

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARA MÜRVERDEN (*Sambucus nigra* L.) DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER
İLE BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE BİLEŞENLERİN
KARAKTERİZASYONU

Ruveyda Eymen ALPTEKİN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ruveyda Eymen ALPTEKİN tarafından hazırlanan “**Kara Mürverden (*Sambucus nigra* L.) Derin Ötektik Çözücüler ile Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Bileşenlerin Karakterizasyonu**” adlı tez çalışması 01/12/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Kemal SARIOĞLU
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Erciyes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Zehra ÖZBAŞ
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Kara Mürverden (*Sambucus nigra* L.) Derin Ötektik Çözücüler ile Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Bileşenlerin Karakterizasyonu**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/12/2023).

Ruveyda Eymen ALPTEKİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARA MÜRVERDEN (*Sambucus nigra* L.) DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE BİLEŞENLERİN KARAKTERİZASYONU

Ruveyda Eymen ALPTEKİN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN

Bu çalışmada hem yenilebilir hem de tıbbi bir bitki olan kara mürverin (*Sambucus nigra* L.) kurutulmuş meyveleri, yeşil çözücülerden derin ötektik çözücüler (DÖÇ'ler) kullanılarak ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ile ekstraktlar elde edilmiştir. Hidrojen bağ alıcısı olarak kolin klorür ve 6 farklı hidrojen bağ donörü (sitrik asit, L-askorbik asit, fruktoz, sükroz, etilen glikol, gliserol) ile DÖÇ'ler sentezlenmiştir. DÖÇ ekstraktları, geleneksel organik çözücülerden etanol ve metanol çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktlar ile karşılaştırılmıştır. Antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS), toplam monomerik antosiyanin madde miktarı (pH diferansiyel metodu) ve toplam fenolik madde miktarı (Folin–Ciocalteu) analizleri yapılmıştır. Ayrıca LC-MS/MS yöntemi ile fenolik madde kompozisyonu ve miktarları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre antioksidan aktiviteleri, toplam monomerik antosiyanin madde ve fenolik madde miktarı analizlerinde gliserol bazlı derin ötektik çözücü, ChCl:GLY:Su (1:1:2), etanol çözücüsünden daha iyi sonuçlar vermiştir. Örneğin; toplam fenolik miktarı analizinde ChCl:GLY:Su (1:1:2) DÖÇ'ünde 4,216 mg GAE/g KM iken, %50 etanol-su çözeltisi 3,635 mg GAE/g KM ve metanol çözeltisi 5,014 mg GAE/g KM şeklinde bulunmuştur. LC-MS/MS yöntemiyle, gliserol bazlı DÖÇ'ün (14 adet fenolik madde) metanolden (8 adet fenolik madde) daha çok fenolik madde çeşidini ekstrakte ettiği ve 9 fenolik maddede etanolden daha çok miktarda fenolik madde miktarı ekstrakte ettiği gözlemlenmiştir. DÖÇ ile elde edilen kara mürver ekstraktlarında antosiyaninler (siyanidin-3-rutinosit klorür ve siyanidin-3-O-glukozit), flavonoidler (hesperidin ve kuersetin) ve fenolik asitler (klorojenik asit ve fumarik asit) bol miktarda bulunmuştur. Gliserol bazlı DÖÇ, yeşil çözücülerin çevreye ve insan sağlığına zararlı olan organik çözücülerden etanol ve metanole iyi bir alternatif olabileceğini göstermiştir. İklim değişikliği, çevre kirliliği ve sürdürülebilir yaşam için çevre dostu ürünleri yaygınlaştırmak gerekmektedir.

2023, 56 sayfa

ANAHTAR KELİMELE: *Sambucus nigra* L., Kara mürver, Yeşil çözücüler, Derin ötektik çözücüler

ABSTRACT

Master of Science Thesis

EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPONENTS FROM ELDERBERRY (*Sambucus nigra* L.) WITH DEEP EUTECTIC SOLVENTS AND CHARACTERIZATION OF COMPONENTS

Ruveyda Eymen ALPTEKİN

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Advisor: Asst. Prof. Dr. Seda ÖZGEN

In this study, extracts were obtained from dried fruits of elderberry (*Sambucus nigra* L.), which is both an edible and medicinal plant, by ultrasound-assisted extraction (UAE) using deep eutectic solvents (DESs) from green solvents. DESs were synthesized with choline chloride as the hydrogen bond acceptor and 6 different hydrogen bond donors (citric acid, L-ascorbic acid, fructose, sucrose, ethylene glycol, and glycerol). DES extracts were compared with extracts obtained from conventional organic solvents (ethanol and methanol solvents). Antioxidant activities (DPPH and ABTS), total monomeric anthocyanin substance content (pH differential method), and total phenolic substance content (Folin-Ciocalteu) were analyzed. In addition, phenolic substance composition and amounts were examined by LC-MS/MS method. According to the results obtained, glycerol-based deep eutectic solvent, ChCl:GLY:Water (1:1:2), gave better results than ethanol solvent in the analysis of antioxidant activities, total monomeric anthocyanin, and phenolic substance content. For example; in the analysis of total phenolic content (Folin-Ciocalteu), ChCl:GLY:Water (1:1:2) DES was 4,216 mg GAE/g DM, while 50% ethanol-water solution was 3,635 mg GAE/g DM and methanol solution was 5,014 mg GAE/g DM. With the LC-MS/MS method, it was observed that glycerol-based DES (14 phenolic substances) extracted more phenolic substances than methanol (8 phenolic substances), extracted more phenolic substance amounts in 9 phenolic compounds than ethanol, and showed better performance. Anthocyanins (cyanidin-3-rutinoside chloride and cyanidin-3-O-glucoside), flavonoids (hesperidin), and phenolic acids (chlorogenic acid and fumaric acid) were found abundantly in elderberry extracts obtained by DES. Glycerol-based DES has shown that green solvents can be a good alternative to ethanol and methanol from organic solvents that are harmful to the environment and human health. It is necessary to popularize environmentally friendly products for climate change, environmental pollution, and sustainable life.

2023, 56 pages

Keywords: *Sambucus nigra* L., Elderberry, Green solvents, Deep eutectic solvents

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“Kara Mürverden (*Sambucus nigra* L.) Derin Ötektik Çözücüler ile Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Bileşenlerin Karakterizasyonu” adlı bu çalışma 2020-2023 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’ne “Yüksek Lisans Tezi” olarak sunulmuştur.

Tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Seda ÖZGEN’e katkıları için teşekkür ederim. Ayrıca lisans eğitimi dönemimde söylediği güzel sözleri, tavsiyeleri ve verdiği destek için başta sayın Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü) olmak üzere bütün Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Hocalarıma tüm samimiyetimle teşekkür ederim. Desteklerini hep hissettiğim, fedakarlıkları ve varlıklarıyla bana güç veren başta çok değerli annem olmak üzere bütün aileme, akrabalarım ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ruveyda Eymen ALPTEKİN

Çankırı, Aralık 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	v
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 Yeşil Teknoloji ve Çözücüler	5
2.2.1 Derin ötektik çözücüler.....	8
2.2 Kara Mürver	15
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1 Materyal.....	25
3.2 Yöntem	25
3.2.1 Derin ötektik çözücülerin hazırlanması	25
3.2.2 Kara mürverden ultrasound destekli derin ötektik çözücü ekstraksiyonu ..	27
3.2.3 Biyoaktif analizler	28
3.2.4 LC-MS/MS ile fenolik madde tayini.....	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1 Biyoaktif Analizler	32
4.2 LC-MS/MS ile Fenolik Madde Tayini.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ.....	56

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat Derece
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
ChCl	Kolin klorür
CO ₂	Karbondioksit
G	Gram
K ₂ S ₂ O ₈	Potasyum persülfat
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
N	Normal
Na ₂ HPO ₄	Disodyum fosfat
ng	Nanogram
nm	Nanometre

KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
DAT	Dörtlü amonyum tuzu
DDÖÇ	Doğal derin ötektik çözücü
DÖÇ	Derin ötektik çözücü
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DW	Dry weight (Kuru ağırlık)
EEP	Ekstrakte edilemeyen polifenol
EG	Etilen glikol
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
FW	Fresh weight (Yaş ağırlık)
GAE	Gallik asit eşdeğerleri
GLY	Gliserol
HBA	Hidrojen bağı alıcısı
HBD	Hidrojen bağ donörü
HPLC	High performance liquid chromatography
KE	Kateşin eşdeğerleri
KM	Kuru madde
KMÇ	Kara mürver çiçeği
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry
MDE	Mikroalga destekli ekstraksiyon
pH	Power of hydrogen
PK	Portakal kabuğu
S3G	Siyanidin-3-glukozit eşdeğerleri
SKA	Süperkritik akışkanlar
SUPRAÇ	Supramoleküler çözücüler
TE	Troloks eşdeğerleri
TPC	Total phenolic content (Toplam fenolik içeriği)
UDE	Ultrason destekli ekstraksiyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Yaygın olarak kullanılan yeşil çözücüler (Torres-Valenzuela <i>et al.</i> 2020)	6
Şekil 2.2	DÖÇ yaygın olarak kullanılan HBA ve HBD'lerin kimyasal yapıları (Paive <i>et al.</i> 2014; El Achkar <i>et al.</i> 2021)	9
Şekil 2.3	Kara mürver bitkisi, çiçeği ve meyvesi (Enescu <i>et al.</i> 2016)	15
Şekil 2.4	Kara mürverdeki ana biyoaktif bileşiklerin kimyasal yapıları (Liu <i>et al.</i> 2022)	20
Şekil 3.1	DÖÇ'lerin hazırlanma aşamaları	27
Şekil 4.1	Toplam fenolik madde tespiti için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği ..	32
Şekil 4.2	ABTS aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği ..	33
Şekil 4.3	Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (1)-Kolin klorür:Sitrik Asit, (2)-Kolin klorür:L-Askorbik asit, (3)-Kolin klorür:Fruktoz	39
Şekil 4.4	Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (4)-Kolin klorür:Sükroz, (5)-Kolin klorür:Etilen Glikol, (6)-Kolin klorür:Gliserol	40
Şekil 4.5	Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (7)-Etanol:Saf Su Çözeltisi, (8)-%100 Metanol Çözeltisi	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Antosiyaninler, klorofiller ve karotenoidler açısından zengin olan doğal matrislerin terapötik potansiyelleri üzerine yapılan çalışmalar (Molina <i>et al.</i> 2023)	17
Çizelge 3.1 DÖÇ sentezinde kullanılan bileşenler ve molar oranları (Mišan <i>et al.</i> 2020)	26
Çizelge 3.2 Toplam fenolik madde analizleri için LC-MS/MS çalışma koşulları.....	31
Çizelge 3.3 LC-MS/MS ile fenolikler için uygulanan elüsyon profili.....	31
Çizelge 4.1 Örneklerin biyoaktif analiz sonuçları.....	33
Çizelge 4.2 Örneklerdeki fenolik bileşen kompozisyonu ve miktarları (ng/mL)	38

1. GİRİŞ

Yeşil teknoloji, uçucu organik bileşiklerin atmosfere buharlaşmasına yol açan yüksek uçuculuğa sahip ve doğal toksisite gösteren yaygın organik çözücülerin yerini alacak yeni çözücülerini aktif olarak araştırmaktadır (Paiva *et al.* 2014). Yeşil teknolojiler tehlikeli maddelerin üretimini ve tüketimini azaltmayı, tehlikeli kimyasal üretiminde harcanan enerji miktarını indirmeyi ve yenilenebilir kaynakların kullanımını arttırmayı amaçlamaktadır (Kantar *et al.* 2021).

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, genellikle su/organik çözücü karışımlar ve organik çözücüler ile (metanol, etanol, aseton, kloroform, etil asetat, vb.) katı-sıvı ekstraksiyonuna dayanmaktadır ve bununla birlikte organik çözücüler; toksisite, uçuculuk, parçalanamazlık, yanıcılık, yüksek maliyet gibi bazı dezavantajlara sahip olduğu belirtilmiştir (Clarke *et al.* 2018). Ekstraksiyon çözücülerini esas olarak yenilenemeyen kaynaklardan, özellikle de petrol bazlı elde edilen ve hem insan sağlığına hem de çevreye zararlı olduğundan şüphelenilen uçucu organik bileşiklerden olduğu bilinmektedir (Chemat *et al.* 2019). Ayrıca insanın çevre üzerindeki etkisine ilişkin artan farkındalık, bilim ve endüstri topluluğunun ilgi odağında yeşil ekstraksiyon kavramını öne çıkarmaktadır ve yeşil ekstraksiyon, genelde enerji tüketimini azaltacak alternatif çözücülerin yenilenebilir doğal ürünlerinin kullanımına izin verecek güvenli ve yüksek kaliteli ekstrakt/ürünler sağlayacak ekstraksiyon yöntemlerinin keşfine ve tasarımına dayanmaktadır (Chemat *et al.* 2012).

Son yıllarda dünya çapında çevre sorunlarına yönelik artan bir endişe gözlemlenmekle birlikte, insanlar yaptıkları faaliyetlerinin çevresel boyutu konusunda yüksek bir farkındalık ve sorumluluk sahibi olması gerekmektedir (Armenta *et al.* 2019). Bu nedenle ucuz, kolay bulunabilen, kullanımları güvenli ve "yeşil kimya" olarak adlandırılan fikirle uyumlu alternatif çözücülerin araştırılması önem taşımaktadır (Kowalska *et al.* 2021). İdeal olan adaylar, belirli hedef moleküller için yüksek çözme kapasitesine ve düşük toksisiteye sahip; kolayca biyolojik olarak parçalanabilir ve herhangi bir sağlığa zararlı çevresel etki olmaksızın geri dönüştürülebilir olması gerekmektedir (Chemat *et al.* 2019).

Derin ötektik çözücüler (DÖÇ'ler) belirli amaçlar için tasarlama olanağı sunan benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip geleneksel organik çözücülere yeşil alternatifler olarak, çoğu durumda geleneksel organik çözücülere kıyasla daha yüksek ekstraksiyon verimliliği sağlamıştır (Mišan *et al.* 2020). Çoğunlukla DÖÇ'ler esas olarak hidrojen bağları yoluyla birleşebilen ve katı veya sıvı olabilen bileşiklerin ikili veya daha fazla bileşenlerin karışımları olarak tanımlanmaktadır. Belirli oranlarda bu bileşikler birleştirme kendine ait bileşenlerden daha düşük erime noktalarına sahip ötektik karışımlar ile sonuçlanmaktadır (Paiva *et al.* 2014). DÖÇ'lerin oluşumunda hidrojen bağı alıcısı (HBA) esas olarak kuaterner amonyum veya fosfonyum tuzlarını içerirken, en yaygın hidrojen bağı alıcısı (HBA) olarak amidler, alkoller ve karboksilik asitler kullanılmıştır. Ayrıca şekerler, şeker alkoller ve amino asitler gibi bileşikler de DDÖÇ'lerin hazırlanmasında dikkate alınmaktadır (Dai *et al.* 2013). En yaygın DÖÇ'ler veya DDÖÇ'ler bir hidrojen bağı alıcısı (HBA) olarak kolin klorür (ChCl), hidrojen bağı donörü (HBD) olarak ise karboksilik asitler ve diğer HBD'ler, örneğin; sitrik asit, gliserol, süksinik asit kullanılarak oluşturulmaktadır (Mbous *et al.* 2017; Paiva *et al.* 2014).

Son zamanlarda DDÖÇ'lerin ve ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) gibi yeni yeşil ekstraksiyon tekniklerinin bir kombinasyonu, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda DDÖÇ'lerin ekstraksiyon verimliliğini artırmak için önerilmiştir (Patil *et al.* 2021; Wu *et al.* 2020). UDE; yüksek ekstraksiyon verimliliği, düşük çözücü tüketimi, düşük enerji tüketimi ve kısa süreli tüketim avantajları nedeniyle yeşil bir teknoloji olarak kabul edilmektedir (Kumar *et al.* 2021; Wu *et al.* 2020).

Günümüzde kanser, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklar kontrolsüz serbest radikal üretiminin ve dengesiz bir antioksidan koruma mekanizmasının bir sonucu olarak daha yaygın hale gelmektedir (Ribeiro *et al.* 2020). Çok sayıda bilim adamı polifenollerin dikkate değer aktivitelerine önemsemekte ve bu maddeler fonksiyonel gıdaların yüksek antioksidan aktivitesinden sıklıkla sorumludur (Oniszczuk *et al.* 2016). Antioksidan bileşikler; kanser, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıkların etkili ve sürekli önleyici maddeleri olarak ortaya çıkmakla birlikte bu tür ürünlerin tüketimi gerekli antioksidan miktarını sağlamamakta ve bu nedenle doğal antioksidan bileşiklerle birleştirilmiş

fonksiyonel ürünlerin üretimi daha önemli hale gelmektedir (Ribeiro *et al.* 2020). Fenolik asitler ve flavonoidler gibi fenolik bileşikler, bitkilerin uçucu olmayan kısımlarında bulunan biyoaktif ikincil metabolit olup antimutajenik, antikanser, anti-inflamatuar, antiproliferatif, antimikrobiyal ve antioksidan özellikler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik özellikler göstermişlerdir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Ayrıca bu bileşikler, özellikle gıda uygulamalarında olmak üzere duyu özelliklerinin (örn. renk ve tat) modifikasyonunda da kullanılabilmektedir (Aliakbarian *et al.* 2015; Veberic *et al.* 2009).

Kara mürver (*Sambucus nigra* L.), Adoxaceae familyasına ait olup kuzey yarımküreye özgü, son derece erişilebilir ve bol miktarda bulunan bir bitki olmakla birlikte günümüzde Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'nın subtropikal bölgeleri gibi farklı habitatlarda bulunmaktadır (Fin *et al.* 2008; Młynarczyk *et al.* 2018). Birincil metabolitlerin (şekerler ve organik asitler) içeriği kara mürver meyvesine tipik tatlı ve ekşimtrak tadını verirken, karakteristik aroması farklı uçucu ve fenolik bileşiklerin varlığıyla ilgili olduğu belirtilmiştir (Ferreira *et al.* 2020). Kara mürver; karbonhidratlar, proteinler, yağlar, yağ asitleri, organik asitler, mineraller, vitaminler ve uçucu yağlar gibi besinler açısından zengin olmasının yanı sıra ayrıca potansiyel olarak toksik olan siyanojenik glikozitler içermektedir (Młynarczyk *et al.* 2018). Kara mürver meyvelerinin kullanımı siyanojenik glikozitlerin varlığı nedeniyle bazen sınırlandırılmakla birlikte olgun mürver meyveleri tüketim ve işleme için güvenli olduğu belirtilmektedir, çünkü meyve olgunluk derecesinin artması meyvelerdeki bu bileşiklerin içeriğinin azalmasına neden olmaktadır (Ferreira *et al.* 2020).

Kara mürver takviyeleri 2020'de en çok satan bitkisel takviyeler arasında 2 numara olarak ABD Natural Channel'da sıralanmıştır. Kara mürver satışları 2019 yılı kayıtlarına göre %68,2 artmıştır. (Smith *et al.* 2021).

Yaşam kalitelerini iyileştirmenin ve aynı zamanda sağlık açısından bazı faydalar sağlamanın daha kolay yolu, sağlıklı doğal bileşikleri günlük tüketim ürünlerine dahil etmek olduğundan dolayı bu durum sadece gıda alanında değil aynı zamanda kozmetik ve ilaç endüstrisinde de yeni fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesine yol açmaktadır ve bu

bağlamda polifenoller gibi doğal bileşikler oldukça popüler hale gelmiştir (Ribeiro *et al.* 2020). Polifenoller açısından zengin olan kara mürver (*Sambucus nigra* L.); fonksiyonel gıda, nutrasötik, ilaç endüstrileri ve insanlara potansiyel sağlık yararları nedeniyle son zamanlarda büyük ilgi görmektedir (Ribeiro *et al.* 2019). Kara mürver; geleneksel tıpta terletici, ateş düşürücü ve idrar söktürücü olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Son yıllarda ayrıca antibakteriyel, antiviral, antidepresan, antitümör ve hipoglisemik özelliklere sahip olduğu, vücut yağını, şeker ve lipid konsantrasyonunu azalttığı bulunmuştur. (Młynarczyk *et al.* 2018).

Bu tez çalışmasında kara mürver (*Sambucus Nigra* L.) bitkisinin kurutulmuş meyvelerinden organik çözücülerden daha az toksik, çevre dostu ve yüksek çözme kabiliyeti olan derin ötektik çözücüler (DÖÇ'ler) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ile kara mürver ekstraktları elde edilmiştir. İki adet geleneksel organik çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlar ile karşılaştırılmışlardır. İnsan sağlığına zararı olmayan, daha az maliyetli ve çevre dostu yeşil ekstraksiyon işlemleriyle ürünler üretmek ve yeşil çözücü kullanımını yaygınlaştırmak amaçlanmıştır. Günümüzde uluslararası açıdan da önemli bir sorun olarak kabul edilen iklim değişikliği, çevre kirliliği ve sürdürülebilir bir yaşam için çevre dostu ürünlerin kullanımını artırmak gerekmektedir.

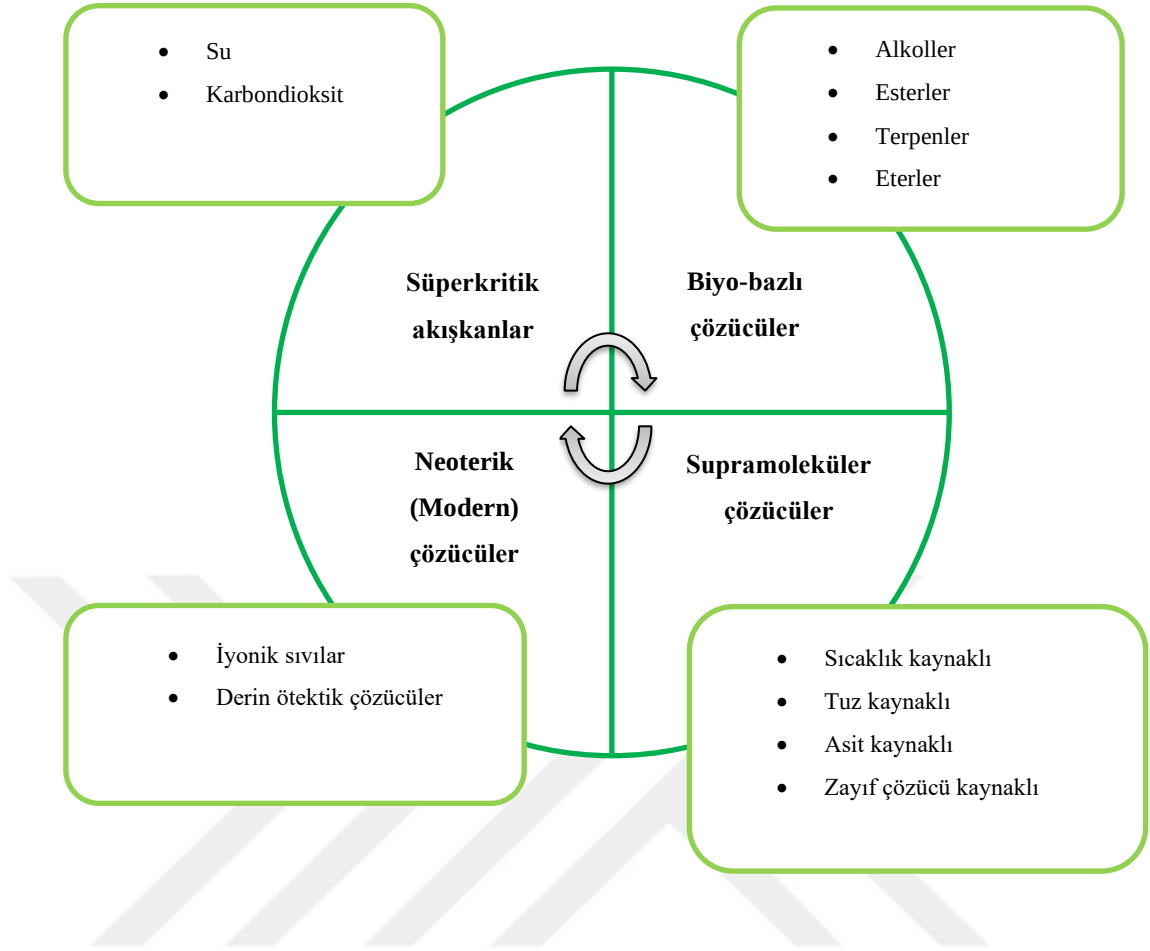
2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Yeşil Teknoloji ve Çözücüler

Yeşil teknoloji, bir eko-sistem üzerindeki uzun ve kısa vadeli etki ile ilgili üretim süreçlerini iyileştirmenin bir yolu olarak tanımlanmaktadır (Choi ve Verpoorte, 2019). Toksik kimyasallardan kaynaklanan kirliliğin azaltılması, endüstriyel süreçlerin daha güvenli ve sürdürülebilir hale getirilmesi ve tüketicilerin ihtiyaç duyduğu “temiz etiketli ürünler” sunulması ihtiyacından dolayı tarım-gıda sektöründe “yeşil kimya” ilkeleri önem kazanmaktadır (Kallel *et al.* 2014). Proses güvenliği, insan sağlığı için potansiyel olarak tehlikeli kimyasalların kullanımından kaçınılması ve atık ürünlerin çevre dostu bir şekilde bertaraf edilmesi günümüzde gerçek üretim maliyetlerinin hesaplanmasında dikkate alınması gereken önemli unsurlar olduğundan dolayı yeşil teknoloji, prosesin önemli bir parçası haline gelmektedir (Choi ve Verpoorte, 2019).

Yeşil çözücüler; toksik olmayan, uçucu olmayan, geri dönüştürülebilir, biyolojik olarak parçalanabilir ve sentezi için yüksek enerji maliyeti gerektirmeyen çözücüler olarak tanımlanmaktadır (Das *et al.* 2017). Yaygın olarak kullanılan bazı yeşil çözücüler Şekil 2.1’de verilmiştir (Torres-Valenzuela *et al.* 2020).

Süperkritik akışkanlar (SKA’lar) hem basınç hem de sıcaklık kritik değerlerinin üzerinde olan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Cabeza *et al.* 2017, Knez *et al.* 2014). SKA’lar gaz-sıvı özellikleri yani gaz benzeri viskozite ve yayılma gücü, sıvı benzeri yoğunluk ve çözünme özellikleri ile karakterize edilmektedir (Knez *et al.* 2014). SKA’ların yoğunluğu, basıncı ve/veya sıcaklığı değiştirerek modifiye edilebilmenin yanı sıra yoğunluk, çözünürlük ile ilişkili olduğundan sıvının çözücü gücü de değiştirilebilmektedir (Herrero *et al.* 2006).



Şekil 2.1 Yaygın olarak kullanılan yeşil çözücüler (Torres-Valenzuela *et al.* 2020)

SKA'lar yaygın olarak, mikro/nanometre boyutlarında tozların üretimi ve organik çözücülerin yerini alacak yeni kimyasal reaksiyonlar (örneğin; petrokimya endüstrisi için tipik katalitik hidrojenasyon reaksiyonlar), kirlenmiş toprakların işlenmesi, liflerin boyanması, ürünlerin fraksiyonlanması, enerji endüstrisi uygulamaları ve biyoyakıt üretimi için endüstride ve bilimsel çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Knez *et al.* 2014). En çok kullanılan SKA'lar su, karbondioksit, helyum, soğutucu akışkanlar ve hidrokarbon yakıtlar olmasıyla birlikte, sağlık ve güvenlik yararları özellikle süperkritik CO₂ ve süperkritik su kullanımında belirgin olduğu belirtilmiştir (Torres-Valenzuela *et al.* 2020).

Biyo-bazlı çözücüler; enerji bitkileri, orman ürünleri, sudaki biyokütle ve atık maddeler gibi yenilenebilir biyokütle kaynaklarından üretilen çözücüler olarak tanımlanmaktadır (Naidu *et al.* 2018). Biyo-bazlı çözücüler, yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesini ve

maksimum geri kazanımını hedefleyen (Vovers *et al.* 2017) bir biyorafineride üretilmektedir (Carmona-Cabello *et al.* 2018). Alkoller (etanol), esterler (etil laktat), gliseroller, terpenler, furfurallar (furfural, furfural alkol, levulinik asit) ve furan bazı biyo-bazlı çözücüler olarak belirtilmiştir (Li *et al.* 2016). Viskozitelerinin düşük olması ekstraksiyon işlemlerinde kullanımlarını kolaylaştırmaktadır ve büyük potansiyellerine rağmen biyorafinerilerin ölçeği hala esas olarak laboratuvar ölçeğinde veya pilot tesislerle sınırlı kalmaktadır (Vovers *et al.* 2017). Ancak biyo-bazlı çözücülerden bazıları ticari olarak mevcut olduğu belirtilmiştir (Torres-Valenzuela *et al.* 2020).

Supramoleküler çözücüler (SUPRAÇ), amfifillerin kolloidal süspansiyonlarına koaservasyon indükleyici bir ajan eklenmesi ile kendiliğinden oluşan nanoyapılı sıvılar olarak tanımlanmaktadır. SUPRAÇ'ın hızlı ekstraksiyon yeteneği, süresiz karakterlerinden (örneğin; koaservat damlacıklarından oluşturulmaları) ve bundan dolayı numuneden SUPRAÇ'a çözünen kütle transferini kolaylaştıran yüksek yüzey alanlarından kaynaklanmaktadır (Ballesteros-Gómez *et al.* 2010). Koaservasyon indüksiyon ajanı (örneğin; organik veya inorganik tuzlar, pH değişiklikleri, amfifil için zayıf bir çözücünün eklenmesi vb.) sonunda daha yoğun veya daha hafif yeni bir sıvı olarak ayrılan kolloidal süspansiyondaki amfifilik agregatların büyümesini kışkırmaktadır ve SUPRAÇ'ın geniş bir polarite aralığında bileşikler aynı anda ekstrakte etme kabiliyeti onları oluşturan supramoleküler agregatlarda mevcut olan farklılık gösteren polarite bölgelerden kaynaklanmaktadır (Ballesteros-Gómez *et al.* 2019). Ekstraksiyon özelliklerine ek olarak, antioksidanların ekstraksiyonu için onları uygun kılan SUPRAÇ'ın önemli işlemsel ayırt edici özellikleri bulunmaktadır. SUPRAÇ, yeşil kimya ilkeleriyle uyumlu düşük enerjili ve çevre dostu işlemlerden elde edilmektedir. Bunun yanı sıra biyoamfifillerden sentezlenebilmektedirler, bu da SUPRAÇ ekstraktlarını nutrasötikler ve kozmetikler gibi uygulamalarla doğrudan uyumlu yapmaktadır (Torres-Valenzuela *et al.* 2020).

Neoterik (modern) çözücüler; yapısal olarak yeni (geleneksel olmayan) ve kimyasal bileşenleri değiştirerek bir uygulama alanı için ince ayarlanabilen genellikle fiziksel ve kimyasal özellikler ile karakterize edilen çözücülere atıfta bulunan bir terim olduğu belirtilmiştir (Gutiérrez-Arnillas *et al.* 2016). Neoterik çözücüler arasında, iyonik sıvılar

ve derin ötektik çözücüler en yüksek ilgiyi görmüştür (Torres-Valenzuela *et al.* 2020). Her ne kadar DÖÇ'ler iyonik sıvılara benzer temel özelliklere sahip olsalar da (örneğin; düşük uçuculuk, yanmazlık, düşük erime noktaları, düşük buhar basıncı, dipolar yapı, kimyasal ve termal stabilite, yüksek çözünürlük ve ayarlanabilirlik), DÖÇ'ler hammadde bulunabilirliği, depolama ve sentez kolaylığı ve başlangıç malzemelerinin düşük maliyeti olması açısından üstün olduğu belirtilmiştir (Mbous *et al.* 2017).

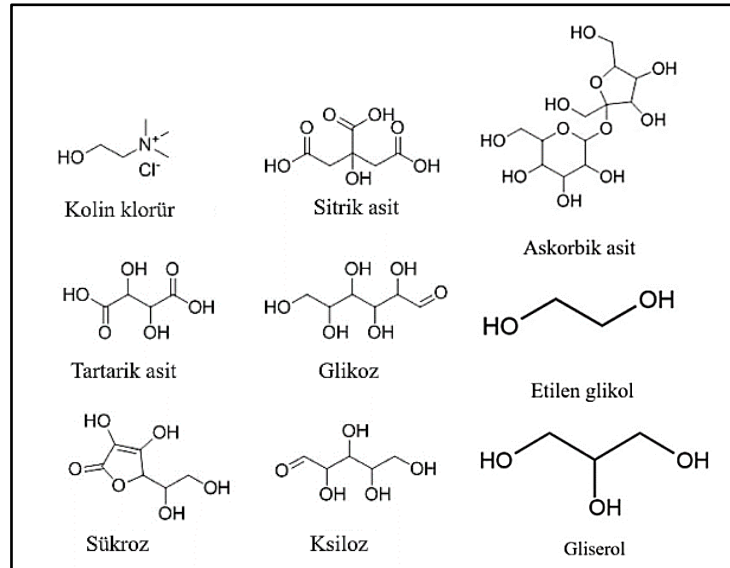
2.2.1 Derin ötektik çözücüler

Son birkaç yıldır modern çözücüler arasında derin ötektik çözücüler (DÖÇ) umut verici alternatifler olarak geleneksel organik çözücülere karşı önemli ölçüde popülaritesi genişlemektedir (Bubalo *et al.* 2015). DÖÇ'ler hammadde bulunabilirliği, başlangıç malzemelerinin düşük maliyeti, depolama ve sentez kolaylığına sahip olması sebebiyle başta kimya, elektrokimyasal ve biyolojik sektörler gibi çeşitli sektörlerde yoğun araştırmaların konusu haline gelmişlerdir ve bugüne kadar, özellikle tıbbi ve biyoteknolojik alanlarda DÖÇ'lerin uygulamaları büyük umut vaat etmektedir (Mbous *et al.* 2017). Bu neoterik(modern) çözücülerin oluşumuyla sonuçlanan kompleksleşme, 21. yüzyılın yeşil prosesleri için arzu edilen ve gerekli olan özellikleri geliştirme yeteneğine sahip olmakla birlikte, çevresel ve ekonomik açılardan DÖÇ'lerin biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, geri dönüştürülebilirlikleri, toksik olmamaları, sürdürülebilirlikleri, düşük maliyetli ve hazırlama kolaylıkları ile ilgili büyük avantajlara sahip olduğu belirtilmiştir (Mbous *et al.* 2017; Paiva *et al.* 2014).

Bu yeni çözücüler;

- İhmal edilebilir uçuculuk,
- 0 °C 'nin çok altında bir sıvı hal,
- Geniş bir polarite aralığı,
- Çok çeşitli bileşikler için yüksek çözünürlük gücü (özellikle suda az çözünen bileşikler),
- Yüksek ekstraksiyon kabiliyeti ve bazı doğal ürünler için yüksek stabilizasyon kabiliyeti ile nitelendirilmektedir (Basar *et al.* 2020).

DÖÇ'ler, tasarlanabilir çözücüler olmasının yanı sıra moleküler etkileşimler (özellikle hidrojen bağları) tarafından oluşturulmaktadır (Silva *et al.* 2019). Genel olarak, onlar bir hidrojen bağı alıcısı (HBA) ve bir hidrojen bağı donöründen oluşmaktadır (HBD) (Şahin, 2019). Şekil 2.2'de bazı HBA ve HBD'lere birkaç örnek verilmiştir (Paive *et al.* 2014; El Achkar *et al.* 2021). DÖÇ'ler biyolojik olarak yenilenebilir başlangıç malzemelerinden elde edilen HBD'lerin kombinasyonları kullanılarak elde edilmekle birlikte bu nedenle bu kategorideki karışımlara doğal derin ötektik çözücü (DDÖÇ) adı verilmektedir (Mbous *et al.* 2017). DDÖÇ'ler, doğal kaynakların birleşiminden oluşan DÖÇ'lerin bir alt kümesi olarak tanımlanmaktadır ve gıda uygulamaları için daha uygun ve daha güvenli kabul edilmektedir (Mişan *et al.* 2020). DDÖÇ'ün stabilizasyon kapasitesi, artan viskozite ile su içeriği azaltılarak ayarlanabilmesinin yanı sıra güçlü stabilizasyon yeteneği, çözünen maddeler ve DDÖÇ molekülleri arasındaki güçlü hidrojen bağı etkileşimlerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır (Dai *et al.* 2014). Tam anlamıyla doğal bileşenlerden (amino asitler, organik asitler, şekerler veya kolin türevleri) oluşan DÖÇ'lere genellikle doğal derin ötektik çözücüler (DDÖÇ'ler) denilmektedir (Kumar *et al.* 2017). DÖÇ veya DDÖÇ sentezlemek için yaygın olarak kullanılan bazı HBA ve HBD'ler Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2 DÖÇ yaygın olarak kullanılan HBA ve HBD'lerin kimyasal yapıları (Paive *et al.* 2014; El Achkar *et al.* 2021)

Hidroksil ve/veya karboksil grupları içeren sistemlerde hidrojen köprüsü oluşumu sık görülen bir olgu olduğundan, ötektik karakter birçok kombinasyonda bilinmektedir ve hidrojen bağlarının gücüne gelince faz geçiş sıcaklığı, belirli bir ötektik çözücünün çözme özellikleri ve kararlılığı ile tam olarak ilişkili olmasının yanı sıra hidrojen bağı oluşturma yeteneği ne kadar güçlü olursa, erime sıcaklığındaki düşüşün o kadar yüksek olduğu pratik bir kural olduğu bildirilmiştir (Francisco *et al.* 2012).

Ötektik çözücü hazırlamak için seçilen bileşiklerin termal kararlılığına bağlı olarak, bunlar genellikle 100 °C'yi aşmayan yüksek bir sıcaklıkta karıştırılması gerektiği ve bu sıcaklık sınırı, düşük enerji tüketimi gerekliliği ile uyumlu olduğu belirtilerek daha yüksek basınçta çalışmak gerek olmadığı bildirilmiştir ve karıştırma sistemi, hava nemi emilimini önlemek için yakın olması ve güçlü higroskopik bileşenlerle çalışılması durumunda kullanılmadan önce kurutulmaları gerekmektedir (de Dios, 2013).

DÖÇ'ler genellikle aşağıdaki dört tipte gruplandırılmaktadır (Abbott *et al.* 2003):

- Tip I - dörtlü amonyum tuzu (DAT) ve metal tuzu
- Tip II - DAT ve metal tuzu hidrat
- Tip III - DAT ve hidrojen bağ donörü (HBD)
- Tip IV - metal tuzu ve HBD

Tip I DÖÇ'ler, çoğunlukla dörtlü amonyum tuzu olmak üzere bir organik tuzla birleştirilmiş metal halojenürlerden (SnCl_2 , ZnCl_2 veya FeCl_3) oluşmaktadır ve bu tipteki DÖÇ'lerin donma sıcaklığı, metal içeren maddelerin oranına bağlı olduğu belirtilmiştir. (Leroy *et al.* 2012; Jones ve Ashby, 2012; Yu *et al.* 1996; Bast *et al.* 2013). Tip II DÖÇ'lerdeki metal tuzlarının hidratları, büyük ölçekli endüstriyel uygulamalarda uygulanmalarına izin veren neme duyarlılık sorunlarını ortadan kaldırmaktadır (Pizzi ve Tekely, 1995). Tip III DÖÇ'ler en sık kullanılan çözücüler olarak bilinmektedir (Davis, 2015). Tip III DÖÇ'ler basit hazırlanan, suyla reaksiyona girmeyen birçok sistemleri düşük maliyetli, biyolojik olarak parçalanabilen, polikarboksilik asitler, poliamitler ve polialkoller içeren bir HBD ve bir organik tuz içeren karışımlar olarak tanımlanmaktadır (Stein *et al.* 1983; Maiti *et al.* 2013; Davis, 2015). İyi bilinen örnekleri [Kolin klorür]-

[Amit/Karboksilik asitleri] içermektedir (Mbous *et al.* 2017). Tip IV DÖÇ'ler organik tuz yerine metal tuzu içermektedir ve ötektik karışım özelliklerinin HBD gücüne, moleküler boyutlarına ve metal halojenürlere bağlı olduğu kanıtlanmıştır (Abbott *et al.* 2003).

DÖÇ'ler, ortaya çıkan yeşil ekstraksiyon teknolojilerinde büyük bir potansiyel göstermiştir ve DÖÇ'lerin önümüzdeki yıllarda endüstriye geniş çapta aktarılması beklenmektedir (Alonso *et al.* 2016).

Derin Ötektik Çözücüler ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Dai *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada yüksek sıcaklık, ışık ve depolama süresi gibi çeşitli koşullar altında su ve %40 etanol çözeltisiyle kıyaslandığında, şeker bazlı DDÖÇ'ün (Glikoz-kolin klorür, sükroz-kolin klorür, prolin-malik asit, laktik asit- glikoz, ksilitol-kolin klorür) aspiden elde edilen doğal pigment kartamin stabilitesini geliştirdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca ortam koşullarında güneş ışığına maruz kaldığında aspir ekstraktındaki kartaminin daha yüksek renk stabilitesi de DDÖÇ'te bulmuşlardır. Fenolik bileşikler için DDÖÇ'ün stabilizasyon yeteneği gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrilerdeki uygulamaları için büyük umut vaat ettiğini belirtmişlerdir.

Bubalo *et al.* (2016) yaptıkları bir çalışmada üzüm kabuğu fenoliklerinin ekstraksiyonu için derin ötektik çözücüler (DÖÇ) kullanarak mikrodalga destekli ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri (sırasıyla MDE ve UDE) ile birlikte beş farklı DÖÇ'ün geleneksel çözücülere kıyasla üzüm kabuğu fenolik bileşiklerinin daha etkili ekstraksiyonu ile sonuçlanan, hidrojen bağı donörü olarak oksalik asit ve %25 su içeren kolin klorür bazlı DÖÇ'ü en umut verici olarak seçmişlerdir. Ayrıca UDE, hem MDE'den hem de gelenekselden daha üstün ekstraksiyon verimliliği ile en iyi ekstraksiyon yöntemi olduğu kanıtlanmıştır.

Ozturk *et al.* (2018) çalışmalarında DÖÇ kullanarak katı-sıvı ekstraksiyonu aracılığıyla portakal kabuğundan (PK) polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve gıda atık biyokütlesinden doğal antioksidanları geri kazanmak için özellikle kolin klorür bazlı DÖÇ ile eşleştirilmiş gliserol (GLY) ve etilen glikol (EG) araştırmışlardır. Kolin klorür

bazlı DÖÇ ile kıyaslanan çözücünden (sulu (aq.) etanol ağırlıkça %30 su) portakal kabuğundan polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için, 1:4 oranında ChCl:EG, en yüksek toplam fenolik içeriği (TPC) (3,61 mg GAE/g PK) ve antioksidan potansiyeli (30,6 µg/ml) sağlayarak daha iyi performans göstermişlerdir. Tek başına EG en yüksek TPC'yi (5,84 mg GAE/g PK) sağlamasına rağmen DÖÇ'ün hedef polifenolik bileşiklere yönelik daha seçici olduğunu kanıtlanmışlardır. Son olarak, *p*-kumarik asit ve gallik asit ardından en bol bulunan bileşik olarak ferulik asidi gösteren yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) aracılığıyla ekstraktlardaki kendine ait polifenolik profillerin miktar tayini ve karakterizasyonu tamamlamışlardır.

Razboršek *et al.* (2020) yaptıkları çalışmada kuru aronyalardan seçilen fenolik bileşiklerin izolasyonu için DDÖÇ'leri geleneksel olarak kullanılan ekstraksiyon çözücülerine yeşil bir alternatif olarak araştırmıştır. HBA olarak kolin klorür ile farklı HBD'leriyle (şekerler, organik asit ve üre) kombinasyon halinde dört tip DDÖÇ sentezlenmiştir. Fenolik bileşiklerin ekstrakte edilebilirliğini arttırmak için UDE kullanılmıştır. Sonuçlar %80 metanol ile elde edilenlerle karşılaştırılmıştır. Toplam fenol ve toplam flavonoidlerin en yüksek değerleri (sırasıyla $36,15 \pm 3,39$ mg gallik asit g⁻¹ kuru ağırlık ve $4,71 \pm 0,33$ mg rutin g⁻¹ kuru ağırlık) kolin klorür-fruktoz DDÖÇ ile elde edilen ekstraktta bulunmuştur. Bireysel fenolik bileşikler için ekstraksiyon geri kazanımları %70 ve %97 arasında bağlı ortalama değerler ile fenolik bileşiğin yapısına güçlü bir şekilde bağlı olduğunu bulmuşlardır.

Timofeeva *et al.* (2020) yaptıkları bir çalışmada et örneklerinin etkili ön işlemi için basit, yüksek oranda erişilebilir ve ucuz bir yaklaşım olan biçimlendirmeye dayalı DÖÇ ilk kez önerilmiştir. Yöntem, homojenize et örneğinde DÖÇ'ün bir HBA (kuaterner amonyum tuzu), ısıtmanın ardından DÖÇ'ün bir HBD (orta zincirli alkol) ile çözünmesini varsaymıştır. Karışımın ısıtılması DÖÇ'ün oluşumunu ve oluşan DÖÇ fazın içine doğru et örneğinden analitlerin ayrılmasını desteklemiştir. Geliştirilen yaklaşımın et örneklerinden (tavuk ve sığır eti) ofloksasin ve fleroksasin ayırımında oldukça etkili olduğu kanıtlanmıştır. 1:2 oranında tetrabutilamonyum bromür ve heptanolden oluşan önceden sentezlenmiş viskoz DÖÇ ile geleneksel ekstraksiyon karşılaştırıldığında

(ekstraksiyon geri kazanımı %33-67), geliştirilen yöntemde analitlerin daha yüksek ekstraksiyon verimi sağladığı (ekstraksiyon geri kazanımı %98-100) gösterilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, biberiyeden (*Rosmarinus officinalis* L.) fenolik içeriğin ultrason destekli ekstraksiyonunda dört kolin klorür bazlı derin ötektik çözücü (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 oksalik asit: kolin klorür (1:1 v/w) ve su (%10 w/w)) kullanmıştır. Karşılaştırma için saf etanol kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktların her biri için antioksidan kapasite ve bozunma kinetiği değerlendirildi. Gliserol içeren DÖÇ ile elde edilen ekstrakt, toplam fenolik bileşikler açısından en düşük değere sahip olmasına rağmen tüm DÖÇ bazlı ekstraktlar, alkol ekstraktından daha yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir (DPPH ve FRAP tahlilleri). Ek olarak bozunma kinetiği tahlili, etanol ekstraktının ekstraktta bulunan fenolik bileşikler arasında en düşük stabilizasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Fenolik bileşiklerin bozunma kinetiği, değerlendirilen tüm ekstraktlar için Weibull modeli tarafından iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Bu nedenle, klorür bazlı derin ötektik çözücülerin özellikle biberiyeden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve stabilizasyonunda organik çözücülerin yerine yeşil çözücüler olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (Barbieri *et al.* 2020).

Plaza *et al.* (2021) çalışmalarında mangostan kabuğundan antioksidan ekstrakte edilemeyen polifenollerin (EEP) ekstraksiyonu için UDE ve DDÖÇ kullanılarak yeşil bir ekstraksiyon metodolojisi geliştirmişlerdir. Mangostan kabuğundan EEP'leri ekstrakte etmek ve en iyi DDÖÇ'i seçmek için 7 adet DDÖÇ çalışmışlardır. Ekstraktlar için antioksidan kapasitesi, toplam fenolik ve proantosiyanidin miktarları belirlenmiştir. Deneysel sonuçlar, kolin klorür-laktik asidin (1:2) ekstraktlarda en yüksek antioksidan proantosiyanidin miktarına olanak sağlayan DDÖÇ olduğunu göstermiştir. UDE'deki ana parametreleri DDÖÇ ile optimize etmek için bir Box-Behnken deneysel tasarımı kullanılmıştır. En uygun ekstraksiyon koşulları, %18,8 (v/v) su, %60 ultrason genliği ve ekstraksiyon süresi olarak 15 dakika bulunmuştur. Ayrıca en uygun ekstraksiyon koşullar altında elde edilen EEP ekstraktlar düşük sitotoksosite gösterdiğinden dolayı mangostan kabuğundan antioksidan EEP'lerin ekstraksiyonu için DDÖÇ'ün UDE ile kombinasyon

halinde kullanımının gıda, farmasötik, zirai kimyasal ve kozmetik alanlarında önemli uygulamalar için sürdürülebilir bir alternatif olabileceğini göstermişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, UDE ile birleştirilmiş DÖÇ'ler klasik uygulamalara alternatif bir yeşil yöntem olarak ele alınmıştır. Kolin klorür bazlı DÖÇ'ler ve bir HBD ile hazırlanmıştır. Geleneksel, UDE ve DÖÇ ekstraksiyon yöntemleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. DÖÇ'ün hazırlanması için en umut verici HBD olarak sitrik asit seçilmiştir. Sonuçlar, 28 gün sonra test edilen tüm DÖÇ'lerin biyolojik olarak parçalanabilirliğinin %80'den yüksek olduğunu göstermiştir. Bu nedenle analizlere dayanarak, analiz edilen tüm DÖÇ'lerin [(kolin klorür- gliserol); (kolin klorür- sitrik asit); (kolin klorür- tartarik asit); (kolin klorür- malik asit); (kolin klorür- fruktoz)] biyolojik olarak bozunabilir yeşil çözücüler olduğu varsayılabilir. Termogravimetrik analiz (TGA), tüm DÖÇ'lerin ve bileşenlerinin tek bir aşamada bozunduğunu ve DÖÇ bileşiminde asit varsa polimerik renk oranının daha düşük olduğunu göstermiştir. Fruktozun termal parçalanmasının diğer numunelere kıyasla daha erken olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, geliştirilen yöntemin antosiyanin ekstraksiyonu için sürdürülebilir, etkili ve yeşil bir yaklaşım olarak kabul edilebileceğini göstermiştir (Türker ve Doğan, 2021).

Qin *et al.* (2022) yaptıkları bir çalışmada limon uçucu yağı deterpenasyonu (terpenlerin uzaklaştırılması) için DÖÇ ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu kullanılmıştır. 7 hidrojen bağı alıcısı (HBA) ile 11 hidrojen bağı donörü (HBD) tarafından oluşturulan 77 tane DÖÇ'ün performansı COSMO-RS modeli kullanılarak değerlendirilmiş ve deneysel olarak doğrulanmıştır. HBA ve HBD yapılarının etkileri araştırılmış ve σ -profil ile açıklanmıştır. 77 tane DÖÇ arasında tetrabutylamonyum bromür ve levulinik asitten oluşan DÖÇ, yani TBAB: LEA (1:2), geleneksel çözücü sulu etanolden daha iyi performans göstermesi nedeniyle seçilmiştir. TBAB: LEA (1:2)'nin doğal limon uçucu yağının deterpenasyonundaki mükemmel performansı, doğal uçucu yağının aşağı akış prosesinde TBAB: LEA (1:2)'nin umut verici bir çözücü olduğunu göstermektedir.

2.2 Kara Mürver

Kara mürver (*Sambucus nigra* L.); Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve ABD'nin çoğu yerinde güneş ışığına maruz kalan yerlerde yetişen yaprak döken bir çalı olarak tanımlanmaktadır (Veberic *et al.* 2009).



Şekil 2.3 Kara mürver bitkisi, çiçeği ve meyvesi (Enescu *et al.* 2016)

6 m yüksekliğe kadar ulaşabilmekte ve yaz başında açan küçük ve beyaz hermafrodit çiçekler (Şekil 2.3), yaz sonunda olgunlaşan koyu mor meyveler gelişmektedir (Veberic *et al.* 2009). Bu bitkinin tüm kısımlarının, özellikle kara mürver meyveleri ve kara mürver çiçeklerinin (karbonhidratlar, lipitler, flavonoidler, fenolik asitler, terpenoidler, alkaloidler vb.) kara mürvere yüksek ticari değer veren besinsel bir fitokimyasal kaynağı olduğu bilinmektedir ve bununla birlikte 1980'lerin başından beri kara mürver Avrupa, ABD, Kanada, Yeni Zelanda ve Şili'deki bazı ülkelerde ekilmiş ve ticarileştirilmiştir (Finn *et al.* 2008).

Kara mürver bitkisi (*Sambucus nigra* L.) birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmıştır ve tıbbi özellikleri polifenollerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Sidor ve Gramza-

Michałowska, 2015). *Sambucus nigra* L., Avrupa'da hem gıda hem de tıbbi bitki olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta, kara mürver bitki çayı olarak tüketilmekte ve gargarası öksürük, grip, boğaz iltihabı gibi solunum yolu hastalıklarında fayda sağlamaktadır (Ağalar *et al.* 2017).

Geleneksel tıpta antioksidan, anti-kanserojen, bağışıklığı güçlendirici, anti-alerjik, anti-viral ve anti-bakteriyel özellikleri sayesinde birçok hastalık ve rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır (Oniszcuk *et al.* 2016). Kara mürver türlerinin bu yönleri son zamanlarda özellikle antioksidan kapasite açısından, doğal korumalar veya gıda takviyeleri gibi gıda uygulamalarında işlev bileşikleri olarak büyük ilgi görmüştür (Ribeiro *et al.* 2020).

Yabani kara mürverdeki C vitamini içeriği, konuma bağlı olarak 13–35 mg/100 g ve 28–34 mg/100 g olarak bulunmuştur (Akbulut *et al.* 2009, Mratinić ve Fotirić, 2007). Ayrıca kara mürver tohumu unu, en yüksek E vitamini biyoaktivitesine sahip olan α -Tokoferol (0,49 μ g/g yağ) ve daha iyi antioksidan potansiyel gösteren γ -Tokoferol (2,63 μ g/g) kaynağı olduğunu belirtmişlerdir (Fazio *et al.* 2013).

Veberic *et al.* (2009) yaptığı bir çalışmada kara mürver meyvesinde dört organik asit tespit etmiştir. Bunlardan en bol bulunanı, içeriği diğer meyvelere göre oldukça yüksek olan sitrik asit (3,08–4,81 g/kg⁻¹ FW), bir sonraki malik asit (0,97–1,31 g/kg⁻¹ FW) ve geri kalan iki asit, şikimik asit (0,14–0,93 g/kg⁻¹ FW) ve fumarik asit (0,10–0,29 g/kg⁻¹ FW) olarak bulmuşlardır.

Tüketici sağlığı üzerindeki yararlı etkileri ve özellikleri ile birlikte renklendirici bileşikler (antosiyantinler, klorofiller ve karotenoidler) açısından zengin doğal matrisler hakkında bazı çalışmalar Çizelge 2.1’de gösterilmektedir (Molina *et al.* 2023).

Çizelge 2.1 Antosiyaninler, klorofiller ve karotenoidler açısından zengin olan doğal matrislerin terapötik potansiyelleri üzerine yapılan çalışmalar (Molina *et al.* 2023)

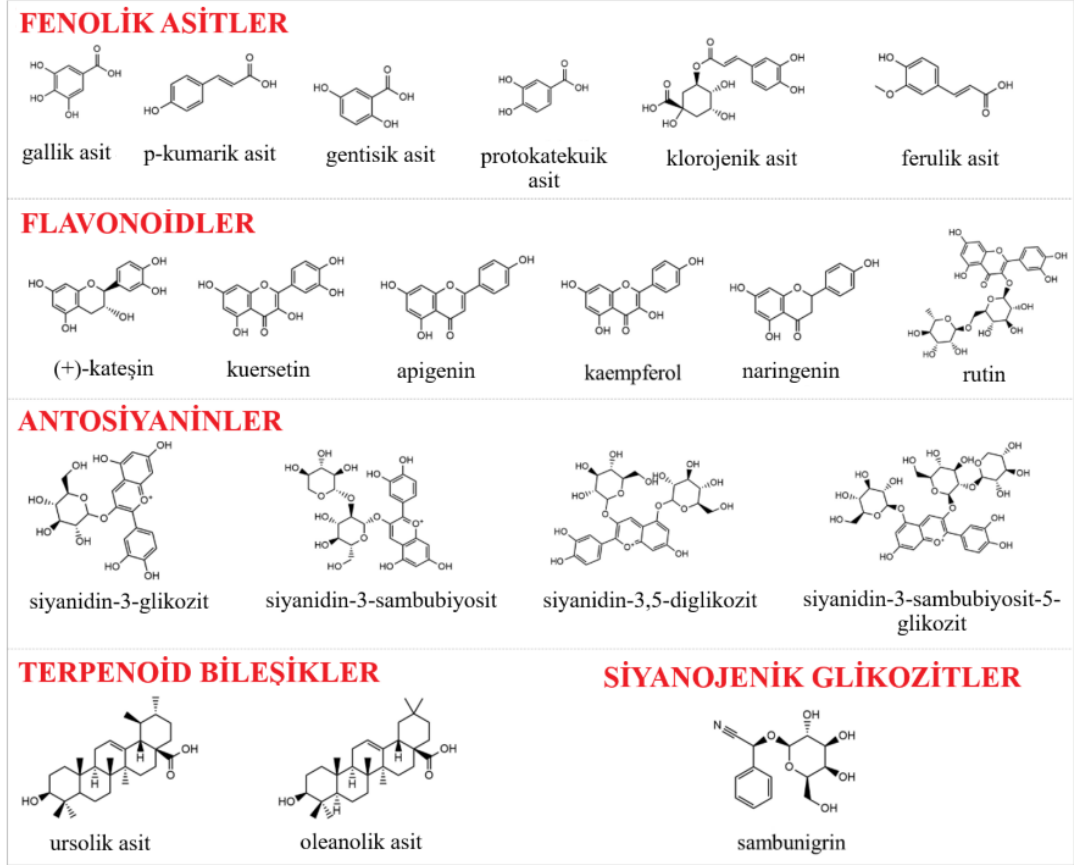
Sağlığı Geliştirici Faydalar	Matris	Kimyasal Bileşik	Kaynak
Hiperglisemi ve hiperürisemi ile mücadele	Kirazlar (<i>Prunus avium</i> L.) ve mor tatlı patates (<i>Ipomoea batatas</i> L.)	Antosiyaninler	(Yang <i>et al.</i> 2022)
	Dut (<i>Morus alba</i> L.)		(Yan <i>et al.</i> 2016)
Antikanser	Marul (<i>Lactuca sativa</i>)	Karotenoidler	(Gopal <i>et al.</i> 2017)
	Yaban mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	Antosiyaninler	(Faria <i>et al.</i> 2010)
	Kara mürver (<i>Sambucus nigra</i> L.), aronya (<i>Aronia meloncarpa</i> E.), yaban mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.), mor yabani havuç (<i>Daucus dacota</i> L.) ve kırmızı turp (<i>Raphanus sativus</i> L.)		(Jing <i>et al.</i> 2008)
Kardiyovasküler hastalıklar	Kara mürver (<i>S. nigra</i>), yaban mersini (<i>V. myrtillus</i>), aronya (<i>A. meloncarpa</i>)	Antosiyaninler	(Bell ve Gochenaur, 2006)
	Kerkede (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)		(Noordin <i>et al.</i> 2020)
	Kırmızı biber (<i>Capsicum annuum</i>)	Karotenoidler	(Aizawa ve Inakuma, 2009)
Göz sağlığı	Yaban mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	Antosiyaninler	(Miyake <i>et al.</i> 2012)
Antioksidan özellikler	Kiraz (<i>Prunus avium</i> Linnaeus (L.))	Antosiyaninler	(Gonçalves <i>et al.</i> 2018)
	Domates (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Karotenoidler	(Rizk <i>et al.</i> 2014)
	Havuç (<i>Daucus carota</i> L.) kabukları		(Chantaro <i>et al.</i> 2008)

Avrupa'da kara mürver meyvesi yüzyıllardır gıda endüstrisinde turta, jöle, reçel, dondurma, yoğurt ve farklı içeceklerin yapımında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Senica *et al.* 2016).

Fenolik asitler ve flavonoidler, taze sıkılmış kara mürver meyve suyunun ana bileşikleri olarak bulunmasıyla birlikte kara mürver, tirozinaz enzimi aktivitesini sınırlandırmış ve NO serbest radikallerini nötralize ederek anti-radikal aktivite ve çok iyi nöroprotektif yetenek sergilemişlerdir. Bu meyve suyunun tüketimi, mikro besin maddelerinin, özellikle de K ve Fe'nin muazzam konsantrasyonlarda bulunması günlük olarak yeterli miktarda alınması için önemli olabileceği düşünülmüşlerdir. Ayrıca, kara mürver meyve suyunun tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğinin olumlu değerlendirilmesi de büyük önem taşımaktadır (Vujanović *et al.* 2020). Vakum kurutma tekniği kullanılarak %10 oranında kara mürver meyve tozu eklenen bisküvilerin duyusal analizi sonucunda daha kabul edilebilir olduğunu belirlemişler ve sonuç olarak farklı tekniklerle kurutularak elde edilen kara mürver meyve tozunun bisküvi üretiminde kullanılması için fiziksel, kimyasal ve duyusal özellikleri yönden uygun olduğu ve son ürünün fonksiyonelliğini geliştirildiği sonucuna ulaşmışlardır (Alıç, 2022). Kara mürver çiçekleri içeren ekstraktta ve %20 oranında kara mürver çiçeği içeren atıştırmalıklardan elde edilen ekstraktta 15 adet polifenol bulunmuştur. Kara mürver çiçekleri eklenmiş mısır atıştırmalıklarında çeşitli özelliklere sahip polifenolikler olduğu tespit edilmiş ve bunların doğal antioksidan kaynağı ve fonksiyonel ürün olarak kronik hastalıkların önlenmesinde kullanılması için büyük potansiyele sahip olduğu belirtmişlerdir (Oniszcuk *et al.* 2019). Antioksidan (poli)fenolikler açısından zengin kekik esansiyel yağı ve kara mürver çiçeği ekstraktı kombinasyonunun somon burgerlerindeki benzer bir etkiye sahip butilhidroksitoluen ile birlikte TBARS değerini azaltabileceğini bildirmişlerdir (Jonušaite *et al.* 2021). Kara mürverin, antioksidanlar ve doğal gıda renklendiriciler olarak kullanılması gibi birçok uygulaması olmasının yanı sıra boyarmaddelerin stabilitesinin ve kara mürver solüsyonlarının renginin pH 3.0'da en iyi durumda olduğu belirterek, yüksek asit içeren gıdaların rengini biçimlendirmek için antosiyaninlerin kullanılmasının tavsiye edilebilir olduğunu öne sürmüşlerdir (Walkowiak-Tomczak *et al.* 2016). Ayrıca dondurularak kurutulmuş kara mürverin doğal renklendiriciler ve değerli bir fonksiyonel içerik olarak kullanılabileceğini öne sürerek, kara mürver tozu ilavesi ile glutensiz

gofretin rengi açıkça değiştirilmiş ve glütensiz gofret tabakaları için daha yüksek toplam flavonoid ve mineral içerikleri bulunmuştur (Rozylo *et al.* 2019). Kara mürver meyveleri ve çiçekleri jöle üretiminde yüksek antioksidan aktiviteye sahip bir boya elde etmek için kullanılmış ve kara mürver meyvesi ve çiçekleriyle karışık boya ilaveli jölelerin, sadece meyve boyası eklenmiş jöleler ile karşılaştırıldığında daha iyi duyusal özelliklere ve antioksidan özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (Małgorzata *et al.* 2019). Kara mürver çiçekleri, meyve suları ve kompostolar yapmak için kullanıldığında geleneksel kara mürver çiçeği suyu genel olarak daha iyi performans göstermiş ve kompostolarına göre daha iyi genel duyusal değerlendirme sonuçları sergilemiştir (Iancu, 2018). Ayrıca kara mürver meyve suyu kruvasanları işlevselleştirmek için kullanılmış ve beslenme özellikleri kontrol grubu kruvasanlarına benzer; ancak antosiyaninlerin bir kısmını tutmuş ve belirgin bir antioksidan aktivite sergilemiştir ve buna ek olarak kara mürver meyve suyu, siyah havuç ticari boyasının eklenmesiyle elde edilen faydaların aynısını sağlayarak kara mürverin endüstriyel düzeyde kullanılma potansiyelini arttırmıştır (Da Silva *et al.* 2019).

Kara mürver yaprakları, çiçekleri ve meyveleri bazı toksik siyanojenik glikozitler içermektedir ve sambunigrin ana siyanojenik glikozitin kimyasal yapıları Şekil 2.4'te verilmiştir (Liu *et al.* 2022). Kara mürver meyvelerindeki siyanojenik glikozitlerin içeriği, mürver yaprakları ve çiçeklerindeki içerikle karşılaştırıldığında en düşük seviyede bulunmuştur (Senica *et al.* 2017). Isıl işlem, toksik siyanojenik glikozitlerin içeriğini açıkça azaltabilmektedir ve sambunigrin içeriği işlenmemiş kara mürver meyvelerinde 18,8 mg/kg'dan mürver suyunda 10,6 mg/kg'a, mürver çayında 2,8 mg/kg'a düşürülmüştür. (Senica *et al.* 2016). Kara mürver parçalarının daha büyük dozlarda yutulması mide bulantısı, kusma, halsizlik ve baş dönmesi gibi mide-bağırsak bozukluklarına neden olabilmektedir (Jimenez *et al.* 2014). Kara mürver çeşitli biyoaktif bileşikler içermesine karşın, tüketilmeden önce faydalı bileşiklerini koruyarak veya biraz azaltarak toksik siyanojenik glikozitleri uzaklaştırmanın etkili bir yolunu bulmak gerekmektedir. (Liu *et al.* 2022).



Şekil 2.4 Kara mürverdeki ana biyoaktif bileşiklerin kimyasal yapıları (Liu *et al.* 2022)

Karbonhidrat açısından kara mürver meyveleri toplam şekerin %7,86–11,50'si ve indirgen şekerin %2,8–8,55'i içermektedir (Młynarczyk *et al.* 2018). Çeşidine ve seçime bağlı olarak kara mürverdeki toplam şeker içeriği 68,53 ile 104,16 g/kg FW arasında değişmiştir (Veberic *et al.* 2009). Tanımlanan ana şekerler glikoz (33,33–50,23 g/kg FW) ve fruktoz (33,99–52,25 g/kg FW) olmasına rağmen sadece küçük miktarlarda sakkaroz (0,47–1,68 g/kg FW) tespit edilmiştir (Vulić *et al.* 2008). Kara mürver meyvesi, ortalama 150–230 g/kg⁻¹ içeren tatlı kirazdan önemli ölçüde daha düşük miktarda şeker içermektedir (Usenik *et al.* 2008). Kara mürver meyvesindeki şeker içerik düzeyi, yaklaşık 90 g l⁻¹ toplam şeker içeren ve aynı zamanda esas olarak işlemede kullanılan vişne meyvesi (*Prunus cerasus* L.) ile kıyaslanabilir düzeyde şeker içermektedir (Bonertz *et al.* 2007; Füzfaı *et al.* 2004). Bununla birlikte, fruktoz ve sakkaroz (sükroz) son ürünlere (örneğin; meyve suları, konsantreler, içecekler) kolaylıkla eklenebildiğinden

kara mürver meyvesindeki şeker miktarı teknolojik prosesin odakta yer alan kimyasal bileşik olmadığını belirtmişlerdir. (Veberic *et al.* 2009).

Kara Mürver ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Domínguez *et al.* (2020) yaptıkları çalışmada antioksidan bileşiklerin bir kaynağı olarak kara mürverin potansiyel kullanımını ve besin değerini karakterize etmeyi amaçlamıştır. Ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu, yanıt yüzey metodolojisi ve istenebilirlik fonksiyonu analizi ile birlikte bir Box-Behnken tasarımı ile tasarlanmıştır. Bağımlı değişkenler ekstraksiyon verimi toplam fenolik ve antosiyanin içeriği, karotenoidler ve antioksidan aktivite iken test edilen proses parametrelerine ekstraksiyon sıcaklığı, etanol yüzdesi ve pH dahil edilmiştir. Kara mürverin liyofilize ve toz haline getirilmiş, %0,1 formik asit içeren %50 sulu metanol (v/v) ile ekstrakte etmişlerdir. Analizler toplam çözünür katılar, proteinler ve çoklu doymamış yağ asitleri (omega-3: 38,12 g/100 g ve omega-6: 39,54 g/100 g yağ asitler) bakımından kara mürverin zengin bir kaynak olduğunu ortaya çıkarmıştır. Fenolik bileşiklerle ilgili olarak, kara mürverlerde flavonoidler (rutin ve kuersetin) ve fenolik asitler (gallik asit ve gentisik asit) bol miktarda bulunmuştur. Son olarak sayısal optimizasyon, en iyi ekstraksiyon parametrelerinin sıcaklık 60 °C, %50 etanol ve pH 2 olduğunu belirtmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada, kimyasal bileşimi ve çeşitli biyolojik aktiviteleri değerlendirilen taze sıkılmış meyve suyu elde etmek için *Sambucus nigra* L. bitki türü kullanılmıştır. En bol bulunan bileşikler fenolik asitler: protokatekuik ve klorojenik asit, yanı sıra flavonoidler: kuersetin-3-O-hekzosit, kuersetin ve rutin olduğu belirtilmiştir. Analiz edilen meyve suyunun toplam fenolik bileşikler (1945 mg GAE/mL meyve suyu) açısından çok zengin ve önemli bir antosiyanin konsantrasyonu (30,85 mg S3GE/mL meyve suyu) olduğu gözlemlenmiştir. Biyoaktivite testi, kara mürver suyunun NO (Nitrik Oksit) serbest radikallerini (53,06 g TE/L meyve suyu) nötralize etme işleminde son derece güçlü bir ajan olduğunu ortaya çıkarırken, aşırı enzim aktivitesini azaltmada en iyi sonucun tirozinaz enziminin inhibisyonunda (54,70 mg KE/g meyve suyu) elde edildiğini ortaya koymuştur (Vujanović *et al.* 2020).

Patinha *et al.* (2021) yaptıkları bir çalışmada kara mürver (*Sambucus nigra* L.) tüketimi son yıllarda artmakta ve hala yeterince değerlendirilmemiş çok sayıda sap (meyve salkımının ~ %10'u) olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma üzerinde durulan kara mürver saplarının yüksek değerli fitokimyasalların kaynağı olarak değerlendirilmesine odaklanılmıştır. Bu doğrultuda, sapların esansiyel mineral içeriği ve lipofilik kompozisyonu ilk kez analiz edilmiştir. Ek olarak polar fraksiyon, toplam fenolik miktarı (TPC) ve antioksidan aktivitesine ilişkin her ikisi 2,2-azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) analizleri ile değerlendirilmiştir. Lipofilik fraksiyon esas olarak triterpenik asitlerden (2902,20 mg kg⁻¹ kuru ağırlık (dw), yağ asitlerinden (711,73 mg kg⁻¹ dw) ve sterollerden (288,56 mg kg⁻¹ dw) oluşuyordu. Küçük miktarlarda uzun zincirli alifatik alkoller ve diğer bileşenler de tespit edilmiştir. Ursolik asit (2265,83 mg kg⁻¹ dw), heksadekanoik asit (219,85 mg kg⁻¹ dw) ve β -sitosterol (202,74 mg kg⁻¹ dw) doğrulanana ana lipofilik bileşenlerdi. Bu çalışmanın sonuçları çeşitli vücut fonksiyonlarında önemli rol oynadığı bilinen özellikle kalsiyum, demir ve potasyum bakımından kara mürver saplarının doğal bir esansiyel mineral kaynağı olarak kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Polar fraksiyon analizi ayrıca kara mürver saplarının mevcut TPC'si kara mürver meyvesi kadar yüksek yanı sıra kara mürver kadar önemli antioksidan aktivite (1,04 ve 0,37 mmol TE g⁻¹ ekstrakt, sırasıyla ABTS ve DPPH radikalleri) olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, kara mürver saplarının potansiyelini yüksek değerli fitokimyasalların doğal bir kaynağı olarak birçok alanda araştırılabilir olduğunu vurgulamaktadır.

Przybylska-Balcerek *et al.* (2021) yaptıkları çalışmadaki amacın kara mürver meyvesi ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini göstermek olduğunu belirtmişlerdir. Araştırma, ekstraktlardaki fenolik asitlerin ve flavonoidlerin içeriğinin antibakteriyel aktivitelerini belirlediğini göstermiştir. Ortalama içerikleri sırasıyla; klorojenik asit (139,09 mg/g ekstrakt), sinapik asit (72,84 mg/g ekstrakt) ve t-sinamik asit (51,29 mg/g ekstrakt) fenolik asitlerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. Rutin ve kuersetin (ortalama içerikleri sırasıyla 1105,39 ve 306,6 mg/g ekstrakt) baskın flavonoidler olduğu tespit edilmiştir. Araştırma, kara mürver polifenol ekstraktları %0,5-0,05 konsantrasyon aralığı içinde seçilen bakteri suşlarına karşı aktivite sergilemiştir. *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas fragii* ve *Escherichia coli* bakterilerinin ekstraktlara en duyarlı

olduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen bileşiklerden apigenin, kaempferol, ferulik asit, protokatekik asit ve p-kumarin asit kara mürver ekstraktlarının yüksek seviyede antibakteriyel aktivitesinde en büyük etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.

Neves *et al.* (2021) çalışmalarında endüstriyel ölçekte üretilen kara mürver (*Sambucus nigra* L.) suyu konsantresinin 5 °C'de ve oda sıcaklığında yedi aylık depolama süresince polifenol profilindeki değişimlerini değerlendirmişlerdir. Toplam fenolik içerik, toplam monomerik antosiyaninler, polimerik renk yüzdesi ve ABTS•+ süpürme aktivitesi incelenmiştir. Ek olarak, ana bireysel fenolik bileşiklerin profili ve içeriği de HPLC-DAD ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar; siyanidin-3-O-sambubiyosit, siyanidin-3-O-glikozit, siyanidin-3-O-sambubiyosit-5-O-glikozit, siyanidin-3,5-O-diglukozit, klorojenik asit, rutin ve kuersetin-3-O-glikozitin tanımlanan ana fenolik bileşikler olduğunu göstermiştir. Oda sıcaklığında saklama, toplam monomerik antosiyanin içeriğinde güçlü bir azalmaya ve buna eşlik eden polimerik renk yüzdesi değerlerinde bir artışa neden olmuştur. Siyanidin-3-O-sambubiyosit ve siyanidin-3-O-glikozit, siyanidin-3,5-O-diglukozitten ve siyanidin-3-O sambubiyosit-5-O-glikozitten daha hızlı bozunmuştur. Klorojenik asit konsantrasyonu depolama sırasında azalırken, rutin ve kuersetin-3-O-glukozit oldukça kararlı olduğu bulunmuştur. 5 °C depolama, antosiyaninler ve klorojenik asit içerikleri üzerinde daha düşük bir etkiye neden olmuştur ve polimerik renk yüzdesi etkilenmemiştir. Toplam fenolik içerik ve *in vitro* antioksidan aktivite, her iki sıcaklık için de zaman içinde oldukça benzer kalmıştır. Bu çalışma, kara mürver konsantrelerinin yedi aylık depolamadan sonra bile antioksidan kapasitesinin sağlığa faydalarını koruduğunu göstermektedir.

Kara Mürver ve Derin Ötektik ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Vladimir-Knežević *et al.* (2022) bir çalışmalarında kara mürver (*Sambucus nigra* L.) ve biberiyeden (*Rosmarinus officinalis*) fenolik asitlerin ve flavonoidlerin ekstraksiyonu için seçilen DÖÇ'ler uygulanmıştır. Kara mürver çiçekleri ve biberiye yapraklarında bu polifenolik bileşiklerin varlığı ince tabaka kromatografi ile tespit edilmiştir ve içerikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Suyun, %70 etanolün ve 1:3 molar oranında kolin klorür (ChCl) ve etilen glikol (EG), aynı molar oranda kolin klorür ve gliserol (GLY)

bazlı DÖÇ'lerin ekstraksiyon verimlilikleri karşılaştırılmıştır. DÖÇ'ler saf halde, %30 ve %50 (V/V) su ilave edilerek uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar fenolik asit ekstraksiyonu için %50 ChCl: GLY ve %50 ChCl: EG'nin, yaygın olarak kullanılan %70 etanol gibi benzer etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. EG bazlı DÖÇ, biberiye fenolik asitlerinin ekstraksiyonu için biraz daha yüksek performans gösterirken GLY bazlı olan ise kara mürver için daha iyi sonuçlar göstermiştir. Kara mürver çiçeklerinden elde edilen flavonoid ekstraksiyonu ile ilgili olarak %70 ChCl:EG ile %70 etanolün karşılaştırılabilir olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarında test edilen yeni ve çevre dostu DÖÇ'lerin, bitki polifenollerinin ekstraksiyonu için etanolün yerini alabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca kara mürver ve biberiye polifenollerinin DÖÇ'leri kullanarak ekstraksiyonu ile ilgili şimdiye kadar sadece birkaç çalışma olduğunu ve bunların hiçbirinin 2020 yılından önce yayınlanmadığını söylemişlerdir. Kaltsa *et al.* (2020) yaptıkları çalışmada kara mürver çiçeği polifenollerinde ultrasonikasyon ön işlemi ile birlikte L-laktik asit ve glisinden oluşturulmuş DÖÇ kombinasyonunun yüksek ekstraksiyon verimi ile sonuçlanabileceğini göstermişlerdir.

Kaltsa *et al.* (2020) yaptıkları bir çalışmada kara mürver çiçeği (KMÇ) olarak bilinen *Sambucus nigra* L. çiçeklerinin önemli biyoaktivitelere sahip polifenolik fitokimyasallar bakımından zengin bir bitki olduğunu fakat polifenol içeren KMÇ ekstraktların üretimi ile ilgili az sayıda çalışmaların olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmanın amacının ultrasonikasyon ön işlemi ile birlikte etkili bir DÖÇ kullanılarak polifenolik maddelerce zenginleştirilmiş KMÇ ekstraktları oluşturmak için yüksek performanslı bir yeşil ekstraksiyon metodolojisinin geliştirilmesi olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada L-laktik asitten (HBD) ve glisinden (HBA) oluşan DÖÇ ve ilk taramadan sonra HBD/HBA oranını uygun şekilde düzenlemek için yanıt yüzey metodolojisi uygulanarak ekstraksiyon optimize edilmiştir. Optimize edilmiş koşullar altında, DÖÇ/su (%85 w/v), sıvı-katı oranı 60 mL g⁻¹, ve karıştırma hızı dakikada 200 tur olmak üzere toplam polifenollerde ekstraksiyon verimi 121,24 ± 8,77 mg GAE/g kuru madde sonucuna varılmıştır. Kesikli karıştırmalı ekstraksiyondan önce ultrasonikasyonun entegrasyonu 174,73 ± 2,62 mg GAE/g kuru madde kadar polifenol geri kazanımının artmasını desteklemiştir. LC-MS analizi sonucunda rutin, di-p-kumaroilkinik asit ve klorojenik asitin baskın olduğu en zengin KMÇ ekstraktının elde edildiğini göstermişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu tez çalışmasında hammadde olarak Temmuz Organik Çiftliği’den temin edilen kuru kara mürver meyveleri kullanılmıştır. Kuru kara mürver meyveleri toz haline getirilip ekstraktlarda kullanmaya hazır hale getirilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Derin ötektik çözücülerin hazırlanması

Sunulan çalışmada çözücüler, literatürden elde edilen bilgilere göre molar oranlarına göre hesaplanarak hazırlanmıştır. Önce hazırlanan DÖÇ’ler belirtilen sıcaklıklarda su banyosunda sıvılaşana kadar 6 saat ısıtılmıştır. Daha sonra manyetik karıştırıcıda berrak sıvı olana kadar 1 saat karıştırılmıştır. Elde edilen sıvılaşan berrak DÖÇ’ler ultrasonik su banyosunda 30 dakika, 100 Hertz, 60°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Yapılan literatür araştırmasında (Popovic *et al* 2022; Vladimir-Knežević *et al.* 2022) DÖÇ’lerde kullanılacak su oranının %0-70 aralığında olması gerektiği bulunmuştur. Bu çalışmada %50 su oranında (15mL su- 15mL DÖÇ) çalışılmaya karar verilmiştir. 50 mL’lik 8 tane Falcon tüplerin içerisine 0,5g kara mürver tozu konulmuştur. Altı tane DÖÇ çözeltileri için, iki tane kontrol grubu olarak %50 etanol ve %1 HCl’li %100 metanol kullanılmaya karar verilmiştir.

DDÖÇ’lerin hazırlanmasında kullanılan HBD ve HBA’ların molar oranları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

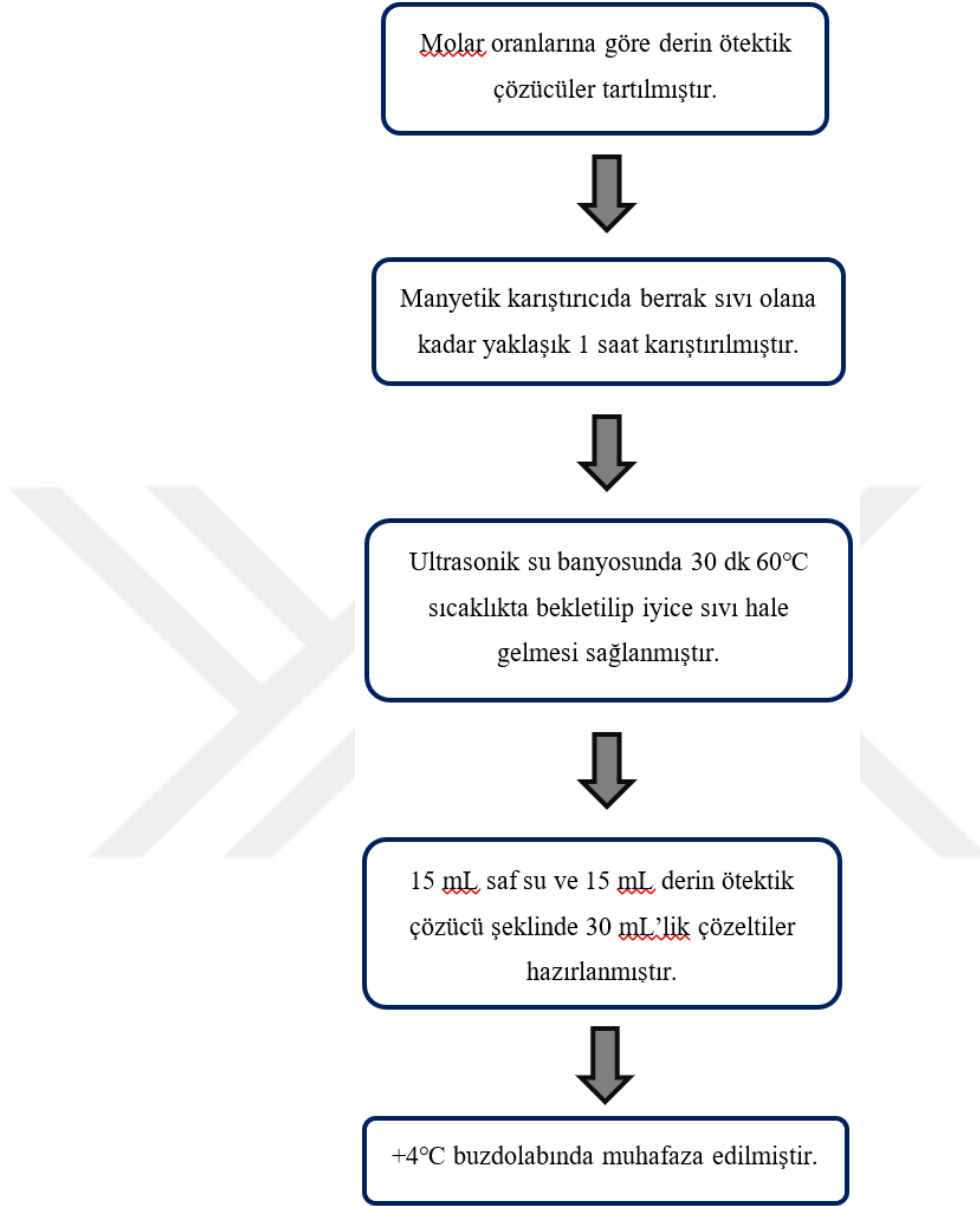
Çizelge 3.1 DÖÇ sentezinde kullanılan bileşenler ve molar oranları (Mişan *et al.* 2020)

	Çözücü	Bileşenler	Molar Oranı
60 °C, Asidik	1	ChCl: Sitrik Asit: Su	1:1:2
	2	ChCl: L-Askorbik Asit: Su	1:1:2
65 °C, Şeker	3	ChCl: Fruktöz: Su	5:2:5
	4	ChCl: Sükroz: Su	4:1:4
80 °C, Alkol	5	ChCl: Etilen Glikol: Su	1:1:2
	6	ChCl: Gliserol: Su	1:1:2
	7	%50 Etanol- saf su Çözeltisi (%1 oranında asitlendirilmiş)	
	8	%100 Metanol (%1 oranında asitlendirilmiş)	

Çalışmada Kullanılan Çözücüler:

- 1. Derin Ötektik Çözelti:** 20g ChCl- 27,28g Sitrik Asit- 2,6g Su
- 2. Derin Ötektik Çözelti:** 5g ChCl- 6,25g L-Askorbik Asit- 0,65g Su
- 3. Derin Ötektik Çözelti:** 20g ChCl- 10,315g Fruktöz- 2,578g Su
- 4. Derin Ötektik Çözelti:** 22,34g ChCl- 13,68g Sükroz- 2,88g Su
- 5. Derin Ötektik Çözelti:** 20g ChCl- 8,81g Etilen Glikol- 2,6g Su
- 6. Derin Ötektik Çözelti:** 20g ChCl- 13,07g Gliserol- 2,6g Su
- 7. % 50 Etanol-saf su Çözeltisi (% 1 oranında asitlendirilmiş)**
- 8. % 100 Metanol (% 1 oranında asitlendirilmiş)**

Derin ötektik çözücülerin hazırlanmasındaki aşamalar Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1 DÖÇ’lerin hazırlanma aşamaları

3.2.2 Kara mürverden ultrasound destekli derin ötektik çözücü ekstraksiyonu

0,5 g toz kuru örneğin içerisine 25 mL DÖÇ çözeltisi eklenerek ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt ile çözeltinin birbirine karışması için elde yaklaşık 10-15 saniye vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Sonrasında ise 20 kHz, 500 Watt ve %40 amplitude gücünde 10 dakika Ultrason destekli ekstraksiyon işlemi

uygulanmıştır. Daha sonra soğuması için 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son olarak santrifüj cihazında 5000 rpm’de 10 dakika santrifüjlenip kaba filtre kağıdı ile süzölmüştür ve 0,45 mikron şırınga filtreden geçirilmiştir. 8 tane tüpe aynı işlemler yapılırken diğerleri +4°C buzdolabında ekstraktlar muhafaza edilmiştir ve elde edilen ekstraktlarda ilgili biyoaktif analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Biyoaktif analizler

Gerçekleştirilen biyoaktif analizlerde her örneğe uygulanan seyreltme işlemleri dikkate alınmıştır. Analizlerde örnek içeren numuneler ile birlikte DÖÇ çözücileri de ayrı olarak analiz edilmiştir. DÖÇ çözücülerinden gelen aktiviteyi numune içeren örneklerden çıkararak sadece örneklerden gelen aktivite değeri hesaplanmıştır.

Toplam Monomerik Antosiyanin Madde Miktarının Belirlenmesi (pH diferansiyel metodu)

Toplam antosiyanin içeriğini belirlemek için Fuleki ve Francis (1968) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde antosiyanin pigmentlerinin ortamın pH değerlerine göre renk değiştirmeleri esas alınmaktadır. Örneklerin maksimum absorbans verdiği dalga boylarında farklı pH değerlerindeki ölçümler arasındaki fark, örneğin antosiyanin içeriği ile doğru orantılıdır. Bu bağlamda 1’er ml ekstrakt üzerine 0,02M Na₂HPO₄ ve 0,02 M NaH₂PO₄ ile hazırlanmış pH 1,0 ve pH 4,5 tamponları eş zamanlı olarak ilave edilmiş ve oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk inkübasyona tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmada pH 1,0 ve pH 4,5 için hazırlanmış olan, 0,4-0,8 aralığında absorbans vermesi için belirli oranda seyreltilen her bir örnek için süre sonunda 516 nm (maksimum dalga boyu) ve bulanıklık ögelerinin tespit edilmesi için de 700 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır (Agilent-Cary 60, Amerika).

Sonuçlar gram örnekte mg siyanidin 3-O- glikozit (S3G) cinsinden verilmiştir. Denemeler iki tekerrür ve beş tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Toplam antosiyanin miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Antosiyanin (mg/L)} = (\Delta A / \epsilon * L) 10^3 * MW * SF$$

ΔA : Absorbans farkı ($A = ((A_{516\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1,0) - ((A_{516\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 4,5)$)

ϵ : Molar absorbans

L: Absorbans ölçüm küvetinin optik yolu (=1)

MW: Molekül ağırlığı

SF: Seyreltme faktörü

DPPH Radikali Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Örneklerin antiradikal aktivitesi Faller ve Fialho (2010) tarafından önerilen yöntemde bazı modifikasyonlar uygulanarak yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan ekstrakt çözeltilerden 100 µl alınarak, 3,9 ml DPPH (Sigma, ABD) solüsyonu (0,1 mM ve metanolde hazırlanmış) ile karıştırılıp ardından, karanlık bir ortamda 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda deney tüplerinin absorbans değerleri, metanol ile sıfırlanmış UV-Vis spektrofotometrede (Agilent-Cary 60, Amerika) 517 nm de belirlenmiştir. Denemeler iki tekerrür ve beş paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin DPPH radikalini süpürme aktivitesi, % inhibisyon olarak aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Inhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{Ekstrakt}}) / Abs_{\text{kontrol}}]$$

Toplam Fenolik Madde Tayini

Kara mürver ekstraktlarından belirli oranlarda seyreltilerek 100 µl alınıp üzerine 2,9 ml 0,2 N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve 2 dakika vortekslenmiştir. Üzerine 2 ml %7,5 sodyum karbonat eklenmiştir. 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra 5 ml saf su eklenmiştir ve 5000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Her numunenin absorbansı 765 nm'de ve (Agilent-Cary 60, Amerika) spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak mg GAE/g kurumadde şeklinde ifade edilmiştir.

ABTS Yöntemi

Wang ve Xiong (2005) ve Almajano *et al.* (2007) tarafından belirlenen ABTS Yok Etme Aktivitesi metodu üzerinde bazı değişiklikler yapılarak tayin edilmiştir. Bu metotta, 2.45 mM K₂S₂O₈ ve 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenztiyoazolin-6- sülfonik asit)) çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm' de absorbanşı alınarak 1.850±0.05 absorbanşına ulaşılana kadar etil alkolle seyreltilmiştir. Bu absorbanş, kontrol absorbanşı olarak kullanılmıştır (Agilent, Carry 60 UV-Vis, Amerika). Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 mL bırakılmıştır. Bu tüplerin üzerine 100 µL bitki ekstrallerinden eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbanşı 734 nm' de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)' den oluşan köre karşı kaydedilmiştir (Wu *et al.* 2009). Azalan absorbanş ortamdaki yok edilen ABTS radikallerinin miktarını vermektedir (Keser *et al.* 2013). Ekstrelerin ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını yok ettiği şu formülle hesaplanmıştır:

% ABTS Yok Etme Aktivitesi = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ A₀ kontrolün absorbanşı, A₁ örneklerin absorbanşı olarak alınmıştır.

3.2.4 LC-MS/MS ile fenolik madde tayini

Çalışmada LC-MS/MS (Agilent 6460 Triple Quadrapole) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Sıralı Kütle Kromatografisi kullanılmıştır. Fenolik madde ekstraksiyonu sonucu elde edilen örnekler vorteks ile karıştırıldıktan sonra LC-MS/MS kolonuna enjekte edilmiştir. Tüm analizler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

Kara mürver örneklerinin fenolik madde tayini için LC-MS/MS çalışma koşulları Çizelge 3.2'da gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 Toplam fenolik madde analizleri için LC-MS/MS çalışma koşulları

Sistem	LC-MS/MS çalışma koşulları
Kolon	Zorbax SB18 C18(1,8µm*2,1*50 mm)
Akış Hızı	0,3 mL/dak
Kolon Fırını Sıcaklığı	40 °C
Akış Süresi	20 dakika
Enjeksiyon Hacmi	1 µL
Akış Profili	Gradient

Çizelge 3.3’da LC-MS/MS’de kara mürver fenolik madde tayini için elüsyon profili gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 LC-MS/MS ile fenolikler için uygulanan elüsyon profili

Süre(dk)	%A	%B
0-5	95	5
5-15	30	70
15-20	95	5

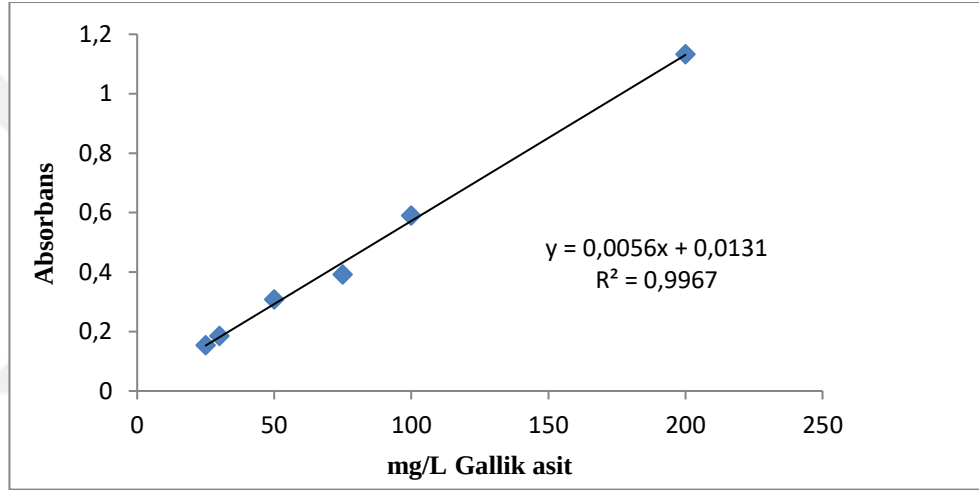
Kullanılan Standart Maddeler

Kuiniik Asit, fumarik asit, gallik asit, pirogallol, siyanidin-3-o-glukozit, klorojenik asit, kateşin, peonidin-3-o-glukozit, 4-OH-benzoik asit, epikateşin, kafeik asit, vanilik asit, hesperidin, epigallokateşin gallat, vitexin, şirincik asit, keracyanın klorür, naringin, ellagik asit, *p*-kumarik asit, sinapik asit, ferulik asit, taxifolin, vanilin, rosmarinik asit, mirisetin, resveratrol, luteolin, kuersetin, apigenin, naringenin, ısohamnetin, kirsin galangin, kurkumin.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

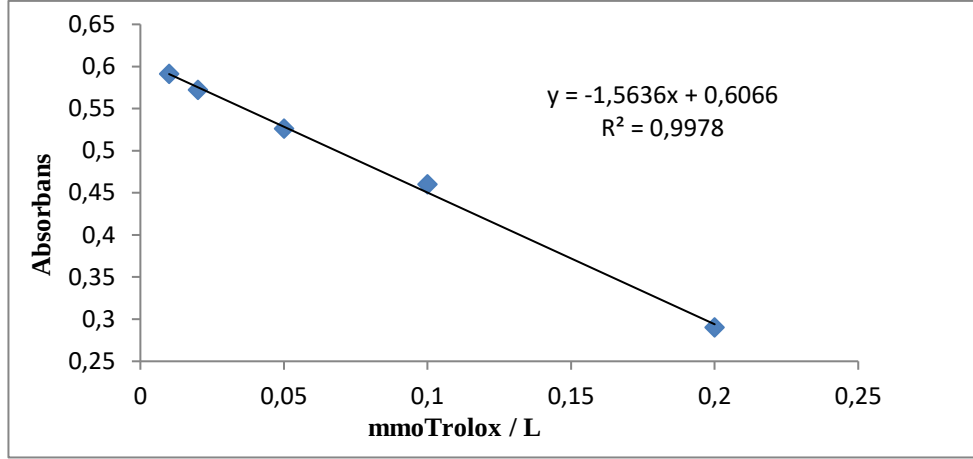
4.1 Biyoaktif Analizler

Yapılan çalışmada toplam fenolik madde miktarı Singleton and Rossi (1965) tarafından belirlenen Folin-Ciocalteu metodu üzerinde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde tespiti için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1 Toplam fenolik madde tespiti için kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği

ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite analizi için troloks (mmol/L) standardı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2 ABTS aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.1’ de 6 adet DÖÇ (Kolin klorür: Sitrik Asit (1), Kolin klorür: L-Askorbik Asit (2), Kolin klorür: Fruktoz (3), Kolin klorür: Sükroz (4), Kolin klorür: Etilen Glikol (5), Kolin klorür: Gliserol (6)), Etanol: Saf Su Çözeltilisi (7) ve %100 Metanol Çözeltilisi (8) çözeltileriyle elde edilen kara mürver ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS), toplam fenolik miktarı (Folin-Ciocalteu) ve toplam antosiyanin miktarları (pH diferansiyel metodu) verilmiştir.

Çizelge 4.1 Örneklerin biyoaktif analiz sonuçları

	DPPH (% Inh.)	Toplam Antosiyanin (mg S3G /g)	Toplam Fenolik (mg GAE/g kuru madde)	ABTS (µmol trolox/g)
1	14,67±1,21	1,02±0,08	1,48±0,03	12,16±0,94
2	19,61±2,04	0,81±0,04	1,18±0,02	11,43±1,12
3	34,98±0,97	1,34±0,05	1,95±0,03	13,74±1,78
4	35,07±2,71	1,58±0,06	2,31±0,04	15,17±0,83
5	35,91±1,05	1,97±0,13	2,79±0,03	15,84±1,31
6	49,07±2,65	2,88±0,09	4,22±0,14	19,35±1,25
7	47,94±1,75	2,49±0,07	3,64±0,16	18,58±0,96
8	63,14±2,12	3,13±0,17	5,01±0,41	20,06±1,07

DPPH ile antioksidan aktivite analizinde değerler, %14,67 inhibisyon ile %49,074 inhibisyon arasında değişmektedir. 1 numaralı ChCl:Sitrik Asit (%14,67 inhibisyon) ve 2 numaralı ChCl:L-Askorbik Asit (%19,6 inhibisyon) DÖÇ'leri, diğer DÖÇ'lere (%34,982-%49,074 inhibisyon) göre daha düşük performans göstermesine rağmen diğer analizlerde yakın sonuçlar elde edilmiştir. Metanol çözeltisi, antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS), toplam fenolik miktarı (Folin-Ciocalteu) ve toplam antosiyanin miktarları (pH diferansiyel metodu) analizlerinde en yüksek performansı göstermiştir. Fakat 6 numaralı ChCl:GLY DÖÇ'ün (%49,074 inhibisyon), 7 numaralı %50 etanol-su çözeltisinden (%47,942 inhibisyon) daha iyi olduğu görülmüştür.

Literatürde kara mürverin DÖÇ ile ekstraksiyonuna dair çok az çalışma bulunmaktadır. Literatür taramasında (Web of Science ve Scopus) 2023 yılına kadar yapılan çalışmalardan konuya dair sadece 2 adet çalışma bulunmuştur. Çalışmaların birinde Vladimir-Knežević *et al.* (2022) kurutulmuş kara mürver çiçeği (*Sambucus Nigra* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkileri kullanılarak suyun, %70 etanolün ve 1:3 molar oranında kolin klorür (ChCl) ve etilen glikol (EG), aynı molar oranda kolin klorür ve gliserol (GLY) bazlı DÖÇ'lerin ekstraksiyon verimlilikleri karşılaştırılmıştır. Yüksek düzeyde fenolik asit mürver çiçeği yapraklarında (%3,64±0,13) bulunduğunu belirtmişlerdir. Toplam fenolik asitlerin ekstraksiyonu ile ilgili olarak 1:3 molar oranında, hacimce %50 su ilave edilmiş ve ChCl:EG ve ChCl:GLY ile %70 etanol çözeltisinin neredeyse aynı etkinliğe sahip olduğu bulunduğu görülmüştür. Çok az bir farkla diğer ikisine göre, %50 ChCl:GLY daha iyi sonuç verdiğini söylemişlerdir. Bu tez çalışmasında da benzer bir sonuç elde edilmiştir. Toplam fenolik miktarı analizinde ChCl:EG (2,785 mg GAE/g kuru madde), %50 etanol-su çözeltisi (3,635 mg GAE/g kuru madde) ChCl:GLY ile oluşturulan DÖÇ 4,216 mg GAE/g kuru madde değeriyle en iyi sonucu vermiştir.

Diğer yapılan çalışmada ise kara mürver çiçekleri ultrasonikasyon ön işlemi ile birlikte farklı molar oranlarda L-Laktik asit (HBD) ve glisinden (HBA) oluşan DÖÇ'ler, su, %60 metanol sulu çözeltisi ve %60 etanol sulu çözeltisi kullanılarak oluşturulan ekstraktlar karşılaştırılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında, DÖÇ/su (%85 w/v), sıvı-katı oranı 60 mL g⁻¹ ve karıştırma hızı dakikada 200 tur, L-Laktik Asit: Glisin (5:1) DÖÇ'ü toplam

polifenollerdeki ekstraksiyon verimi $121,24 \pm 8,77$ mg GAE/ g kuru madde, %60 metanol ve etanol sulu çözeltisi yaklaşık 60 mg GAE/ g kuru madde olarak bulunmuştur. L-Laktik Asit: Glisin (5:1) ile oluşturan DÖÇ'ün en yüksek performanslı sistem olduğunu belirtmişlerdir (Kaltza *et al.* 2020).

Başka bir çalışmada ise siyah aronya ve kara mürver meyvelerinden antosiyanin ekstraktlarını elde etmek için su-gliserol sistemlerinin kullanılma olasılığını değerlendirmiştir. En yüksek antosiyanin konsantrasyonu 20°C ve 50°C ekstraksiyon sıcaklıklarında %50 su-gliserol sisteminden elde edildiği görülmüştür (Kowalska *et al.* 2021). Çalışmanın sonucunda gliserolün antosiyaninlerin ekstraksiyonunda etanole alternatif bir çözücü olabileceğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında da paralel bir sonuç elde edilmiş ve ChCl:Gliserol bazlı DÖÇ içeren ekstrakt etanolden daha iyi sonuçlar vermiştir.

Ozturk *et al.* (2018) çalışmalarında DÖÇ kullanarak katı-sıvı ekstraksiyonu aracılığıyla portakal kabuğundan (PK) polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve gıda atık biyokütlesinden doğal antioksidanları geri kazanmak için özellikle kolin klorür bazlı DÖÇ ile eşleştirilmiş gliserol (GLY) ve etilen glikol (EG) araştırmışlardır. Kolin klorür bazlı DÖÇ ile kıyaslanan çözücünden (sulu etanol ağırlıkça %30 su) portakal kabuğundan polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için, 1:4 oranında ChCl:EG, en yüksek toplam fenolik içeriği (TPC) (3,61 mg GAE/g PK) ve antioksidan potansiyeli (30,6 µg/ml) sağlayarak daha iyi performans gösterdiğini belirtmişlerdir. Literatürde kara mürver dışında başka hammaddeler kullanılarak DÖÇ ile yapılan birçok sayıda çalışma bulunmaktadır. Barbieri *et al.* (2020) yaptığı araştırmada, biberiyeden *Rosmarinus officinalis* L. fenolik içeriğin ultrason destekli ekstraksiyonunda Gliserol:ChCl (1:2 v/w) ve su (%10 w/w); Laktik asit:ChCl (1:3 v/w) ve su (%10 w/w); 1,2-propandiol:ChCl (1:2 v/w) ve su (%10 w/w); ve Oksalik asit:ChCl (1:1 v/w) ve su (%10 w/w) olmak üzere dört kolin klorür bazlı derin ötektik çözücü kullanılmış ve DÖÇ'lerle karşılaştırmak için saf etanol kullanılmışlardır. FRAP yöntemi ile değerlendirilen antioksidan aktivite açısından, etanol değerlendirilen çözücüler arasında en düşük değeri veren çözücü olduğu bulunmuştur. Etanol kullanılarak elde edilen ekstrakt (49,13 mM trolox eşdeğeri/g), DÖÇ (126,23-183,82 mM Trolox eşdeğeri/g) kullanılarak elde edilen ekstraktlardan yaklaşık

üç kat daha az antioksidan kapasite gösterdiğini belirtmişlerdir. DÖÇ'ün fenolik bileşikleri stabilize etme kapasitesi, esas olarak biberiye ekstraktlarında ve çözücülerde bulunan asit fenolikleri ile arasındaki hidrojen bağlardan dolayı moleküller arası etkileşimleriyle açıklanabilir. Bu etkileşim, çözünen moleküllerin hareketini ve oksijenle temasını azalttığından dolayı oksidatif bozunmayı azaltmaktadır (Dai *et al.* 2016).

4.2 LC-MS/MS ile Fenolik Madde Tayini

Geleneksel organik çözücülerle elde edilen ekstraktlarda kafeik asit ve vanilik asit tespit edilmemesine rağmen ChCl:Fruktoz (37,076 ng/mL), ChCl:Sükroz (79,161 ng/mL), ChCl:Etilen Glikol (301,826 ng/mL) ve ChCl:Gliserol (3419,369 ng/mL) DÖÇ'leri içeren kara mürver ekstraktlarında kafeik asit tespit edilmiştir. Vanilik asit ise ChCl:Sitrik Asit (28,794 ng/mL), ChCl:Fruktoz (47,905 ng/mL) ve ChCl:Gliserol 121,096 ng/mL) DÖÇ'lü ekstraktlarda bulunmuştur. Metanol bazlı çözücüyle elde edilen ekstraktlarda fumarik asit, gallik asit, 4-OH-benzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit ve ferulik asit fenolik maddeleri tespit edilememiş, 15 fenolik maddeden sadece 8 adeti bulunmuştur. En fazla kuersetin (21955,165 ng/mL) ve siyanidin-3-*O*-glukozit (6366,665 ng/mL) miktarı metanol çözücüsü ile elde edilmiştir. ChCl:Gliserol DÖÇ'ü içeren ekstraktta toplam 15 fenolik madde içerisinde 14 fenolik madde ile en çok fenolik madde sayısı tespit edilmiştir. ChCl:Gliserol DÖÇ'ü içeren ekstraktta, etanol çözücüsüne göre daha fazla miktarlarda gallik asit, siyanidin-3-*O*-glukozit, 4-OH-benzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, vanilin ve rosmarinik asit bulunmuştur. Diğer bütün çözücülere kıyasla en fazla gallik asit (276,6473 ng/mL), 4-OH-benzoik asit (384,267 ng/mL), kafeik asit (3419,369 ng/mL), vanilik asit (121,096 ng/mL), *p*-kumarik asit (693,062 ng/mL), ferulik asit (553,140 ng/mL), vanilin (6,442 ng/mL) miktarı yine ChCl:Gliserol DÖÇ'ü ile tespit edilmiştir. Kuinik asit bileşenine hiçbir DÖÇ içeren ekstraktlarda tespit edilmemesine rağmen, bu fenolik madde etanol ve metanol içeren ekstraktlarda bulunmuştur. Kara mürverde rosmarinik asit fenolik maddesinin ekstraksiyonu için ChCl:Sükroz DÖÇ'ü kullanıldığında diğer çözücülere göre en fazla rosmarinik asit miktarı (8,0710 ng/mL) elde edilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Literatürde kara mürver meyvesi ve DÖÇ kullanılarak ekstraksiyon işlemi yapan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak kara mürver çiçeğinin DÖÇ ile yeşil ekstraksiyonuna dair bulunan 2 adet çalışmadan birinde Vladimir-Knežević *et al.* (2022), kara mürver çiçeği ve biberiye yaprakları polifenolik içerik ve bileşimleri açısından incelenmiştir. Bitki ekstraktlarında flavonoidlerin ve fenolik asitlerin varlığı ince tabaka kromatografisi ile kanıtlanmıştır. Kurutulmuş kara mürver çiçeğinde fenolik asitlerden klorojenik asit en bol miktarda bulunurken, rutin ve ardından izokuersetin baskın flavonoidler olarak bulunmuştur. Diğer çalışmada ise Kaltsa *et al.* (2020), LC-DAD-MS analizi ile elde edilen en zengin kara mürver çiçeği ekstraktında rutin, di-p-kumaroilkuik asit ve klorojenik asitin baskın olarak bulunduğunu belirtmişlerdir.

Literatürde yer alan kara mürver bitkisi ve DÖÇ ile elde edilen ekstraktlara dair 2 adet çalışma ile benzer bir sonuç olarak bu tez çalışmasında da DÖÇ ile elde edilen kara mürver ekstraktlarında LC-MS/MS analizi sonucunda bol miktarda fenolik asitlerden klorojenik asit bulunmuştur.

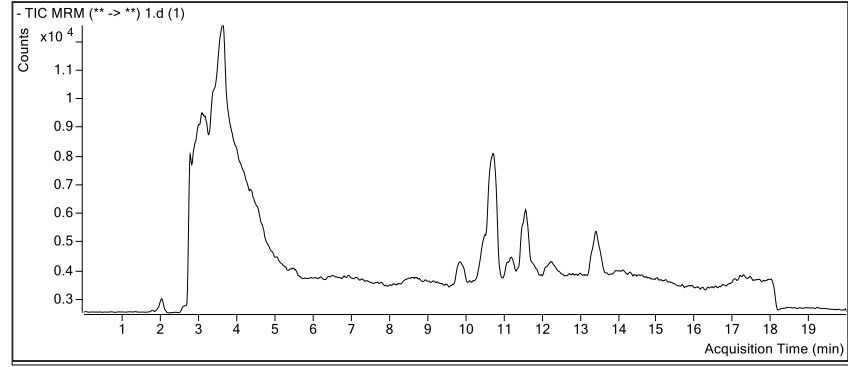
Çözücü olarak etanol kullanan Domínguez *et al.* (2020) yaptıkları çalışmada antioksidan bileşiklerin bir kaynağı olarak kara mürverin potansiyel kullanımını ve besin değerini karakterize etmeyi amaçlamıştır. Ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu, yanıt yüzey metodolojisi ve istenebilirlik fonksiyonu analizi ile birlikte bir Box-Behnken tasarımı ile tasarlanmıştır. Son olarak sayısal optimizasyon, en iyi ekstraksiyon parametrelerinin sıcaklık 60 °C, %50 etanol çözeltisi ve pH 2 olduğunu belirtmiştir. LC-MS/MS analizi sonucunda kara mürverlerde flavonoidler (rutin ve kuersetin) ve fenolik asitler (gallik asit ve gentisik asit) bol miktarda bulunmuştur. Bu tez çalışmasında DÖÇ kullanarak elde edilen ekstraktlar ile yapılan LC-MS/MS analizi sonucunda flavonoidlerden en çok miktarda hesperidin ve kuersetin tespit edilmiştir.

Kara mürverdeki fenolik bileşiklerin kompozisyonu ve miktarları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

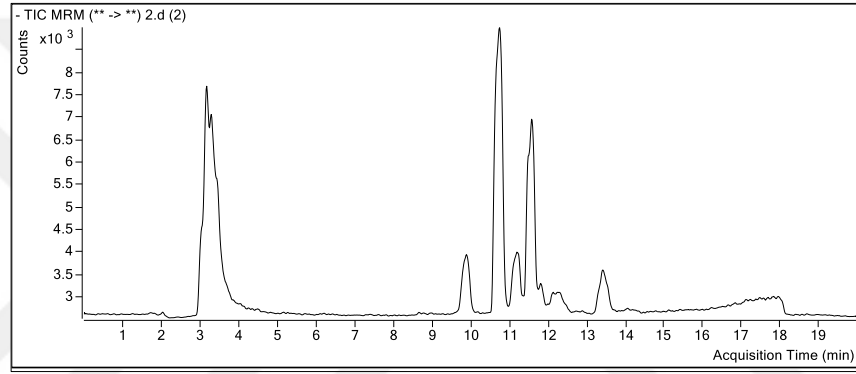
Çizelge 4.2 Örneklerdeki fenolik bileşen kompozisyonu ve miktarları (ng/mL)

	(1) ChCl: Sitrik Asit	(2) ChCl: L- Askorbik Asit	(3) ChCl: Fruktoz	(4) ChCl: Sükroz	(5) ChCl: Etilen Glikol	(6) ChCl: Gliserol	(7) Et-OH	(8) Me-OH
Kuiniik Asit	-	-	-	-	-	-	3693,384 6	21,0580
Fumarik Asit	115,495	48,337	1136,355	999,998	1512,488	668,522	1634,477	-
Gallik Asit	-	-	57,4757	-	123,932	276,6473	50,308	-
Siyanidin- 3-Rutinosit Klorür	1005,711	1884,195	2213,972	2615,010	2348,815	3226,328	3785,298	1618,120
Siyanidin- 3-O- Glukozit	1360,884	1,202	899,885	1071,093	2246,913	3486,664	2008,594	6366,665
Klorojenik Asit	2245,225	3203,494	6655,810	5838,168	4529,798	5041,925	7802,790	8,414
4-OH- Benzoik Asit	119,625	125,784	148,539	196,662	233,251	384,267	270,202	-
Kafeik Asit	-	-	37,076	79,161	301,826	3419,369	-	-
Vanilik Asit	28,794	-	47,905	-	-	121,096	-	-
Hesperidin	2276,262	4531,547	5919,334	6615,910	6563,851	7697,769	8814,598	2705,401
P-Kumarik Asit	89,239	56,718	125,965	149,041	212,700	693,062	150,364	-
Ferulik Asit	9,183	-	--	3,766	93,847	553,140	23,310	-
Vanilin	5,258	0,877	1,817	3,879	1,983	6,442	2,028	5,087
Rosmarinik Asit	3,641	2,339	7,248	8,0710	4,276	5,313	0,317	1,238
Kuersetin	177,186	79,384	72,480	161,176	21,015	176,543	257,122	21955,165

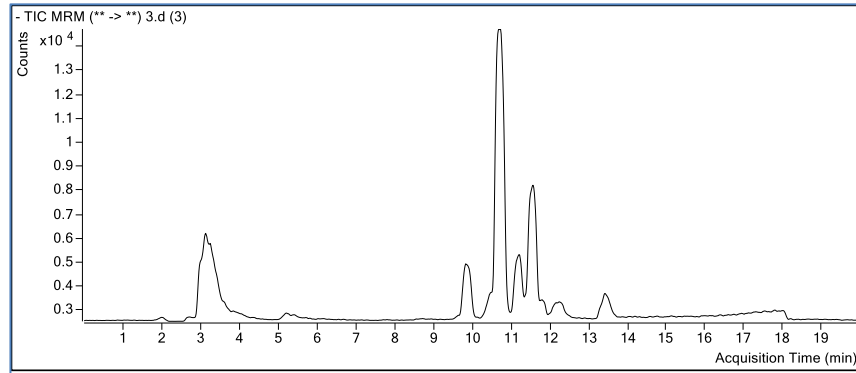
Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları Şekil 4.3'te, Şekil 4.4'te ve Şekil 4.5'te verilmiştir.



(1)

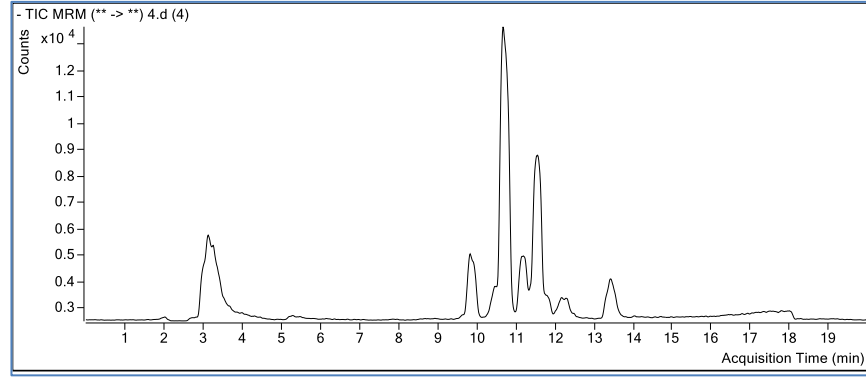


(2)

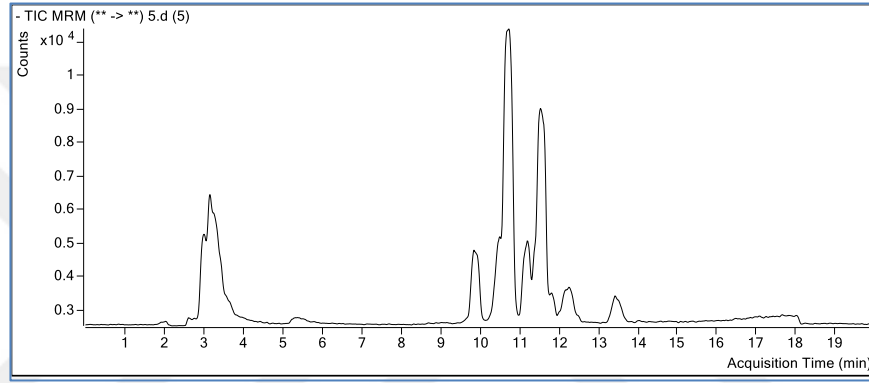


(3)

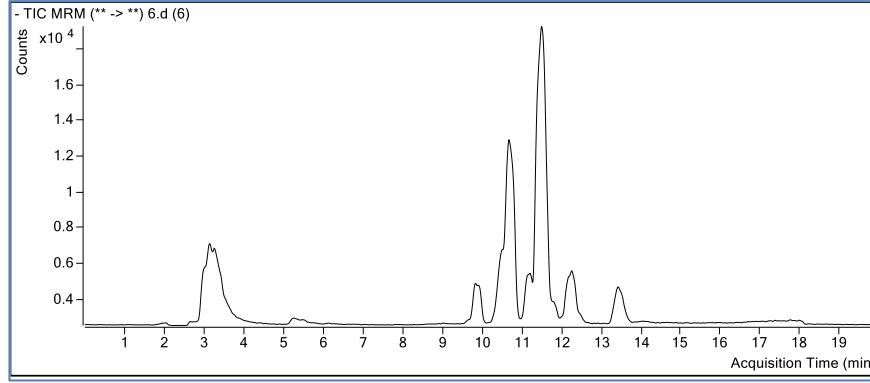
Şekil 4.3 Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (1)-Kolin klorür:Sitrik Asit, (2)-Kolin klorür:L-Askorbik asit, (3)-Kolin klorür:Fruktoz



(4)

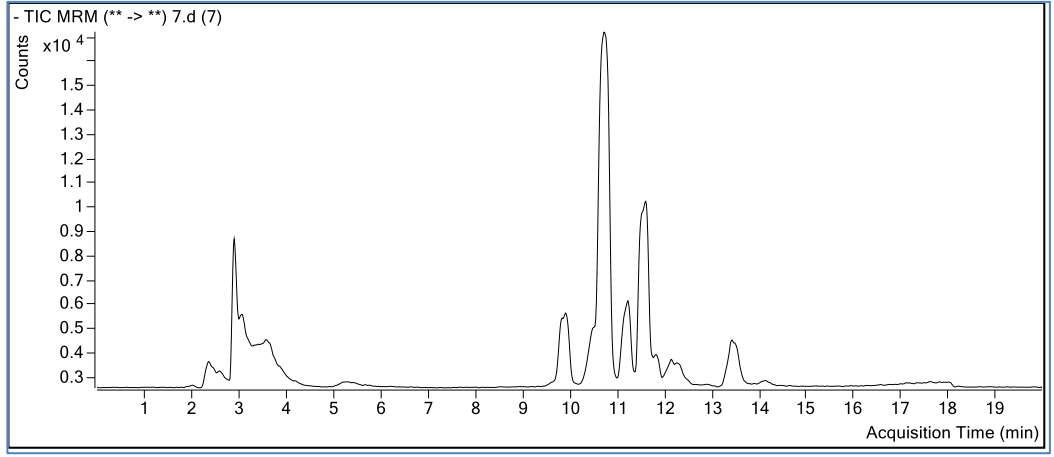


(5)

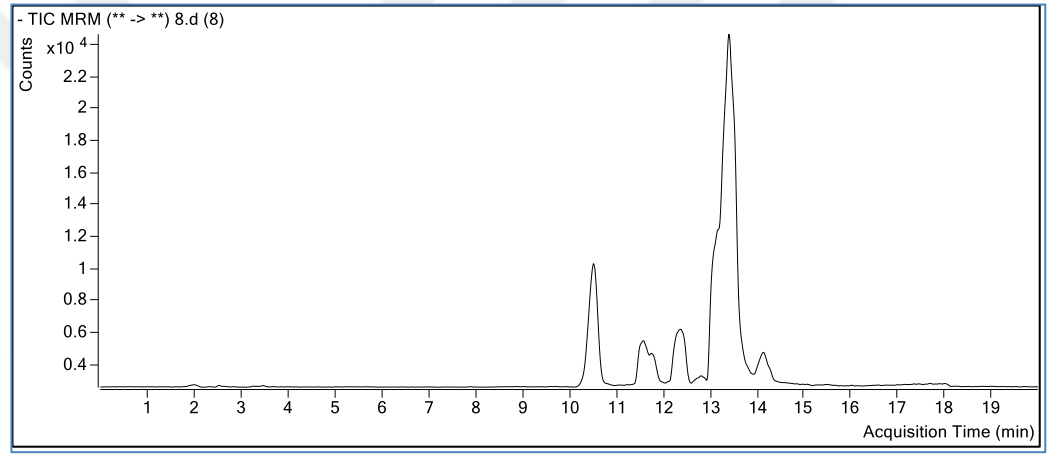


(6)

Şekil 4.4 Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (4)-Kolin klorür:Sükroz, (5)-Kolin klorür:Etilen Glikol, (6)-Kolin klorür:Gliserol



(7)



(8)

Şekil 4.5 Farklı derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak elde edilen kara mürver ekstraktlarının LC-MS/MS kromatogramları (7)-Etanol:Saf Su Çözeltisi, (8)-%100 Metanol Çözeltisi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kara mürver ekstraktlarının antioksidan aktivitesi (DPPH ve ABTS), toplam fenolik miktarı (Folin-Ciocalteu) ve toplam antosiyanin miktarları (pH diferansiyel metodu) analizlerinde ChCl:GLY içeren DÖÇ ile elde edilen ekstraktlar (sırasıyla; %49,074 inhibisyon; 19,35 μ mol trolox/g; 4,216 mg GAE/g kuru madde; 2,883 mg S3G/g) değerleri ile %50 etanol-su çözeltisiyle (sırasıyla; 47,942 inhibisyon; 18,58 μ mol trolox/g; 3,635 mg GAE/g kuru madde; 2,487 mg S3G /g) kıyaslandığında ChCl:GLY bazlı DÖÇ'ün geleneksel organik çözücü olarak yaygın olarak kullanılan %50 etanol- su çözeltisinin yerine çok iyi bir alternatif olabileceği bulunmuştur. Ayrıca en yüksek verim metanol içeren kara mürver ekstraktlarından (sırasıyla; 63,14 inhibisyon; 20,06 μ mol trolox/g; 5,014 mg GAE/g kuru madde; 3,131 mg S3G /g) elde edilmesine rağmen ChCl:GLY içeren kara mürver ekstraktı ile arasında büyük farklılık gözlemlenmemiştir. Bu yüzden bulgulara göre, ChCl:GLY bazlı DÖÇ'ün geleneksel organik çözücü metanol çözücüsüne bir yeşil çözücü olarak alternatif olabileceğini göstermiştir.

Literatürde kara mürverin DÖÇ ile ekstraksiyonuna dair 2023 yılına kadar yapılan 2 adet çalışmayı yapan Vladimir-Knežević *et al.* (2022) ve Kaltsa *et al.* (2020), bu tez çalışmasında da DÖÇ ile elde edilen kara mürver ekstraktlarında yapılan LC-MS/MS analiziyle benzer bir sonuç olarak bol miktarda fenolik asitlerden fumarik asitin yanı sıra klorojenik asit bulunmuştur. Ayrıca DÖÇ ile elde edilen kara mürver ekstraktlarında bol miktarda bulunan; antosiyaninlerden siyanidin-3-rutinosit klorür 1005,711 ng/mL-3226,328 ng/mL ve siyanidin-3-o-glukozit 1360,884 ng/mL-3486,664 ng/mL arasında değerler gözlemlenmiş, flavonoidlerden hesperidin 2276,262 ng/mL-7697,769 ng/mL ve kuersetin (21,015 ng/mL-177,186 ng/mL) arasında değerler göstermiştir. Fenolik asitlerden ise klorojenik asit (2245,225 ng/mL-6655,810 ng/mL) ve fumarik asit (48,337-999,998 ng/mL) arasında değerler tespit edilmiştir. Sonuç olarak, DÖÇ ile elde edilen kara mürver ekstraktlarında antosiyaninler (siyanidin-3-rutinosit klorür ve siyanidin-3-o-glukozit), flavonoidler (hesperidin ve kuersetin) ve fenolik asitler (klorojenik asit ve fumarik asit) bol miktarda bulunmuştur.

Literatürde yapılan diğer çalışmalarda farklı hammaddeler ve yöntemler kullanılmasına rağmen, çoğunlukla yeşil çözücülerin daha avantajlı olduğu analiz sonuçları elde

edilmiştir. Ayrıca çalışmaların çoğunda derin ötektik çözücülerin geleneksel çözücülere bir alternatif olabileceği fakat bu konu hakkında daha çok sayıda araştırma yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanol ve metanol gibi yaygın olarak ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan uçucu, parçalanamaz, yanıcı, yüksek maliyetli, insan sağlığına ve çevreye zararlı olması gibi dezavantajlara sahip geleneksel organik çözücülere; biyolojik olarak parçalanabilir, geri dönüştürülebilir, toksik olmayan, sürdürülebilir, düşük maliyetli ve hazırlama kolaylığı gibi büyük avantajlara sahip yeşil çözücülerin bir alternatif olabileceği gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasının materyalleri yeni fonksiyonel gıdaların, gıda katkı maddelerinin ve ilaç endüstrisi ürünlerinin besin değerini ve antioksidan aktivitesini arttırmak için ekstraksiyon işlemlerinin optimizasyonuna yönelik gelecekteki çalışmalarda kullanılabilir.

Öneriler

- İnsan sağlığına ve çevreye zarar vermeyen yeşil çözücüler, tehlikeli çözücülerin yerini alacak şekilde tasarlanmalı ve üretilmelidir. Sürdürülebilir bir döngü için kullanılan zararlı çözücülerin yerine, yeşil çözücü kullanımını yaygınlaştırmak için bu alandaki çalışmalara olabildiğince katkı sağlanmak gerekmektedir.
- Işık, pH, nem ve sıcaklık gibi olumsuz koşullardan etkilenen yararlı biyoaktif bileşiklerin dayanıklılıklarını arttırmanın yanı sıra aroma, renk ve tat gibi duyuşal özelliklerini uzun süre koruyabilmeleri için enkapsülasyon işlemi uygulanabilir.
- Bu çalışma sonucunda kara mürver bitkisini bir ürüne ekleyerek o ürünü fonksiyonel gıda haline getirilebileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., and Tambyrajah, V. 2003. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical communications*, (1): 70-71.
- Ağalar, H. G., Demirci, B., Demirci, F., and Kırimer, N. 2017. The volatile compounds of the elderflowers extract and the essential oil. *Records of Natural Products*, 11(5): 491-496.
- Aizawa, K. and Inakuma, T. 2009. Dietary capsanthin, the main carotenoid in paprika (*Capsicum annuum*), alters plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels and hepatic gene expression in rats. *British Journal of Nutrition*, 102(12): 1760-1766.
- Akbulut, M., Ercisli, S., and Tosun, M. 2009. Physico-chemical characteristics of some wild grown European elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes. *Pharmacognosy magazine*, 5(20): 320.
- Alıç, B. 2022. Farklı tekniklerde kurutulmuş kara mürver meyvesinin, bisküvi üretiminde kullanım imkânları (Master's thesis, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Aliakbarian, B., Paini, M., Casazza, A. A., and Perego, P. 2015. Effect of encapsulating agent on physical-chemical characteristics of olive pomace polyphenols-rich extracts. *Chemical Engineering Transactions*, 43: 97-102.
- Almajano, M. P., Delgado, M. E. and Gordon, M. H. 2007. Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. *Food Chemistry*, 101 (1): 126-130.
- Alonso, D. A., Baeza, A., Chinchilla, R., Guillena, G., Pastor, I. M., and Ramón, D. J. 2016. Deep eutectic solvents: the organic reaction medium of the century. *European Journal of Organic Chemistry*, 2016(4): 612-632.
- Armenta, S., Garrigues, S., Esteve-Turrillas, F. A., & de la Guardia, M. 2019. Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116: 248-253.
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., and Mussatto, S. I. 2017. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee

- grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food chemistry*, 237: 623-631.
- Ballesteros-Gómez, A., Lunar, L., Sicilia, M. D., and Rubio, S. 2019. Hyphenating supramolecular solvents and liquid chromatography: tips for efficient extraction and reliable determination of organics. *Chromatographia*, 82(1): 111-124.
- Ballesteros-Gómez, A., Sicilia, M. D., and Rubio, S. 2010. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. *Analytica Chimica Acta*, 677(2): 108-130.
- Barbieri, J. B., Goltz, C., Cavalheiro, F. B., Toci, A. T., Igarashi-Mafra, L., and 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.
- Basar, A. O., Prieto, C., Durand, E., Villeneuve, P., Sasmazel, H. T., and Lagaron, J. 2020. Encapsulation of β -carotene by emulsion electrospraying using deep eutectic solvents. *Molecules*, 25(4): 981.
- Basta, A. H., El-Saied, H., & Lotfy, V. F. 2013. Performance of rice straw-based composites using environmentally friendly polyalcoholic polymers-based adhesive system. *Pigment & Resin Technology*, 42(1): 24-33.
- Bell, D. R. and Gochenaur, K. 2006. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of applied physiology*, 100(4): 1164-1170.
- Bonerz, D., Würth, K., Dietrich, H., & Will, F. 2007. Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars. *European Food Research and Technology*, 224(3): 355-364.
- Bubalo, M. C., Ćurko, N., Tomašević, M., Ganić, K. K. and Redovniković, I. R. 2016. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200: 159-166.
- Bubalo, M. C., Vidović, S., Redovniković, I. R. and Jokić, S. 2015. Green solvents for green technologies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90: 1631–1639.
- Cabeza, L. F., de Gracia, A., Fernández, A. I. and Farid, M. M. 2017. Supercritical CO₂ as heat transfer fluid: A review. *Applied thermal engineering*, 125: 799-810.

- Carmona-Cabello, M., Garcia, I. L., Leiva-Candia, D., and Dorado, M. P. 2018. Valorization of food waste based on its composition through the concept of biorefinery. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 14: 67-79.
- Carriazo, D., Serrano, M. C., Gutiérrez, M. C., Ferrer, M. L., & del Monte, F. 2012. Deep-eutectic solvents playing multiple roles in the synthesis of polymers and related materials. *Chemical Society Reviews*, 41(14): 4996-5014.
- Chantaro, P., Devahastin, S. and Chiewchan, N. 2008. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT-Food Science and Technology*, 41(10): 1987-1994.
- Chemat, F., Abert Vian, M., Ravi, H. K., Khadhraoui, B., Hilali, S., Perino, S. and Fabiano Tixier, A. S. 2019. Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects. *Molecules*, 24(16): 3007.
- Chemat, F., Vian, M. A. and Cravotto, G. 2012. Green extraction of natural products: Concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7): 8615-8627.
- Choi, Y. H., and Verpoorte, R. 2019. Green solvents for the extraction of bioactive compounds from natural products using ionic liquids and deep eutectic solvents. *Current Opinion in Food Science*, 26: 87-93.
- Clarke, C. J., Tu, W. C., Levers, O., Brohl, A. and Hallett, J. P. 2018. Green and sustainable solvents in chemical processes. *Chemical Reviews*, 118(2): 747-800.
- Clouthier, C. M., & Pelletier, J. N. 2012. Expanding the organic toolbox: a guide to integrating biocatalysis in synthesis. *Chemical Society Reviews*, 41(4): 1585-1605.
- Da Silva, R. F., Barreira, J. C., Heleno, S. A., Barros, L., Calhelha, R. C., & Ferreira, I. C. 2019. Anthocyanin profile of elderberry juice: A natural-based bioactive colouring ingredient with potential food application. *Molecules*, 24(13): 2359.
- 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.

- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. 2013. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica chimica acta*, 766: 61-68.
- Dai, Y., Verpoorte, R., and Choi, Y. H. 2014. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food chemistry*, 159: 116-121.
- Das, S., Mondal, A. and Balasubramanian, S. 2017. Recent advances in modeling green solvents. *Current opinion in green and sustainable chemistry*, 5: 37-43.
- Davis, S. J. 2015. Deep eutectic solvents derived from inorganic salts. Doctoral dissertation, University of Leicester, 251 pages, Leicester.
- de Dios, S. L. G. 2013. Phase equilibria for extraction processes with designer solvents. Doctoral dissertation, Universidade de Santiago de Compostela, 149 pages, Spain.
- Domínguez, R., Zhang, L., Rocchetti, G., Lucini, L., Pateiro, M., Munekata, P. E. and Lorenzo, J. M. 2020. Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. *Food chemistry*, 330: 127266.
- El Achkar, T., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. 2021. Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environmental chemistry letters*, 19: 3397-3408.
- Enescu, C. M., Houston Durrant, T., and Caudullo, G. 2016. *Sambucus nigra* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*; Publication Office of the European Union: Luxembourg, pp. 170-172, Luxembourg.
- Faller, A. L. K., and Fialho, E. F. N. U. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6): 561-568.
- Faria, A., Pestana, D., Teixeira, D., de Freitas, V., Mateus, N., and Calhau, C. 2010. Blueberry anthocyanins and pyruvic acid adducts: anticancer properties in breast cancer cell lines. *Phytotherapy research*, 24(12): 1862-1869.
- Fazio, A., Plastina, P., Meijerink, J., Witkamp, R. F., and Gabriele, B. 2013. Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: Fatty acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and

- anti-inflammatory properties of the methanolic extracts. Food chemistry, 140(4): 817-824.
- Ferreira, S. S., Silva, P., Silva, A. M., & Nunes, F. M. 2020. Effect of harvesting year and elderberry cultivar on the chemical composition and potential bioactivity: A three-year study. Food Chemistry, 302: 125366.
- Finn, C. E., Thomas, A. L., Byers, P. L., and Serçe, S. 2008. Evaluation of American (*Sambucus canadensis*) and European (*S. nigra*) elderberry genotypes grown in diverse environments and implications for cultivar development. HortScience, 43(5): 1385-1391.
- Francisco, M., Van Den Bruinhorst, A., and Kroon, M. C. 2012. New natural and renewable low transition temperature mixtures (LTTMs): screening as solvents for lignocellulosic biomass processing. Green Chemistry, 14(8): 2153-2157.
- Fuleki, T. and Francis, F. J. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. Journal of Food Science, 33 (1): 72-83
- Füzfai, Z., Katona, Z. F., Kovács, E., & Molnár-Perl, I. 2004. Simultaneous identification and quantification of the sugar, sugar alcohol, and carboxylic acid contents of sour cherry, apple, and berry fruits, as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography– mass spectrometry. Journal of agricultural and food chemistry, 52(25): 7444-7452.
- Gonçalves, A. C., Rodrigues, M., Santos, A. O., Alves, G. and Silva, L. R. 2018. Antioxidant status, antidiabetic properties and effects on Caco-2 cells of colored and non-colored enriched extracts of sweet cherry fruits. Nutrients, 10(11): 1688.
- Gopal, S. S., Lakshmi, M. J., Sharavana, G., Sathaiah, G., Sreerama, Y. N., and Baskaran, V. 2017. Lactucaxanthin—a potential anti-diabetic carotenoid from lettuce (*Lactuca sativa*) inhibits α -amylase and α -glucosidase activity in vitro and in diabetic rats. Food & function, 8(3): 1124-1131.
- Gutiérrez-Arnillas, E., Álvarez, M. S., Deive, F. J., Rodríguez, A., and Sanromán, M. Á. 2016. New horizons in the enzymatic production of biodiesel using neoteric solvents. Renewable Energy, 98: 92-100.
- Herrero, M., Cifuentes, A., and Ibañez, E. 2006. Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. Food chemistry, 98(1): 136-148.

- Iancu, M. L. D. 2018. Comparative analysis of the aromatic, sensory profile of the elder flower (*Sambucus nigra*) compote, an innovative product, with beverages of “elder flower juice” type. *Biotechnology, Food Industry*, 19(3): 257-267.
- Jimenez, P., Cabrero, P., Basterrechea, J. E., Tejero, J., Cordoba-Diaz, D., Cordoba-Diaz, M., & Girbes, T. 2014. Effects of short-term heating on total polyphenols, anthocyanins, antioxidant activity and lectins of different parts of dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.). *Plant foods for human nutrition*, 69: 168-174.
- Jing, P., Bomser, J. A., Schwartz, S. J., He, J., Magnuson, B. A. and Giusti, M. M. 2008. Structure– function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(20): 9391-9398.
- Jones, D. R., & Ashby, M. F. 2012. *Engineering materials 2: an introduction to microstructures and processing*, Butterworth-Heinemann, pp. 63-82, Oxford.
- Jonušaitė, K., Venskutonis, P. R., Martínez-Hernández, G. B., Taboada-Rodríguez, A., Nieto, G., López-Gómez, A., & Marín-Iniesta, F. 2021. Antioxidant and antimicrobial effect of plant essential oils and *Sambucus nigra* extract in salmon burgers. *Foods*, 10(4): 776.
- Kallel, F., Driss, D., Chaari, F., Belghith, L., Bouaziz, F., Ghorbel, R., & Chaabouni, S. E. 2014. Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 62: 34-41.
- Kaltsa, O., Lakka, A., Grigorakis, S., Karageorgou, I., Batra, G., Bozinou, E., Lalas, S. and Makris, D. P. 2020. A green extraction process for polyphenols from elderberry (*Sambucus nigra*) flowers using deep eutectic solvent and ultrasound-assisted pretreatment. *Molecules*, 25(4): 921.
- Kantar, N. K., Yılmaz, M. S., Yakan, A. İ. ve Demirkol, Ö. Ş. 2021. Gıdalardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda derin ötektik çözücülerin kullanımı. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2): 591-597.
- Keser, O. ve Bilal, T. 2010. Kitosan oligosakkaritin hayvan beslemede kullanımı antioksidan, antimikrobiyal ve diğer etkileri. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 50 (1): 41-52.

- Knez, Ž., Markočič, E., Leitgeb, M., Primožič, M., Hrnčič, M. K. and Škerget, M. 2014. Industrial applications of supercritical fluids: A review. *Energy*, 77: 235-243.
- Kowalska, G., Wyrostek, J., Kowalski, R., & Pankiewicz, U. 2021. Evaluation of glycerol usage for the extraction of anthocyanins from black chokeberry and elderberry fruits. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 22: 100296.
- Kumar, K., Srivastav, S., and Sharanagat, V. S. 2021. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70: 105325.
- Leroy, E., Jacquet, P., Coativy, G., laire Reguerre, A., & Lourdin, D. 2012. Compatibilization of starch–zein melt processed blends by an ionic liquid used as plasticizer. *Carbohydrate Polymers*, 89(3): 955-963.
- Li, Z., Smith, K. H., and Stevens, G. W. 2016. The use of environmentally sustainable bio-derived solvents in solvent extraction applications—a review. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 24(2): 215-220.
- Liu, D., He, X. Q., Wu, D. T., Li, H. B., Feng, Y. B., Zou, L., & Gan, R. Y. 2022. Elderberry (*Sambucus nigra* L.): Bioactive compounds, health functions, and applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(14): 4202-4220.
- Maiti, S., Ray, D., Mitra, D., & Mukhopadhyay, A. 2013. Isolation and characterisation of starch/polyvinyl alcohol degrading fungi from aerobic compost environment. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 82: 9-12.
- Małgorzata, D., Aleksandra, P., Monika, T., & Ireneusz, K. 2019. A new black elderberry dye enriched in antioxidants designed for healthy sweets production. *Antioxidants*, 8(8): 257.
- Mbous, Y. P., Hayyan, M., Hayyan, A., Wong, W. F., Hashim, M. A., and Looi, C. Y. 2017. Applications of deep eutectic solvents in biotechnology and bioengineering. Promises and challenges. *Biotechnology advances*, 35(2): 105-134.
- Milena, V., Tatjana, M., Gökhan, Z., Ivana, B., Aleksandra, C., Mohammad, M. F. and Marija, R. 2019. Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136: 93-101.

- Mišan, A., Nađpal, J., Stupar, A., Pojić, M., Mandić, A., Verpoorte, R., and Choi, Y. H. 2020. The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(15): 2564-2592.
- Miyake, S., Takahashi, N., Sasaki, M., Kobayashi, S., Tsubota, K. and Ozawa, Y. 2012. Vision preservation during retinal inflammation by anthocyanin-rich bilberry extract: cellular and molecular mechanism. *Laboratory investigation*, 92(1): 102-109.
- Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomeczak, D. and Łysiak, G. P. 2018. Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. *Journal of Functional Foods*, 40: 377-390.
- Molina, A. K., Corrêa, R. C., Prieto, M. A., Pereira, C., and Barros, L. 2023. Bioactive Natural Pigments' Extraction, Isolation, and Stability in Food Applications. *Molecules*, 28(3): 1200.
- Mratinić, E., and Fotirić, M. 2007. Selection of black elderberry (*Sambucus nigra* L.) and evaluation of its fruits usability as biologically valuable food. *Genetika*, 39(3): 305-314.
- Naidu, D. S., Hlangothi, S. P., and John, M. J. 2018. Bio-based products from xylan: A review. *Carbohydrate polymers*, 179: 28-41.
- Neves, C. M., Pinto, A., Gonçalves, F., and Wessel, D. F. 2021. Changes in elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice concentrate polyphenols during storage. *Applied Sciences*, 11(15): 6941.
- Oniszczyk, A., Olech, M., Oniszczyk, T., Wojtunik-Kulesza, K., and Wójtowicz, A. 2019. Extraction methods, LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional food enriched with elderberry flowers or fruits. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8): 4719-4730.
- Ozturk, B., Parkinson, C. and Gonzalez-Miquel, M. 2018. Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology*, 206: 1-13
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R. L. and Duarte, A. R. C. 2014. Natural deep eutectic solvents—solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5): 1063-1071.

- Patil, S. S., Pathak, A., and Rathod, V. K. 2021. Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solvent based extraction: A greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa*. *Ultrasonics sonochemistry*, 70: 105267.
- Patinha, S., Murteira, J. V., Costa, C. P., Salvador, A. C., Santos, S. A., Silvestre, A. J. and Rocha, S. M. 2021. *Applied Sciences*, 12(1): 382.
- Peker, H., ve Arslan, S. 2011. Mikroenkapsülasyon ve süt teknolojisinde kullanım alanları. *Akademik Gıda*, 9(6): 70-80.
- Pizzi, A., & Tekely, P. 1995. Mechanism of polyphenolic tannin resin hardening by hexamethylenetetramine: CP–MAS ¹³C-NMR. *Journal of applied polymer science*, 56(12): 1645-1650.
- Plaza, M., Domínguez-Rodríguez, G., Sahelices, C. and Marina, M. L. 2021. A Sustainable Approach for Extracting Non-Extractable Phenolic Compounds from Mangosteen Peel Using Ultrasound-Assisted Extraction and Natural Deep Eutectic Solvents. *Applied Sciences*, 11(12): 5625.
- Popovic, B. M., Micic, N., Potkonjak, A., Blagojevic, B., Pavlovic, K., Milanov, D., and Juric, T. 2022. Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents–Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction. *Food Chemistry*, 366: 130562.
- Przybylska-Balcerek, A., Szablewski, T., Szwajkowska-Michałek, L., Świerk, D., Cegielska-Radziejewska, R., Krejpcio, Z., Suchowilska, E., Tomczyk, Ł. and Stuper-Szablewska, K. 2021. *Sambucus nigra* extracts–Natural antioxidants and antimicrobial compounds. *Molecules*, 26(10): 2910.
- Qin, Z., Cheng, H., Song, Z., Ji, L., Chen, L. and Qi, Z. 2022. Selection of deep eutectic solvents for extractive deterpenation of lemon essential oil. *Journal of Molecular Liquids*, 350: 118524.
- Razboršek, I. M., Ivanović, M., Krajnc, P. and Kolar, M. 2020. Choline chloride based natural deep eutectic solvents as extraction media for extracting phenolic compounds from chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Molecules*, 25(7): 1619.
- Ribeiro, A. M., Estevinho, B. N. and Rocha, F. 2019. Spray drying encapsulation of elderberry extract and evaluating the release and stability of phenolic compounds in encapsulated powders. *Food and Bioprocess Technology*, 12(8): 1381-1394.

- Ribeiro, A. M., Estevinho, B. N. and Rocha, F. 2020. Microencapsulation of polyphenols- The specific case of the microencapsulation of *Sambucus Nigra* L. extracts-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 105: 454-467.
- Rizk, E. M., El-Kady, A. T. and El-Bialy, A. R. 2014. Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1): 53-61.
- Rogers, R. D., & Seddon, K. R. 2003. Ionic liquids--solvents of the future?. *Science*, 302(5646): 792-793.
- Rozylo, R., Wójcik, M., Dziki, D., Biernacka, B., Cacak-Pietrzak, G., Gawłowski, S., & Zdybel, A. 2019. Freeze-dried elderberry and chokeberry as natural colorants for gluten-free wafer sheets. *International Agrophysics*, 33(2).
- Seddon, K. R. 1996. Room-temperature ionic liquids: neoteric solvents for clean catalysis. *Kinetics and Catalysis*, 37(5): 693-697.
- Senica, M., Stampar, F., Veberic, R., & Mikulic-Petkovsek, M. 2017. The higher the better? Differences in phenolics and cyanogenic glycosides in *Sambucus nigra* leaves, flowers and berries from different altitudes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8): 2623-2632.
- Senica, M., Stampar, F., Veberic, R., and Mikulic-Petkovsek, M. 2016. Processed elderberry (*Sambucus nigra* L.) products: A beneficial or harmful food alternative?. *LWT-Food Science and Technology*, 72: 182-188.
- Shahidi, F., and Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18: 820-897.
- Sidor, A. and Gramza-Michałowska, A. 2015. Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food—a review. *Journal of functional foods*, 18: 941-958.
- Silva, J. M., Silva, E., Reis, R. L., and Duarte, A. R. C. 2019. A closer look in the antimicrobial properties of deep eutectic solvents based on fatty acids. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 14: 100192.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.

- Smith, T., Eckl, V., and Reynolds, C. M. 2021. Web sitesi. *Herbal supplement sales in US increase by record-breaking 17.3% in 2020*. American Botanical Council. <https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/131/table-of-contents/hg131-mkrpt/>. Erişim Tarihi: 21.02.2023.
- Stein, Y. S., Antal Jr, M. J., & Jones jr, M. 1983. A study of the gas-phase pyrolysis of glycerol. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 4(4): 283-296.
- Şahin, S. 2019. Tailor-designed deep eutectic liquids as a sustainable extraction media: An alternative to ionic liquids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 174: 324-329.
- Timofeeva, I., Stepanova, K., Shishov, A., Nugbienyo, L., Moskvina, L. and Bulatov, A. 2020. Fluoroquinolones extraction from meat samples based on deep eutectic solvent formation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 93: 103589.
- Torres-Valenzuela, L. S., Ballesteros-Gómez, A., and Rubio, S. 2020. Green solvents for the extraction of high added-value compounds from agri-food waste. *Food Engineering Reviews*, 12(1): 83-100.
- 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*, 138: 110775.
- Usenik, V., Fabčič, J., & Štampar, F. 2008. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 107(1): 185-192.
- Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F., and Schmitzer, V. 2009. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, 114(2): 511-515.
- Vladimir-Knežević, S., Perković, M., Zagajski Kučan, K., Mervić, M. and Rogošić, M. 2022. Green extraction of flavonoids and phenolic acids from elderberry (*Sambucus nigra* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) using deep eutectic solvents. *Chemical Papers*, 76(1): 341-349.
- Vovers, J., Smith, K. H., and Stevens, G. W. 2017. Bio-based molecular solvents. In *The application of green solvents in separation processes*. Elsevier, pp. 91-110.
- Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Tomović, V., Šojić, B., Đurović, S. and Radojković, M. 2020. Elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice as a novel functional

- product rich in health-promoting compounds. *RSC advances*, 10(73): 44805-44814.
- Vulić, J. J., Vračar, L. O., & Šumić, Z. M. 2008. Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit. *Acta periodica technologica*, (39): 85-90.
- Walkowiak-Tomeczak, D., Czapski, J., and Młynarczyk, K. 2016. Assessment of colour changes during storage of elderberry juice concentrate solutions using the optimization method. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(3): 299-309.
- Wang, L. L. and Xiong Y.L. 2005. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (23): 9186-9192.
- Wu, L., Li, L., Chen, S., Wang, L., and 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.
- Wu, T. K., Sheih I. C. and Fang, T. J. 2009. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technology*, 100 (13): 3419-3425.
- Yan, F., Dai, G., and Zheng, X. 2016. Mulberry anthocyanin extract ameliorates insulin resistance by regulating PI3K/AKT pathway in HepG2 cells and db/db mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 36: 68-80.
- Yang, Y., Zhang, J. L., and Zhou, Q. 2022. Targets and mechanisms of dietary anthocyanins to combat hyperglycemia and hyperuricemia: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(4): 1119-1143.
- Yu, J., Gao, J., & Lin, T. 1996. Biodegradable thermoplastic starch. *Journal of applied polymer science*, 62(9): 1491-1494.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ruveyda Eymen ALPTEKİN

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	2020-2023
---------------	--	-----------

Lisans	Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü	2014-2019
--------	--	-----------