37 \pm 5.91 \cdot 10^{-1}$	- $0.24 \pm 1.95 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 1.83 \cdot 10^{-3}$	$28.19 \pm 7.05 \cdot 10^{-1}$	$3.97 \pm 5.91 \cdot 10^{-1}$
		60	$1.40 \cdot 10^{-4} \pm 5.50 \cdot 10^{-4}$	$6.67 \cdot 10^{-4} \pm 2.77 \cdot 10^{-5}$	$106.56 \pm 9.72 \cdot 10^{-2}$	$102.23 \pm 1.15 \cdot 10^{-1}$	$25.41 \pm 7.05 \cdot 10^{-1}$	$1.20 \pm 5.91 \cdot 10^{-1}$	- $0.24 \pm 2.41 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 1.43 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.86 \cdot 10^{-4} \pm 5.06 \cdot 10^{-4}$	$1.03 \cdot 10^{-3} \pm 5.43 \cdot 10^{-4}$	$112.32 \pm 4.62 \cdot 10^{-1}$	$107.47 \pm 1.62 \cdot 10^{-1}$	$25.25 \pm 7.05 \cdot 10^{-1}$	$1.04 \pm 5.91 \cdot 10^{-1}$	- $0.25 \pm 3.31 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 2.91 \cdot 10^{-3}$		
		100	$3.82 \cdot 10^{-4} \pm 3.55 \cdot 10^{-4}$	$7.90 \cdot 10^{-4} \pm 2.30 \cdot 10^{-5}$	$116.59 \pm 2.04 \cdot 10^{-2}$	$114.33 \pm 9.05 \cdot 10^{-2}$	$25.08 \pm 7.05 \cdot 10^{-1}$	$0.87 \pm 5.91 \cdot 10^{-1}$	- $0.25 \pm 1.95 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 1.83 \cdot 10^{-3}$		
	60	40	$5.60 \cdot 10^{-5} \pm 1.44 \cdot 10^{-5}$	$3.36 \cdot 10^{-4} \pm 1.18 \cdot 10^{-6}$	$102.43 \pm 6.77 \cdot 10^{-1}$	$97.72 \pm 9.19 \cdot 10^{-3}$	$30.12 \pm 4.21 \cdot 10^{-1}$	$3.33 \pm 5.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.13 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 1.70 \cdot 10^{-3}$	$32.72 \pm 4.21 \cdot 10^{-1}$	$5.93 \pm 5.41 \cdot 10^{-1}$
		60	$1.04 \cdot 10^{-4} \pm 4.87 \cdot 10^{-4}$	$3.59 \cdot 10^{-4} \pm 1.22 \cdot 10^{-5}$	$107.39 \pm 1.02 \cdot 10^{-1}$	$103.95 \pm 9.43 \cdot 10^{-2}$	$29.95 \pm 4.21 \cdot 10^{-1}$	$3.16 \pm 5.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.23 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 1.34 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.21 \cdot 10^{-4} \pm 4.57 \cdot 10^{-4}$	$4.65 \cdot 10^{-4} \pm 2.89 \cdot 10^{-5}$	$113.56 \pm 2.39 \cdot 10^{-2}$	$109.60 \pm 1.82 \cdot 10^{-1}$	$29.78 \pm 4.21 \cdot 10^{-1}$	$2.99 \pm 5.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.24 \pm 1.19 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 1.01 \cdot 10^{-3}$	$34.98 \pm 1.44 \cdot 10^{-1}$	$10.80 \pm 1.77 \cdot 10^{-3}$
		100	$4.15 \cdot 10^{-4} \pm 1.58 \cdot 10^{-4}$	$4.84 \cdot 10^{-4} \pm 1.44 \cdot 10^{-5}$	$116.33 \pm 0.00 \cdot 10^{-2}$	$115.85 \pm 9.27 \cdot 10^{-2}$	$29.62 \pm 4.21 \cdot 10^{-1}$	$2.83 \pm 5.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.13 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 1.70 \cdot 10^{-3}$		
	90	40	$3.94 \cdot 10^{-5} \pm 4.80 \cdot 10^{-6}$	$2.47 \cdot 10^{-4} \pm 1.39 \cdot 10^{-6}$	$103.32 \pm 3.18 \cdot 10^{-1}$	$98.52 \pm 1.47 \cdot 10^{-2}$	$32.38 \pm 1.44 \cdot 10^{-1}$	$8.20 \pm 1.77 \cdot 10^{-3}$	- $0.23 \pm 3.59 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 5.26 \cdot 10^{-5}$		
		60	$8.05 \cdot 10^{-5} \pm 4.58 \cdot 10^{-4}$	$4.21 \cdot 10^{-4} \pm 0.00 \cdot 10^{-6}$	$108.09 \pm 0.00 \cdot 10^{-1}$	$103.50 \pm 0.00 \cdot 10^{-1}$	$32.21 \pm 1.44 \cdot 10^{-1}$	$8.03 \pm 1.77 \cdot 10^{-3}$	- $0.23 \pm 4.33 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 5.30 \cdot 10^{-6}$		
		80	$1.11 \cdot 10^{-4} \pm 3.88 \cdot 10^{-4}$	$4.58 \cdot 10^{-4} \pm 2.19 \cdot 10^{-5}$	$113.80 \pm 9.65 \cdot 10^{-2}$	$109.65 \pm 1.40 \cdot 10^{-1}$	$32.04 \pm 1.44 \cdot 10^{-1}$	$7.87 \pm 1.77 \cdot 10^{-3}$	- $0.23 \pm 3.82 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 4.03 \cdot 10^{-4}$		

		100	$3.40 \cdot 10^{-4} \pm 1.13 \cdot 10^{-4}$	$4.81 \cdot 10^{-4} \pm 2.77 \cdot 10^{-6}$	$116.95 \pm 1.03 \cdot 10^{-1}$	$115.87 \pm 1.79 \cdot 10^{-2}$	31.88 ± 1.44	$7.70 \pm 1.77 \cdot 10^{-3}$	- $0.23 \pm 3.59 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 5.26 \cdot 10^{-5}$		
PLG-3- GLU	30	40	$4.21 \cdot 10^{-5} \pm 1.88 \cdot 10^{-5}$	$5.45 \cdot 10^{-4} \pm 9.60 \cdot 10^{-6}$	103.27 ± 1.20	$96.46 \pm 4.59 \cdot 10^{-2}$	31.76 ± 6.45	$9.34 \pm 4.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.68 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 1.55 \cdot 10^{-3}$	34.36 ± 6.45	$11.95 \pm 4.41 \cdot 10^{-1}$
		60	$2.16 \cdot 10^{-4} \pm 4.81 \cdot 10^{-4}$	$8.41 \cdot 10^{-4} \pm 7.76 \cdot 10^{-6}$	$105.43 \pm 8.56 \cdot 10^{-1}$	$101.59 \pm 2.56 \cdot 10^{-2}$	31.59 ± 6.45	$9.17 \pm 4.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.22 \pm 1.68 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 1.25 \cdot 10^{-3}$		
		80	$2.44 \cdot 10^{-4} \pm 4.56 \cdot 10^{-4}$	$1.14 \cdot 10^{-3} \pm 5.11 \cdot 10^{-5}$	$111.51 \pm 4.50 \cdot 10^{-1}$	$106.97 \pm 1.32 \cdot 10^{-1}$	31.42 ± 6.45	$9.01 \pm 4.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.95 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 1.62 \cdot 10^{-3}$		
		100	$3.33 \cdot 10^{-4} \pm 3.88 \cdot 10^{-4}$	$1.81 \cdot 10^{-3} \pm 2.79 \cdot 10^{-6}$	$117.02 \pm 1.99 \cdot 10^{-1}$	$111.76 \pm 4.80 \cdot 10^{-3}$	31.26 ± 6.45	$8.84 \pm 4.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.23 \pm 1.68 \cdot 10^{-2}$	- $0.28 \pm 1.19 \cdot 10^{-3}$		
	60	40	$9.38 \cdot 10^{-5} \pm 9.89 \cdot 10^{-6}$	$3.24 \cdot 10^{-4} \pm 2.74 \cdot 10^{-6}$	$101.05 \pm 2.75 \cdot 10^{-1}$	$97.82 \pm 2.21 \cdot 10^{-2}$	10.75 ± 3.87	6.12 ± 2.07	- $0.29 \pm 1.15 \cdot 10^{-2}$	- $0.29 \pm 6.55 \cdot 10^{-3}$	13.36 ± 3.87	8.72 ± 2.07
		60	$1.44 \cdot 10^{-4} \pm 4.23 \cdot 10^{-4}$	$5.56 \cdot 10^{-4} \pm 6.64 \cdot 10^{-5}$	$106.52 \pm 6.72 \cdot 10^{-1}$	$102.74 \pm 3.31 \cdot 10^{-1}$	10.59 ± 3.87	5.95 ± 2.07	- $0.29 \pm 9.59 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 7.22 \cdot 10^{-3}$		
		80	$1.60 \cdot 10^{-4} \pm 3.98 \cdot 10^{-4}$	$1.01 \cdot 10^{-3} \pm 1.79 \cdot 10^{-5}$	$112.74 \pm 3.01 \cdot 10^{-3}$	$107.31 \pm 5.19 \cdot 10^{-2}$	10.42 ± 3.87	5.78 ± 2.07	- $0.29 \pm 1.10 \cdot 10^{-2}$	- $0.29 \pm 5.73 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.14 \cdot 10^{-4} \pm 3.28 \cdot 10^{-4}$	$1.43 \cdot 10^{-3} \pm 2.57 \cdot 10^{-4}$	$118.40 \pm 4.13 \cdot 10^{-1}$	$112.52 \pm 5.61 \cdot 10^{-1}$	10.25 ± 3.87	5.62 ± 2.07	- $0.29 \pm 1.15 \cdot 10^{-2}$	- $0.29 \pm 7.06 \cdot 10^{-3}$		
90	40	$9.17 \cdot 10^{-5} \pm 1.44 \cdot 10^{-7}$	$2.93 \cdot 10^{-4} \pm 1.83 \cdot 10^{-5}$	$101.10 \pm 4.08 \cdot 10^{-3}$	$98.08 \pm 1.63 \cdot 10^{-1}$	17.64 ± 2.69	5.73 ± 1.01	- $0.27 \pm 8.58 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 2.72 \cdot 10^{-3}$	20.24 ± 2.69	8.33 ± 1.01	
	60	$1.23 \cdot 10^{-4} \pm 3.64 \cdot 10^{-4}$	$4.90 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	106.92 ± 0.00	103.09 ± 0.00	17.47 ± 2.69	5.56 ± 1.01	- $0.27 \pm 8.08 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 3.04 \cdot 10^{-3}$			
	80	$1.44 \cdot 10^{-4} \pm 3.26 \cdot 10^{-4}$	$7.02 \cdot 10^{-4} \pm 2.65 \cdot 10^{-5}$	$113.06 \pm 3.14 \cdot 10^{-1}$	$108.39 \pm 1.11 \cdot 10^{-1}$	17.30 ± 2.69	5.39 ± 1.01	- $0.27 \pm 8.51 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 3.18 \cdot 10^{-3}$			
	100	$3.22 \cdot 10^{-4} \pm 1.27 \cdot 10^{-4}$	$1.18 \cdot 10^{-3} \pm 1.73 \cdot 10^{-5}$	$117.14 \pm 5.11 \cdot 10^{-1}$	$113.09 \pm 4.56 \cdot 10^{-2}$	17.14 ± 2.69	5.23 ± 1.01	- $0.27 \pm 8.58 \cdot 10^{-3}$	- $0.29 \pm 2.84 \cdot 10^{-3}$			

			10^{-4}	10^{-5}					10^{-3}	10^{-3}			
CYN-CH	30	40	$6.34 \cdot 10^{-5} \pm 1.25 \cdot 10^{-5}$	$8.76 \cdot 10^{-4} \pm 3.38 \cdot 10^{-5}$	$102.09 \pm 5.19 \cdot 10^{-1}$	$95.22 \pm 1.01 \cdot 10^{-1}$	20.33 ± 3.48	$0.21 \pm 1.85 \cdot 10^{-1}$	- $0.26 \pm 9.47 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 2.69 \cdot 10^{-4}$	22.93 ± 3.48	$2.82 \pm 1.85 \cdot 10^{-1}$	
		60	$1.56 \cdot 10^{-4} \pm 5.58 \cdot 10^{-6}$	$9.28 \cdot 10^{-4} \pm 2.16 \cdot 10^{-5}$	$106.37 \pm 1.50 \cdot 10^{-1}$	$101.32 \pm 6.45 \cdot 10^{-2}$	20.16 ± 3.48	$0.05 \pm 1.85 \cdot 10^{-1}$	- $0.26 \pm 1.00 \cdot 10^{-2}$	- $0.30 \pm 3.61 \cdot 10^{-4}$			
		80	$2.13 \cdot 10^{-4} \pm 9.80 \cdot 10^{-7}$	$1.04 \cdot 10^{-3} \pm 2.83 \cdot 10^{-5}$	$111.90 \pm 2.21 \cdot 10^{-2}$	$107.23 \pm 7.99 \cdot 10^{-2}$	19.99 ± 3.48	-	$0.12 \pm 1.85 \cdot 10^{-1}$	- $0.26 \pm 9.81 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 2.97 \cdot 10^{-4}$		
		100	$2.56 \cdot 10^{-4} \pm 2.32 \cdot 10^{-6}$	$1.20 \cdot 10^{-3} \pm 1.29 \cdot 10^{-5}$	$117.80 \pm 4.92 \cdot 10^{-2}$	$113.05 \pm 3.34 \cdot 10^{-2}$	19.83 ± 3.48	-	$0.29 \pm 1.85 \cdot 10^{-1}$	- $0.26 \pm 9.47 \cdot 10^{-3}$	- $0.30 \pm 5.84 \cdot 10^{-4}$		
	60	40	$7.20 \cdot 10^{-5} \pm 6.48 \cdot 10^{-7}$	$4.71 \cdot 10^{-4} \pm 9.93 \cdot 10^{-6}$	$101.73 \pm 2.34 \cdot 10^{-2}$	$96.84 \pm 5.49 \cdot 10^{-2}$	15.69 ± 2.89	- $0.71 \pm 4.83 \cdot 10^{-1}$	- $0.27 \pm 9.17 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 1.72 \cdot 10^{-3}$	18.29 ± 2.89	$1.90 \pm 4.83 \cdot 10^{-1}$	
		60	$9.88 \cdot 10^{-5} \pm 1.27 \cdot 10^{-5}$	$5.30 \cdot 10^{-4} \pm 2.69 \cdot 10^{-5}$	$107.16 \pm 2.60 \cdot 10^{-1}$	$102.87 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	15.52 ± 2.89	- $0.88 \pm 4.83 \cdot 10^{-1}$	- $0.28 \pm 9.47 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 1.87 \cdot 10^{-3}$			
		80	$1.38 \cdot 10^{-4} \pm 4.46 \cdot 10^{-5}$	$5.75 \cdot 10^{-4} \pm 1.74 \cdot 10^{-5}$	$112.76 \pm 8.14 \cdot 10^{-1}$	$108.98 \pm 8.91 \cdot 10^{-2}$	15.35 ± 2.89	-	$1.04 \pm 4.83 \cdot 10^{-1}$	- $0.28 \pm 1.05 \cdot 10^{-2}$	- $0.31 \pm 1.62 \cdot 10^{-3}$		
		100	$2.08 \cdot 10^{-4} \pm 3.04 \cdot 10^{-5}$	$6.37 \cdot 10^{-4} \pm 2.89 \cdot 10^{-7}$	$118.26 \pm 5.27 \cdot 10^{-1}$	$115.00 \pm 1.41 \cdot 10^{-3}$	15.19 ± 2.89	-	$1.21 \pm 4.83 \cdot 10^{-1}$	- $0.28 \pm 9.17 \cdot 10^{-3}$	- $0.31 \pm 1.29 \cdot 10^{-3}$		
	90	40	$5.06 \cdot 10^{-5} \pm 4.02 \cdot 10^{-6}$	$3.51 \cdot 10^{-4} \pm 3.05 \cdot 10^{-6}$	$102.66 \pm 2.08 \cdot 10^{-1}$	$97.61 \pm 2.26 \cdot 10^{-2}$	$17.37 \pm 5.17 \cdot 10^{-1}$	- $1.43 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.27 \pm 9.89 \cdot 10^{-4}$	- $0.32 \pm 3.77 \cdot 10^{-4}$	$19.97 \pm 5.17 \cdot 10^{-1}$	$1.17 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	
		60	$7.85 \cdot 10^{-5} \pm 0.00$	$3.77 \cdot 10^{-4} \pm 0.00$	108.16 ± 0.00	103.81 ± 0.00	$17.20 \pm 5.17 \cdot 10^{-1}$	- $1.60 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.27 \pm 1.55 \cdot 10^{-3}$	- $0.32 \pm 4.23 \cdot 10^{-4}$			
		80	$1.06 \cdot 10^{-4} \pm 3.64 \cdot 10^{-5}$	$4.33 \cdot 10^{-4} \pm 1.94 \cdot 10^{-6}$	$113.84 \pm 6.53 \cdot 10^{-1}$	$109.81 \pm 1.31 \cdot 10^{-2}$	$17.04 \pm 5.17 \cdot 10^{-1}$	-	$1.76 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.27 \pm 3.31 \cdot 10^{-3}$	- $0.32 \pm 3.62 \cdot 10^{-4}$		
		100	$1.79 \cdot 10^{-4} \pm 8.76 \cdot 10^{-6}$	$4.70 \cdot 10^{-4} \pm 1.11 \cdot 10^{-6}$	$119.04 \pm 1.48 \cdot 10^{-1}$	$115.95 \pm 7.31 \cdot 10^{-3}$	$16.87 \pm 5.17 \cdot 10^{-1}$	-	$1.93 \pm 1.41 \cdot 10^{-1}$	- $0.27 \pm 9.89 \cdot 10^{-4}$	- $0.32 \pm 3.58 \cdot 10^{-4}$		

CHGLY ile elde edilen ekstraktlarda siyanidin-3-rutinozitin k değerleri 40 °C'de $3.06 \times 10^{-5} \pm 2.24 \times 10^{-4} - 4.96 \times 10^{-5} \pm 2.80 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $4.31 \times 10^{-5} \pm 6.45 \times 10^{-9} - 6.53 \times 10^{-5} \pm 4.83 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $6.97 \times 10^{-5} \pm 8.46 \times 10^{-10} - 1.20 \times 10^{-4} \pm 9.78 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $1.70 \times 10^{-4} \pm 2.77 \times 10^{-8} - 2.10 \times 10^{-4} \pm 2.61 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ olarak saptanmıştır. GLYW için siyanidin-3-rutinozitin k değerleri, 40 °C'de $2.91 \times 10^{-4} \pm 6.99 \times 10^{-6} - 7.42 \times 10^{-4} \pm 3.00 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $3.87 \times 10^{-4} \pm 0.00 - 9.61 \times 10^{-4} \pm 1.25 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $4.01 \times 10^{-4} \pm 1.72 \times 10^{-6} - 1.04 \times 10^{-3} \pm 1.10 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $4.73 \times 10^{-4} \pm 9.42 \times 10^{-8} - 1.20 \times 10^{-3} \pm 5.44 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. CHAC ile elde edilen ekstrakt için, siyanidin-3-rutinozitin ısıl bozunma katsayısı, 40 °C'de $3.94 \times 10^{-5} \pm 4.80 \cdot 10^{-6} - 6.71 \times 10^{-5} \pm 2.48 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $8.05 \times 10^{-5} \pm 4.58 \times 10^{-4} - 1.04 \times 10^{-4} \pm 4.87 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $1.11 \times 10^{-4} \pm 3.88 \times 10^{-4} - 1.86 \times 10^{-4} \pm 5.06 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $3.40 \times 10^{-4} \pm 1.13 \times 10^{-4} - 4.15 \times 10^{-4} \pm 1.58 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. ACW için siyanidin-3-rutinozitin k değerleri, 40 °C'de $3.36 \times 10^{-4} \pm 1.18 \times 10^{-6} - 6.18 \times 10^{-4} \pm 4.53 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, 60 °C'de $3.59 \times 10^{-4} \pm 1.22 \times 10^{-5} - 6.67 \times 10^{-4} \pm 2.77 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $4.58 \times 10^{-4} \pm 2.19 \times 10^{-5} - 9.13 \times 10^{-4} \pm 6.11 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $4.81 \times 10^{-4} \pm 2.77 \times 10^{-6} - 7.90 \times 10^{-4} \pm 2.30 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ şeklinde belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, NADES'lerle, siyanidin-3-rutinozitin için yakın k değerleri saptanmıştır. NADES'lerin, sulu ekstraktlarından daha düşük olması, NADES'lerin koruyucu etkisini göstermektedir. Zhou vd. (2017), 60 ve 75 °C'de 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8 ve 10 saat süreyle ısıtılan dut örneklerindeki siyanidin-3-rutinozitin için k değerlerini 0.2973-1.2528 saat⁻¹ arasında olduğunu bildirmişlerdir. Sui vd. (2015), antosiyanin açısından zengin siyah pirinç tozunu ekmeğe eklemişler ve pişirme sırasında siyanidin-3-glikozit ile siyanidin-3-rutinozitin ısıl stabilitesini araştırmışlardır. Bunun için, numuneleri 200, 220 ve 240 °C'de 0, 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 dakika boyunca tutmuşlardır. Siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozitin için 65 °C'de ekmeğin içi ve kabuktaki bozulma hızı sabitlerinin sırasıyla $2.49 \times 10^{-5} - 5.37 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ve $1.93 \times 10^{-5} - 5.72 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ olduğunu bildirmişlerdir. Hou vd. (2013) siyah pirinçten izole edilen siyanidin-3-rutinozitin k değerlerini pH 1-6'da 80 °C'de 4.00-10.40 dak⁻¹, 90 °C'de 7.00-140.00 dak⁻¹ ve 100 °C'de 157.00-172.00 dak⁻¹ olarak saptamışlardır. Bulgularımız literatürde bulunan sonuçlarla uyumludur.

CHGLY'den elde edilen pelargonidin-3-glikozidin k değerleri, 40 °C'de $1.46 \times 10^{-5} \pm 1.39 \times 10^{-8} - 5.96 \times 10^{-5} \pm 4.57 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$; 60 °C'de $5.55 \times 10^{-5} \pm 0.00 - 7.40 \times 10^{-5} \pm 7.02 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$; 80 °C'de $1.05 \times 10^{-4} \pm 1.01 \times 10^{-9} - 2.25 \times 10^{-4} \pm 9.28 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ ve 100 °C'de $2.97 \times 10^{-4} \pm 2.52 \times 10^{-8} - 4.39 \times 10^{-4} \pm 3.26 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. GLYW'den elde

edilen pelargonidin-3-glikozitin k değerleri 40 °C $3.71 \times 10^{-4} \pm 1.99 \times 10^{-5} - 8.15 \times 10^{-4} \pm 2.77 \times 10^{-5} s^{-1}$, 60 °C'de $6.32 \times 10^{-4} \pm 0.00 - 1.19 \times 10^{-3} \pm 9.93 \times 10^{-5} s^{-1}$; 80 °C'de $7.17 \times 10^{-4} \pm 2.28 \times 10^{-6} - 1.71 \times 10^{-3} \pm 0.00 s^{-1}$ ve 100 °C'de $8.57 \times 10^{-4} \pm 3.18 \times 10^{-6} - 1.90 \times 10^{-3} \pm 1.12 \times 10^{-5} s^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Pelargonidin-3-glikozitin k değerleri CHAC için 40 °C'de $4.19 \times 10^{-5} \pm 3.03 \times 10^{-6} - 9.37 \times 10^{-5} \pm 3.49 \times 10^{-7} s^{-1}$; 60 °C'de $1.10 \times 10^{-4} \pm 3.90 \times 10^{-4} - 2.14 \times 10^{-4} \pm 4.81 \times 10^{-4} s^{-1}$, 80 °C'de $1.44 \times 10^{-4} \pm 3.26 \times 10^{-4} - 2.44 \times 10^{-4} \pm 4.56 \times 10^{-4} s^{-1}$ ve 100 °C'de $2.14 \times 10^{-4} \pm 3.28 \times 10^{-4} - 3.33 \times 10^{-4} \pm 3.88 \times 10^{-4} s^{-1}$; ACW için aynı sıcaklıklarda sırasıyla $2.93 \times 10^{-4} \pm 1.83 \times 10^{-5} - 5.45 \times 10^{-4} \pm 9.60 \times 10^{-6} s^{-1}$, $4.90 \times 10^{-4} \pm 0.00 - 8.41 \times 10^{-4} \pm 7.76 \times 10^{-6} s^{-1}$, $7.02 \times 10^{-4} \pm 2.65 \times 10^{-5} - 1.01 \times 10^{-3} \pm 1.79 \times 10^{-5} s^{-1}$, $1.18 \times 10^{-3} \pm 1.73 \times 10^{-5} - 1.37 \times 10^{-3} \pm 8.23 \times 10^{-6} s^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, diğer pigmentlerde olduğu gibi pelargonidin-3-glikozitin de k değerleri NADES'lerde daha düşüktür. Loypimai vd. (2015), siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin ve pelargonidin için sırasıyla k değerlerini $0.43 \times 10^3 - 4.73 \times 10^3$, $0.77 \times 10^3 - 7.33 \times 10^3$, $0.85 \times 10^3 - 15.2 \times 10^3$ ve $0.73 \times 10^3 - 16.1 \times 10^3$ olarak bildirmişlerdir. Li vd. (2020), kırmızı turptan izole edilen pelargonidin-3-(p-coumaroyl) diglucoside-5-(malonyl)glucoside ve pelargonidin-3-(feruloyl)diglucoside-5-(malonyl)glucoside gibi pelargaonidin türevlerinin sıcak hava kurutma değerlerinin bozunma kinetiklerini incelemiştir. Pelargonidin-3-(p-coumaroyl)diglucoside-5-(malonyl)glucoside ve pelargonidin-3-(feruloyl)diglucoside-5-(malonyl)glucoside için k değerlerini sırasıyla 50°C'de 2.26×10^2 ve 1.25×10^2 , 60 °C'de 2.36×10^2 ve $2.37 \cdot 10^2$ ve 70 °C'de 2.56×10^2 ve 2.96×10^2 mol/L.dak olarak bildirmişlerdir.

Siyanidin klorürün k değerleri, CHGLY için 40 °C'de $6.64 \times 10^{-6} \pm 1.34 \times 10^{-9} - 4.23 \times 10^{-5} \pm 1.00 \times 10^{-9} s^{-1}$, 60 °C'de $4.59 \times 10^{-5} \pm 3.08 \times 10^{-8} - 8.01 \times 10^{-5} \pm 7.35 \times 10^{-10} s^{-1}$, 80 °C'de $8.25 \times 10^{-5} \pm 9.13 \times 10^{-10} - 1.10 \times 10^{-4} \pm 7.34 \times 10^{-10} s^{-1}$ ve 100 °C'de $1.13 \times 10^{-4} \pm 7.06 \times 10^{-9} - 1.28 \times 10^{-4} \pm 1.40 \times 10^{-9} s^{-1}$; aynı sıcaklıklarda sırasıyla GLYW için $3.42 \times 10^{-4} \pm 5.08 \times 10^{-6} - 8.24 \times 10^{-4} \pm 1.20 \times 10^{-5} s^{-1}$, $4.26 \times 10^{-4} \pm 0.00 - 9.97 \times 10^{-4} \pm 5.68 \times 10^{-6} s^{-1}$, $4.59 \times 10^{-4} \pm 1.23 \times 10^{-6} - 1.12 \times 10^{-3} \pm 1.22 \times 10^{-5} s^{-1}$ ve $4.85 \times 10^{-4} \pm 1.26 \times 10^{-7} - 1.26 \times 10^{-3} \pm 1.05 \times 10^{-5} s^{-1}$; CHAC için $5.06 \times 10^{-5} \pm 4.02 \times 10^{-6} - 6.67 \times 10^{-5} \pm 8.13 \times 10^{-6} s^{-1}$, $7.85 \times 10^{-5} \pm 0.00 - 1.56 \times 10^{-4} \pm 5.58 \times 10^{-6} s^{-1}$, $1.06 \times 10^{-4} \pm 9.90 \times 10^{-6} - 2.13 \times 10^{-4} \pm 9.80 \times 10^{-7} s^{-1}$ $1.79 \times 10^{-4} \pm 8.76 \times 10^{-6} - 2.56 \times 10^{-4} \pm 2.32 \times 10^{-6} s^{-1}$; ACW için $3.51 \times 10^{-4} \pm 3.05 \times 10^{-6} - 8.76 \times 10^{-4} \pm 3.38 \times 10^{-5} s^{-1}$, $3.77 \times 10^{-4} \pm 0.00 - 9.28 \times 10^{-4} \pm 2.16 \times 10^{-5} s^{-1}$, $4.33 \times 10^{-4} \pm 1.94 \times 10^{-6} - 1.04 \times 10^{-3} \pm 2.83 \times 10^{-5} s^{-1}$ ve $4.70 \times 10^{-4} \pm 1.11 \times 10^{-6} - 1.20 \times 10^{-3} \pm 1.29 \times 10^{-5} s^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. k değerleri karşılaştırıldığında, NADES'lerde sulu çözeltilerden daha

düşük k değerler olduğu görülmektedir. CHGLY, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin klorürü daha iyi korurken, CHAC pelargonidin-3-glikoziti daha iyi koruduğu da dikkat çekici bir başka sonuçtur.

4.8.2.2. Aktivasyon Enerjisi (Ea)

Siyanidin-3-glikozitin Ea değerleri CHGLY için 20.94 ± 2.65 ile $28.39 \pm 9.06 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $27.61 \pm 7.23 \times 10^{-1}$ ile 44.35 ± 7.15 kJ.mol⁻¹, GLYW için $11.89 \pm 5.59 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ ile $24.22 \pm 17.92 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $9.37 \pm 1.32 \times 10^{-1}$ ile $26.26 \pm 7.87 \times 10^{-1}$ KJ. mol⁻¹ arasında değişmiştir. Ea değerleri, siyanidin-3-glikozitin sulu çözeltilere göre NADES'te daha yüksek kararlılığa sahip olduğu görülmüştür. Cao vd. (2009a), kan portakalında antosiyaninlerin bozunma kinetiğini incelemiş ve siyanidin-3-glikozit ve siyanidin 3-(6''-malonil) glikozit için Ea değerlerini sırasıyla 74.60-75.40 ve 75.80-79.50 kJ.mol⁻¹ olarak bulmuşlardır. Liu vd. (2011), kan portakalından izole edilen antosiyaninlerin ısıl bozunma kinetiğini araştırmışlar, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-(6''-malonil)-glikozit ve siyanidin-3-glikozitten türetilen piranoantosiyaninler için Ea değerlerini sırasıyla 75.4, 79.5 ve 81.7 kJ.mol⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Hou vd. (2013), siyah pirinçten izole edilen antosiyaninlerin bozunma kinetiğini incelemişler, 80 ve 100 °C'den ısıtma sırasında siyanidin-3-glikozitin Ea değerlerinin 154.43 ve 30.97 kJ mol⁻¹ olduğunu bildirmişlerdir. Zorić vd. (2014), dondurularak kurutulan vişne pulpunu ısıtarak antosiyaninler, fenolik asitler ve flavonollerin bozunma kinetiğini incelemişlerdir. 80, 90, 100, 110 ve 120 °C'de ısıtma işleminden sonra siyanidin-3-glikozitin Ea'sının 55 ± 2 kJ/mol olduğunu bildirmişlerdir. Sui ve Zhou (2014), sulu sistemde siyanidin-3-glikozitin izotermal olmayan bozunmasını araştırmışlar ve Ea değerini 87 kJ/mol olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan Ea değerleri, literatürde bildirilenlerden daha düşüktür.

Siyanidin-3-rutinozitin Ea değerleri, CHGLY için 23.16 ± 4.09 ile $31.23 \pm 1.60 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $28.19 \pm 7.05 \times 10^{-1}$ ile $34.98 \pm 1.77 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹, GLYW için $3.77 \pm 6.95 \times 10^{-1}$ ile 5.48 ± 1.06 kJ.mol⁻¹ ve ACW için $3.97 \pm 5.91 \times 10^{-1}$ ile $10.80 \pm 1.77 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır. En yüksek Ea değerleri NADES'lerde bulunmuştur. Bu, siyanidin-3-rutinozitin NADES'lerde sulu çözeltilere göre daha yüksek stabiliteye sahip olduğunu göstermiştir. Verbeyst vd. (2011) ahududu antosiyaninlerinin bozunma kinetiğini incelemişler ve siyanidin-3-soforodin, siyanidin-3-glikorutinozit, siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozitin

ısıtılma bozunması için sırasıyla 75.30 ± 2.50 , 77.00 ± 2.20 , 66.90 ± 0.10 , 70.70 ± 2.00 ve 79.00 ± 2.20 kJ/mol Ea değerlerini belirlemişlerdir. Hou vd. (2013), siyah pirinci 80 °C ile 100 °C'de ısıtma işlemine tabi tutmuşlar ve siyanidin-3-glikozit, peonidin-3-glikozit, siyanidin-3,5-diglikozit ve siyanidin-3-rutinozitin Ea değerlerini sırasıyla 154.43 ile 30.97 kJ mol⁻¹, 158.76 ile 33.51 kJ mol⁻¹, 141.39 ile 46.92 kJ.mol⁻¹ ve 199.54 ile 23.99 kJ.mol⁻¹ olarak hesaplamışlardır. Zoric vd. (2014), 80 , 90 , 100 , 110 ve 120 °C'de ısıtma işlemi uygulandıktan sonra vişnede siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-glikosilrutinozid ve siyanidin-3-rutinozid için Ea'yı sırasıyla 55 ± 2 , 42 ± 2 ve 51 ± 2 kJ/mol olarak bildirmişlerdir. Sui ve Zhou (2014), siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozid için Ea'nın sırasıyla 87 ve 104 kJ/mol olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan Ea değerleri, bu önceki çalışmalarda bildirilenlerden daha düşüktür.

Pelargonidin-3-glikozidin Ea değerleri CHGLY için 32.73 ± 7.61 - 55.11 ± 5.63 kJ.mol⁻¹, CHAC için 13.33 ± 2.09 - $33.59 \pm 1.32 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, GLYW için 7.09 ± 1.05 - $12.01 \pm 5.51 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için 8.33 ± 1.01 - $11.95 \pm 4.41 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ olarak belirlenmiştir. Loypimai vd. (2015), siyah pirinç kepeği antosiyaninlerinin ısıtma sırasındaki Ea değerlerinin siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozid, delphinidin, siyanidin, pelargonidin için sırasıyla 31.60 , 37.87 , 39.45 , 37.94 , 43.60 ve 46.75 kJ mol⁻¹ olduğunu belirtmişlerdir. Li vd. (2020), kırmızı turpta pelargonidin-3-(p-coumaroyl)diglikozit-5-(malonyl)glikozit ve pelargonidin-3-(feruloyl)diglikozit-5-(malonil)glikozit için Ea değerlerini sırasıyla 5.73 ve 39.92 kJ.mol⁻¹ olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, siyanidin klorürün Ea değerleri CHGLY için $17.93 \pm 1.03 \times 10^{-1}$ 'den 46.12 ± 2.15 'e, CHAC için 18.08 ± 2.59 'dan 22.93 ± 3.48 kJ.mol⁻¹'a, GLYW için $2.83 \pm 1.71 \times 10^{-1}$ 'den $4.98 \pm 6.03 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹'a ve ACW için $1.17 \pm 1.41 \times 10^{-1}$ 'den $2.82 \pm 1.85 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹'e kadar değiştiği görülmüştür. Sulu çözeltilerle elde edilen düşük Ea değeri, bozunma reaksiyonunun bu çözeltilerde daha kolay olduğunun göstergesidir.

4.8.2.3. Gibbs Serbest Enerji Değişimi (ΔG), Entalpi Değişimi (ΔH) Ve Entropi Değişimi (ΔS)

Gibbs serbest enerji değişimi (ΔG), bir reaksiyonun kendiliğinden ortaya çıkışı hakkında bilgi vermektedir. Negatif bir değer, reaksiyonun kendiliğinden olduğunu,

pozitif bir deęer ise kendilięinden olmadıęını gösterir (Meziane ve Kadi, 2008). Entalpi deęiřimi (ΔH) ise reaksiyonun ekzotermik veya endotermik özellięi hakkında bilgi verir, negatif ΔH deęeri ekzotermik, pozitif ΔH deęeri ise endotermik reaksiyonu iřaret eder. Ekzotermik bir iřlem ısı yayar ve yakın çevrenin sıcaklıęının artıřına yol açar, endotermik bir iřlem ise ısıyı absorbe ederek evre ısının dūřmesine yol açar. Entropi deęiřimi (ΔS), reaksiyonun dūzensiz mi yoksa rastgele mi olduęu hakkında bilgi verir (Afroz Bakht vd., 2018). ΔS deęerlerinin sıfırdan būyūk olması, reaksiyonun geri dnūřsūmsūz olduęunu gösterir (Meziane ve Kadi, 2008).

Bu çalıřmada siyanidin-3-glikozitin ΔG deęerleri, CHGLY için $103.34 \pm 3.83 \times 10^{-1} - 119.68 \pm 5.12 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $103.03 \pm 1.16 \times 10^{-1} - 118.02 \pm 0.00$ kJ.mol⁻¹, GLYW için $96.83 \pm 1.67 \times 10^{-1} - 114.91 \pm 3.36 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $97.18 \pm 2.25 \times 10^{-2} - 116.07 \pm 4.49 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ arasında deęiřmiřtir. Siyanidin-3-glikozitin ΔG deęerlerine dayanarak, reaksiyonların spontan olmadıęı ve en yūksək deęerin NADES'lerde bulunduęu söylenilebilir. Zhou vd. (2017), antosiyanin bozunmasının kendilięinden olmayan bir reaksiyon olduęunu doęrulamıřtır. Siyanidin-3-glikozitin ΔH deęerleri, CHGLY için $17.84 \pm 2.65 - 25.79 \pm 9.06 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $24.51 \pm 7.23 \times 10^{-1} - 41.75 \pm 7.15$ kJ.mol⁻¹, GLYW için $8.79 \pm 5.59 \times 10^{-1} - 21.61 \pm 7.92 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $6.26 \pm 1.32 \times 10^{-1} - 23.66 \pm 7.87 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ olarak belirlenmiřtir. Grūldūęu gibi, en yūksək deęerler NADES'lerde bulunmuř ve reaksiyon endotermiktir. Bu sonuçlar, antosiyanin bozunmasının endotermik bir reaksiyon olduęuna dair önceki çalıřmaları desteklemektedir (Mercali vd., 2013; Silva vd., 2017; Zhou vd., 2017). Siyanidin-3-glikozitin ΔS deęerleri, CHGLY için $-0.25 \pm 1.99 \times 10^{-4}$ ile $-0.27 \pm 5.60 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹, CHAC için $-0.20 \pm 2.00 \times 10^{-2}$ ile $-0.25 \pm 1.94 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹, GLYW için $-0.25 \pm 2.38 \times 10^{-3}$ ile $-0.28 \pm 1.19 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹ ve ACW için $-0.25 \pm 2.36 \times 10^{-3}$ ile $-0.29 \pm 3.49 \times 10^{-4}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹ arasında deęiřmiřtir. Bu çalıřmada elde edilen negatif ΔS deęerleri, aktifleřmiř kompleksin yapısal serbestlięinin reaktandan daha dūřūk olduęunu göstermektedir. Zhou vd. (2017), vakum ve sıcak hava kurutma teknięiyle 60 ve 75 C'de kuruttukları dutlardaki siyanidin-3-glikozit için ΔG deęerini $82.70 \pm 0.10 - 85.60 \pm 0.10$ kJ.mol⁻¹, ΔH $42.20 \pm 4.30 - 60.10 \pm 2.30$ kJ mol⁻¹ ve ΔS deęerini -73.30 ± 6.70 ile -121.50 ± 12.50 kJ.mol⁻¹.K⁻¹ arasında hesaplamıřlardır.

Bu çalışmada siyanidin-3-rutinozitin ΔG değerleri CHGLY için $103.09 \pm 2.34 \times 10^{-1} - 119.13 \pm 2.54 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $101.92 \pm 9.63 \times 10^{-2} - 116.95 \pm$

1.03×10^{-1} kJ.mol⁻¹, GLYW için $95.66 \pm 1.05 \times 10^{-1}$ - $115.92 \pm 6.18 \times 10^{-4}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $96.13 \pm 1.91 \times 10^{-2}$ - $115.87 \pm 1.79 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹ olarak değişmiştir. ΔG° sonuçları, reaksiyonların kendiliğinden olmadığını ve en yüksek değerlerin NADES'lerde bulunduğunu göstermiştir. Siyanidin-3-rutinozitin ΔH değerleri, CHGLY için 20.05 ± 4.09 - $28.63 \pm 1.60 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $25.08 \pm 7.05 \times 10^{-1}$ - 32.38 ± 1.44 kJ.mol⁻¹, GLYW için $0.66 \pm 6.95 \times 10^{-1}$ - 2.88 ± 1.06 kJ.mol⁻¹ ve $0.87 \pm 5.91 \times 10^{-1}$ - $8.20 \pm 1.77 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹ olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, siyanidin-3-rutinozitin bozunma reaksiyonunun endotermik olduğunu ve NADES'lerde bulunan en yüksek değerlere sahip olduğunu göstermektedir.

Siyanidin-3-rutinozitin ΔS değerleri CHGLY için $-0.24 \pm 4.80 \times 10^{-4}$ ile $-0.27 \pm 1.03 \times 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹, CHAC için $-0.23 \pm 3.59 \times 10^{-3}$ ile $-0.25 \pm 1.95 \times 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹, GLYW için $-0.30 \pm 2.84 \times 10^{-3}$ ile $-0.31 \pm 1.04 \cdot 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $-0.29 \pm 4.03 \cdot 10^{-4}$ to $-0.30 \pm 1.01 \cdot 10^{-3}$ kJ.mol⁻¹.K⁻¹ arasında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen negatif ΔS° değerleri, bozunma reaksiyonunun geri dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Cisse vd. (2009), çeşitli hammaddelerin antosiyaninlerinin ısıl bozunması için ΔH° değerlerini 34.24 ile 63.11 kJ.mol⁻¹ ve ΔS° değerlerini -149 ile -233 kJ.mol⁻¹.K⁻¹ arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Zhou vd. (2017), 2 farklı hava kurutma tekniğinde 2 farklı sıcaklıkta kuruttukları dutlardaki siyanidin-3-rutinozitin için ΔG değerini 83.40 ± 0.10 - 86.00 ± 0.10 kJ.mol⁻¹, ΔH 47.50 ± 4.70 - 68.80 ± 1.70 kJ mol⁻¹ ve ΔS değerini -49.40 ± 5.10 ile -107.80 ± 13.80 kJ.mol⁻¹.K⁻¹ arasında hesaplamışlardır.

Pelargonidin-3-glikozitin ΔG değerleri CHGLY için 102.68 ± 1.12 - $117.38 \pm 1.32 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, CHAC için $101.05 \pm 9.72 \times 10^{-3}$ - $118.40 \pm 4.13 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, GLYW için $95.41 \pm 8.87 \cdot 10^{-2}$ - $114.08 \pm 1.15 \cdot 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için $96.46 \pm 4.59 \cdot 10^{-2}$ - $113.09 \pm 4.56 \cdot 10^{-2}$ kJ.mol⁻¹ olarak belirlenmiştir. ΔG° sonuçları, reaksiyonların kendiliğinden olmadığını ve en yüksek değerlerin NADES'lerde bulunduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, Li vd. (2020), kırmızı turptaki pelargonidin-3-(*p*-kumaroil)diglikozit-5-(malonil)glikozit ve pelargonidin-3-(feruloil)diglikozit-5-(malonil)glikozit için ΔG değerlerini sırasıyla 89.54 - 94.90 kJ.mol⁻¹ ve 91.13 - 94.48 kJ.mol⁻¹ olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada pelargonidin-3-glikozitin ΔH değerleri CHGLY için 29.63 ± 7.61 - 52.51 ± 5.63 kJ.mol⁻¹, CHAC için 10.22 ± 2.09 - $30.99 \pm 1.32 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹, GLYW için 3.98 ± 1.05 - $9.41 \pm 5.51 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹ ve ACW için 5.23 ± 1.01 - $9.34 \pm 4.41 \times 10^{-1}$ kJ.mol⁻¹

olarak saptanmıştır. Pelargonidin-3-glikozit için bulunan pozitif sonuçlar, bozunma reaksiyonunun endotermik olduğunu ve NADES'lerin en yüksek değerlere sahip olduğunu göstermiştir. Li vd. (2020), kırmızı turptaki pelargonidin-3-(*p*-kumaroil)diglikozit-5-(malonil)glikozit ve pelargonidin-3-(feruloil)diglikozit-5-(malonil)glikozit için ΔH değerlerini sırasıyla $2.87-3.04 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $37.07-37.23 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir. Pelargonidin-3-glikozitin ΔS değerlerinin CHGLY için $-0.17 \pm 1.51 \times 10^{-2}$ ile $-0.24 \pm 2.32 \times 10^{-2} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, CHAC için $-0.22 \pm 3.55 \times 10^{-4}$ ile $-0.29 \pm 5.70 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, GLYW için $-0.27 \pm 1.48 \times 10^{-3}$ ile $-0.29 \pm 2.31 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ve ACW için $-0.28 \pm 1.19 \times 10^{-3}$ ile $-0.29 \pm 2.72 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. NADES'lerin ΔS değerleri, sulu çözeltilere yakın ve CHAC'dan CHGLY'nin değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Li vd. (2020), kırmızı turptaki pelargonidin-3-(*p*-kumaroil)diglikozit-5-(malonil)glikozit ve pelargonidin-3-(feruloil)diglikozit-5-(malonil)glikozit için ΔS° değerlerini sırasıyla -0.27 ve -0.16 veya $-0.17 \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir.

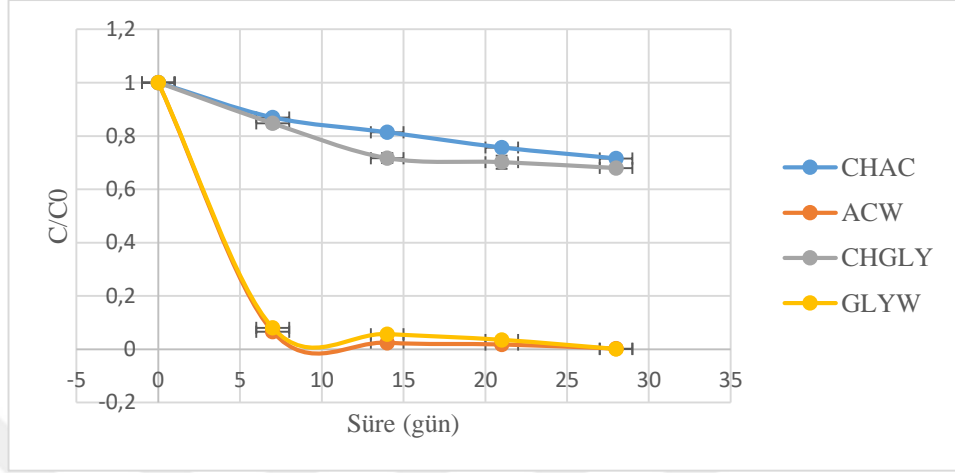
Siyanidin klorürün ΔG değerleri CHGLY için $103.12 \pm 3.09 \times 10^{-2}$ - $120.36 \pm 9.67 \times 10^{-2} \text{ kJ.mol}^{-1}$, CHAC için $101.94 \pm 3.18 \times 10^{-1}$ - $119.04 \pm 1.48 \times 10^{-1} \text{ kJ.mol}^{-1}$, GLYW için $95.38 \pm 3.80 \times 10^{-2}$ - $115.85 \pm 8.08 \times 10^{-4} \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ACW için $95.22 \pm 1.01 \times 10^{-1}$ - $115.95 \pm 7.31 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, reaksiyonların kendiliğinden olmadığını ve NADES'lerdeki değerlerin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, kurutma sırasında antosiyaninlerin bozunmasıyla ilgili önceki çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Qiu vd., 2018; Zhou vd., 2017; Li vd., 2020). Siyanidin klorür için ΔH° değerleri CHGLY için $14.99 \pm 1.03 \times 10^{-1}$ - $43.52 \pm 2.15 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve CHAC için 14.97 ± 2.59 - $20.33 \pm 3.48 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve GLYW için $2.63 \pm 2.92 \cdot 10^{-1}$ - $4.34 \pm 2.35 \times 10^{-1} \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. NADES'lerde hesaplanan pozitif sonuçlar, bozunma reaksiyonunun endotermik olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, ACW'de elde edilen ΔH 'nin negatif değerleri ($-0.16 \pm 3.36 \times 10^{-1}$ ile $-1.93 \pm 1.41 \times 10^{-1} \text{ kJ.mol}^{-1}$), bozunma reaksiyonunun ekzotermik olduğunu düşündürmektedir. Bu fark, muhtemelen ACW ekstraktının GLYW'ye göre daha fazla su içermesinden kaynaklanmış olabilir. Muhtemelen bu ısı iletimini hızlandırarak siyanidin klorürün hızlı bir şekilde bozulmasına neden olmuştur. Bu çalışmada, siyanidin klorürün ΔS değerlerinin, CHGLY için $0.20 \pm 6.14 \times 10^{-3}$ ile $-0.28 \pm 2.32 \times 10^{-4} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, CHAC için $-0.26 \pm 9.81 \times 10^{-3}$ ile $-0.28 \pm 7.25 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, GLYW için $-0.29 \pm 7.53 \times 10^{-4}$ ile $-0.30 \pm 6.49 \times 10^{-5} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ve ACW

için $-0.30 \pm 1.13 \times 10^{-3}$ ile $-0.32 \pm 3.58 \times 10^{-4}$ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Yüksek entropi değeri, moleküller arasındaki mesafenin fazla olduğunu ve termodinamik denge için gerekli geniş mesafeyi ifade eder (Georgieva vd., 2012).

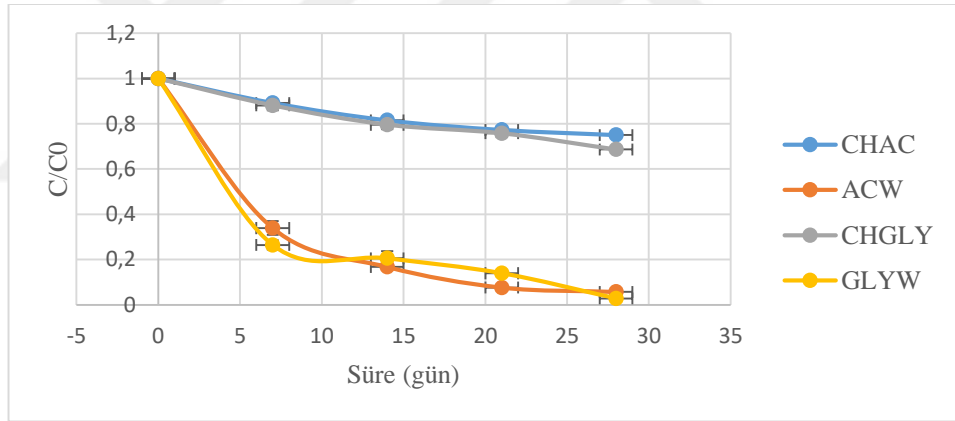
4.9. Depolama Stabilitesi

Böğürtlen antosiyaninlerinin depolama stabilitesini belirlemek için oda sıcaklığında ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) karanlıkta 28 gün boyunca çözeltiler bekletilmiştir. Depolama süresince, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün stabilitesi çözücülere göre farklılık göstermiştir (Şekil 4.20-4.23 ve Tablo 4.15). Şekillerden görüldüğü gibi, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün bozunması, karanlıkta CHAC ve CHGLY'de çok yavaş, sulu ekstraktlarında ise çok hızlı olmuştur. Sonuçlar, antosiyaninlerin depolanma sırasında NADES'lerde daha kararlı olduğunu ve korunduğunu göstermektedir ki bu durum, güçlü hidrojen bağı nedeniyle NADES'lerde biyoaktif bileşiklerin daha kararlı olduğunu gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (Dai vd., 2014, 2016; Zannou ve Koca, 2020; Zannou vd., 2020; Fu vd., 2021). Depolama süresince CHAC, CHGLY, ACW ve GLYW çözeltilerinde sırasıyla siyanidin-3-glikozit $\%71.57 \pm 0.64$, $\%67.97 \pm 0.21$, $\%0.22 \pm 0.00$ ve $\%0.07 \pm 0.00$ 'a; siyanidin-3-rutinozit $\%75.00 \pm 0.26$, $\%68.62 \pm 1.25$, $\%5.70 \pm 0.06$ ve $\%2.82 \pm 0.15$ 'e; pelargonidin-3-glikozit $\%33.42 \pm 0.41$, $\%25.55 \pm 0.89$, $\%0.63 \pm 0.00$ ve $\%1.10 \pm 0.09$ 'a; siyanidin klorür $\%71.45 \pm 0.21$, $\%67.18 \pm 0.48$, $\%6.39 \pm 0.38$ ve $\%5.82 \pm 0.48$ 'e düşmüştür. Görüldüğü gibi, siyanidin-3-rutinozit en yüksek stabiliteye sahipken bunu sırasıyla siyanidin-3-glikozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozit izlemiştir. Ayrıca, NADES'lerle ekstrakte edilenler su içeren tanık gruplara göre k değerleri siyanidin-3-glikozitte yaklaşık 18 kat, pelargonidin-3-glikozitte ise 3-4 kat daha düşük olduğu görülmüştür. Benzer olarak, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin klorürün k değerleri NADES'lerde, sulu tanıklara göre 10 kat daha az bulunmuştur. CHAC, CHGLY, ACW ve GLYW' çözeltilerinde yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) değerleri sırasıyla siyanidin-3-glikozit için 1392.82 ± 37.44 , 1206.63 ± 9.77 , 75.98 ± 0.18 ve 64.58 ± 0.02 saat; siyanidin-3-rutinozit için 1619.40 ± 39.54 , 1238.27 ± 60.03 , 162.57 ± 0.64 ve 130.57 ± 1.98 saat; pelargonidin-3-glikozit için 425.03 ± 5.13 , 91.90 ± 0.07 , 341.44 ± 8.74 ve 103.33 ± 1.71 saat iken siyanidin klorür için 1385.96 ± 15.53 , 1170.90 ± 20.97 , 169.29 ± 3.69 ve 163.79 ± 4.77 saat olarak tespit edilmiştir. Torres vd. (2011), kan portakal suyunda $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 10 gün depolama

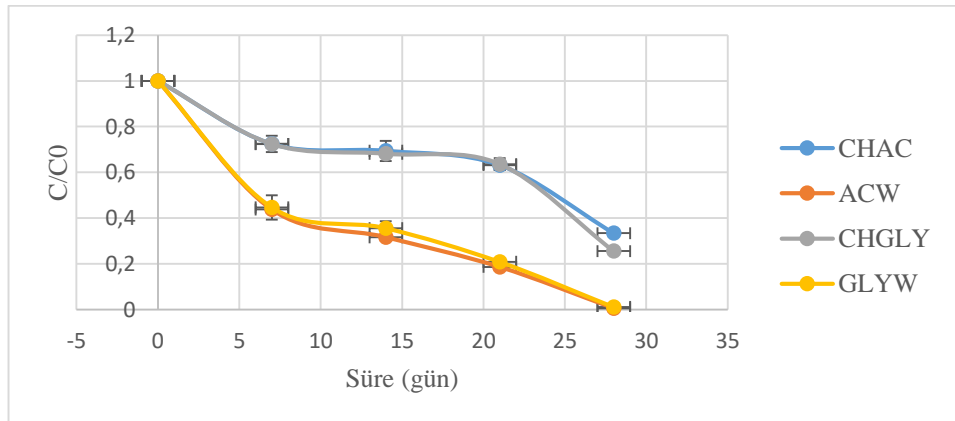
sonunda siyanidin-3-glikozitin kalma oranını ve k değerini sırasıyla %37.00-69.70 ve $4.89 \times 10^{-2} \text{ gün}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Tiwari vd. (2009), çilek suyunun 20 °C'de 10 gün depolanması sonunda pelargonidin-3-glikozitin %77.10-83.26'ya düştüğünü bildirmişlerdir. Bulgularımız, önceki çalışmaların sonuçlarıyla uyum içindedir.



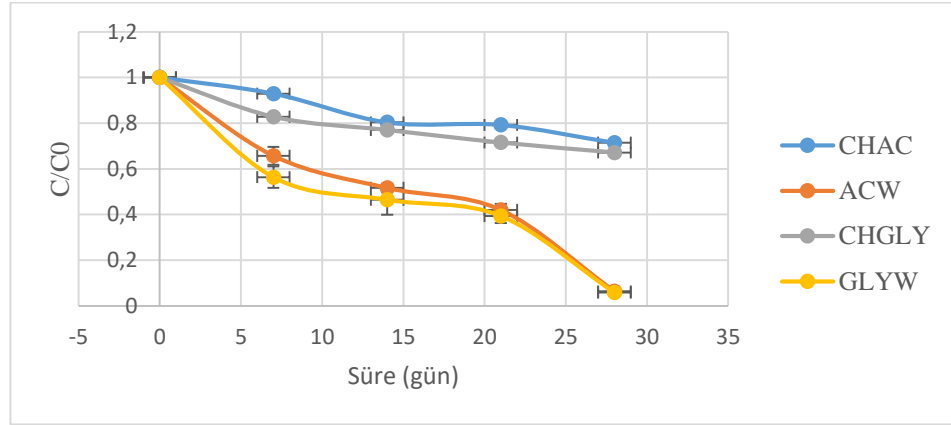
Şekil 4. 20. Depolama süresince CYN-3-GLU konsantrasyonundaki değişim



Şekil 4. 21. Depolama süresince CYN-3-RUT konsantrasyonundaki değişim



Şekil 4. 22. Depolama süresince PLG-3-GLU konsantrasyonundaki değişim



Şekil 4. 23. Depolama süresince CYN-CHL konsantrasyonundaki değişim

Tablo 4. 15. Farklı çözücülerde bireysel antosiyaninlerin depolama hız sabiti ve yarılanma süresi

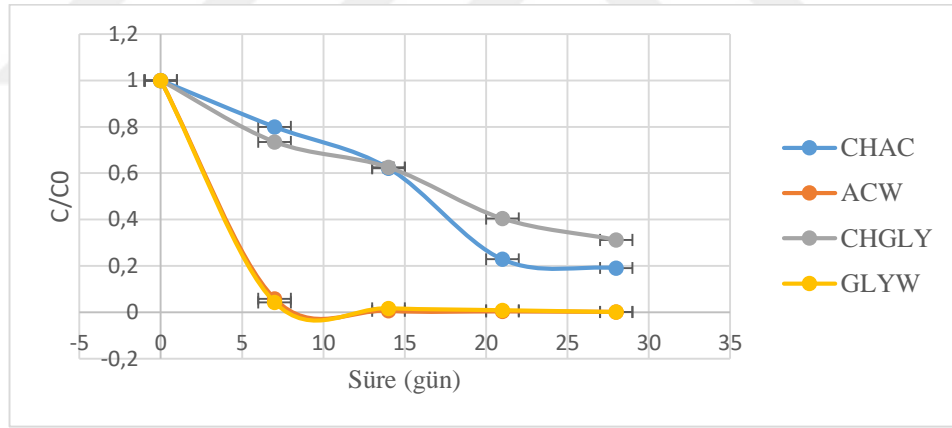
Antosiyaninler	K ve $t_{1/2}$	Çözücüler			
		CHAC	ACW	CHGLY	GLYW
CYN-3-GLU	$k \cdot 10^{-3}$ (saat ⁻¹)	$0.50 \pm 1.34 \cdot 10^{-5}$	$9.12 \pm 2.15 \cdot 10^{-5}$	$0.57 \pm 4.65 \cdot 10^{-6}$	$10.73 \pm 3.10 \cdot 10^{-6}$
	$t_{1/2}$ (saat)	1392.82 ± 37.44	75.98 ± 0.18	1206.63 ± 9.77	64.58 ± 0.02
CYN-3-RUT	$k \cdot 10^{-3}$ (saat ⁻¹)	$0.43 \pm 1.05 \cdot 10^{-5}$	$4.26 \pm 1.67 \cdot 10^{-5}$	$0.56 \pm 2.72 \cdot 10^{-5}$	$5.31 \pm 8.03 \cdot 10^{-5}$
	$t_{1/2}$ (saat)	1619.40 ± 39.54	162.57 ± 0.64	1238.27 ± 60.03	130.57 ± 1.98
PLG-3-GLU	$k \cdot 10^{-3}$ (saat ⁻¹)	$1.63 \pm 1.97 \cdot 10^{-5}$	$7.54 \pm 6.01 \cdot 10^{-6}$	$2.03 \pm 5.20 \cdot 10^{-5}$	$6.71 \pm 1.24 \cdot 10^{-4}$
	$t_{1/2}$ (saat)	425.03 ± 5.13	91.90 ± 0.07	341.44 ± 8.74	103.33 ± 1.91
CYN CHL	$k \cdot 10^{-3}$ (saat ⁻¹)	$0.50 \pm 5.60 \cdot 10^{-6}$	$4.10 \pm 8.92 \cdot 10^{-5}$	$0.59 \pm 1.06 \cdot 10^{-5}$	$4.23 \pm 1.23 \cdot 10^{-4}$
	$t_{1/2}$ (saat)	1385.96 ± 15.53	169.29 ± 3.69	1170.90 ± 20.97	163.79 ± 4.77

*Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan fark yoktur ($p > 0.05$).

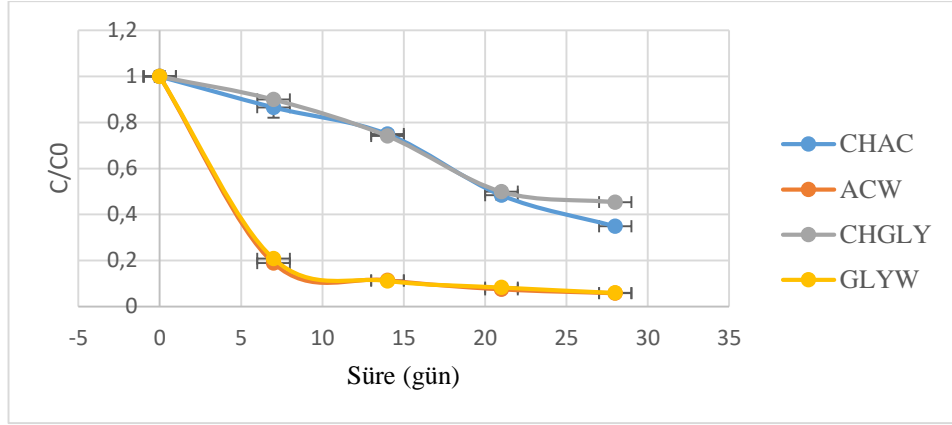
4.10. Antosiyaninlerin Işık Stabilitesi

Böğürtlen antosiyaninlerinin ışık stabilitesini belirlemek için, ekstraktlar oda sıcaklığında 28 gün boyunca bir lamba altında kesintisiz şekilde depolanmıştır. Işığın siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün stabilitesi üzerindeki etkisi çözücülere göre farklılık göstermiştir (Şekil 4.24-4.27). Bozunma eğrilerinden görülebileceği gibi, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün bozunması CHAC ve CHGLY'de depolamanın ilk günlerinde yavaş seyrederken, suyla ekstrakte edilenlerde (kontrol grubu) ise çok hızlı azalış kaydedilmiştir. Diğer ifadeyle, NADES'le ekstrakte edilen antosiyaninler üzerine ışığın etkisi kontrol grubuna nazaran çok düşüktür. Depolamanın ilk haftasında siyanidin-3-glikozit CHAC, CHGLY ACW ve GLYW'de sırasıyla %79.94±0.57, %73.50±0.31, 5.83±0.08 ve 4.24±0.02'ye düşmüştür. Askar vd. (2015), bozunma hızında pH'nın etkili olduğunu asidik ortamda daha yavaş bozunduğunu bildirmişlerdir. Muhtemelen bu çalışmada da NADES'lerin pH'sı etkili olmuştur. Çünkü CHAC'ın pH'sı diğerlerinden daha düşüktür. 28 günlük depolama sonunda, siyanidin-3-glikozit CHAC, CHGLY ve ACW'de sırasıyla %19.09±0.10, %31.22±0.00, %0.15±0.00 ve %0.08±0.00'e kadar düşmüştür. Siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür sırasıyla CHAC'de %34.89±2.28, 13.28±0.25 ve 30.97±1.10'a; CHGLY'de %45.38±0.30, 19.34±2.19 ve %39.64±0.12'ye; ACW'de %5.74±0.07, 0.29±0.03 ve 6.57±0.39'a; GLYW'de %5.89±0.38, 0.50±0.03 ve 6.50±0.53'e düşmüştür. Siyanidin-3-glikozitin bozunma hızı sabiti (k), NADES'lerde sulu çözeltilere göre 4 kat daha az iken, siyanidin-3-rutinozitin k değeri NADES'lerde sulu ekstraktlara göre 2 kat daha düşüktür (Tablo 4.16). Ayrıca pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün k değerleri NADES'lerde suya göre 2 kat daha düşüktür (Tablo 4.16). CHAC, CHGLY, ACW ve GLYW için yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) değerleri sırasıyla siyanidin 3-glikozit için 281.32±0.65, 400.16±1.04, 71.95±0.08 ve 65.79±0.02 saat; siyanidin-3-rutinozit için 442.53±23.03, 589.49±4.97, 162.99±0.71 ve 164.45±3.72 saat; pelargonidin-3-glikozit için 230.70±0.76, 283.59±19.58, 79.48±1.32 ve 87.97±0.86 saat; siyanidin klorür için 397.53±14.29, 503.45±1.64, 171.02±3.74 ve 170.42±5.07 saat olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün NADES'lerde daha stabil olduğunu ve korunduğunu göstermektedir. NADES'lerin antosiyaninler için daha yüksek stabilizasyon

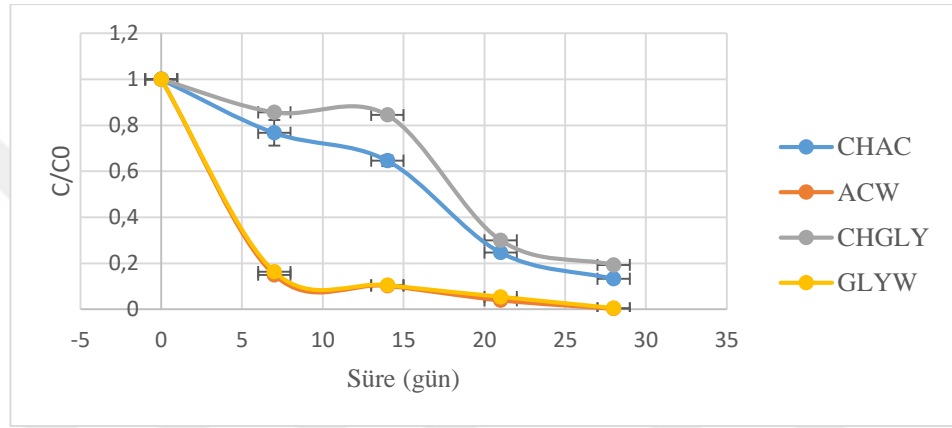
kabiliyeti, bunlarla CHAC ve CHGLY bileşenleri arasındaki interaksiyonla ilişkilendirilebilir. CHAC veya CHGLY'nin bileşenleri, hidrojen bağı ile siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün karboksil ve hidroksil grupları arasında; prolin-malik asit, laktik asit-glikoz, glikoz-kolin klorür, sakaroz-kolin klorür ve ksilitol-kolin klorürde karthamin (Dai vd., 2013a), laktik asit-glikozda siyanidin (Dai vd., 2016) ve ksilitol-kolin klorürde kersetin (Dai vd., 2013b) için bildirildiği gibi güçlü moleküler arası etkileşimlerin oluşumundan kaynaklanmış olabilir. NADES'lerin daha koruyucu olduğu gözlemlense de, antosiyaninler ışıktan önemli derecede etkilemiştir. Kolin klorür-okzalik asit içeren yabanmersini posası antosiyaninleri için Fu vd. (2021) ve sulu *Rosella* antosiyaninleri için Askar vd. (2015) tarafından da benzer sonuçlar bulunmuştur. Antosiyaninlerin ışıkta bozunması, güçlü ışığa maruz kalan bu pigmentlerin birinci dereceden bozunmalara maruz kalması ve ardından da bir dizi oluşan serbest radikal reaksiyonuyla ilişkilendirilebilir (Ochoa vd., 2001; Askar vd., 2015).



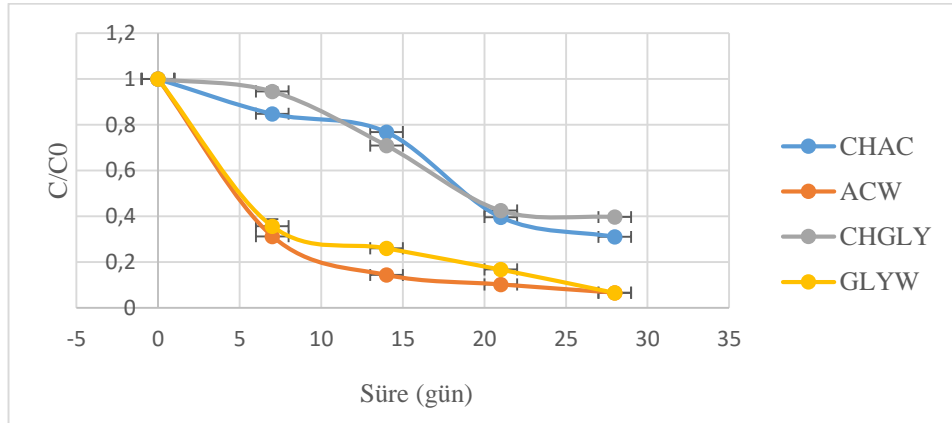
Şekil 4. 24.Farklı solventlerle elde edilen CYN-3-GLU'in ışık stabilite grafiği



Şekil 4. 25. Farklı solventlerle elde edilen CYN-3-RUT'in ışık stabilite grafiği



Şekil 4. 26. Farklı solventlerle elde edilen PLG-3-GLU'in ışık stabilite grafiği



Şekil 4. 27. Farklı solventlerle elde edilen CYN-CHL'in ışık stabilite grafiği

Tablo 4. 16. NADES'lerle ekstrakte edilen antosiyaninlerin ışık stabilitesine ait hız sabitleri ile yarılanma ömürleri

Solventler	CYN-3-GLU		CYN-3-RUT		PLG-3-GLU		CYN-CHL	
	$k \cdot 10^{-3}$	$t_{1/2}$	$k \cdot 10^{-3}$	$t_{1/2}$	$k \cdot 10^{-3}$	$t_{1/2}$	$k \cdot 10^{-3}$	$t_{1/2}$
CHAC	2.46 ± 5.7	$281.32 \pm$	1.57 ± 8.1	442.53 ± 2	3.00 ± 9.9	230.70 ± 0	1.74 ± 6.2	397.53 ± 1
ACW	$4 \cdot 10^{-6c}$	0.65b	$6 \cdot 10^{-5b}$	3.03b	$1 \cdot 10^{-6b}$.76a	$7 \cdot 10^{-5b}$	4.29b

ACW	9.63±1.0 7·10 ^{-5b}	71.95±0 .08c	4.25±1.8 5·10 ^{-5a}	162.99±0 .71c	8.72±1.4 4·10 ^{-4a}	79.48±1. 32b	4.05±8.8 7·10 ^{-5a}	171.02±3 .74c
CHG	1.73±4.4 9·10 ^{-6d}	400.16± 1.04a	1.18±9.9 1±10 ^{-6b}	589.49±4 .97a	2.45±1.6 9·10 ^{-4b}	283.59±1 9.58a	1.38±4.4 8·10 ^{-6b}	503.45±1 .64a
GLY	10.54±2. 47·10 ^{-6a}	65.79±0 .02d	4.22±9.5 2·10 ^{-5a}	164.45±3 .72c	7.88±7.7 1·10 ^{-5a}	87.97±0. 86b	4.07±1.2 1·10 ^{-4a}	170.42±5 .07c

* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$).

4.11. Böğürtlen Antosiyaninlerinin Sulu İki Fazlı Sistemle Saflaştırılması

İçerdiği antosiyanin açısından zengin ekstraktlar genellikle şeker, şeker alkoller, organik asitler, amino asitler ve proteinler gibi büyük miktarda kontaminant içerir (Cao vd., 2009b; Chandrasekhar vd., 2012). Çözünür şekerler özellikle antosiyaninlerin bozunmasını hızlandırır (Cao vd., 2009b; Patras vd., 2010). Önceki çalışmalarda kısa zincirli alkoller ve inorganik tuzlardan oluşan sulu iki faz sistemlerinin; düşük viskozite, hızlı faz ayrımı, yüksek etkinlik ve alkol ile tuzun kolay geri kazanımı gibi avantajlara sahip olduğu bildirilmiştir (Đorđević ve Antov, 2017; Odabaş ve Koca, 2020, 2021). Odabaş ve Koca (2020, 2021), kısa zincirli alkoller ve inorganik tuzlardan oluşan sulu iki fazlı sistemlerin, antosiyaninlerin tek adımda ekstraksiyonunda ve ön saflaştırmasında etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, antosiyaninlerin sulu iki fazlı sistem tarafından ekstraksiyonu, antosiyaninleri çözünür şekerler gibi kontaminantlardan seçici olarak ayırarak üstte antosiyanin bakımından zengin faz ve alt fazlarda şeker bakımından zengin faz vermektedir (Wu vd., 2014; Odabaş ve Koca 2020, 2021). Bu çalışmada, optimizasyon işleminden sonra elde edilen antosiyanince zengin ekstraktlar, Odabaş ve Koca (2020ab) tarafından önerildiği gibi etanol ve amonyum sülfattan oluşan sulu iki fazlı sistem uygulanarak saflaştırılmıştır. İncelenen antosiyanin bileşiklerinin saflığı, beklenildiği gibi üst fazda daha yüksekti (Tablo 4.17), bu da saflaştırma işleminin başarılı olduğunu göstermektedir. Üst fazda siyanidin-3-glikozit için saflık CHAC ve CHGLY'de sırasıyla %68.85±1.05 ve %89.04±3.35 olarak belirlendi. Üst fazda, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür CHAC ve CHGLY'de sırasıyla %14.26±0.22 ve 15.63±0.59; %7.21±0.11 ve 6.03±0.23; 10.04±0.15 ve 9.74±0.37 saflığa sahipti. CHAC ile elde edilen ekstrakt en yüksek saflıkta pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür sağlarken, CHGLY ile elde edilen ekstraktta en yüksek saflıkta siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozit vardı. Odabaş ve Koca (2020), karıştırma destekli sulu iki fazlı ekstraksiyon ile elde edilen

ekstraktın üst fazında toplam antosiyanin içeriğinin saflığını $\%4.02\pm0.24-7.21\pm0.20$ olarak belirlemişlerdir. Odabaş ve Koca (2021), mikrodalga destekli sulu iki fazlı ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktın üst fazında $\%3.61\pm0.14-5.98\pm0.06$ saflık bulmuşlardır. Bu sonuçlar, pelargonidin-3-glikozit için saptanan değerlere yakındır.

Tablo 4. 17. Sulu İki faz sistemle saflaştırılan ekstraktların ayırma katsayısı, saflık ve geri kazanımları

Bileşikler	CHAC				CHGLY			
	Saflık (%)		Ayırma katsayısı 1 (Kc)	Geri kazanım (R) (%)	Saflık (%)		Ayırma katsayısı 1 (Kc)	Geri kazanım (R) (%)
	Üst faz	Alt faz			Top phase	Bottom phase		
CYN-3-GLU	68.85±1.05	11.39±0.24	6.05±0.22	65.12±0.40	89.04±3.35	16.22±2.14	5.52±0.03	69.19±0.03
CYN-3-RUT	14.26±0.22	2.97±0.02	4.80±0.17	59.74±1.57	15.63±0.59	4.34±0.57	3.62±0.34	59.59±2.82
PLG-3-GLU	7.21±0.11	-	-	-	6.03±0.23	-	-	-
CYN-3-CHL	10.04±0.15	1.63±0.03	6.16±0.22	65.54±0.20	9.74±0.37	2.22±0.29	4.41±0.02	64.21±0.35
Şeker içeriği			0.40±0.02	25.68±1.13			0.42±0.02	29.16±1.21

Ayırma katsayısı (Kc), bileşiğin üst fazdaki konsantrasyonunun alttakine oranıdır. Sulu iki fazlı sistemlerde biyomoleküllerin fazlar arası ayrılmasını ölçer ve daha yüksek Kc değerleri sulu iki fazlı sistemlerde ayırmanın daha etkili olduğunu gösterir (Odabaş ve Koca, 2020). Kc değerleri CHAC ve CHGLY'de sırasıyla siyanidin-3-glikozit için 6.05 ± 0.22 ve 5.52 ± 0.52 , siyanidin-3-rutinozid için 4.80 ± 0.17 ve 3.62 ± 0.34 , siyanidin klorür için 6.16 ± 0.22 ve 0.42 ± 0.02 , çözünür şekerler için 0.40 ± 0.02 ve 0.42 ± 0.02 olarak belirlenmiştir. Pelargonidin-3-glikozit alt fazlarda tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, antosiyaninlerin iyi ayrıldığını göstermektedir. Bulgularımıza benzer şekilde, önceki çalışmalarda siyah kuşburnu antosiyaninleri ve çözünür şeker için Kc değerleri sırasıyla $4.59\pm0.08-8.77\pm0.09$ ve $0.45\pm0.02-0.49\pm0.04$ olarak bildirilmiştir (Odabaş ve Koca, 2020, 2021). Bununla birlikte, Guo vd. (2012) lignanlar için 17.05-74.93 gibi yüksek bir ayırma katsayısı bildirmiştir. Liu vd. (2013) ayrıca mor tatlı patates antosiyaninleri için 19.62'lik yüksek bir ayırma katsayısı bildirmiştir. Şeker içeriği için bulunan Kc değerleri, şekerlerin uzaklaştırılmasının etkili olduğunu göstermiştir.

Geri kazanım (Rk), üst fazdaki bileşiğin sistemdeki bileşiğin toplam kütesine oranıdır. Geri kazanım değerleri CHAC ve CHGLY'de sırasıyla siyanidin-3-glikozit için 65.12 ± 0.40 ve 69.19 ± 0.03 ; siyanidin-3-rutinozid için 59.74 ± 1.57 ve 59.59 ± 2.82 ; siyanidin klorür için 65.54 ± 0.20 ve 64.21 ± 0.35 ; toplam çözünür şeker için

25.68±1.13 ve 29.16±1.21 olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımız, üst fazdaki siyah kuşburnu antosiyaninleri ve şekerler için sırasıyla %82.11-89.76 ve %31.17-32.94 olan R değerlerini bildiren önceki çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Odabaş ve Koca 2020, 2021). Liu vd. (2013) etanol ve amonyum sülfattan oluşan sulu iki fazlı bir sistemde deneysel antosiyanin geri kazanımının %90.02±0.01 ve antosiyanin ayırma katsayısının 19.62±0.02 olduğunu belirtmişlerdir. Wu vd. (2014), üzüm suyundan antosiyaninleri sulu iki fazlı sistemde ekstrakte edip ön saflaştırmış ve antosiyaninler için R değerlerini %99.26-99.35, şeker uzaklaştırma oranını ise %75.08 olarak saptamışlardır. Ayrıca, Jampani ve Raghavarao (2015), kırmızı lahanaya antosiyaninlerinin ekstraksiyonu ve saflaştırılması için sulu iki fazı kullanmışlardır. Kırmızı lahananın antosiyaninlerinin ve şekerlerinin K değerini üst fazda sırasıyla %91.35 ve %3.56 olarak bulmuşlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Böğürtlen antosiyaninlerinin ekstraksiyonu için daha verimli bir yeşil yöntem araştırılmış ve hidrojen bağı alıcı olarak kolin klorür ve organik asitler, hidrojen bağı verici olarak üre, şekerler, organik asitler ve polialkollerin kullanıldığı 16 farklı NADES sentezlenmiştir. NADES'ler 1:2 molar hidrojen bağı alıcı ve hidrojen bağı verici (HBD) oranında ve %20 destile su ilavesiyle hazırlanmıştır. Karşılaştırma için geleneksel çözücüler olarak su, metanol ve etanol kullanılmıştır.

Sonuç olarak:

En yüksek toplam fenolik madde (9.35 ± 0.39 mg GAE/g), toplam flavonoid (104.72 ± 5.17 mg ECE/100g), toplam antosiyanin (115.37 ± 0.43 CGE/100g), antiradikal aktivite (68.77 ± 2.29 mmol TE/g), indirgeme gücü (83.08 ± 3.78) ve metal şelatlama aktivitesi (4771.25 ± 83.58 mg TE/100g) NADES'ler ile elde edilmiştir.

Kolin klorür-glikoz, kolin klorür-gliserol, kolin klorür-asetik asit, kolin klorür-laktik asit, kolin klorür-1,2-bütandiol ve kolin klorür-etilen glikol gibi NADES'ler en yüksek performansı sergilemiştir. Çözücülerden kolin klorür-asetik asit yüksek antosiyanin verimi, kolin klorür-gliserol yüksek toplam fenolik madde ve antosiyanin verimi sağlanması nedeniyle optimizasyon için bu iki çözücü seçilmiştir.

Kolin klorür-gliserol için optimum koşullar molar oran, su içeriği, solvent miktarı ve ekstraksiyon süresi için sırasıyla 1:4.22 molar, %20, 15g ve 15 dakika şeklinde kaydedilmiştir. Kolin klorür-asetik asit için optimum koşullar; molar oran, su içeriği, solvent miktarı ve ekstraksiyon süresi için sırasıyla 1:3.5 molar, %40, 30 ve 15 dakika olarak kaydedilmiştir.

Optimum koşullarda elde edilen teorik değerleri doğrulamak için deney yapılmıştır. Sonuç olarak, kolin klorür-gliserol için toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3 glikozit ve siyanidin klorür için öngörülen yanıtlar 205.45 ± 5.62 mg CGE/100g, 1193.32 ± 72.65 mg/kg, 147.65 ± 2.94 mg/kg, 52.27 ± 2.09 mg/kg ve 81.45 ± 1.00 mg/kg olarak bulunmuştur. Kolin klorür-asetik asit için toplam antosiyanin, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür için öngörülen yanıtlar 221.05 ± 5.23 mg CGE/100g, 1208.08 ± 13.76 mg/kg, 163.43 ± 1.72 mg/kg, 53.78 ± 1.37 mg/kg ve 91.98 ± 0.62 mg/kg olarak bulunmuştur. Tahmin edilen ile deneysel değerler çok yakın bulunmuştur.

Optimum koşullarda ultrason, homojenat ve karıştırma destekli ekstraksiyon teknikleri karşılaştırılmıştır. Bireysel antosiyaninler, toplam antosiyanin, toplam flavonoid, toplam fenol ve antioksidan aktivite değerleri açısından ultrason destekli ekstraksiyon tekniği en etkili teknik olarak bulunurken homojenat destekli ekstraksiyon ve karıştırma destekli ekstraksiyon teknikleri onu takip etmiştir.

Optimum koşullarda elde edilen ekstraktlarda yapılan biyoyararlılık testi sonucuna göre: Ağızda, 5 dakika biyoyararlılık sonuçları, 15 dakika sonuçlarından daha yüksektir. Gastrointestinal ortamda, en yüksek biyoyararlılık sonuçları, ağızda 5 dakikadan elde edilen numuneler için 2 saatte bulunmuştur. Aksine, gastrointestinal ortamda, ağızda 15 dakikadan elde edilen numuneler için en yüksek biyoyararlılık sonuçları 1 saatte bulunmuştur.

Isıl, depolama ve ışık stabilite testleri, antosiyanin bileşiklerinin NADES'ler tarafından iyi korunduğunu göstermiştir. Siyanidin-3-glikozit en yüksek bozunma hızını 100 °C'de kaydedilmiş ve yüksek sıcaklıktan düşüğe doğru (80, 60 ve 40 °C) hız yavaşlamıştır. Test edilen tüm çözücülerde aynı eğilim gözlenmiştir. NADES'lerden kolin klorür-gliserol ve kolin klorür-asetik asit için 100 °C'de 90 dakika bekletilenlerde sırasıyla -0.8 ve -1.15 dak⁻¹'lik en düşük bozunma oranı belirlenmiş, NADES yüksek koruyucu etki sağlamıştır. Aynı koşullarda, siyanidin-3-glikozitin bozunmasının sulu ekstraktlarda daha hızlı ve yüksek olduğu görülmüştür. NADES'lerle karşılaştırıldığında sulu ekstraktlar, NADES'lere göre yaklaşık 3 kat daha fazla bozunma oranı göstermiştir.

Siyanidin-3-rutinozitin ısıl bozunmasının sonucuna göre, NADES'lerde 100°C'de, sulu ekstraktlarda ise 60°C, 80°C ve 100°C'de yoğun olmuş, NADES ekstraktlarında bozunma hızı sabitleri, sulu çözeltilerle karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Sulu ekstraktların bozunma oranları, NADES'lerde bulunan değerlerden 2 kat daha yüksektir. NADES'lerin siyanidin-3-rutinozit için koruyucu olduğu anlamına gelmektedir.

Pelargonidin-3-glikozitin ısıl bozunmasının sonucuna göre, NADES'lerde 40, 60 ve 80 °C'de daha stabil iken, sulu ekstraktlarda 40 °C'de stabil olduğu görülmüştür. 100 °C'de ısıtma pelargonidin-3-glikozit için yıkıcı ve 60 dakikalık ısıtmadan sonra bozulması hızlanmıştır.

Oda sıcaklığında, karanlıkta depolanan ekstraktlarda siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün bozunması, karanlıkta NADES'lerde çok yavaş, sulu ekstraktlarında ise çok hızlı olmuştur. Ayrıca, siyanidin-3-rutinozit en yüksek yarı ömrü göstermiş, bunu sırayla siyanidin-3-glikozit, siyanidin klorür ve pelargonidin-3-glikozit izlemiştir.

Işık stabilite testinin sonucuna göre, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorürün bozunması NADES'lerde çok yavaş iken, suyu ekstraktlar çok hızlı bulunmuştur. Ayrıca, siyanidin-3-rutinozit en yüksek yarı ömrü göstermiş, bunu sırayla siyanidin klorür, siyanidin-3-glikozit, ve pelargonidin-3-glikozit izlemiştir.

Antosiyaninlerinin sulu iki fazlı sistemle saflaştırılması başarılı olup üst fazda siyanidin-3-glikozit için en yüksek saflık kolin klorür-asetik asit ve kolin klorür-gliserolde sırasıyla %68.85±1.05 ve %89.04±3.35 olarak belirlenmiştir. Üst fazda, siyanidin-3-rutinozit, pelargonidin-3-glikozit ve siyanidin klorür kolin klorür-asetik asit ve kolin klorür-gliserolde sırasıyla 14.26±0.22 ve 15.63±0.59; 7.21±0.11 ve 6.03±0.23; 10.04±0.15 ve 9.74±0.37 saflığa sahiptir.

NADES kullanılarak daha yeşil bir ekstraksiyon eldesi mümkün olduğu gibi farklı saflaştırma ve ekstraksiyon teknikleriyle de birleştirme imkanı olduğu bu çalışmada böğürtlen antosiyaninleri için ortaya konulmuştur. NADES'lerle elde edilen antosiyaninlerin raf ömrünü uzatmak için enkapsülasyon gibi teknikler denenebilir.

KAYNAKLAR

- Abbott, A. P., Harris, R. C., & Ryder, K. S. (2007). Application of hole theory to define ionic liquids by their transport properties. *The Journal of Physical Chemistry B*.111(18). 4910–4913. doi:10.1021/jp0671998.
- Abbott, A. P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D. L., & Rasheed, R. K. (2004). Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*. 126 (29). 9142–9147. doi:10.1021/ja048266j.
- Adeyemi, I., Abu-Zahra, M. R. M., & AlNashef, I. M. (2018). Physicochemical properties of alkanolamine-choline chloride deep eutectic solvents: Measurements, group contribution and artificial intelligence prediction techniques. *Journal of Molecular Liquids*. 256.581–590. doi:10.1016/j.molliq.2018.02.085.
- Afroz Bakht, M., Geesi, M. H., Riadi, Y., Imran, M., Imtiyaz Ali, M., Ahsan, M. J., & Ajmal, N. (2018). Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 (5).1043-1052. doi:10.1016/j.sjbs.2018.07.013.
- Agaoglu, Y. S., Eyduran S. P., & Eyduran E. (2007). Comparison of some pomological characteristics of blackberry cultivars growth in Ayas conditions. *Journal of Agricultural Science*. 13. 69-74.
- Ağaoğlu, Y. S.(1986). *Üzümsü Meyveler Ders Kitabı*. Ankara: A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayını.
- Ağlar, E., Sumbul, A., Karakaya, O., Erturk, O., Ozturk, B. (2021). Biochemical properties and antimicrobial and antioxidant activity of blackberry growing naturally in Kelkit valley. *Journal of Postharvest Technology*. 09 (3). 127-135.
- Alañón, M. E., Ivanović, M., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2018). Choline chloride derivative-based deep eutectic liquids as novel green alternative solvents for extraction of phenolic compounds from olive leaf. *Arabian Journal of Chemistry*. 13 (1). 1685-1701. doi:10.1016/j.arabjc.2018.01.003.
- Al Omar, M. K., Hayyan, M., Alsaadi, M. A., Akib, S., Hayyan, A., & Hashim, M. A. (2016). Glycerol-based deep eutectic solvents: Physical properties. *Journal of Molecular Liquids*. 215. 98–103. doi:10.1016/j.molliq.2015.11.032.
- Alrugaibah, M., Yagiz, Y., & Gu, L. (2021). Use natural deep eutectic solvents as efficient green reagents to extract procyanidins and anthocyanins from cranberry pomace and predictive modeling by RSM and artificial neural networking. *Separation and Purification Technology*, 255, 117720. doi:10.1016/j.seppur.2020.117720.
- Alsaud, N., Shahbaz, K., &Farid, M. (2021). Application of deep eutectic solvents in the extraction of polyphenolic antioxidants from New Zealand Manuka leaves (*Leptospermum Scoparium*): optimization and antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*. 337. 116385. doi:10.1016/j.molliq.2021.116385.
- Altuntaş, F., & Pırlak, L. (2020). Adaptation of some blackberry varieties in Konya ecological Cconditions. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*. 34 (1), 1-6.
- Andersen, Ø. M. (2001). Anthocyanins. *Encyclopedia of Life Sciences*. doi:10.1038/npg.els.0001909.
- Andersen, Ø. M., & Jordheim M. (2006). "The anthocyanins". in: *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications* (s. 471–552). Andersen, Ø.M.- Markham, K.R. (eds). Boca Raton: FL: CRC Press
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*. USA: Association of Official Analytical Chemists (17th ed.)

- Athanasiadis, V., Grigorakis, S., Lalas, S., & Makris, D. P. (2018). Highly efficient extraction of antioxidant polyphenols from *Olea europaea* leaves using an eco-friendly glycerol/glycine deep eutectic solvent. *Waste and Biomass Valorization*. 9. 1985-1992. doi:10.1007/s12649-017-9997-7.
- Askar, K. A., Alsawad, Z. H., & Khalaf, M. N. (2015). Evaluation of the pH and thermal stabilities of rosella anthocyanin extracts under solar light. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 4 (3). 262–268. doi:10.1016/j.bjbas.2015.06.001
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117. 426-436.
- Bakirtzi, C., Triantafyllidou, K., & Makris, D. P. (2016). Novel lactic acid based natural deep eutectic solvents: efficiency in the ultrasoundassisted extraction of antioxidant polyphenols from common native Greek medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic plants*. 3. 120-127. doi:10.1016/j.jarmap.2016.03.003.
- Balaraman, H. B., Sivasubramaniyam, A., & Rathnasamy, S. K. (2020). High selective purification of Quercetin from peanut hull using protic deep eutectic mixture based liquid–liquid microextraction. *Microchemical Journal*. 152. 104444. doi:10.1016/j.microc.2019.104444.
- Barbieri, J. B., Goltz, C., Batistão Cavalheiro, F., Theodoro Toci, A., Igarashi-Mafra, L., & Mafra, M. R. (2020). Deep eutectic solvents applied in the extraction and stabilization of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*. 144. 112049. doi:10.1016/j.indcrop.2019.112049.
- Bentley, J., Olsen, E. K., Moore, J. P., & Farrant, J. M. (2020). The phenolic profile extracted from the desiccation-tolerant medicinal shrub *Myrothamnus flabellifolia* using Natural Deep Eutectic Solvents varies according to the solvation conditions. *Phytochemistry*. 173.112323. doi:10.1016/j.phytochem.2020.1123.
- Benvenuto, L., Zielinski, A. A. F., Ferreira, S. R. S. (2022). Pressurized aqueous solutions of deep eutectic solvent (DES): A green emergent extraction of anthocyanins from a Brazilian berry processing by-product. *Food Chemistry: X*. 13. 100236.
- Benzie, I. F., & Szeto, Y. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (2). 633-636.
- Bi, Y., Chi, X., Zhang, R., Lu, Y., Wang, Z., Dong, Q., Ding, C., Yang, R., Jiang, L. (2020). Highly efficient extraction of mulberry anthocyanins in deep eutectic solvents: Insights of degradation kinetics and stability evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 66. 102512. doi:10.1016/j.ifset.2020.102512.
- Bosiljkov, T., Dujmić, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M., Zlatic, E., Redovniković, I. R., Jokić, S. (2017). Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing*. 102. 195–203. doi:10.1016/j.fbp.2016.12.005.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*. 128(1). 14–21. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.05.
- Bowen-Forbes, C. S., Zhang, Y., & Nair, M. G. (2010). Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lwt - Food Science and Technology*. 28 (1). 25- 30.
- Buldo, M., Cicci, A., Sed, G., Sapone, V., &Bravi, M. (2019). Detoxification of olive mill wastewaters by liquid-liquid extraction with natural deep eutectic solvents. *Chemical Engineering Transactions*.74. 1495-1500. doi:10.3303/CET1974250.
- Cangi R., & Islam A. (2003). "Adaptation of some blackberry cultivars to Ordu conditions". *In Proceedings of the 1st Kiwifruit and Berry Fruit Symposium, Ordu*.
- Cao, S., Liu, L., Pan, S., Lu, Q., & Xu, X. (2009a). A comparison of two determination methods for studying degradation kinetics of the major anthocyanins from blood orange. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (1). 245–249. doi:10.1021/jf8021964.
- Cao, S., Liu, L., Lu, Q., Xu, Y., Pan, S., & Wang, K. (2009b). Integrated effects of ascorbic acid, flavonoids and sugars on thermal degradation of anthocyanins in blood orange juice. *European Food Research and Technology*. 228 (6). 975–983. doi:10.1007/s00217-009-1015-2
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113 (4). 859–871. doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.00.
- Chakroun, D., Grigorakis, S., Loupassaki, S., &Makris, D. P. (2019). Enhanced-performance extraction of olive (*Olea europaea*) leaf polyphenols using L-lactic acid/ammonium acetate deep eutectic solvent combined with β -cyclodextrin: screening, optimisation, temperature effects and stability. *Biomass Conversion and Biorefinery*.11. 1125–1136. doi:10.1007/s13399-019-00521-2.
- Chandrasekhar, J., Madhusudhan, M. C., Raghavarao, K. S. M. S. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing*. 90. 615-623.
- Chanioti, S., & Tzia, C. (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.48. 228–239. doi:10.1016/j.ifset.2018.07.001
- Chemat, F., Vian, M.A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*. 13(7). 8615-8627. doi:10.3390/ijms13078615.
- Chen, M., & Lahaye, M. (2021). Natural deep eutectic solvents pretreatment as an aid for pectin extraction from apple pomace. *Food Hydrocolloids*. 115. 106601. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106601.
- Chen, W. C., Lin, Y. C., Chu, I. M., Wang, L. F., Tsai, S. L., & Wei, Y. H. (2020). Feasibility of enhancing production of 5-hydroxymethylfurfural using deep eutectic solvents as reaction media in a high-pressure reactor. *Biochemical Engineering Journal*.154. 107440. doi:10.1016/j.bej.2019.107440.
- Chen, W., Bai, X., Xue, Z., Mou, H., Chen, J., Liu, Z., & Mu, T. (2019). The formation and physicochemical properties of PEGylated deep eutectic solvents. *New Journal of Chemistry*. 43. 8804. doi:10.1039/c9nj02196e.
- Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*. 172. 543–550. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.11.

- Cheng, Y., Yu, S., & Xue, F. (2020). Comparison of the extraction efficiency of isoflavone compounds from *Puerariae lobatae* by ionic liquids with 11 anions and 8 imidazolium-based cations. *ACS Omega*. 5. 8962–8971.
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., & Clark, J. R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84 (13). 1771–1782. doi:10.1002/jsfa.1885.
- Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C. E., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R. (2011). Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiology*. 156 (4). 1701–1705. doi:10.1104/pp.111.178426.
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Dhuique-Mayer, C., & Dornier, M. (2009). Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the arrhenius, eyring, and ball models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(14). 6285–6291. doi:10.1021/jf900836b.
- Clarke, C. J., Tu, W. C., Levers, O., Bröhl, A., & Hallett, J. P. (2018). Green and Sustainable Solvents in Chemical Processes. *Chemical Reviews*. 118. 747-800. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00571.
- Clark, J. R., & Finn, C. E. (2008). New trends in blackberry breeding. *Acta Horticulturae*. 777. 41–48. doi:10.17660/actahortic.2008.777.
- Clifford M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80. 1063-1072.
- Cvjetko Bubalo, M., Ćurko, N., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K., & Radojčić Redovniković, I. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 200. 159–166. doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.040.
- Cuevas-Rodríguez, E. O., Yousef, G. G., García-Saucedo, P. A., López-Medina, J., Paredes-López, O., & Lila, M. A. (2010a). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberries (*Rubus spp.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (12). 7458–7464. doi:10.1021/jf101485r.
- Cuevas-Rodríguez, E. O., Dia, V. P., Yousef, G. G., García-Saucedo, P. A., López-Medina, J., Paredes-López, O., de Mejia, E. G., & Lila, M. A. (2010b). Inhibition of Pro-inflammatory Responses and Antioxidant Capacity of Mexican Blackberry (*Rubus spp.*) Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (17). 9542–9548. doi:10.1021/jf102590p
- Cui, Y., Li, C., Yin, J., Li, S., Jia, Y., & Bao, M. (2017). Design, synthesis and properties of acidic deep eutectic solvents based on choline chloride. *Journal of Molecular Liquids*. 236. 338–343. doi:10.1016/j.molliq.2017.04.052
- Cunha, S. C., & Fernandes, J. O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 105. 225-239. doi:10.1016/j.trac.2018.05.001.
- Cvjetko Bubalo, M., Ćurko, N., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K., & Radojčić Redovniković, I. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 200. 159-166.
- Çolak, A. M. (2018). Effect of melatonin and gibberellic acid foliar application on the yield and quality of Jumbo blackberry species. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 20 (6). 1242-1246. doi:10.1016/j.sjbs.2018.06.008.

- Da-Costa-Rocha I., Bonnlaender B., Sievers H., Pischel I., & Heinrich M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L.-A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*. 165. 424-443.
- Da Fonseca Machado, A. P., Rezende, C. A., Rodrigues, R. A., Barbero, G. F., de Tarso Vieira e Rosa, P., & Martínez, J. (2018). Encapsulation of anthocyanin-rich extract from blackberry residues by spray-drying, freeze-drying and supercritical antisolvent. *Powder Technology*. 340, 553-562. doi:10.1016/j.powtec.2018.09.063.
- da Silva, W., Ghica, M. E., & Brett, C. M. A. (2020a). Biotoxic trace metal ion detection by enzymatic inhibition of a glucose biosensor based on a poly(brilliant green)-deep eutectic solvent/carbon nanotube modified electrode. *Talanta*. 208. 120427. doi:10.1016/j.talanta.2019.120427.
- da Silva, D. T., Pauletto, R., da Silva Cavaleiro, S., Bochi, V. C., Rodrigues, E., Weber, J., Da Silva, C. D. B., Morisso, F. D. P., Barcia, M. T., & Emanuelli, T. (2020b). Natural deep eutectic solvents as a biocompatible tool for the extraction of blueberry anthocyanins. *Journal of Food Composition and Analysis*. 89. 103470. doi:10.1016/j.jfca.2020.103470.
- Dai, Y., Rozema, E., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2016). Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents. *Journal of Chromatography A*. 1434. 50–56. doi:10.1016/j.chroma.2016.01.037
- Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2015). Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chemistry*. 187. 14–19. doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.123.
- Dai, Y., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2014). Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*. 159. 116-121. doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.155.
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013a). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 766. 61–68.
- Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013b). Natural Deep Eutectic Solvents as a New Extraction Media for Phenolic Metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical Chemistry*. 85 (13). 6272–6278. doi:10.1021/ac400432p
- De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*. 156. 362–368. doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.12
- Di Pietro, M. E., Colombo Dugoni, G., Ferro, M., Mannu, A., Castiglione, F., Costa Gomes, M., Fourmentin, S., & Mele, A. (2019). Do cyclodextrins encapsulate volatiles in deep eutectic systems? *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 7. 17397–17405. doi:10.1021/acssuschemeng.9b04526.
- Dinis, C. P., Madeira, V. M. C., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 315. 161–169. doi:10.1006/abbi.1994.1485.
- Doldolova, K., Bener, M., Lalikoğlu, M., Aşçı, Y. S., Arat, R., & Apak, R. (2021). Optimization and modeling of microwave-assisted extraction of curcumin and antioxidant compounds from turmeric by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 353. 129337. doi:10.1016/j.foodchem.2021.129337.

- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P. & Smith, F. (1951). A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature*. 168. 167. doi:10.1038/168167a0.
- Dorđević, T., Antov, M., 2017. Ultrasound assisted extraction in aqueous two-phase system for the integrated extraction and separation of antioxidants from wheat chaff. *Separation and Purification Technology*. 182. 52-58.
- Elgharbawy, A. A. M., Hayyan, A., Hayyan, M., Mirghani, M. E. S., Salleh, H. M., Rashid, S. N., Ngho, G. C., Liew ? s. Q., Nor, M. R. M., Yusoof, M. Y. Z. B. M., Alias, Y. (2019). Natural deep eutectic solvent-assisted pectin extraction from pomelo peel using sonoreactor: Experimental optimization approach. *Processes*. 7 (7). 416. doi:10.3390/pr7070416.
- El Kantar, S., Rajha, H.N., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R. G., & Louka, N. (2019). Green extraction of polyphenols from grapefruit peels using high voltage electrical discharges, deep eutectic solvents and aqueous glycerol. *Food Chemistry*. 295. 165-171. doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.111.
- Eyduran, S. P., Eyduran, Khawar, E., K. M., & Agaoglu, Y. S. (2008). Adaptation of eight American blackberry (*Rubus fruticosus* L.) cultivars for Central Anatolia. *African Journal of Biotechnology*. 7(15). 2600-2604.
- Eyduran, E., Eyduran, S. P., Khawar, K. M., & Agaoglu, Y. S. (2010). Determination of the best blackberry cultivar using various statistical techniques. *African Journal of Agricultural Research*. 5 (9). 898-909.
- Fan-Chiang H. J., & Wrolstad R. E. (2005). Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science*. 70. C198–C202.
- Fan-Chiang, H. J. & Wrolstad, R. E. (2010). Sugar and nonvolatile acid composition of blackberries. *Journal of AOAC International*. 93. 956-965.
- Farajzadeh, M. A., Afshar Mogaddam, M. R., & Feriduni, B. (2016). Simultaneous synthesis of a deep eutectic solvent and its application in liquid–liquid microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from aqueous samples. *RSC Advances*. 6(53). 47990–47996. doi:10.1039/c6ra04103e.
- Fernandes, A., Rocha, M. A. A., Santos, L. M. N. B. F., Brás, J., Oliveira, J., Mateus, N., & de Freitas, V. (2018). Blackberry anthocyanins: β -Cyclodextrin fortification for thermal and gastrointestinal stabilization. *Food Chemistry*. 245. 426–431. doi:10.1016/j.foodchem.2017.10.10.
- Fernandes, I., Faria, A., Calhau, C., de Freitas, V., & Mateus, N. (2014). Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of Functional Foods*. 7. 54–66. doi:10.1016/j.jff.2013.05.010
- Fernández, M. de los Á., Boiteux, J., Espino, M., Gomez, F. V., & Silva, M. F. (2018). Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. *Analytica Chimica Acta*. 1038. 1-10. doi:10.1016/j.aca.2018.07.059
- Fraisse, D., Bred, A., Felgines, C., & Senejoux, F. (2021). Impact of simulated gastrointestinal conditions on antiglycoxidant and α -glucosidase inhibition capacities of cyanidin-3-*O*-glucoside. *Antioxidants*, 10(11), 1670. doi:10.3390/antiox10111670.
- Frohlich, P. C., Santos, K. A., Hasan, S. D. M., da Silva, E. A. (2022). Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. *Food Chemistry*. 373. 131351. doi:10.1016/j.foodchem.2021.131351.
- Fu, X., Wang, D., Belwal, T., Xie, J., Xu, Y., Li, L., Zou, L., Zhang, L., & Luo, Z. (2021). Natural deep eutectic solvent enhanced pulse-ultrasonication assisted extraction as a multi-stability protective and efficient green strategy to extract anthocyanin from

- blueberry pomace. *LWT – Food Science and Technology*. 144. 111220. doi:10.1016/j.lwt.2021.111220.
- Gajardo-Parra, N. F., Cotroneo-Figueroa, V. P., Aravena, P., Vesovic, V., & Canales, R. I. (2020). Viscosity of choline chloride-based deep eutectic solvents: Experiments and modeling. *Journal of Chemical and Engineering Data*.65(11). 5581-5592. doi:10.1021/acs.jced.0c00715.
- Gao, M.-Z., Cui, Q., Wang, L.-T., Meng, Y., Yu, L., Li, Y.-Y., & Fu, Y.-J. (2020). A green and integrated strategy for enhanced phenolic compounds extraction from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by deep eutectic solvent. *Microchemical Journal*. 154.104598. doi:10.1016/j.microc.2020.104598.
- García, A., Rodríguez-Juan, E., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rios, J. J., & Fernández-Bolaños, J., (2016). Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs). *Food Chemistry*. 197. 554–561. doi:10.1016/j.foodchem.2015.10.131.
- Georgieva, V., Zvezdova, D., & Vlaev, L. (2012). Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. *Chemistry Central Journal*. 6(1). 81. doi:10.1186/1752-153x-6-81
- Gerçekcioglu R., Esmek I., Gunes M., Edizer Y. (2003). "Adaptation of some blackberry cultivars to Tokat conditions". In *Proceedings of the 1st Kiwifruit and Berry Fruit Symposium*, Ordu.
- Gerçekcioglu, R. (1996). Böğürtlen yetiştiriciliği ve geleceği. *Hasad Tarım ve Hayvancılık Dergisi*. 129. 12-15.
- Ghaedi, H., Ayoub, M., Sufian, S., Lal, B., & Uemura, Y. (2017). Thermal stability and FT-IR analysis of Phosphonium-based deep eutectic solvents with different hydrogen bond donors. *Journal of Molecular Liquids*. 242. 395–403. doi:10.1016/j.molliq.2017.07.016.
- Gibson, L., Rupasinghe, H., Forney, C., & Eaton, L. (2013). Characterization of changes in polyphenols, antioxidant capacity and physico-chemical parameters during lowbush blueberry fruit ripening. *Antioxidants*. 2 (4). 216–229. doi:10.3390/antiox2040216.
- Goñi, I., Serrano, J., & Saura-Calixto, F. (2006). Bioaccessibility of β -carotene, lutein, and lycopene from fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (15). 5382-5387.
- Grillo, G., Gunjević, V., Radošević, K., Redovniković, I. R., & Cravotto, G. (2020). Deep eutectic solvents and nonconventional technologies for blueberry-peel extraction: kinetics, anthocyanin stability, and antiproliferative activity. *Antioxidants*. 9 (11). 1069. doi:10.3390/antiox9111069.
- Guedes, M. N. S., Abreu, C. M. P. de, Maro, L. A. C., Pio, R., Abreu, J. R. de, & Oliveira, J. O. de. (2013). Chemical characterization and mineral levels in the fruits of blackberry cultivars grown in a tropical climate at an elevation. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 35 (2). 191-196. doi:10.4025/actasciagron.v35i2.16.
- Guo, N., Ping-Kou, Jiang, Y.-W., Wang, L.-T., Niu, L.-J., Liu, Z.-M., & Fu, Y.-J. (2019). Natural deep eutectic solvents couple with integrative extraction technique as an effective approach for mulberry anthocyanin extraction. *Food Chemistry*. 296.78–85. doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.19.
- Guo, Y. X., Han, J., Zhang, D. Y., Wang, L. H., & Zhou, L. L. (2012). An ammonium sulfate/ethanol aqueous two-phase system combined with ultrasonication for the separation and purification of lithospermic acid B from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19(4). 719–724. doi:10.1016/j.ultsonch.2011.12.01.

- Gurkan, B., Squire, H., & Pentzer, E. B. (2019). Metal-free deep eutectic solvents: preparation, physical properties, and significance. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. 10. 7956-7964. doi:10.1021/acs.jpcclett.9b01980
- Han, F., Yang, P., Wang, H., Fernandes, I., Mateus, N., & Liu, Y. (2019). Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science and Technology*. 83. 211-224. doi:10.1016/j.tifs.2018.11.025.
- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., Doherty, B. W., Gurkan, B., Maginn, E. J., Ragauskas, A., Dadmun, M., Zawodzinski, T. A., Baker, G. A., Tuckerman, M. E., Savinell, R. F., & Sangoro, J. R. (2021). Deep eutectic solvents: a review of fundamentals and applications. *Chemical Reviews*. 121. 1232-1285. doi:10.1021/acs.chemrev.0c00385
- Hao, C., Chen, L., Dong, H., Xing, W., Xue, F., & Cheng, Y. (2020). Extraction of flavonoids from *Scutellariae radix* using ultrasound-assisted deep eutectic solvents and evaluation of their anti-inflammatory activities. *ACS Omega*. 36. 23140–23147. doi:10.1021/acsomega.0c02898
- Harifi-Mood, A. R., & Buchner, R. (2017). Density, viscosity, and conductivity of choline chloride + ethylene glycol as a deep eutectic solvent and its binary mixtures with dimethyl sulfoxide. *Journal of Molecular Liquids*. 225. 689–695. doi:10.1016/j.molliq.2016.10.115
- Hassimotto, N. M. A., Mota, R. V. da, Cordenunsi, B. R., & Lajolo, F. M. (2008). Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 28 (3). 702–708. doi:10.1590/s0101-20612008000300029.
- Hong, S., Sun, X., Lian, H., Pojman, J. A., & Mota-Morales, J. D. (2020). Zinc chloride/acetamide deep eutectic solvent-mediated fractionation of lignin produces high- and low-molecular-weight fillers for phenol-formaldehyde resins. *Journal of Applied Polymer Science*. 137. 1-9. doi:10.1002/app.48385.
- Hossain, M. A., Shah, M. D. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal Chemistry*. 8. 66-71. doi:10.1016/j.arabjc.2011.01.007.
- Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., & Ren, G. (2013). Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International*. 50(2). 691–697. doi:10.1016/j.foodres.2011.07.037.
- Hummer K. E., & Janick J. (2007). *Rubus* iconography: Antiquity to the renaissance. *Acta Horticulturae*. 759. 89–105.
- Ibrahim, R. K., Hayyan, M., AlSaadi, M. A., Ibrahim, S., Hayyan, A., & Hashim, M. A. (2019). Physical properties of ethylene glycol-based deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*. 276. 794-800. doi:10.1016/j.molliq.2018.12.032
- Iqbal, J., Shah, N. S., Sayed, M., Muhammad, N., Rehman, S. ur., Khan, J. A., Haq Khan, Z. U., Howari, F. M., Nazzal, Y., Xavier, C., Arshad, S., Hussein, A., & Polychronopoulou, K. (2020). Deep eutectic solvent-mediated synthesis of ceria nanoparticles with the enhanced yield for photocatalytic degradation of flumequine under UV-C. *Journal of Water Process Engineering*. 33. 101012. doi:10.1016/j.jwpe.2019.101012.
- Ismail, B. B., Guo, M., Pu, Y., Wang, W., Ye, X., & Liu, D. (2019). Valorisation of baobab (*Adansonia digitata*) seeds by ultrasound assisted extraction of polyphenolics. Optimisation and comparison with conventional methods. *Ultrasonics Sonochemistry*. 52. 257–267. doi:10.1016/j.ultsonch.2018.11.023.

- Jeong, K. M., Zhao, J., Jin, Y., Heo, S. R., Han, S. Y., Yoo, D. E., & Lee, J. (2015). Highly efficient extraction of anthocyanins from grape skin using deep eutectic solvents as green and tunable media. *Archives of Pharmacal Research*. 38 (12). 2143–2152. doi:10.1007/s12272-015-0678-4.
- Jain, S., Winuprasith, T., & Suphantharika, M. (2020). Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. *Food Hydrocolloids*. 104.105730.
- Jampani, C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Process integration for purification and concentration of red cabbage (*Brassica oleracea* L.) anthocyanins. *Separation and Purification Technology*. 141. 10–16. doi:10.1016/j.seppur.2014.11.024.
- Jibril, B., Mjalli, F., Naser, J., & Gano, Z. (2014). New tetrapropylammonium bromide-based deep eutectic solvents: Synthesis and characterizations. *Journal of Molecular Liquids*. 199. 462–469. doi:10.1016/j.molliq.2014.08.004.
- Junior, T. K., de Moura, C., do Carmo, M. A. V.; Azevedo, L., Esmerino, L. A., Tardivo, R. C., Kilpeläinen, P., Granato, D. (2021). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic/ cytoprotective activity of non-polar extracts of grape (*Vitis labrusca* cv. Bordeaux) and blackberry (*Rubus fruticosus*) seeds. *Molecules*. 26.4057.
- Kafkas, E., Koşar, M., Türemiş, N., & Başer, K. H. C. (2006). Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. *Food Chemistry*. 97 (4).732–736. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.02.
- Kamonpatana, K., Failla, M. L., Kumar, P. S., & Giusti, M. M. (2014). Anthocyanin structure determines susceptibility to microbial degradation and bioavailability to the *Buccal Mucosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62 (29). 6903–6910. doi:10.1021/jf405180k.
- Kamonpatana, K., Giusti, M. M., Chitchumroonchokchai, C., MorenoCruz, M., Riedl, K. M., Kumar, P., & Failla, M. L. (2012). Susceptibility of anthocyanins to ex vivo degradation in human saliva. *Food Chemistry*. 135 (2). 738–747. doi:10.1016/j.foodchem.2012.04.11.
- Kaume L., Howard L.R., & Devareddy L. (2012). The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60. 5716-5727.
- Kim, I., Moon, J. K., Hur, S. J., & Lee, J. (2020). Structural changes in mulberry (*Morus Microphylla*. Buckl) and chokeberry (*Aronia melanocarpa*) anthocyanins during simulated in vitro human digestion. *Food Chemistry*. 318.126449. doi:10.1016/j.foodchem.2020.12644.
- Klimaviciute, R., Navikaite, V., Jakstas, V., & Ivanauskas, L. (2015). Complexes of dextran sulfate and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus*: Formation and stability. *Carbohydrate Polymers*. 129.70–78. doi:10.1016/j.carbpol.2015.04.038.
- Koca, I., & Karadeniz, B. (2009). Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. *Scientia Horticulturae*. 121(4). 447–450. doi:10.1016/j.scienta.2009.03.015.
- Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins—More Than Nature’s Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 5. 239–240. doi:10.1155/s1110724304407013.
- Kong, K., & Ismail, A. (2011). Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of byproducts from *Psidium guajava* fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing*. 89 (1). 53-61. doi:10.1016/j.fbp.2010.02.004.

- Kou, P., Kang, Y.-F., Wang, L.-T., Niu, L.-J., Xiao, Y., Guo, N., Cui, Q., Li, Y.-Y., Fu, Y.-J. (2019). An integrated strategy for production of four anthocyanin compounds from *Ribes nigrum* L. by deep eutectic solvents and flash chromatography. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 80. 614-625. doi:10.1016/j.jiec.2019.08.053.
- Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Bilgin, M., Makris, D. P., & Şahin, S. (2020). Citric acid-based deep eutectic solvent for the anthocyanin recovery from *Hibiscus sabdariffa* through microwave-assisted extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 12. 351–360. doi:10.1007/s13399-020-00606-3.
- Kussainova, D., & Shah, D. (2020). Monoethanolamine based DESs for CO₂ absorption: Insights from molecular dynamics simulations. *Separation and Purification Technology*. 231. 115931. doi:10.1016/j.seppur.2019.115931.
- Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O., & Yilmaz, A. E. (2021). Extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas* l.) using microwave and ohmic heating assisted microwave methods. *Food and Bioprocess Technology*. 14(4). 650–664. doi:10.1007/s11947-021-02588-0.
- Lakka, A., Grigorakis, S., Karageorgou, I., Batra, G., Kaltsa, O., Bozinou, E., Lalas, S., Makris, D.P. (2019). Saffron processing wastes as a bioresource of high-value added compounds: Development of a green extraction process for polyphenol recovery using a natural deep eutectic solvent. *Antioxidants*. 8 (12). 586. doi:10.3390/antiox8120586.
- Lee, J. (2017). *Blackberry fruit quality components, composition, and potential health benefits*. Oxfordshire, United Kingdom: CABI.
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., & Collaborators. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 88(5). 1269-1278. doi:10.1093/jaoac/88.5.1269.
- Li, T., Wang, L., Zhang, X., Yu, P., & Chen, Z. (2021). Complexation of rice glutelin fibrils with cyanidin-3-O-glucoside at acidic condition: Thermal stability, binding mechanism and structural characterization. *Food Chemistry*. 363. 130367. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130367.
- Li, T., Song, Y., Li, J., Zhang, M., Shi, Y., & Fan, J. (2020). New low viscous hydrophobic deep eutectic solvents in vortex-assisted liquid-liquid microextraction for the determination of phthalate esters from food-contacted plastics. *Food Chemistry*. 309. 125752. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125752.
- Liang, X., Yan, J., Guo, S., McClements, D. J., Ma, C., Liu, X., & Liu, F. (2021). Enhancing lycopene stability and bioaccessibility in homogenized tomato pulp using emulsion design principles. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 67. 102525.
- Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R., & Teoh, W. H. (2018). Acid and Deep Eutectic Solvent (DES) extraction of pectin from pomelo (*Citrus grandis* L.) Osbeck) peels. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 13. 1–11. doi:10.1016/j.bcab.2017.11.001.
- Lila, M. A., Burton-Freeman, B., Grace, M., & Kalt, W. (2016). Unraveling Anthocyanin Bioavailability for Human Health. *Annual Review of Food Science and Technology*. 7 (1). 375–393. doi:10.1146/annurev-food-041715-033346.
- Lin, X., Wu, L., Wang, X., Yao, L., & Wang, L. (2021). Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of India *Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 20.100284. doi:10.1016/j.jarmap.2020.100284.

- Liang, L., Wu, X., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zou, Y., Mao, G., Yang, L. (2012). *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food Research International*. 46 (1). 76–82. doi:10.1016/j.foodres.2011.11.024.
- Lingua, M. S., Wunderlin, D. A., & Baroni, M. V. (2018). Effect of simulated digestion on the phenolic components of red grapes and their corresponding wines. *Journal of Functional Foods*. 44. 86–94. doi:10.1016/j.jff.2018.02.034.
- Liu, X., Fu, N., Zhang, Q., Cai, S., Wang, Q., Han, D., & Tang, B. (2019). Green tailoring with water of choline chloride deep eutectic solvents for the extraction of polyphenols from palm samples. *Journal of Chromatographic Science*. 57. 272–278. doi:10.1093/chromsci/bmy099.
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M. & Chen, J. (2013). Optimisation of aqueous twophase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology. *Food Chemistry*. 141 (3). 3034-3041.
- Liu, L., Cao, S., & Pan, S. (2011). *Thermal degradation kinetics of three kinds of representative anthocyanins obtained from blood orange*. *Agricultural Sciences in China*. 10 (4). 642–649. doi:10.1016/s1671-2927(11)60046-1.
- Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2015). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*. 53 (1). 461–470. doi:10.1007/s13197-015-2002-1.
- López, N., Delso, I., Matute, D., Lafuente, C., & Artal, M. (2020). Characterization of xylitol or citric acid:choline chloride:water mixtures: Structure, thermophysical properties, and quercetin solubility. *Food Chemistry*. 306. 125610. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125610.
- Lugasi, A., Hóvári, J., Kádár, G., & Dénes, F. (2011). Phenolics in raspberry, blackberry and currant cultivars grown in Hungary. *Acta Alimentaria*. 40 (1). 52–64. doi:10.1556/aalim.40.2011.1.8.
- Machado, A. P. D. F., Pasquel-Reátegui, J. L., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2015). Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: a comparison with conventional methods. *Food Research International*. 77. 675–683. doi:10.1016/j.foodres.2014.12.042.
- Mallery, S. R., Budendorf, D. E., Larsen, M. P., Pei, P., Tong, M., Holpuch, A. S., Larsen, P. E., Stoner, G. D., Fields, H. W., Chan, K. K., Ling, Y., Liu, Z. (2011). Effects of human oral mucosal tissue, saliva, and oral microflora on intraoral metabolism and bioactivation of black raspberry anthocyanins. *Cancer Prevention Research*. 4 (8). 1209–1221. doi:10.1158/1940-6207.capr-11-0040.
- Manivannan, M., & Rajendran, S. (2011). Investigation of inhibitive action of urea-Zn²⁺ system in the corrosion control of carbon steel in sea water. *International Journal of Engineering Science and Technology*. 3(11). 8048-8060.
- Mano, F., Martins, M., Sá-Nogueira, I., Barreiros, S., Borges, J. P., Reis, R. L., Duarte, A. R. C., & Paiva, A. (2017). Production of electrospun fast-dissolving drug delivery systems with therapeutic eutectic systems encapsulated in gelatin. *AAPS PharmSciTech*. 18. 2579–2585. doi:10.1208/s12249-016-0703-z.
- Mano, F., Aroso, I. M., Barreiros, S., Borges, J. P., Reis, R. L., Duarte, A. R. C., & Paiva, A. (2015). Production of poly(vinyl alcohol) (PVA) fibers with encapsulated natural deep eutectic solvent (NADES) using electrospinning. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 3. 2504–2509. doi:10.1021/acssuschemeng.5b00613.

- Mao, Y., & McClements, D. J. (2012). Influence of electrostatic heteroaggregation of lipid droplets on their stability and digestibility under simulated gastrointestinal conditions. *Food and Function*. 3(10). 1025-1034.
- Marques Peixoto, F., Fernandes, I., Gouvêa, A. C. M. S., Santiago, M. C. P. A., Galhardo Borguini, R., Mateus, N., Freitas, V., Godoy, R. L.O., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2016). Simulation of in vitro digestion coupled to gastric and intestinal transport models to estimate absorption of anthocyanins from peel powder of jaboticaba, jamelão and jambo fruits. *Journal of Functional Foods*. 24. 373–381. doi:10.1016/j.jff.2016.04.021.
- Martins, M. A. R., Pinho, S. P., & Coutinho, J. A. P. (2019). Insights into the nature of eutectic and deep eutectic mixtures. *Journal of Solution Chemistry*. 48. 962-982. doi:10.1007/s10953-018-0793-1.
- McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., & Stewart, D. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in Vitro* digestion System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (15). 5896–5904. doi:10.1021/jf050131p.
- Mercali, G. D., Jaeschke, D. P., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. (2013). Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: comparison between ohmic and conventional heat treatment. *Food Chemistry*. 136 (2). 853-857.
- Meziane, S., & Kadi, H. (2008). Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from Olive Cake. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 85 (4). 391–396. doi:10.1007/s11746-008-1205-2
- Moraes, D. P., Lozano-Sánchez, J., Machado, M. L., Vizzotto, M., MicheliLazzaretti, Javier J. Leyva-Jimenez, F., da Silveira, T. L., Ries, E. F., Barcia, M. T. (2020). Characterization of a new blackberry cultivar BRS Xingu: chemical composition, phenolic compounds, and antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Food Chemistry*. 30(322).126783. doi:10.1016/j.foodchem.2020.12678.
- Moraes, D. P., Chim, J. F., Barin, J. S., Vizzotto, M., Farias, C. A. A., Ballus, C. A., & Barcia, M. T. (2021). Influence of the cultivar on the composition of blackberry (*Rubus spp.*) minerals. *Journal of Food Composition and Analysis*. 100. 103913. doi:10.1016/j.jfca.2021.103913.
- Mozaffari-Khosravi H., Jalali-Khanabadi B. A., Afkhami-Ardekani M., Fatehi F., & Noori-Shadkam M. (2009). The effects of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on hypertension in patients with type II diabetes. *Journal of Human Hypertension*. 23. 48-54. doi:10.1038/jhh.2008.100.
- Navikaite, V., Simanaviciute, D., Klimaviciute, R., Jakstas, V., & Ivanauskas, L. (2016). Interaction between κ - and ι -carrageenan and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus*. *Carbohydrate Polymers*. 148. 36–44. doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.059.
- Oancea, A.-M., Onofrei, C., Turturică, M., Bahrim, G., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2018). The kinetics of thermal degradation of polyphenolic compounds from elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract. *Food Science and Technology International*. 24 (4). 361–369. doi:10.1177/1082013218756139.
- Oancea, A.-M., Turturică, M., Bahrim, G., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2017). Phytochemicals and antioxidant activity degradation kinetics during thermal treatments of sour cherry extract. *LWT - Food Science and Technology*. 82. 139–146. doi:10.1016/j.lwt.2017.04.026.
- Ochoa, M. R., Kessler, A. G., De Michelis, A., Mugridge, A., & Chaves, A. R. (2001). Kinetics of colour change of raspberry, sweet (*Prunus avium*) and sour (*Prunus cerasus*) cherries preserves packed in glass containers: light and room

- temperature effects. *Journal of Food Engineering*. 49(1). 55–62. doi:10.1016/s0260-8774(00)00184-9
- Odabaş, H. İ., & Koca, I. (2020). Process for production of microencapsulated anthocyanin pigments from *Rosa pimpinellifolia* L. fruits: optimization of aqueous two-phase extraction, microencapsulation by spray and freeze-drying, and storage stability evaluation. *International Journal of Food Engineering*. doi:10.1515/ijfe-2020-005.
- Odabaş, H. İ., & Koca, I. (2021). Simultaneous separation and preliminary purification of anthocyanins from *Rosa pimpinellifolia* L. fruits by microwave assisted aqueous two-phase extraction. *Food and Bioproducts Processing*. 125. 170-180. doi:10.1016/j.fbp.2020.11.007.
- Oidtmann, J., Schantz, M., Mäder, K., Baum, M., Berg, S., Betz, M., ... Richling, E. (2012). Preparation and comparative release characteristics of three anthocyanin encapsulation systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (3). 844–851. doi:10.1021/jf2047515
- Oliveira, G., Marques, C., de Oliveira, A., dos Santos, A. de A., do Amaral, W., Ineu, R. P., Leimann, F. V., Peron, A. P., Igarashi-Mafra, L., & Mafra, M. R. (2021). Extraction of bioactive compounds from *Curcuma longa* L. using deep eutectic solvents: In vitro and in vivo biological activities, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 70. 102697. doi:10.1016/j.ifset.2021.102697.
- Oliveira, A., & Pintado, M. (2015). In vitro evaluation of the effects of protein–polyphenol–polysaccharide interactions on (+)-catechin and cyanidin-3-glucoside bioaccessibility. *Food and Function*. 6 (11). 3444–3453. doi:10.1039/c5fo00799b.
- Olivares-Tenorio, M.-L., Verkerk, R., van Boekel, M. A. J. S., & Dekker, M. (2017). Thermal stability of phytochemicals, HMF and antioxidant activity in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal of Functional Foods*. 32. 46–57. doi:10.1016/j.jff.2017.02.021.
- Oruç, F. Ç. S. & Oruç, S. H. (2013). Düzce’de yapılan böğürtlen çeşit adaptasyon çalışmaları. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*. 6 (1). 88-90.
- Osvaldt Rosales, T. K., Pessoa da Silva, M., Lourenço, F. R., Aymoto Hassimotto, N. M., & Fabi, J. P. (2021). Nanoencapsulation of anthocyanins from blackberry (*Rubus* spp.) through pectin and lysozyme self-assembling. *Food Hydrocolloids*. 114.106563. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106563.
- Ozturk, B., Parkinson, C., & Gonzalez-Miquel, M. (2018). Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology*. 206.1–13. doi:10.1016/j.seppur.2018.05.052.
- Pacheco-Palencia, L. A., Duncan, C. E., & Talcott, S. T. (2009). Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species. *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry*. 115 (4). 1199–1205. doi:10.1016/j.foodchem.2009.01.03.
- Pal, C. B. T., & Jadeja, G. C. (2020). Microwave-assisted extraction for recovery of polyphenolic antioxidants from ripe mango (*Mangifera indica* L.) peel using lactic acid/sodium acetate deep eutectic mixtures. *Waste and Biomass Valorization*. 26. 78-92. doi:10.1177/1082013219870010.
- Pang, K., Hou, Y., Wu, W., Guo, W., Peng, W., & Marsh, K. N. (2012). Efficient separation of phenols from oils via forming deep eutectic solvents. *Green Chemistry*. 14(9). 2398. doi:10.1039/c2gc35400d.
- Panić, M., Gunjević, V., Cravotto, G., & Radojčić Redovniković, I. (2019). Enabling technologies for the extraction of grape-pomace anthocyanins using natural deep

- eutectic solvents in up-to-half-litre batches Extraction of grape-pomace anthocyanins using NADES. *Food Chemistry*. 300. 125185. doi:10.1016/j.foodchem.2019.12518.
- Pantelidis, G., Vasilakakis, M., Manganaris, G., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 102 (3). 777–783. doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.02
- Paradiso, V. M., Squeo, G., Pasqualone, A., Caponio, F., & Summo, C. (2019). An easy and green tool for olive oils labelling according to the contents of hydroxytyrosol and tyrosol derivatives: Extraction with a natural deep eutectic solvent and direct spectrophotometric analysis. *Food Chemistry*. 291. 1-6. doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.139.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C., Tiwari, B.K., 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*. 21. 3-11.
- Pavlović, A. V., Papetti, A., Zagorac, D. Č. D., Gašić, U. M., Mišić, D. M., Tešić, Ž. L., & Natić, M. M. (2016). Phenolics composition of leaf extracts of raspberry and blackberry cultivars grown in Serbia. *Industrial Crops and Products*. 87.304–314. doi:10.1016/j.indcrop.2016.04.052.
- Pedersen, J. A., Schweitzer, L. E., Lin, C.-H. M., & Suffet, I. H. (2002). Effect of oxic state on nonpolar organic contaminant distribution, mobility, and bioavailability in estuarine sediments. *Israel Journal of Chemistry*. 42 (1). 109–118. doi:10.1560/569q-nh11-lxpm-kh1q.
- Perna, F. M., Vitale, P., & Capriati, V. (2020). Deep eutectic solvents and their applications as green solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 21. 27–33. doi:10.1016/j.cogsc.2019.09.004.
- Pena-Pereira, F., & Namieśnik, J. (2014). Ionic liquids and deep eutectic mixtures: Sustainable solvents for extraction processes. *ChemSusChem*. 7. 1784-1800. doi:10.1002/cssc.201301192.
- Płotka-Wasyłka, J., de la Guardia, M., Andruch, V., & Vilková, M. (2020). Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences. *Microchemical Journal*. 159. 105539. doi:10.1016/j.microc.2020.105539
- Qin, B., Liu, X., Cui, H., Ma, Y., Wang, Z. ve Han, J. 2017. Aqueous two-phase assisted by ultrasound for the extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 47 (9). 881-888.
- Qiu, G., Wang, D., Song, X., Deng, Y., & Zhao, Y. (2018). Degradation kinetics and antioxidant capacity of anthocyanins in air-impingement jet dried purple potato slices. *Food Research International*. 105.121–128. doi:10.1016/j.foodres.2017.10.050.
- Ranjan, A., Dawn, S. S., Nirmala, N., Santhosh, A., & Arun, J. (2022). Application of deep eutectic solvent in biodiesel reaction: RSM optimization, CI engine test, cost analysis and research dynamics. *Fuel*. 307. 121933. doi:10.1016/j.fuel.2021.121933.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 (9). 1231-1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rein, M. (2005). *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins*. Unpublished Ph.D thesis. University of Helsinki, Helsinki.

- Reyes-Carmona, J., Yousef, G. G., Martínez-Peniche, R. A., & Lila, M. A. (2005). Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *Journal of Food Science*. 70 (7). s497–s503. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb11498.x.
- Romero, A., Santos, A., Tojo, J., & Rodríguez, A. (2008). Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. *Journal of Hazardous Materials*. 151. 268-273. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.10.079.
- Rubinskiene, M., Jasutiene, I., Venskutonis, P. R., & Viskelis, P. (2005). HPLC determination of the composition and stability of blackcurrant anthocyanins. *Journal of Chromatographic Science*. 43 (9). 478–482. doi:10.1093/chromsci/43.9.478.
- Rutz, J.K., Voss, G. B., & Zambiasi, R. C. (2012). Influence of the degree of maturation on the bioactive compounds in blackberry (*Rubus* spp.) cv. Tupy. *Food and Nutrition Sciences*. 3. 1453-1460. doi:10.4236/fns.2012.310189.
- Saha, S. K., Dey, S., & Chakraborty, R. (2019). Effect of choline chloride-oxalic acid based deep eutectic solvent on the ultrasonic assisted extraction of polyphenols from *Aegle marmelos*. *Journal of Molecular Liquids*. 287.110956. doi:10.1016/j.molliq.2019.110956.
- Santos, J. S., Brizola, V. R., & Granato, D. (2017). High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: a proposal and application. *Food Chemistry*. 214. 515-522. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.091.
- Sánchez-Velázquez, O. A., Cortés-Rodríguez, M., Milán-Carrillo, J., Montes-Ávila, J., Robles-Bañuelos, B., del Ángel, A. S., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Rangel-López, E. (2020). Anti-oxidant and anti-proliferative effect of anthocyanin enriched fractions from two Mexican wild blackberries (*Rubus* spp.) on HepG2 and glioma cell lines. *Journal of Berry Research*. 10 (3). 513-529. doi:10.3233/jbr-200566.
- Sellappan S., Akoh C. C., & Krewer G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. 2432-2438.
- Sensoy, R. I. G., Gundogdu, M., Sensoy, S., Celik, F., & Dogan, A. (2015). HPLC analysis of blackberry fruits for organic acid and sugar contents. *Acta Horticulturae*. 1089. 77–81. doi:10.17660/actahortic.2015.1089.
- Shafie, M. H., Yusof, R., & Gan, C.-Y. (2019). Deep eutectic solvents (DES) mediated extraction of pectin from *Averrhoa bilimbi*: Optimization and characterization studies. *Carbohydrate Polymers*. 216. 303–311. doi:10.1016/j.carbpol.2019.04.007.
- Shang, X., Tan, J.-N., Du, Y., Liu, X., & Zhang, Z. (2018). Environmentally-friendly extraction of flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) iljinskaja leaves with deep eutectic solvents and evaluation of their antioxidant activities. *Molecules*. 23 (9). 2110. doi:10.3390/molecules23092110
- Shi, Y., Xiong, D., Zhao, Y., Li, T., Zhang, K., & Fan, J. (2020). Highly efficient extraction/separation of Cr (VI) by a new family of hydrophobic deep eutectic solvents. *Chemosphere*. 241. 125082. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125082.
- Silva, N. L., Crispim, J. M. S., & Vieira, R. P. (2017). Kinetic and thermodynamic analysis of anthocyanin thermal degradation in acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) Pulp. *Journal of Food Processing & Preservation*, 41 (4).e13053. doi:10.1111/jfpp.13053.
- Singleton, V. and Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolic compounds with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16.144-158.

- Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. (2006). Identification of Ellagic acid in blackberry juice sediment. *Journal of Food Science*. 70 (3). C189–C197. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb07124.x.
- Shahbaz, K., Mjalli, F. S., Hashim, M. A., & AlNashef, I. M. (2011). Using deep eutectic solvents based on methyl triphenyl phosphonium bromide for the removal of glycerol from palm-oil-based biodiesel. *Energy and Fuels*. 25 (6). 2671–2678. doi:10.1021/ef2004943
- Skarpalezos, D., & Detsi, A. (2019). Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources. *Applied Sciences*. 9. 4169. doi:10.3390/app9194169.
- Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications", *Chemical Reviews*. 114. 11060-11082. doi:10.1021/cr300162p.
- Stajčić, S. M., Horecki, A. T., Djilas M. S., Šumić M. Z., Čanadanović-Brunet M. J., Četković S. G., Jelena V., Vesna, T. Š. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. *Acta Periodica Technologica*. 43 (43). 93. DOI:10.2298/APT1243093S
- Strack, D., & Wray, V. (1989). Anthocyanins. *Plant Phenolics*. 1.325–356. doi:10.1016/b978-0-12-461011-8.50015-9.
- Sui, X., Yap, P. Y., & Zhou, W. (2015). Anthocyanins during baking: Their degradation kinetics and impacts on color and antioxidant capacity of bread. *Food and Bioprocess Technology*. 8 (5). 983–994. doi:10.1007/s11947-014-1464-x.
- Sui, X., & Zhou, W. (2014). Monte Carlo modelling of non-isothermal degradation of two cyanidin-based anthocyanins in aqueous system at high temperatures and its impact on antioxidant capacities. *Food Chemistry*. 148.342–350. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.06.
- Surya, M. I., Suhartati, S., Ismaini, L., Lusini, Y., Destri, D., Anggraeni, D., Normasiwi, S., Asni, Sidiq, N., M. A. B. (2018). Fruit nutrients of five species of wild raspberries (*Rubus* spp.) from Indonesian Mountain's forests. *The Journal of Tropical Life Science*. 8 (1). 75-80.
- Svigelj, R., Dossi, N., Grazioli, C., & Toniolo, R. (2021). Deep eutectic solvents (DESs) and their application in biosensor development. *Sensors*. 21(13). 4263. doi:10.3390/s21134263
- Swanston-Flat S. K., Day C., Bailey C. J., & Flatt P. R. (1990). Traditional plant treatment for diabetes: Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*. 33. 462–464.
- Tagliacuzzi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*. 120 (2). 599–606. doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.03
- Tambun, R., Alexander, V., Ginting, Y., 2021. Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 1122. 012095.
- Tan, Y. T., Ngoh, G. C., & Chua, A. S. M. (2018). Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch. *Industrial Crops and Products*. 123. 271–277. doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.091.
- Tang, B., Zhang, H., & Row, K. H. (2015). Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples. *Journal of Separation Science*. 38(6). 1053–1064. doi:10.1002/jssc.201401347.

- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Patras, A., Brunton, N., & Cullen, P. J. (2009). Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*. 228. 717–724. doi:10.1007/s00217-008-0982-z.
- Tong, X., Yang, J., Zhao, Y., Wan, H., He, Y., Zhang, L., Wan, H., Li, C. (2021). Greener extraction process and enhanced in vivo bioavailability of bioactive components from *Carthamus tinctorius* L. by natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 348. 129090. doi:10.1016/j.foodchem.2021.12909.
- Torres, B., Tiwari, B. K., Patras, A., Cullen, P. J., Brunton, N., & O'Donnell, C. P. (2011). Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processed blood orange juice during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12 (2).93–97. doi:10.1016/j.ifset.2011.01.005.
- Tosun, T., Sule Ustun, N., Tekguler, B. (2008). Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. *Scientia Agricola*.65 (1). 87-90.
- Trouillas, P., Sancho-García, J. C., De Freitas, V., Gierschner, J., Otyepka, M., & Dangles, O. (2016). Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. *Chemical Reviews*. 116 (9). 4937–4982. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00507.
- Tsuda T., Horio F., Uchida K., Aoki H., & Osawa T. (2003). Dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Journal of Nutrition*. 133.2125-2130.
- Türker, D. A. and Doğan, M. (2021). Application of deep eutectic solvents as a green and biodegradable media for extraction of anthocyanin from black carrots. *LWT - Food Science and Technology*, 138, 110775.
- Velásquez, P., Bustos, D., Montenegro, G., & Giordano, A. (2021). Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins using natural deep eutectic solvents and their incorporation in edible films. *Molecules*. 26 (4). 984. doi:10.3390/molecules26040984.
- Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Wartono, M. W., Munawaroh, H., & Ramelan, A. H. (2017). The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 193.012047. doi:10.1088/1757-899x/193/1/012047.
- Wan Mahmood, W. M. A., Lorwirachsutee, A., Theodoropoulos, C., Gonzalez-Miquel, M. (2019). Polyol-based deep eutectic solvents for extraction of natural polyphenolic antioxidants from *Chlorella vulgaris*. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 7. 5018–5026.
- Wang, T., Wei, J., Liu, H., Feng, Y., Tang, X., Zeng, X., Sun, Y., Lei, T., & Lin, L. (2020). Synthesis of renewable monomer 2, 5-bishydroxymethylfuran from highly concentrated 5-hydroxymethylfurfural in deep eutectic solvents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*.81.93-98. doi:10.1016/j.jiec.2019.08.057.
- Wang, J., Lian, P., Yu, Q., Wei, J., & Kang, W. (2017). Antithrombotic mechanism of polysaccharides in blackberry (*Rubus* spp.) seeds. *Food & Nutrition Research*. 61 (1). 1379862. doi:10.1080/16546628.2017.1379862.
- Wang W-D., & Xu S-Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*. 82. 271–275.
- Wei, Z., Qi, X., Li, T., Luo, M., Wang, W., Zu, Y., & Fu, Y. (2015). Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography. *Separation and Purification Technology*. 149. 237-244.

- Wu, L., Li, L., Chen, S., Wang, L., & Lin, X. (2020). Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*. 247.117014. doi:10.1016/j.seppur.2020.117014.
- Wu, Y., Wang, Y., Zhang, W., Han, J., Liu, Y., Hu, Y., & Ni, L. (2014). Extraction and preliminary purification of anthocyanins from grape juice in aqueous two-phase system. *Separation and Purification Technology*. 124. 170–178. doi:10.1016/j.seppur.2014.01.025.
- Wu, X., Liang, L., Zou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F. ve Yang, L. (2011). Aqueous two-phase extraction, identification and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.). *Food Chemistry*. 129 (2).443-453.
- Xie, P., Zhang, Y., Wang, X., Wei, J., & Kang, W. (2017). Antithrombotic effect and mechanism of *Rubus* spp. Blackberry. *Food and Function*. 8 (5). 2000–2012. doi:10.1039/c6fo01717g.
- Xu, G.-C., Ding, J.-C., Han, R.-Z., Dong, J.-J., Ne, J. (2015). Enhancing cellulose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation. *Bioresource Technology*. 203. 364–369. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.002.
- Xue, H., Tan, J., Li, Q., Tang, J., & Cai, X. (2020). Optimization ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of anthocyanins from raspberry using response surface methodology coupled with genetic algorithm. *Foods*. 9 (10). 1409. doi:10.3390/foods9101409.
- Yang, X., Yang, L., & Zheng, H. (2010). Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry (*Morus alba* L.) fruit in hyperlipidaemia rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (8-9). 2374–2379. doi:10.1016/j.fct.2010.05.074.
- Yılmaz, K. U., Zengin, Y., Ercisli, S., Serce, S., Gunduz, K., Sengul, M. & Asma, B. M. (2009). Some selected physico-chemical characteristics of wild and cultivated blackberry fruits (*Rubus fruticosus* L.) from Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*. 14 (1). 4152-4163.
- Yu, S.; Hao, C.; Liu, Y. Z.; Chen, H.; Cheng, Y.; Xue, F. M. (2020). Determination and correlation of solubility data and dissolution thermodynamic data for 2-acrylamido-2-methyl-1-propane-sulfonic acid in seven pure solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 37. 297–305.
- Zannou, O., Pashazadeh, H., Ghellam, M., Koca, I., & Ibrahim, S. A. (2022a). Extraction of anthocyanins from borage (*Echium amoenum*) flowers using choline chloride and a glycerol-based, deep eutectic solvent: optimization, antioxidant activity, and *in vitro* bioavailability. *Molecules*. 27. 134. doi:10.3390/molecules27010134.
- Zannou, O., Pashazadeh, H., Ghellam, M., Koca, I., Ait Kaddour, A., & Leriche, F. (2022b). Appraisal of phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* gastrointestinal digestion of borage (*Echium amoenum*) flowers using natural deep eutectic solvent (NADES). *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-022-02739-z.
- Zannou, O., Pashazadeh, H., Galanakis, C. M., Alamri, A., & Koca, I. (2022c). Carboxylic acid-based deep eutectic solvents combined with innovative extraction techniques for greener extraction of phenolic compounds from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 30. 100380. doi:10.1016/j.jarmap.2022.100380.
- Zannou O., Pashazadeh H., Ghellam M., Ibrahim S.A. Koca I., & Galanakis C.M. (2022d). Green and highly extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from kinkeliba (*Combretum micranthum* G. Don) by natural deep eutectic solvents

- (NADESs) using maceration, ultrasound-assisted extraction and homogenate-assisted extraction. *ArabianJournalofChemistry*. 15 (5). 103752. doi:10.1016/j.arabjc.2022.103752.
- Zannou, O., & Koca, I. (2020). Optimization and stabilization of the antioxidant properties from Alkanet (*Alkanna tinctoria*) with natural deep eutectic solvents. *Arabian Journal of Chemistry*.13. 6437-3450. doi:10.1016/j.arabjc.2020.06.002.
- Zannou, O., Koca, I., Aldawoud, T. M. S., & Galanakis, C. M. (2020). Recovery and stabilization of anthocyanins and phenolic antioxidants of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) with hydrophilic deep eutectic solvents. *Molecules*.25 (16). 3715. doi:110.3390/molecules25163715.
- Zhang, Y., Liao, X., Ni, Y., Wu, J., Hu, X., Wang, Z., & Chen, F. (2007). Kinetic analysis of the degradation and its color change of cyanidin-3-glucoside exposed to pulsed electric field. *European Food Research and Technology*. 224(5). 597–603. doi:10.1007/s00217-006-0343-8.
- Zhao, C., Wei, L., Yin, B., Liu, F., Li, J., Liu, X., Wang, J., & Wang, Y. (2020a). Encapsulation of lycopene within oil-in-water nanoemulsions using lactoferrin: Impact of carrier oils on physicochemical stability and bioaccessibility. *International Journal of Biological Macromolecules*. 153. 912-920.
- Zhao, X., Zhang, X., Tie, S., Hou, S., Wang, H., Song, Y., Rai, R., & Tan, M. (2020b). Facile synthesis of nano-nanocarriers from chitosan and pectin with improved stability and biocompatibility for anthocyanins delivery: An *in vitro* and *in vivo* study. *Food Hydrocolloids*. 109. 106114. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106114.
- Zhou, P., Wang, X., Liu, P., Huang, J., Wang, C., Pan, M., & Kuang, Z. (2018). Enhanced phenolic compounds extraction from *Morus alba* L. leaves by deep eutectic solvents combined with ultrasonic-assisted extraction. *Industrial Crops and Products*. 120. 147-154. doi:10.1016/j.indcrop.2018.04.071.
- Zhou, M., Chen, Q., Bi, J., Wang, Y., & Wu, X. (2017). Degradation kinetics of cyanidin 3-O-glucoside and cyanidin 3-O-rutinoside during hot air and vacuum drying in mulberry (*Morus alba* L.) fruit: A comparative study based on solid food system. *Food Chemistry*. 229.574–579. doi:10.1016/j.foodchem.2017.02.13.
- Zia-Ul-Haq M., Riaz M., De Feo V., Jaafar H. Z. E., & Moga M. (2014). *Rubus Fruticosus* L.: Constituents, biological activities and health related uses. *Molecules*. 19. 10998-11029. doi:10.3390/molecules190810998.
- Zielinski, A. A. F., Goltz, C., Yamato, M. A. C., Ávila, S., Hirooka, E. Y., Wosiacki, G., Nogueira, A., Demiate, I. M. (2015). Blackberry (*Rubus* spp.): influence of ripening and processing on levels of phenolic compounds and antioxidant activity of the “Brazos” and “Tupy” varieties grown in Brazil. *Ciência Rural*. 45 (4). 744–749. doi:10.1590/0103-8478cr20120715.
- Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., Pedisić, S., Kurtanjek, Ž., & Garofulić, I. E. (2014). Heat-Induced Degradation of Antioxidants in Marasca Paste. *Food Technology and Biotechnology*.52(1). 101-108.
- Zuo, M., Le, K., Feng, Y., Xiong, C., Li, Z., Zeng, X., Tang, X., Sun, Y., & Lin, L. (2018). An effective pathway for converting carbohydrates to biofuel 5-ethoxymethylfurfural via 5-hydroxymethylfurfural with deep eutectic solvents (DESs). *Industrial Crops and Products*. 112. 18–23. doi:10.1016/j.indcrop.2017.11.001.doi:10.1016/j.seppur.2015.05.015.

ÖZ GEÇMİŞ

Oscar ZANNOU, liseyi Benin’de bitirdikten sonra Ulusal Ziraat Üniversitesi, Kétou (Benin), Ziraat Fakültesi, Beslenme ve Gıda Bilimleri bölümünden 13.04.2013 tarihindedezunoldu. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi, 03.11.2017 tarihte bitirdi. 2017 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı doktora programına başladı.Oscar ZANNOU,iyi derecede Fon (Anadil), İngilizce, Fransızca ve Türkçe bilmektedir.

İletişim bilgileri

ORCID ID:<http://orcid.org/0000-0003-1227-1265>

Yayımlar:

- 1- Zannou, O., Pashazadeh, H., Ghellam, M., Koca, I., Ait Kaddour, A., Leriche, F. (2022). Appraisal of phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro gastrointestinal digestion of borage (*Echium amoenum*) flowers using natural deep eutectic solvent (NADES). *Biomass Conversion Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02739-z>
- 2- Ozdemir, Z., Zannou, O., Koca, I. (2022). Assessment of the aluminium contents of black tea and black tea infusions. *Discover Food*, 2, 13.<https://doi.org/10.1007/s44187-022-00014-8>
- 3- Zannou, O., Pashazadeh, H., Galanakis, C. M., Alamri, A., Koca, I. (2022). Carboxylic acid-based deep eutectic solvents combined with innovative extraction techniques for greener extraction of phenolic compounds from sumac (*Rhus coriaria* L.).*Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 100380. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100380>
- 4- Çakır, D. K., Zannou, O., Koca, I. (2022). Scopoletin contents and antioxidant properties of some edible plants of Black Sea regions. *Discover Food*, 2, 7.<https://doi.org/10.1007/s44187-022-00010-y>
- 5- Zannou O., Koca, I. (2022). Greener extraction of anthocyanins and antioxidant activity from blackberry (*Rubus* spp) using natural deep eutectic solvents.*LWT-Food Science and Technology*, 158, 113184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113184>

- 6-** Zannou O., Pashazadeh H., Ghellam M., Ibrahim S.A. Koca I., Galanakis C.M. (2022). Green and highly extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from kinkeliba (*Combretum micranthum* G. Don) by natural deep eutectic solvents (NADESs) using maceration, ultrasound-assisted extraction and homogenate-assisted extraction. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(5), 103752. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103752>
- 7-** Zannou O., Pashazadeh H., Ibrahim S.A., Ibrahim S.A. Koca I. (2022). Extraction of anthocyanins from borage (*Echium amoenum*) flowers using choline chloride and a glycerol-based, deep eutectic solvent: optimization, antioxidant activity, and in vitro bioavailability. *Molecules*, 27, 134. <https://doi.org/10.3390/molecules27010134>
- 8-** Zannou O., Agossou D.J., Miassi Y., Agani O.B., Aisso M.D., Chabi I.B., Kpoclou Y.E., Azokpota P., Koca I. (2022). Traditional fermented foods and beverages: Indigenous practices of food processing in Benin Republic. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 27, 100450. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100450>
- 9-** Özdemir N., Pashazadeh H., Zannou O., Koca I. (2021). Phytochemical content, and antioxidant activity, and volatile compounds associated with the aromatic property, of the vinegar produced from rosehip fruit (*Rosa canina*). *LWT- Food Science and Technology*, 154(7), 112716.
- 10-** Pashazadeh H., Özdemir N., Zannou O., Koca I. (2021). Antioxidant capacity, phytochemical compounds, and volatile compounds related to aromatic property of vinegar produced from black rosehip (*Rosapimpinellifolia* L.) juice. *Food Bioscience*, 44, 101318. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101318>
- 11-** Ghellam M., Zannou O., Galanakis C.M., Aldawoud T.M.S., Ibrahim S.A., Koca I. (2021). Vacuum-assisted osmotic dehydration of autumn olive berries: Modeling of mass transfer kinetics and quality assessment. *Foods*, 10(10), 2286. <https://doi.org/10.3390/foods10102286>
- 12-** Pashazadeh H., Zannou O., Galanakis C.M., Aldawoud T.M.S., Ibrahim S.A., Koca I. (2021). Optimization of drying process for *Rosapimpinellifolia* L. fruit (black rose hips) based on bioactive compounds and modeling of drying process. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 1367-1386. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.19>

- 13-** Pashazadeh H., Zannou O., Ghellam M., Koca I., Galanakis C.M., Aldawoud T.M.S. (2021). Optimization and encapsulation of phenolic compounds extracted from maize waste by freeze-drying, spray-drying, and microwave-drying using maltodextrin. *Foods*, 10(6), 1396. <https://doi.org/10.3390/foods10061396>
- 14-** Zannou O., Pashazadeh H., Ghellam M., Hassan A. M. A., Koca I. (2021). Optimization of drying temperature for the assessment of functional and physical characteristics of autumn olive berries. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15658. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15658>
- 15-** Ghellam M., Zannou O., Pashazadeh H., Galanakis C.M., Aldawoud T.M.S., Ibrahim S. A., Koca I. (2021). Optimization of osmotic dehydration of autumn olive berries using response surface methodology. *Foods*, 10(5), 1075. <https://doi.org/10.3390/foods10051075>
- 16-** Pashazadeh H., Zannou O., Koca I. (2020). Modeling and optimization of drying conditions of dog rose for preparation of a functional tea. *Journal Food Process Engineering*, 44(3), e13632. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13632>
- 17-** Pashazadeh H., Zannou O., Koca I. (2020). Modeling of drying and rehydration kinetics of *Rosa pimpinellifolia* fruits: Toward formulation and optimization of a new tea with high antioxidant properties. *Journal Food Process Engineering*, 44(10), e13486. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13486>
- 18-** Zannou O., Koca I. (2020). Optimization and stabilization of the antioxidant properties from Alkanet (*Alkanna tinctoria*) with natural deep eutectic solvents. *Arabian Journal of Chemistry*, 13, 6437-6450.
- 19-** Zannou O., Koca I., Aldawoud T. M. S., Galanakis C. M. (2020). Recovery and stabilization of anthocyanins and phenolic antioxidants of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) with hydrophilic deep eutectic solvents. *Molecules*, 25, 3715. <https://doi.org/10.3390/molecules25163715>
- 20-** Zannou O., Kelebek H., Selli S. (2020). Elucidation of key odorants in Beninese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusions prepared by hot and cold brewing. *Food Research International*, 133, 109133. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109133>
- 21-** Amanpour A., Zannou O., Kelebek H., Selli S. (2019). Elucidation of infusion induced changes in the key odorants and aroma profile of Iranian endemic borage (*Echium amoenum*) herbal tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9), 2607-2616.

Konferanslar / sunumlar

1. Zannou O., Ghellam, M., Pashazadeh H., Koca I. Total phenolic contents and antioxidant activity of some common herbal teas used in Benin Republic. *International Online Conference on Engineering and Natural Sciences*, July 2021.
2. Zannou O., Özkan A., Pashazadeh H., Tunç M.T., Koca I. Antioxidant properties of Gülhatmi (*Alcea apterocarpa* (Fenzl) Boiss) flowers. *International Online Conference on Engineering and Natural Sciences, Turkey*, July 2021.
3. Miassi Y. E., Akdemir S., Zannou O. Impact of soil fertility management method on cereal production: Case of African and Asian countries. *5th International Congress on Natural and Health Sciences, Turkey*, December 2019.
4. Zannou O. and Koca I. Three important plants used to treat anemia in Benin Republic: *Hibiscus sabdariffa*, *Hibiscus acetosella* and *Jatropha gossypifolia*. *5th International Conference on Natural and Engineering Science, Turkey*, August 2019.
5. Zannou O. and Koca I. Importance of the traditional fermented foods in developing countries: Case of Benin Republic. *5th International Conference on Natural and Engineering Science, Turkey*, August 2019.
6. Zannou O. and Koca I. Aroma and bioactive compounds of some medicinal plants' leaves used as traditional tea in Benin Republic. *5th International Agriculture Congress, Turkey* August 2019.
7. Zannou O. and Koca I. Carobbeans (*Ceratonia siliqua* L.): Uses, health benefits, bioactive and aroma compounds. *5th International Agriculture Congress, Turkey*, 2019.
8. Agossou D. J., Zannou O., Tchemadon C. G., Aboudoulaye M. D., Fatondji A., Agossou S., Toukourou Y., Koluman N. Potentials and Challenges for Future Development of Milk Production and Industrial Processing in Republic of Benin. *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology, Turkey*, June 2019.

9. Amanpour A., Zannou O., Kelebek H., Selli S. Effect of three different infusions in aroma compounds of endemic Iranian plant tea obtained from dried violet-blue petals of Borage (*Echium amoenum*). *International Conference on Raw Materials to Processed Foods, Turkey, April 2018.*
10. Guclu G., Amanpour A., Ozkara K.T., Kelebek H., Zannou O., Selli S. Comparison of volatile compounds of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) with two different extraction methods. *International Conference on Raw Materials to Processed Foods, Turkey, April 2018.*

