

**Atf İçin:** Topdaş EF, 2022. Bazı Bitkilerden Elde Edilen Liyofilize İnfüzyonlarda Demleme Süresi Faktörünün Antioksidan Özellikler ve Ağır Metal Kompozisyonu Üzerine Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12(2): 769-790.

**To Cite:** Topdas EF, 2022. Effect of Brewing Time Factor on Antioxidant Properties and Heavy Metal Composition in Lyophilized Infusions Obtained from Some Plants. Journal of the Institute of Science and Technology, 12(2): 769-790.

### Bazı Bitkilerden Elde Edilen Liyofilize İnfüzyonlarda Demleme Süresi Faktörünün Antioksidan Özellikler ve Ağır Metal Kompozisyonu Üzerine Etkisi

Elif Feyza TOPDAŞ<sup>1\*</sup>

**ÖZET:** Bitki infüzyonları, genellikle polifenol içeriklerinden kaynaklanan faydalı özelliklerinden dolayı dünya çapında yaygın olarak tüketilen içeceklerdir. Bu çalışmada, ülkemizde halk tarafından yaygın olarak kullanılan ve genelde infüzyonları tüketilen; ayva (*Cydonia oblonga*) yaprağı, ıhlamur (*Tilia cordata*) çiçeği ve yaprağı, altın otu (*Helichrysum arenarium*), karabaş otu (*Lavandula stoechas*) çiçeği, hatmi (*Althaea officinalis*) çiçeği ve böğürtlen (*Rubus fruticosus*) yaprağından oluşan yedi farklı bitki ile çalışılmıştır. Bitkilerin 3, 9, 15 ve 21 dk demleme sürelerinde elde edilen liyofilize infüzyonların verim, renk, toplam fenolik ve toplam flavonoid madde, antiradikal aktivite ve ağır metal içerikleri (Hg, Pb, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni, Al ve Cd) değerlendirilmiştir. Hatmi çiçeği ve böğürtlen yaprağının ekstraksiyon verimleri diğer bitkilere kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Demleme süresindeki artışın numunelerin  $L^*$  değerini azalttığı,  $a^*$  değerini artırdığı,  $b^*$  değerini ise genel olarak azalttığı tespit edilmiştir. Liyofilize infüzyonların Folin-Ciocalteu prosedürü ile belirlenen toplam fenolik madde içerikleri 8.05 ile 53.92 mg GAE  $g^{-1}$  aralığında değişim göstermiştir. En yüksek toplam flavonoid madde miktarı karabaş otu infüzyonunda 21. dakikada 22.40 mg KE  $g^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Antiradikal aktivite, ABTS ve DPPH radikal giderme aktivite analizleri ile belirlenmiştir. Tüm bitki infüzyonları toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile güçlü bir şekilde ilişkili olarak antiradikal aktivite sergilemiştir. DPPH radikali giderme aktivitesi analizinde liyofilize infüzyonların  $IC_{50}$  değerleri 20.42-40.65  $\mu g mL^{-1}$  aralığında değişim göstermiştir. DPPH ve ABTS serbest radikallerine karşı en yüksek antiradikal aktivite karabaş otu tarafından sergilenmiştir. Liyofilize infüzyonların ICP-MS ile belirlenen ağır metal içerikleri  $Mn > Zn > Al > Ni > Cu > Cr$  şeklinde sıralanmış ve demleme süresi faktörü mineral geçişi üzerinde  $p < 0.05$  düzeyinde etkili olmuştur. Hg, Pb ve Cd ağır metalleri ise hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, gerçek antioksidan özellikler ve ağır metal içeriğini belirlemek için son ürünü (tüketici tarafından hazırlanan infüzyonlar) analiz etmenin faydalı olacağını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, ağır metal, bitki infüzyonu, demleme, renk

#### Effect of Brewing Time Factor on Antioxidant Properties and Heavy Metal Composition in Lyophilized Infusions Obtained from Some Plants

**ABSTRACT:** Herbal infusions are widely consumed beverages worldwide due to the beneficial properties provided by their polyphenol ingredients. In this study, seven different plants, consisting of quince (*Cydonia oblonga*) leaf, linden (*Tilia cordata*) flower and leaves, golden grass (*Helichrysum arenarium*), French lavender (*Lavandula stoechas*) flower, marshmallow (*Althaea officinalis*) flower, and blackberry (*Rubus fruticosus*) leaves were studied, which are widely used and their infusions are prepared by people in our country. Extraction yields, color, total phenolic and total flavonoid contents, antiradical activities, and heavy metal contents (Hg, Pb, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni, Al, and Cd) of lyophilized infusions obtained at 3, 9, 15 and 21 minutes of brewing times were evaluated. Extraction yields of marshmallow flower and blackberry leaves were higher than other plants. The increase in brewing time caused a decrease in the  $L^*$  value, an increase in the  $a^*$  value, and a general decrease in the  $b^*$  value of the samples. Total phenolic content of lyophilized infusions determined by the Folin-Ciocalteu procedure ranged from 8.05 to 53.92 mg GAE  $g^{-1}$ . The highest total flavonoid amount was detected as 22.40 mg QE  $g^{-1}$  in lyophilized French lavender infusion at the 21st minute. The antiradical activity was determined by ABTS and DPPH radical scavenging activity analyses. All herbal infusions exhibited antiradical activity, strongly correlated with total phenolic and flavonoid contents. In DPPH radical scavenging activity analysis,  $IC_{50}$  values of lyophilized infusions varied between 20.42 and 40.65  $\mu g mL^{-1}$ . The French lavender herb exhibited the highest antiradical activity against DPPH and ABTS free radicals. Heavy metal contents of lyophilized infusions determined by ICP-MS were listed as  $Mn > Zn > Al > Ni > Cu > Cr$ , and the brewing time factor was influential on the mineral transfer at  $p < 0.05$  level. Hg, Pb, and Cd heavy metals were not detected in any samples. The findings in this study suggest that it would be useful to analyze the end product (consumer-prepared infusions) to determine the actual antioxidant properties and heavy metal contents.

**Keywords:** Antioxidant, heavy metal, herbal infusion, brewing, color

<sup>1</sup> Elif Feyza TOPDAŞ (Orcid ID: 0000-0003-3778-3654), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Elif Feyza TOPDAŞ, e-mail: efeyza.topdas@atauni.edu.tr

## GİRİŞ

Dünyada sudan sonra en çok tüketilen içecek grubu çaylardır. ‘Çay’ kelimesinin zihinde uyandırdığı ilk anlam, *Camellia sinensis* L. (Theaceae) yaprakları kullanılarak hazırlanan içecek olsa da; bitki çayı olarak bilinen bitki infüzyonları da (Statista, 2018) tüm dünyada farklı kültürlerde çay adı altında tüketilmektedir (Attard 2011a; Malik ve ark., 2013; Razic ve Kuntic, 2013). Bitki infüzyonları bitkilerin taze ve/veya kurutulmuş yaprak, çiçek, kök, sürgün, meyve veya tohumlarının kaynar suda demlenmesi ile hazırlanmaktadır (Lasekan ve Lasekan, 2012; Preedy, 2013). Günümüzde papatya, melisa, limon otu, nane, fesleğen, lavanta, tarçın, zencefil, adaçayı ve rezene gibi birçok bitkinin infüzyonlarının evlerde hazırlanabilmesi için piyasada paketlenmiş halde satışa sunulan ürünleri bulunmaktadır.

Bitki infüzyonları, doğal ve ferahlatıcı tatlarının yanında diğer duyuşsal özellikleri nedeniyle tüketiciler tarafından beğenilmekte (Koch ve ark., 2012) ve doğal olarak içerdikleri antioksidan etki gösteren bileşenler sayesinde sağlıklı olarak kabul görmektedir (Monbaliu ve ark., 2010). Yapılan araştırmalar bitki infüzyonlarının antioksidan etki gösteren polifenolik bileşiklerin önemli kaynakları olduklarını göstermektedir (Dimitrios, 2006; Riehle ve ark., 2013; Jeszka-Skowron ve ark., 2018). Polifenolik bileşikler, serbest radikalleri nötralle etmeleri ve yağ asitleri gibi bileşiklerin oksidasyonunu önlemeleri sebebiyle önemlidir (Olivier ve ark., 2012). Bu bileşikler sergiledikleri antioksidan aktivite sayesinde hem çeşitli hastalıkların önlenmesini (Mojzer ve ark., 2016), hem de mevcut hastalıkların baskılanmasını sağlamakta ve iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır (González-Vallinas ve ark., 2013).

Ülkemizde yaygın olarak infüzyon şeklinde tüketilen bitkilerden biri olan *Helichrysum arenarium* (altın otu)’un sergilediği antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar özelliklerin (Sagdic ve ark., 2003; Sala ve ark., 2003; Tepe ve ark., 2005) içerdikleri flavonoidlerden kaynaklandığı rapor edilmektedir (Albayrak ve ark., 2010a). Ayva (*Cydonia oblonga* Miller. = *Cydonia vulgaris* Pers, *Pyrus cydonia* L. (Ercan ve Ozkarakas, 2005)) yaprakları halk hekimliğinde yatıştırıcı, ateş düşürücü, ishal önleyici ve öksürük kesici özellikleri ve çeşitli cilt hastalıklarının tedavisi için kullanılmıştır (Oliveira ve ark., 2007). Ayva yapraklarının içerdği biyoaktif bileşenler sayesinde antifungal (Hamid ve ark., 2013), antioksidan (Costa ve ark., 2009) ve kolon kanserine karşı hücre büyümesini baskılayan (Carvalho ve ark., 2010) özellikleri rapor edilmiştir. In vitro çalışmaları, böğürtlenin (*Rubus fruticosus*) güçlü antioksidan, antiproliferatif ve antiinflamatuar aktivitelerini kanıtlamıştır (Dai ve ark., 2007; Zia-Ul-Haq ve ark., 2014). *Tilia cordata* (ıhlamur) yaprak ve çiçekleri yüksek düzeyde flavonoidler, fenolik asitler (kafeik, p-kumarik ve klorojenik asitler), amino asitler, tanenler ve proantosiyaninleri içermektedir (Toker ve ark., 2001; Cittan ve ark., 2018; Pavlović ve ark., 2020). Karabaşotu (*Lavandula stoechas*), zengin aromatik içeriği ile tüm dünyada tanınmakta ve kozmetik, parfümeri ve ilaç sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Benabdelkader ve ark., 2011; Carrasco ve ark., 2015). Gürdal ve Kültür (2013), *L. stoechas*’ın mide ağrısı, diyabet, hipertansiyon, kolesterol ve solunum yolu hastalıklarına karşı kullanıldığını bildirmişlerdir. *Althaea officinalis* (hatmi) tomurcuk ve çiçek infüzyonlarının influenza tedavisinde etkili olduğu (Demirci-Kayıran, 2019) ve çiçeklerinin hipolaetin glikozitler, kaempferol ve dihidrokaempferol içerdği rapor edilmiştir (Dzido ve ark., 1991).

Sağlık açısından faydalı etkileri nedeniyle tüketiciler açısından bitki infüzyonlarının tüketimi teşvik edici olsa da; bitkinin yetiştiği toprak, yağmur, atmosferik tozlar, bitki koruma ajanları ve gübreler aracılığıyla önce bitkiye ve ardından hazırlanan infüzyonlara transfer olabilen toksinler ve toksik metaller insan sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir (Attard, 2011b; Łozak ve ark., 2002). Dünya

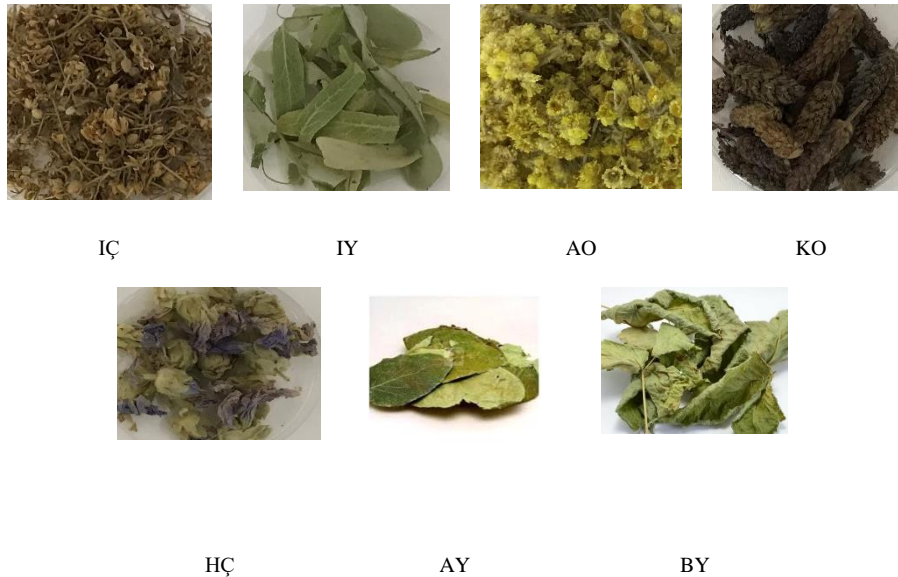
Sağlık Örgütü (WHO), bitki çayı tüketiminde güvenliği sağlamak için toksik olduğu düşünülen bitki çaylarındaki ağır metallerin kontrol edilmesi gerektiğini belirtmektedir (Limmatvapirat ve ark., 2012). Bitkinin içerdiği ağır metallerin işleme esnasında ürüne geçebilmesi sebebiyle özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerin mineral madde kompozisyonlarının belirlenmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’ de yaygın şekilde kullanılan bazı bitkilerden farklı demleme sürelerinde elde edilen liyofilize infüzyonların renk, verim, toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarları ile serbest radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesine ilave olarak; bazıları çok düşük seviyelerde bile toksik etki gösterebilen ağır metaller açısından da araştırılmasıdır. Böylece ayva yaprağı, ıhlamur çiçeği ve yaprağı, altın otu, karabaş otu, hatmi çiçeği ve böğürtlen yaprağı infüzyonları evde hazırladığında bahsedilen özellikler açısından daha iyi bir ürün deneyimini sağlamak adına hangi sürenin daha etkili olduğu da belirlenmiş olacaktır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Bitki infüzyonlarının hazırlanmasında kullanılan bitkiler ayva (*Cydonia vulgaris*) yaprağı, ıhlamur (*Tilia cordata*) çiçeği ve yaprağı, altın otu (*Helichrysum arenarium*), karabaş otu (*Lavandula stoechas*) çiçeği, hatmi çiçeği (*Althaea officinalis*) ve böğürtlen (*Rubus fruticosus*) yaprağı yerel bir satıcıdan paketli olarak temin edilmiştir. Satın alınan bitkilerin tamamı aynı yıla ait mahsullerdir. Çalışmada kullanılan kuru bitkilere ait görseller Şekil 1’ de yer almaktadır. Bitki infüzyonlarının hazırlanması ve analizleri Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarları’nda gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 1.** Çalışmada kullanılan kuru bitki örnekleri

\* Örnek kodlamalar; İÇ: ıhlamur çiçeği, IY: ıhlamur yaprağı, AO: altın otu, KO: karabaş otu, HÇ: hatmi çiçeği, AY: ayva yaprağı ve BY: böğürtlen yaprağı şeklindedir.

### Bitki İnfüzyonlarının Hazırlanması

Bitki infüzyonları Karavoltos ve ark. (2014) tarafından belirtilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Her bitkinin daha önce de bahsedilen çiçek ve/veya yaprak kısımları ayıklanarak; 3'er g'lık porsiyonlar halinde çelik demleme süzgeçlerine konmuş ve üzerlerine 250 mL

kaynar deiyonize su ilave edilerek 3, 9, 15 ve 21 dk boyunca önceden ısıtılmış sıcak bir plaka üzerinde infüze edilmiştir. Daha sonra infüzyonlar, 10 dk boyunca soğumaları için oda sıcaklığına bekletilmiş ve Whatman No:4 filtre kâğıdı ile süzülmüştür. Elde edilen süzüntüler evaporatör yardımıyla (Heidolph Laborata 4000, Germany) vakum altında 50 mL' ye kadar konsantre edilmiş ve  $10^{-3}$  mTorr basınç ve  $-86$  °C' de liyofilize edilmiştir (Operon FDU-8612, Korea). Kalıntılar tartılarak analizler yapılana dek  $-20$  °C' de ağzı hava almayacak şekilde kapatılan cam kavanozlarda bekletilmiştir. Ekstraksiyon verimi,  $V(\%)=(M \cdot m^{-1}) \times 100$  eşitliği yardımıyla hesaplanmıştır (Bezerra ve ark., 2021). Burada, M: liyofilize ekstrakt kütlesi (g) ve m: kuru bitki kütlesi (g)'dir.

### Renk Ölçümü

Numunelerin renk yoğunlukları CIE ( $L^*, a^*, b^*$ ) sisteminde üç boyutlu ölçüm yapan bir kolorimetre (Konica Minolta CR-400, Korea) ile belirlenmiştir. Kolorimetrenin kalibrasyonu cihaza ait standart beyaz plaka yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Her numune için 3' er kere tekrarlanan ölçümler;  $20 \pm 2$  °C' de beyaz bir zemin üzerinde gerçekleştirilmiş ve örneklerin  $L^*$  (parlak:100, koyu:0),  $a^*$  (kırmızı:+60, yeşil:-60) ve  $b^*$  (sarı: +60, mavi: -60) değerleri belirlenmiştir (Topdas ve ark., 2021).

### Toplam Fenolik Madde Miktarı

Liyofilize infüzyonların toplam fenolik madde içerikleri Folin&Ciocalteu's reaktifi kullanılarak Singleton ve ark. (1999)'na göre belirlenmiştir. Bu amaçla, 1000 µg ekstrakt alınarak ultra saf su ile 23 mL'ye tamamlanmış ve üzerine 0.5 mL Folin&Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 3 dk bekletildikten sonra %2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisinden 1.5 mL ilave edilmiş ve 2 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında karıştırılan numunelerin absorbansları 760 nm'de VIS spektrofotometre (PG Instruments T60V, UK) yardımı ile belirlenmiştir. Ölçümler 3' er kere tekrarlanmıştır. Bitki infüzyonlarının toplam fenolik madde miktarları, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denklemi ( $y=0.0208x-0.2990$ ,  $R^2=0.991$ ) yardımıyla hesaplanmış ve mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)  $\text{g}^{-1}$  liyofilize ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

### Toplam Flavonoid Miktarı

Toplam flavonoid madde içeriği Park ve ark. (1997)' in yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Kısaca, liyofilize su infüzyonlarından 1000' er µg tartılarak 0.1 mL 1 M  $\text{CH}_3\text{COOK}$  ve 0.1 mL %10'luk  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  çözeltilerini içeren 4.3 mL etanol çözeltisi ile seyreltilmişlerdir. 40 dk boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında karıştırılan numunelerin absorbansları UV-VIS spektrofotometre ile 415 nm' de köre karşı kaydedilmiştir. Ölçümler 3' er kere tekrarlanmıştır. Bitki infüzyonlarının toplam flavonoid miktarları, kuersetin ile hazırlanan standart eğrinin denklemi ( $y=35.325x-0.0225$ ,  $R^2=0.995$ ) yardımıyla hesaplanmış ve mg KE (Kuersetin Eşdeğeri)  $\text{g}^{-1}$  liyofilize ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

### Antiradikal Aktivite

#### DPPH serbest radikali giderme aktivitesi

Liyofilize infüzyonların DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikal giderme aktiviteleri Balaydın ve ark. (2010)'nın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Serbest radikal çözeltisi olarak DPPH'in etanolde hazırlanan 1 mM'lık çözeltisi kullanılmıştır. Stok ekstrakt çözeltilerden 10, 20 ve 30 µg  $\mu\text{L}^{-1}$  konsantrasyonlarda ve 3' er paralelli olarak tüplere aktarım yapıldıktan sonra toplam hacim etanol ile 3 mL'ye tamamlanmış ve üzerlerine 1'er mL DPPH serbest radikal çözeltisi eklenmiştir. Ardından tüpler vorteksenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk boyunca bekletilmişlerdir. Absorbanslar (A), VIS spektrofotometre ile 517 nm' de kaydedilmiştir. Ölçülen absorbans verileri



kullanılarak her bir örneğin % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (%İnhibisyon=  $[(A_{DPPH} - A_{EKSTRAKT})/A_{DPPH}] \times 100$ ). Ardından % inhibisyon değerleri örnek konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve lineer regrasyon yapılarak her bir örneğe ait IC<sub>50</sub> değerleri (radikalin %50'sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon) belirlenmiştir. Sonuçların kıyaslanması açısından BHA, BHT, Troloks ve  $\alpha$ -Tokoferol standart antioksidanlar olarak kullanılmıştır.

### ABTS serbest radikal giderme aktivitesi

Liyofilize infüzyonların ABTS radikali (2,2'-Azino-bis(3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) giderme aktiviteleri Köksal ve ark. (2009)' nın metoduna göre gerçekleştirilmiştir. ABTS serbest radikal çözeltisi, ultra saf su ile hazırlanan 2 mM konsantrasyonda ABTS çözeltisine 2.45 nM potasyum persülfat çözeltisinin ilave edilmesinin ardından 12 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında karıştırılması ile hazırlanmıştır. Stok ekstrakt çözeltilerden 10, 20 ve 30  $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$  konsantrasyonlarda ve 3' er paralelli olarak tüplere aktarım yapıldıktan sonra toplam hacim etanol ile 1.5 mL'ye tamamlanmış ve üzerlerine 0.5'er mL ABTS serbest radikal çözeltisi eklenmiştir. Ardından tüpler vortekslenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk boyunca bekletilmişlerdir. Absorbanslar (A), VIS spektrofotometre ile 734 nm' de kaydedilmiştir. Ölçülen absorbans verileri kullanılarak her bir örneğin % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (%İnhibisyon=  $[(A_{DPPH} - A_{EKSTRAKT})/A_{DPPH}] \times 100$ ). % İnhibisyon değerleri örnek konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve lineer regrasyon yapılarak her bir örneğe ait IC<sub>50</sub> değerleri (radikalin %50'sinin inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon) belirlenmiştir. Sonuçların kıyaslanması açısından BHA, BHT, Troloks ve  $\alpha$ -Tokoferol standart antioksidanlar olarak kullanılmıştır.

### Ağır Metal Kompozisyonu

Numunelerin mineral madde miktarları İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) (Agilent 7800, UK) ile tespit edilmiştir. Öncelikle 0.5 g olarak tartılan liyofilize ekstraktların üzerine 8 mL %65'lik HNO<sub>3</sub> ve 2 mL %31'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek 15-20 dk beklenmiş ve bir mikrodalga sistemi (Milestone Ethos up SK-15) yardımıyla iki kademeli olarak 200 °C sıcaklık ve 1800 W güçte yaş yakma yapılmıştır. Yakma sonrası tüp içerikleri ultra saf su ile 50 mL'ye tamamlanıp 0.45  $\mu\text{m}$ 'lik membran filtre ile süzölmüş ve süzütüden 0.5 mL alınarak 9.5 mL %2'lik HNO<sub>3</sub> ve %0.5'lik HCl karışımı ile seyreltilmiştir. Ardından ICP-MS cihazı ile standartlara karşı oluşturulan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak numunelerin element miktarları belirlenmiştir (Anonymous, 2007). Analiz edilen elementlerin ölçüm limitleri Çizelge 1' de görülmektedir.

**Çizelge 1.** Analiz edilen elementlere ait ölçüm limitleri (ppb)

Element	LOD*	LOQ**
Al	0.182	0.608
Cr	0.008	0.025
Mn	0.012	0.039
Ni	0.041	0.138
Cu	0.038	0.126
Zn	0.314	1.045
Cd	0.005	0.016
Hg	0.004	0.013
Pb	0.067	0.223

\*LOD (Limit of detection): Gözlenebilme sınırı, \*\*LOQ (Limit of quantification): Tayin alt sınırı.

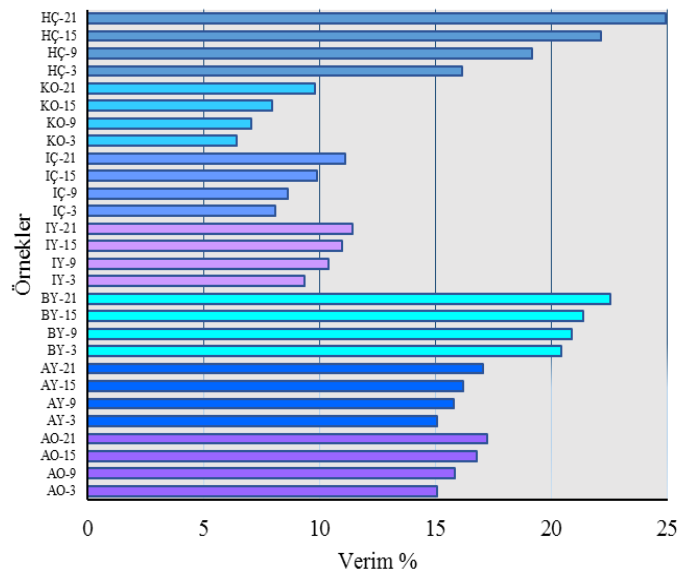
## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Veriler, varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalama değerler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak  $p<0.05$  anlamlılık düzeyinde karşılaştırılmıştır. Ayrıca değişkenler arası ilişki korelasyon testi ile belirlenmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Liyofilize İnfüzyonlarda Verim

Katı:sıvı ekstraksiyonda verim; çözücü türü, pH, katı:sıvı oranları, partikül boyutu, sıcaklık ve süre gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (İlbay, 2016). Mevcut çalışmada, kuru bitki örnekleri kaynar haldeki deiyonize su ile farklı sürelerde muamele edilerek bitki infüzyonları hazırlanmıştır. İnfüzyonların liyofilizasyonu sonrasında elde edilen ekstraktlara ait verim verileri Şekil 2’de sunulmuştur. En yüksek verim (%24.91) hatmi çiçeği infüzyonunda saptanmıştır. Hatmi çiçeği infüzyonunu sırasıyla; böğürtlen yaprağı, altın otu, ayva yaprağı, ıhlamur yaprağı, ıhlamur çiçeği ve karabaş otu infüzyonları takip etmiştir. Hatmi çiçeği liyofilize infüzyonlarında, 3. dk ile 21. dk arasında %54.11’lik verim artışı kaydedilmiştir. Böğürtlen yaprağı infüzyonunda uygulama boyunca elde edilen verim %20.42 ile %22.54 aralığında değişmiştir. Ayva yaprağı ve altın otu ekstraktlarında 21. dakikada yaklaşık %17 seviyesinde birbirlerine oldukça yakın verim verileri elde edilmiştir. İhlamur çiçeği ve ıhlamur yaprağı infüzyonlarında, verim 3.dakikada sırasıyla %8.10 ve %9.36 olsa da; 21. dakikada değerlerin birbirine oldukça yakın seviyelerde olduğu saptanmıştır (%11.11 ve %11.43). En düşük verimin elde edildiği karabaş otunda ise verim %6.43 ile %9.82 aralığında değişim göstermiştir. Sonuçlar, tüm ekstraktlarda demleme süresinin artışının çözücüye geçen hidrofilik bileşen miktarını artırdığını göstermektedir ( $p<0.05$ ). Dolayısıyla süre faktörünün, bitki matrislerinden hidrofilik bileşiklerin ekstraksiyonunda önemli bir parametre olduğu tespit edilmiştir.



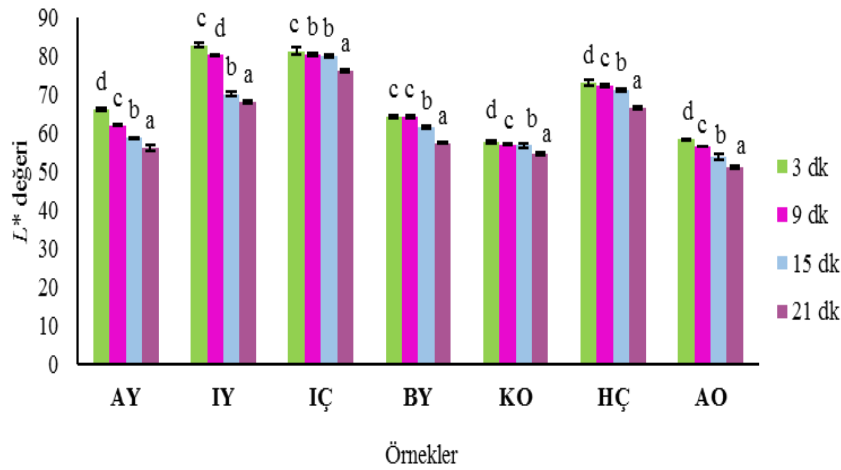
**Şekil 2.** Farklı demleme sürelerine tabi tutulan liyofilize örneklere ait ekstraksiyon verimleri

\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, IY; ıhlamur yaprağı, İÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir. 3,9,15,21; farklı demleme sürelerini (dk) ifade etmektedir.

### Demleme Süresinin Renk Parametreleri Üzerine Etkisi

Renk, tüketicilerin yiyecek ve içecek algısı üzerindeki etkin rolüne ilaveten hayatımızı birçok yönden etkileyen bir özelliktir. Yiyecek ve içeceklerin doğal ve cazip renklere sahip olması onların kabul

edilebilirliklerini önemli düzeyde etkilemektedir. Bu çalışmada, farklı demleme sürelerinin liyofilize infüzyonlarda renk parametreleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Liyofilize infüzyonlarda ölçülen renk parametrelerinden biri olan  $L^*$  değeri Şekil 3' de sunulmuştur. Lightness (parlaklık) olarak adlandırılan  $L^*$  değeri, siyah (0)- beyaz (100) rengin ölçüsüdür. Tüm numunelerde demleme süresindeki artış  $L^*$  değerini önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) azaltmış yani rengin koyulaşmasına sebep olmuştur. Benzer şekilde Saklar ve ark. (2015)' da demleme süresi arttıkça infüzyon renginin daha kahverengi olduğunu ifade etmiştir. Bu durumun demleme süresince meydana gelen çeşitli enzimatik reaksiyonlar, termal yıkım reaksiyonları (Brug ve Fralle, 1995; Yuan ve Chen, 1998) ve/veya bitki matrisinden infüzyona geçen hidrofilik bileşen miktarının artışından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmada genel olarak en yüksek  $L^*$  değerleri ıhlamur çiçeğinin farklı demleme sürelerindeki infüzyonlarında tespit edilmiş olup; 3. dakikadan 21. dakikaya kadar 81.40'dan 76.19'a kadar gerilemiştir. 3 dakikalık infüzyonda ıhlamur çiçeğinden daha açık renkte olan ( $L^*:82.90$ ) ıhlamur yaprağı liyofilize infüzyonu 9. dakikadan sonra koyulaşarak 21. dakikada ıhlamur çiçeği infüzyonundan daha koyu bir hal almıştır ( $L^*:68.25$ ). En koyu renk ise diğer numunelere kıyasla tüm infüzyon sürelerinde altın otundan elde edilen liyofilize infüzyonlara aittir (51.19-58.40).



Şekil 3. Liyofilize infüzyonlara ait  $L^*$  değerleri

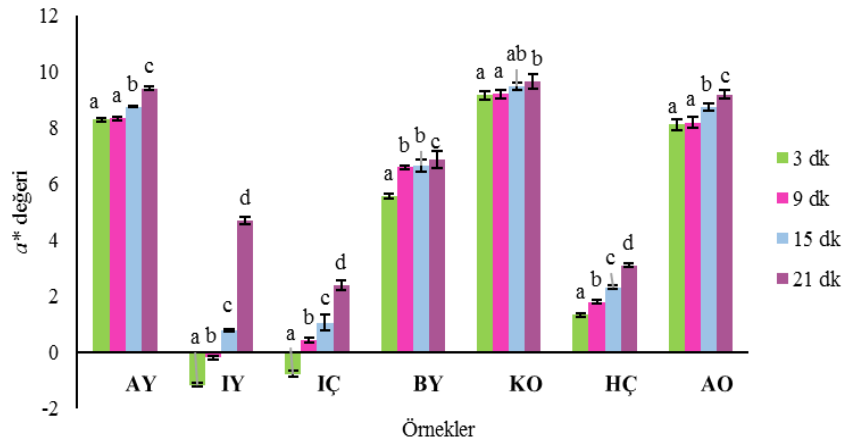
\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, IY; ıhlamur yaprağı, İÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir.

\*\*a,b,c,d Sütunlar üzerindeki farklı harfler, dört farklı sürede demlenmiş infüzyonların  $L^*$  değerleri arasında önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Kırmızılık ( $a^*$ ) parametresi kırmızı-yeşil eksenindeki örneklerin renklerini tanımlamaktadır. Liyofilize infüzyonlara ait  $a^*$  değerleri Şekil 4'de görülmektedir. Elde edilen verilere göre tüm örneklerde  $a^*$  değeri -1.15 ile 9.67 aralığında değişim göstermiştir. İnfüzyon süresindeki artış örneklerde  $a^*$  değerlerini önemli düzeyde artırmıştır ( $p<0.05$ ). 3. dakikada elde edilen ıhlamur çiçeği ve ıhlamur yaprağı liyofilize infüzyonları ile 9. dakikada elde edilen ıhlamur yaprağı infüzyonlarının renklerinin diğer örneklere kıyasla daha yeşilimsi olduğu belirlenmiştir. İnfüzyonların 21. dakikasında en yüksek kırmızılık karabaş otunda (9.67) ve onu takiben ayva yaprağı (9.41) ile altın otu (9.20) ekstraktlarında ölçülmüştür. 3. dakikadan 21. dakikaya kadar sırasıyla -1.15, -0.18, 0.80, 4.71 değerleri ile  $a^*$  değerinde en fazla artışın gözlemlendiği örnek ıhlamur yaprağıdır.

Sarılık ( $b^*$ ) parametresi, sarı-mavi aralığında renk değişimlerini ölçmekte ve değer büyüdükçe rengin daha sarımsı hale geldiğini ifade etmektedir. Liyofilize infüzyonlarda  $b^*$  değerleri 10.79 ile 37.20 arasında değişim göstermiştir (Şekil 5). Artan demleme süresi boyunca 3. dakikaya kıyasla 21. dakikada

ayva yaprağı, böğürtlen yaprağı, karabaş otu ve altın otu liyofilize infüzyonlarının  $b^*$  değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Çalışılan bitkiler arasında en sarı örnek altın otu liyofilize infüzyonudur. Bu örnekte 3. dakikada 37.20 olan  $b^*$  değeri 21. dakikada 32.75' e gerilemiştir.

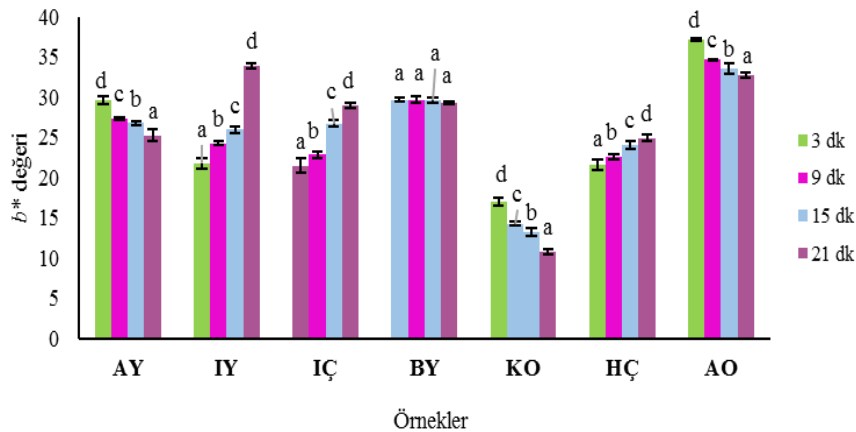


Şekil 4. Liyofilize infüzyonlara ait  $a^*$  değerleri

\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, IY; ıhlamur yaprağı, IÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir.

\*\*a,b,c,d Sütunlar üzerindeki farklı harfler, dört farklı sürede demlenmiş infüzyonların  $a^*$  değerleri arasında önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Karabaş otu liyofilize infüzyonu ise, tüm infüzyon sürelerinde  $b^*$  değeri en düşük olan örnektir. Demleme süresindeki değişimden  $b^*$  değeri en az etkilenen örnek olan böğürtlen yaprağı infüzyonunda değerler 29.70 ile 29.35 aralığında değişim göstermiştir. ıhlamur yaprağı infüzyonu ise 3.dakikadan 21.dakikaya kadar sarılık değeri en çok yükselen numunedir (21.79-33.97).



Şekil 5. Liyofilize infüzyonlara ait  $b^*$  değerleri

\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, IY; ıhlamur yaprağı, IÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir.

\*\*a,b,c,d Sütunlar üzerindeki farklı harfler, dört farklı sürede demlenmiş infüzyonların  $b^*$  değerleri arasında önemli düzeyde fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

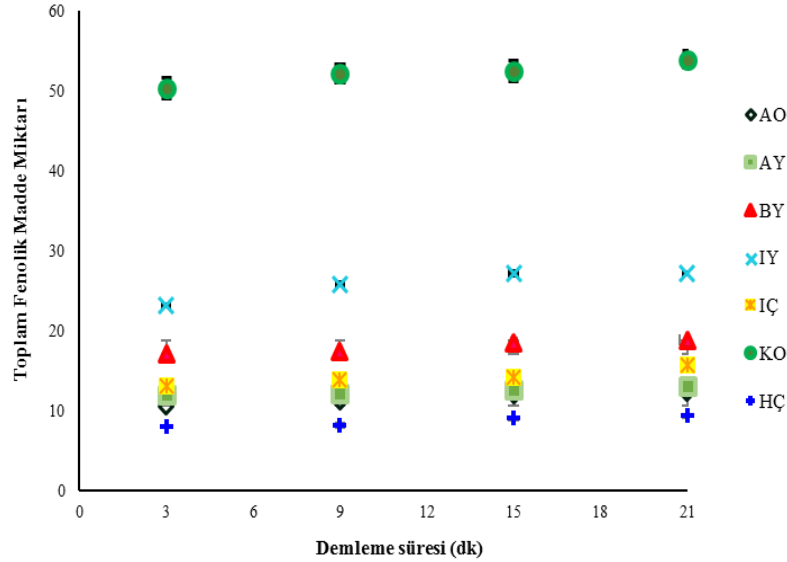
### Demleme Süresinin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Madde Miktarı ile Antiradikal Aktivite Üzerine Etkileri

Bitkiler aleminde geniş bir dağılıma sahip olan fenolik bileşikler, hidrojen verme ve kararlı radikal ara ürünler oluşturma yeteneklerinden dolayı önemli antioksidanlar olarak bilinmektedirler (Deligiannidou ve ark., 2018). Fenolik bileşikler bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olup; sergiledikleri antioksidan aktivite sayesinde geçiş metallerini şelatlama, bazı enzimleri inhibe etme ve



serbest radikalleri temizlemede önemli bir rol oynayabilmektelerdir (Scaduto, 1995; Sacchetti ve ark., 2004; Keskes ve ark., 2017). Dolayısıyla bitkilerin antioksidan özellikleri ve radikal süpürücü özellikleri, doğrudan tıbbi değerleri ile ilişkilidir.

Bu çalışmada liyofilize infüzyonların toplam fenolik madde miktarı, toplam flavanoid madde miktarı ve ABTS ile DPPH serbest giderme aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.



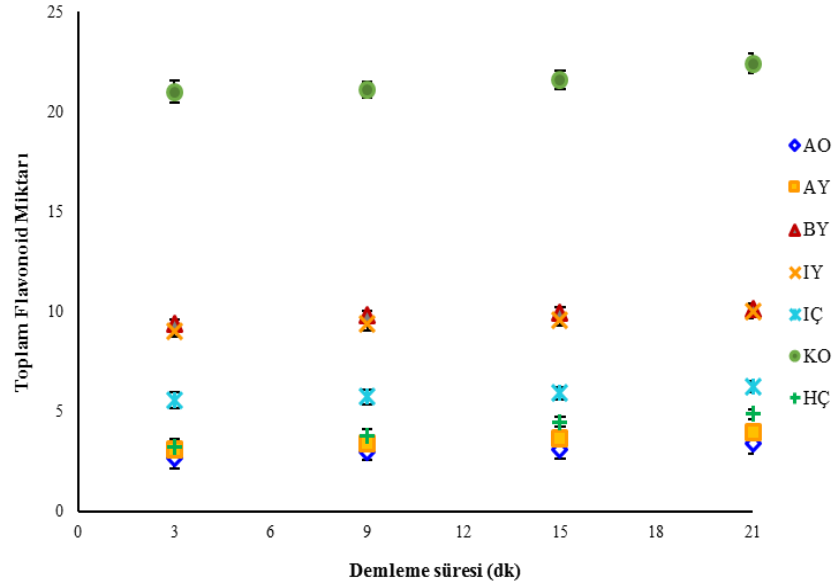
**Şekil 6.** Liyofilize infüzyonlara ait toplam fenolik madde miktarları

\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, İY; ıhlamur yaprağı, İÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir.

\*\*Toplam fenolik madde miktarı mg GAE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

Liyofilize infüzyonların Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenolik madde miktarları ile toplam flavonoid miktarları Şekil 6 ve Şekil 7' de görülmektedir. Çalışılan tüm bitkilerde demleme süresi artışının liyofilize infüzyonların toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarını önemli düzeyde artırdığı ( $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir. Ayrıca, infüzyonların toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları arasında önemli düzeyde ( $p < 0.01$ ) pozitif korelasyon belirlenmiştir ( $r = 0.90$ ). En yüksek toplam fenolik madde miktarı, karabaş otu infüzyonlarında belirlenirken ( $50.33 \pm 1.36$ - $53.92 \pm 1.12$  mg GAE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt), en düşük değerler hatmi çiçeği grubunda ( $8.05 \pm 0.04$ - $9.36 \pm 0.07$  mg GAE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) gözlenmiştir. Toplam flavonoidler açısından liyofilize infüzyonlar değerlendirildiğinde sıralamanın karabaş otu ( $20.98 \pm 0.75$ - $22.40 \pm 0.36$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > böğürtlen yaprağı ( $9.41 \pm 0.06$ - $10.13 \pm 0.06$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > ıhlamur yaprağı ( $9.00 \pm 0.05$ - $9.98 \pm 0.04$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > ıhlamur çiçeği ( $5.53 \pm 0.03$ - $6.23 \pm 0.06$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > hatmi çiçeği ( $3.24 \pm 0.05$ - $4.85 \pm 0.04$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > ayva yaprağı ( $3.08 \pm 0.05$ - $3.92 \pm 0.05$  mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt) > altın otu ( $2.66 \pm 0.03$ - $3.37 \pm 0.02$  mg KE g<sup>-1</sup> ekstrakt) şeklinde olduğu belirlenmiştir. Celep ve ark. (2018), karabaş otunun (*L. stoechas*) %80'lik metanol ekstraktlarında toplam fenolik ve toplam flavonoid madde içeriklerini sırasıyla,  $81.58 \pm 3.66$  mg GAE g<sup>-1</sup> kuru ekstrakt ve  $35.05 \pm 1.22$  mg KE g<sup>-1</sup> kuru ekstrakt olarak rapor etmiştir. Mevcut çalışmada en düşük fenolik ve flavonoid miktarlarının belirlendiği ekstraktlar açısından literatür incelendiğinde; *A. officinalis* (hatmi çiçeği) için fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla  $7.38$  mg GAE g<sup>-1</sup> ve  $20$  mg KE g<sup>-1</sup> (Paşca ve ark., 2016) iken, *H. arenarium* (altın otu) için  $8.31$  mg GAE g<sup>-1</sup> kuru ekstrakt (Gadjalova ve Mihaylova, 2019) ve  $3.34$  mg KE g<sup>-1</sup> kuru ağırlık (Stankov ve ark., 2020) olarak rapor edildiği görülmektedir. Çalışmamızda elde edilen verilerden,

karabaş otu liyofilize infüzyonlarının fenolik ve flavonoid madde verileri ile hatmi çiçeği liyofilize infüzyonlarının flavonoid miktarları bahsedilen çalışmalara göre düşüktür. Bu durum bitkinin bileşimini etkileyen faktörlere (coğrafi konum, toprak bileşimi, hasat zamanı, su kaynağı, sulama rejimi, gübre bileşenleri ve genotip) bağlı olabileceği gibi, çalışma şartları ve metod farklılıklardan da kaynaklanmış olabilir.



**Şekil 7.** Liyofilize infüzyonlara ait toplam flavonoid miktarları

\*Örnek kodlamaları: AY; ayva yaprağı, İY; ihlamur yaprağı, İÇ; ihlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otu şeklindedir.

\*\*Toplam flavonoid miktarı mg KE g<sup>-1</sup> liyofilize ekstrakt olarak ifade edilmiştir.

DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitesi metodları numunenin kısa sürede analiz edilebilmesi ve düşük konsantrasyonlarda doğal ürünlere uygulanabilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Floegel ve ark., 2011). Çizelge 2, çalışmamızda kullanılan bitkilerin farklı sürelerde elde edilen liyofilize infüzyonlarının ve BHA, BHT, Trolox ve  $\alpha$ -Tokoferol standart antioksidanlarının serbest radikal giderme aktivitelerini göstermektedir. Liyofilize infüzyonların DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri arasında  $p < 0.01$  düzeyinde çok güçlü bir korelasyon saptanmıştır ( $r = 0.95$ ). Ayrıca, radikal giderme aktiviteleri arasındaki kadar yüksek olmasa da, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı ile  $IC_{50}$  değerleri arasında sırasıyla DPPH için yüksek düzeyde ( $r = 0.70$  ve  $0.66$ ,  $p < 0.01$ ) ve ABTS için orta düzeyde ( $r = 0.53$  ve  $0.48$ ,  $p < 0.01$ ) negatif korelasyonlar mevcuttur. Benzer şekilde birçok çalışma bitki infüzyonlarının antioksidan aktiviteleri ile fenolik bileşimleri arasında korelasyon olduğunu ifade etmektedir (Katsube ve ark., 2004; Kumar, 2011; Vinha ve ark., 2012).

Çizelge 2' de görüldüğü gibi liyofilize infüzyonlar arasında en yüksek DPPH ve ABTS radikal süpürücü etki karabaş otu liyofilize ekstraktlarına aittir. İnfüzyon süresindeki artışın radikal giderme aktivitesini  $p < 0.05$  düzeyinde artırdığı belirlenmiştir. Karabaş otu infüzyonlarında DPPH ve ABTS radikallerine karşı belirlenen  $IC_{50}$  değerleri, 21. dakikada sırasıyla  $20.42 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $29.97 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'dir. Karabagias ve ark. (2019), *L. stoechas* su ekstraktlarının yüksek düzeyde antioksidan aktivite sergilediğini ( $7.05 \text{ mg mL}^{-1}$ ) ve bu durumun polar özellikte olan sulu ortamın diğer indirgeme ajanları arasında özellikle fenolik asitler ve flavonoidlerin etkin salınımını desteklediğinin göstergesi olduğunu bildirmiştir. Farklı bir çalışmada, *L. stoechas* ile aynı familyada olan *L. angustifolia*'nın infüzyon ve

**Bazı Bitkilerden Elde Edilen Liyofilize İnfüzyonlarda Demleme Süresi Faktörünün Antioksidan Özellikler ve Ağır Metal Kompozisyonu Üzerine Etkisi**

kaynatma yöntemleri ile hazırlanan içeceklerinin diğer çözücülere kıyasla daha yüksek fenolik içeriğe sahip oldukları belirtilmiştir (Deligiannidou ve ark., 2018)

**Çizelge 2.** Liyofilize infüzyonlar ve standart antioksidanlara ait antiradikal aktivite değerleri

Örnek*	Demleme süresi (dk)	IC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	
		DPPH	ABTS
AO	3	40.65±0.07 <sup>d,Z</sup>	54.92±0.16 <sup>c,X</sup>
	9	40.26±0.03 <sup>c,Y</sup>	54.89±0.27 <sup>c,X</sup>
	15	39.00±0.12 <sup>b,X</sup>	51.24±0.09 <sup>b,W</sup>
	21	38.07±0.10 <sup>a,W</sup>	50.65±0.10 <sup>a,V</sup>
AY	3	28.74±0.18 <sup>d,P</sup>	32.58±0.20 <sup>c,J</sup>
	9	28.14±0.14 <sup>c,O</sup>	31.03±0.11 <sup>b,G</sup>
	15	26.55±0.17 <sup>b,M</sup>	30.26±0.11 <sup>a,F</sup>
	21	25.33±0.11 <sup>a,J</sup>	30.07±0.10 <sup>a,EF</sup>
BY	3	30.82±0.11 <sup>d,S</sup>	41.55±0.15 <sup>d,Q</sup>
	9	29.63±0.07 <sup>c,R</sup>	40.61±0.05 <sup>c,P</sup>
	15	29.29±0.08 <sup>b,Q</sup>	39.91±0.03 <sup>b,O</sup>
	21	28.27±0.09 <sup>a,O</sup>	39.01±0.15 <sup>a,N</sup>
IY	3	29.11±0.01 <sup>d,Q</sup>	35.85±0.08 <sup>b,M</sup>
	9	28.14±0.03 <sup>c,O</sup>	35.13±0.13 <sup>a,L</sup>
	15	27.10±0.11 <sup>b,N</sup>	35.11±0.12 <sup>a,L</sup>
	21	25.96±0.06 <sup>a,L</sup>	35.02±0.16 <sup>a,L</sup>
IÇ	3	25.71±0.11 <sup>d,K</sup>	33.05±0.19 <sup>c,K</sup>
	9	25.44±0.16 <sup>c,J</sup>	32.41±0.12 <sup>b,J</sup>
	15	24.13±0.04 <sup>b,H</sup>	32.21±0.07 <sup>b,I</sup>
	21	24.51±0.16 <sup>a,I</sup>	31.36±0.07 <sup>a,H</sup>
KO	3	22.85±0.17 <sup>d,G</sup>	31.52±0.16 <sup>b,H</sup>
	9	22.41±0.14 <sup>c,F</sup>	30.13±0.15 <sup>a,EF</sup>
	15	21.40±0.19 <sup>b,E</sup>	30.11±0.09 <sup>a,EF</sup>
	21	20.42±0.15 <sup>a,D</sup>	29.97±0.15 <sup>a,E</sup>
HÇ	3	38.11±0.15 <sup>d,W</sup>	46.88±0.06 <sup>d,U</sup>
	9	36.97±0.14 <sup>c,V</sup>	44.00±0.10 <sup>c,T</sup>
	15	36.71±0.07 <sup>b,U</sup>	43.67±0.13 <sup>b,S</sup>
	21	35.67±0.11 <sup>a,T</sup>	42.77±0.126 <sup>a,R</sup>
**BHA	-	9.81±0.08 <sup>B</sup>	10.25±0.11 <sup>B</sup>
BHT	-	14.33±0.10 <sup>C</sup>	18.36±0.10 <sup>D</sup>
Trolox	-	12.14±0.13 <sup>C</sup>	15.21±0.12 <sup>C</sup>
α-Tokoferol	-	9.04±0.07 <sup>A</sup>	9.78±0.07 <sup>A</sup>

\* AY; ayva yaprağı, IY; ıhlamur yaprağı, IÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otuna ait liyofilize infüzyonları temsil etmektedir.

\*\* BHA, BHT, Trolox ve α-tokoferol standart antioksidanlar olarak kullanılmıştır.

\*\*\*Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir (n=3). Aynı sütundaki farklı <sup>a-d</sup> simgeleri (farklı infüzyon sürelerinde aynı örneğe ait) ve <sup>A-Z</sup> simgeleri (tüm örnekler ve standart antioksidanların) ortalamaların önemli düzeyde farklı olduğunu göstermektedir (p<0.05).

Mevcut çalışmada ikinci sırada en yüksek antiradikal aktivite sergileyen (24.51-25.71 µg mL<sup>-1</sup> ve 31.36-33.05 µg mL<sup>-1</sup>) ıhlamur çiçekleri üzerine yapılan bir araştırmada, su ekstraktlarının gümüş nanopartiküllerinin DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri (IC<sub>50</sub>) 9.40 µg mL<sup>-1</sup> ve 3.93 µg mL<sup>-1</sup> olarak rapor etmiştir (Saygi ve Cacan, 2021). Tespit edilen antiradikal aktivite, bahsedilen literatürden düşüktür. ıhlamur çiçeklerine kıyasla daha düşük radikal süpürme etkisinin gözlemlendiği ıhlamur yaprak infüzyonlarında ise veriler DPPH için 25.96-29.11 µg mL<sup>-1</sup> ve ABTS için 35.02- 35.85 µg mL<sup>-1</sup> aralığında değişim göstermiştir. Literatürde ıhlamur yaprak infüzyonları veya farklı çözücülerle ekstraksiyonları üzerine yapılan çalışmalarda mevcut çalışmadan düşük veya yüksek antiradikal aktivite değerlerinin rapor edildiği görülmektedir (Lucie ve Zuzana, 2008; Rashed ve ark., 2016; Farid ve ark., 2017). Araştırma bulguları arasındaki farklılıklar bitkinin toplandığı bölgenin rakımı, toprak yapısı, bitkinin hasat zamanı gibi faktörlere bağlı olarak bitki kompozisyonundaki değişiklikler ve/ veya ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücüler ile alakalı olabilir. ıhlamur bitkisinin liyofilize

infüzyonlarına yakın antiradikal aktivite değerleri sergileyen ayva yaprağı infüzyonlarında DPPH ve ABTS serbest radikallerine karşı 3.dakikada  $28.74 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $32.58 \mu\text{g mL}^{-1}$  olan  $\text{IC}_{50}$  değerleri 21.dakikada  $25.33 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $30.07 \mu\text{g mL}^{-1}$  seviyesine yükselmiştir. Elde edilen  $\text{IC}_{50}$  değerleri Costa ve ark. (2009) tarafından farklı zamanlarda farklı bölgelerden toplanan ayva yapraklarının metanol ekstraktlarında belirlenen sonuçlara ( $14.5 \pm 1.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  -  $27.6 \pm 1.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) yakın bulunmuştur. Muzykiewicz ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada ise ayva yaprağının farklı çözücülerde (etanol, aseton ve metanol) ve 15-60 dk arasında değişen ekstraksiyon sürelerinde elde edilen ABTS serbest radikali giderme aktivitesi Trolox Eşdeğeri olarak  $2.43$ - $4.48 \text{ mg g}^{-1}$  aralığında tespit edilmiştir.

Çizelge 2’de sunulan antiradikal aktivite verileri değerlendirildiğinde diğer infüzyonlar ve standart antioksidanlara kıyasla en düşük antiradikal aktiviteyi sergileyen altın otu liyofilize ekstraktlarının DPPH ve ABTS serbest radikallerine karşı elde edilen  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin sırasıyla;  $38.07$ -  $40.65 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $50.65$ - $54.92 \mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında olduğu görülmektedir. Ekstraktların antiradikal aktivite sonuçları standart antioksidanlardan (BHA, BHT, Trolox ve  $\alpha$ -Tokoferol) önemli düzeyde düşüktür ( $p < 0.05$ ). *H. arenarium*’un antioksidan özelliklerini belirlemek için yapılan çalışmalardan birisinde Albayrak ve ark. (2010a), *erzincanicum* ve *rubicundum* alt türlerinde DPPH serbest radikale karşı  $\text{IC}_{50}$  değerlerini  $23.03 \mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $47.64 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak rapor etmiştir. Farklı bir çalışmada Albayrak ve ark. (2010b),  $\text{IC}_{50}$  değerini *H. arenarium* metanol ekstraktı için  $37.52 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak belirlemiştir. Mevcut çalışmada böğürtlen yaprağı ekstraktlarında en yüksek  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin DPPH radikale karşı  $28.27 \mu\text{g mL}^{-1}$ , ABTS radikale karşı ise  $39.01 \mu\text{g mL}^{-1}$  ile 21.dakikada elde edilen infüzyonlara ait olduğu belirlenmiştir. Literatürde böğürtlen yaprağının antiradikal aktivite değerleri çalışmamızda bulunan sonuçlardan farklı düzeylerde;  $0.17 \pm 0.001 \text{ mmol Trolox ekivalen g}^{-1}$  (DPPH),  $0.25 \text{ mmol Trolox ekivalen g}^{-1}$  (ABTS) (Grochowski ve ark., 2013)  $15.92 \pm 0.15 \mu\text{g mL}^{-1}$  (DPPH) ,  $6.51 \pm 0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$  (ABTS) (Veličković ve ark., 2015),  $125.2 \pm 2.9 \text{ mg askorbik asit g}^{-1}$  (DPPH) (Buřičová ve ark., 2011),  $110.17 \pm 1.42 \mu\text{g mL}^{-1}$  -  $199.18 \mu\text{g mL}^{-1}$  (DPPH) (Veljkovic ve ark., 2018) bildirilmiştir. Araştırma sonuçları arasındaki farklılıklar daha önce de belirtildiği gibi; bitkinin türü, yetiştiği toprak ve hasat zamanı gibi farklılıklara ilaveten; çözücü türü, süre veya çalışma şartlarındaki diğer farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

### Liyofilize İnfüzyonların Ağır Metal Kompozisyonu

Farklı sürelerde infüzyona tabi tutulan liyofilize bitki infüzyonlarının çinko (Zn), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), bakır (Cu), alüminyum (Al), nikel (Ni), mangan (Mn), civa (Hg) ve krom (Cr)’ dan oluşan ağır metal içerikleri Çizelge 3’ de sunulmuştur. Bitki infüzyonlarında bakılan elementlerden Zn, Cu, Al, Mn ve Cr gibi bazı ağır metallerin insan fizyolojisinde önemli rol oynadıkları ve yalnızca yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğu ancak, Pb, Hg ve Cd’un düşük konsantrasyonlarının hiçbir yararlı özelliği olmaksızın yalnızca toksik oldukları bildirilmiştir (Demirezen ve Aksoy, 2006; Razic ve Kuntic, 2013; Tokalioglu, 2012). Mansourri ve Madani (2016), maruz kalınan doz ve süreye bağlı olarak toksisiteyi değişkenlik gösterse de seçilen bazı metallerin genel olarak insanlar üzerine toksisite seviyesini  $\text{Co} < \text{Al} < \text{Cr} < \text{Pb} < \text{Ni} < \text{Zn} < \text{Cu} < \text{Cd} < \text{Hg}$  olarak bildirmiştir.

Birçok enzim ve proteinin ana bileşeni olduğu için insanlar dahil tüm canlı organizmalar için vazgeçilmez bir eser element olan Cu’ ın (Anonymous, 2019) aşırı alımının Fenton tipi redoks reaksiyonlarına yol açtığı, oksidatif hücre hasarına ve hücre ölümüne neden olduğu bildirilmektedir (Bost ve ark., 2016). Liyofilize infüzyonlar Cu içerikleri açısından değerlendirildiğinde en düşük miktarın ıhlamur çiçeğinin 3 dakikalık liyofilize infüzyonunda ( $0.14 \text{ ppm}$ ) en yüksek miktarın ise karabaş otunun 21 dakikalık liyofilize infüzyonunda ( $3.51 \text{ ppm}$ ) belirlendiği görülmektedir. Elde edilen

veriler, Altıntig ve ark (2014) tarafından içlerinde hatmi çiçeğinin de bulunduğu 18 farklı bitki infüzyonunda (*Achillea millefolium*, *Pimpinella anisum* L. ve *Famaria officinalis* infüzyonları hariç) rapor edilen Cu düzeylerinin ( $2.0 \pm 0.1 - 32.0 \pm 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$ ) genel olarak altındadır. Ayrıca, araştırmacılar demleme süresindeki artışın mineral içeriklerinde düşüşe sebep olduğunu bildirmektedir. Aksine mevcut çalışmada demleme süresindeki artış tespit edilen metallerin miktarını  $p < 0.05$  düzeyinde artırmıştır. Dünya sağlık örgütü/ Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (WHO/FAO) teknik raporunda, günlük tolere edilebilir Cu maruziyet düzeyi  $0.004 \text{ mg/kg}$  olarak bildirilmiştir (Anonymous, 2013). En yüksek düzeyde Cu içeren liyofilize infüzyonun ön denemelerle belirlenen tüketilebileceği seviye olan  $0.75 \text{ g/500 mL}$  düzeyinde seyreltilerek tüketilmesi durumunda alınabilecek Cu düzeyi belirtilen tolere edilebilir düzeyin çok altında kalmaktadır.

Deneyisel kanıtlar, Hg' nın Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna (Mutter ve ark., 2010); Cd' un böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu, pulmoner ödem, testis hasarı, osteomalazi ve adrenal ve hematopoietik sistemde hasara (Tinkov ve ark., 2018); Pb' un ise boşaltım, kardiyovasküler ve üreme sistemlerinde toksik etkiye (Kumar ve ark., 2020) neden olduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmamızda analiz edilen infüzyonlarda Hg, Pb ve Cd ağır metallerine rastlanmamıştır.

Esansiyel olmayan bir element olan Cr'un bitkilere taşınım mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Oliveira, 2012). Ancak çeşitli bitkilerde Cr düzeylerinin belirlendiği birçok çalışma mevcuttur (Shang ve ark., 2016; Olanrewaju ve ark., 2017; Kalubula ve ark., 2020). Liyofilize infüzyonların içerdiği Cr elementi düzeyleri böğürtlen yaprağının 21 dakikalık, ıhlamur yaprağının 15 ve 21 dakikalık ve karabaş otunun 21 dakikalık infüzyonlarında sırasıyla; 0.05, 0.03, 0.06 ve 0.04 ppm olarak belirlenmiştir. Diğer örneklerde ise Cr düzeyi tayin alt sınırının (LOQ) altında kalmıştır. Mevcut çalışmaya benzer şekilde, Ghuniem ve ark. (2019) ve Altıntig ve ark. (2014) çeşitli bitki infüzyonlarında Cr' un tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

Zn insanlar için nispeten toksik olmayan bir element olarak görülse de, yüksek düzeyde maruziyetin mide bulantısı, kusma, epigastrik ağrı, uyuşukluk ve yorgunluk gibi toksisite semptomlarına neden olduğu bilinmektedir (Plum ve ark., 2010). ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi'nin Toxnet veri tabanına göre, çinko için oral öldürücü doz ( $LD_{50}$ ),  $3 \text{ g kg}^{-1}$  vücut ağırlığına yakındır. Bu değer Cd'dan 10 kat, Hg' dan ise 50 kat daha fazladır (Anonymous, 2020). Liyofilize infüzyonların Zn içerikleri  $10.76 \text{ ppm}$  ile  $85.20 \text{ ppm}$  aralığında değişim göstermekle birlikte, tespit edilen değerler bahsedilen  $LD_{50}$  değerinin çok altındadır. Altın otunun liyofilize infüzyonları en yüksek Zn içeriğine ( $68.49 - 85.20 \text{ ppm}$ ) sahip iken; ayva yaprağı liyofilize infüzyonlarının nispeten düşük düzeyde ( $10.76 - 21.88 \text{ ppm}$ ) Zn içerdiği saptanmıştır. Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar bitki infüzyonlarının liyofilize ekstraktlarına ait sonuçlar olduğu için Zn değerleri literatürde geçen farklı bitki infüzyonlarında bildirilen değerlerin (Altıntig ve ark., 2014; Ababneh, 2017; Długaszek ve Kaszczuk, 2020) çok üzerindedir.  $0.75 \text{ g/500 mL}$  konsantrasyonda hazırlanan iki fincan altın otu infüzyonu Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından kadınlar ( $10.2 \text{ mg gün}^{-1}$ ) ve erkekler ( $12.7 \text{ mg gün}^{-1}$ ) için bildirilen günlük Zn ihtiyacının (Anonymous, 2019) sırasıyla yaklaşık %0.63 ve %0.50'sini karşılamaktadır.

Çeşitli enzimlerin aktif merkezlerinde kofaktör olarak görev yapan Mn, diğer işlevlerin yanı sıra normal gelişim, sinir ve bağışıklık hücresi işlevlerinin sürdürülmesi, kan şekeri ve vitaminlerin düzenlenmesi için gereklidir. Ancak bu metale aşırı maruziyet birçok organ sistemi için toksik olabilmektedir (O'Neal ve Zheng, 2015). Liyofilize infüzyonların Mn içerikleri  $2.42 \text{ ppm}$  (böğürtlen yaprağının 3 dakikalık liyofilize infüzyonu) ile  $424.20 \text{ ppm}$  (karabaş otunun 21 dakikalık liyofilize infüzyonu) arasında oldukça geniş bir aralıkta değişim göstermektedir. Demleme süresindeki artış



**Bazı Bitkilerden Elde Edilen Liyofilize İnfüzyonlarda Demleme Süresi Faktörünün Antioksidan Özellikler ve Ağır Metal Kompozisyonu Üzerine Etkisi**

liyofilize infüzyonların Mn değerleri üzerinde  $p < 0.05$  düzeyinde etkili olmuştur. Batı diyetlerinde yetişkinler için Mn açısından herhangi bir yan etkinin gözlemlenmediği tolere edilebilir üst limit  $11 \text{ mg gün}^{-1}$  olarak belirlenmiştir (Anonymous, 2001). Mevcut araştırmada elde edilen liyofilize infüzyonlardan daha önce de belirtilen  $0.75 \text{ g/500 ml}$  konsantrasyonda seyreltilerek tüketilmesi durumunda alınan Mn miktarı ( $\leq 0.32 \text{ mg}$ ) belirtilen tolere edilebilir seviyenin çok altında olmaktadır.

**Çizelge 3.** Liyofilize infüzyonların ICP-MS ile tespit edilen ağır metal içerikleri (ppm)

Örnek*	Demleme Süresi (dk)	Al	Zn	Cu	Ni	Mn	Cr
BY	3	<LOQ** a,A	20.18±1.10 a,D	<LOQ a,A	<LOQ a,A	2.42±0.10 <sup>a,A</sup>	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	1.10±0.03 b,C	25.27±1.16 b,E	<LOQ a,A	0.50±0.01 b,Ç	63.40±0.12 b,K	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	3.27±0.06 c,D	30.13±1.40 c,F	0.20±0.00 b,B	1.60±0.02 c,H	112.50±1.05 c,O	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	4.33±0.04 d,E	47.83±2.10 d,IJ	0.37±0.01 c,D	3.40±0.02 d,M	168.00±1.30 d,S	0.05±0.01 <sup>b,D</sup>
İÇ	3	12.25±0.06 a,M	42.36±2.35 a,G	0.14±0.00 a,A	<LOQ a,A	13.40±0.10 a,C	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	14.00±0.04 b,P	55.40±2.50 b,K	0.63±0.02 b,E	0.20±0.01 b,B	56.20±0.25 b,I	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	14.36±0.07 c,R	70.35±2.10 c,N	1.15±0.00 c,I	0.80±0.03 c,D	104.50±0.90 c,N	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	17.99±0.10 d,U	81.33±3.00 d,P	2.42±0.01 d,N	1.35±0.04 d,G	131.80±0.85 d,P	<LOQ <sup>a,A</sup>
İY	3	5.63±0.03 a,G	14.80±1.15 a,BC	0.40±0.00 a,D	0.15±0.02 a,A	20.00±0.11 a,D	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	10.80±0.12 b,L	31.27±2.20 b,F	1.10±0.031 b,H	0.26±0.02 b,C	24.00±0.13 b,E	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	15.42±0.20 c,S	50.85±2.50 c,J	1.76±0.02 c,K	0.52±0.02 c,Ç	52.10±0.10 c,H	0.03±0.00 <sup>b,B</sup>
	21	17.95±0.30 d,U	66.60±2.62 d,M	1.90±0.05 d,L	0.85±0.03 c,E	76.60±0.25 d,L	0.06±0.01 <sup>c,E</sup>
AY	3	0.88±0.05 a,B	10.76±1.10 a,A	1.13±0.02 a,HI	1.05±0.02 a,F	24.80±0.13 a,E	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	2.05±0.06 b,Ç	12.25±1.15 a,AB	2.10±0.04 b,M	1.38±0.04 b,G	42.60±0.11 b,G	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	4.27±0.05 c,E	16.32±1.80 b,C	2.56±0.02 c,O	2.00±0.03 c,I	62.20±0.20 c,JK	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	7.05±0.04 d,I	21.88±1.65 c,D	3.22±0.03 d,R	2.53±0.03 d,J	61.10±0.16 d,J	<LOQ <sup>a,A</sup>
HÇ	3	12.50±0.10 a,N	30.10±2.10 a,F	0.20±0.02 a,B	2.80±0.02 a,K	11.50±0.10 a,B	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	13.34±0.12 b,O	30.53±1.50 a,F	0.65±0.04 b,E	3.20±0.05 b,L	20.00±0.12 b,D	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	20.75±0.15 c,Y	44.20±1.80 b,GH	1.05±0.05 c,G	5.13±0.03 c,S	21.40±0.11 c,D	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	23.93±0.11 d,Z	65.87±2.05 c,M	2.11±0.06 d,M	5.94±0.04 d,U	32.20±0.15 d,F	<LOQ <sup>a,A</sup>
AO	3	3.40±0.08 a,D	68.49±2.10 a,MN	<LOQ a,A	4.80±0.02 a,P	76.00±0.22 a,L	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	5.14±0.03 b,F	76.80±1.20 b,O	<LOQ a,A	5.03±0.04 b,R	83.00±0.30 b,M	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	7.60±0.06 c,J	82.12±3.15 c,PR	0.85±0.02 b,F	5.21±0.02 c,T	142.70±1.60 c,R	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	9.84±0.10 d,K	85.20±2.30 c,S	2.67±0.04 c,P	6.80±0.03 d,Y	284.90±2.15 d,T	<LOQ <sup>a,A</sup>
KO	3	5.00±0.04 a,F	21.17±1.10 a,D	0.25±0.01 a,C	4.10±0.02 a,N	105.00±0.85 a,N	<LOQ <sup>a,A</sup>
	9	5.82±0.06 b,H	33.42±1.25 b,F	1.43±0.02 b,J	4.25±0.05 b,O	330.10±1.20 b,U	<LOQ <sup>a,A</sup>
	15	16.10±0.11 c,T	46.25±1.60 c,HI	2.60±0.01 c,O	6.38±0.05 c,V	380.56±2.40 c,V	<LOQ <sup>a,A</sup>
	21	20.18±0.15 d,V	60.29±2.40 d,L	3.51±0.02 d,S	8.64±0.02 d,Z	424.20±2.60 d,Y	0.04±0.01 <sup>b,C</sup>

\* AY; ayva yaprağı, İY; ıhlamur yaprağı, İÇ; ıhlamur çiçeği, BY; böğürtlen yaprağı, KO; karabaş otu, HÇ; hatmi çiçeği ve AO; altın otuna ait liyofilize infüzyonları temsil etmektedir.

\*\*LOQ (Limit of quantification): Tayin alt sınırı.

\*\*\*Hg, Cd ve Pb metalleri tespit edilememiştir.

\*\*\*\*Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir (n=3). Aynı sütundaki farklı a-d simgeleri (farklı infüzyon sürelerinde aynı örneğe ait) ve A-Z simgeleri (tüm örneklerin) ortalamaların önemli düzeyde farklı olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Ni metalinin immünotoksik ve kanserojen bir ajan olarak; kontakt dermatit, kardiyovasküler hastalık, astım, akciğer fibrozu ve solunum yolu kanseri gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Chen ve ark., 2017). Liyofilize infüzyonların Ni içerikleri karabaş otu ( $4.10\text{-}8.64 \text{ ppm}$ )> altın otu ( $4.80\text{-}6.80 \text{ ppm}$ )> hatmi çiçeği ( $2.80\text{-}5.94 \text{ ppm}$ )> böğürtlen yaprağı ( $0.50\text{-}3.40 \text{ ppm}$ )> ayva yaprağı ( $1.05\text{-}2.53 \text{ ppm}$ )> ıhlamur çiçeği ( $0.20\text{-}1.35 \text{ ppm}$ )> ıhlamur yaprağı ( $0.15\text{-}0.85 \text{ ppm}$ ) şeklinde sıralanmaktadır. Böğürtlen yaprağı ve ıhlamur çiçeğinin 3 dakikalık infüzyonlarında Ni düzeyi LOQ değerinin altında kaldığından tespit edilememiştir. Yapılan çalışmalar, sıçanlarda Ni' in kronik oral maruziyet referans dozunun günde vücut ağırlığının kilogramı başına  $0.02 \text{ mg}$  olduğunu göstermektedir (Anonymous, 1998). Mevcut çalışmamızda elde edilen liyofilize infüzyonların  $0.75 \text{ g/500 ml}$  konsantrasyonda seyreltilerek tüketilmesi durumunda, Ni elementi açısından herhangi bir toksik maruziyet yaşanmayacağı düşünülmektedir.

Al, toprağın ana bileşenlerinden biridir. Toprakta çeşitli iyonik formlarda bulunur ve  $Al^{+3}$  en toksik formudur. Toprak pH'sı 5'in altına düşünce  $Al^{+3}$  çözülmeye ve bitki köklerine transfer olmaya başlar (Panda ve ark., 2009). Bitkiler tarafından alüminyum alımı nispeten hızlıdır (sağlam plazma zarı boyunca < 30 dk ve tonoplast boyunca < 1 sa). İnsan ve hayvanlarda ise Al'un absorpsiyonu düşük olmakla birlikte; sitrat, tartarat ve glutamat gibi organik ligandlar ile kompleks oluşturması dışında insan vücudunda günlük alınan miktarın sadece %1'i kalmaktadır (Rengel, 2004). Ancak yüksek doz ve uzun süreli maruziyet durumunda Al-sitrat ve Al-transferrin komplekslerinin kan-beyin bariyerini geçerek beyinde biriktiği ve nörotoksik etki gösterdiği bildirilmektedir (Poschenrieder, 2009). Liyofilize infüzyonların içerdiği Al miktarları 0.88 ppm ile 23.93 ppm arasında değişim göstermektedir. Demleme süresindeki artış infüzyonların Al miktarları üzerine  $p<0.05$  düzeyinde etkili bulunmuştur. Diğer liyofilize infüzyonlarla kıyaslandığında hatmi çiçeği (23.93 ppm), karabaş otu (20.18 ppm), ıhlamur çiçeği (17.99 ppm) ve ıhlamur yaprağının (17.95 ppm) Al düzeyleri belirgin şekilde yüksektir. Belirlenen en düşük Al içeriği ayva yaprağının 3 dakikalık uygulamasına ait olup, böğürtlen yaprağının 3 dakikalık infüzyonunda Al düzeyi LOQ değerinin altında kaldığından tespit edilememiştir. Gıda Katkı Maddeleri Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi (JECFA) Al' un herhangi bir yan etkinin gözlemlenmediği günlük alım düzeyini  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (Anonymous, 2011). Yani 60 kg vücut ağırlığına sahip bir insanın günlük olarak 1800 mg Al alımı tolere edilebilir seviyedir. Bu durumda mevcut çalışmada elde edilen liyofilize infüzyonlar ile hazırlanacak bitki çayları Al metali açısından sorun teşkil etmeyecektir. Araştırmada belirlenen Al düzeylerinin literatürde bildirilen farklı çay ve bitki çayı infüzyonlarından düşüktür (Malik ve ark., 2013; Altıntığ ve ark., 2014).

## SONUÇ

ıhlamur çiçek ve yaprakları, ayva yaprağı, böğürtlen yaprağı, hatmi çiçeği ve altın otu bitki infüzyonları halk arasında sağlık açısından faydalı etkileri nedeniyle çeşitli hastalıkların önlenmesi veya iyileştirilmesi amacıyla sıklıkla kullanılan bitkilerdir. Ev ortamında geleneksel yöntemlerle ve kişiden kişiye değişen farklı infüzyon sürelerinde hazırlanan bitki çaylarının süreye bağlı olarak özellikle antioksidan özellikleri, ağır metal içerikleri ve son ürünün albenisi açısından renk değişiminin bilimsel kanıtlarla desteklenmesi son derece önemlidir. Mevcut çalışmada günümüzde tüketicilerin kolay ve kısa sürede hazırlanan ürünlere rağbet etmesi sebebiyle hazırlanan infüzyonlar liyofilize edilerek suda çözünür formda toz haline getirilmiştir. Elde edilen son ürünlerin ekstraksiyon verimi, renk, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde, antiradikal aktivite değerleri ve ağır metal içerikleri (Hg, Pb, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni, Al ve Cd) belirlenmiştir.

Ekstraksiyon verimi en yüksek olan bitki hatmi çiçeği ve ardından böğürtlen yaprağıdır. Demleme süresindeki artış genel olarak liyofilize infüzyonların  $L^*$  değerleri azaltmış,  $a^*$  değerleri arttırmış,  $b^*$  değerleri ise azaltmıştır. Ayrıca, tüm bitkilerde infüzyon sürelerindeki artışın antioksidan özellikleri önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) artırdığı saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı açısından infüzyonlar değerlendirildiğinde sıralama: karabaş otu > ıhlamur yaprağı > böğürtlen yaprağı > ıhlamur çiçeği > ayva yaprağı > altın otu > hatmi çiçeği şeklindedir. En yüksek toplam flavonoid miktarı ile DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktiviteleri karabaş otu liyofilize infüzyonlarında belirlenirken, en düşük değerler altın otu infüzyonlarında tespit edilmiştir. Sonuçlar, çalışılan bitki infüzyonlarının antioksidan özellikleri göz önüne alınarak değerlendirildiğinde en etkin verilerin 21. dakikada elde edildiğini göstermektedir.

Antioksidan aktivitenin dışında, liyofilize infüzyonların ağır metal içeriklerinin tespiti bitki çayı tüketen kişilerin sağlığı açısından önemli ve gereklidir. Nedeni ne olursa olsun ağır metallerin bitkilerde

birikmesi ve insanlara geçişi önemli bir problemdir. Mevcut çalışmada bitkilerden liyofilize infüzyonlara farklı demleme sürelerinde geçen ağır metallerin oldukça düşük düzeylerde olduğu ve bu metaller açısından hazırlanan bitki infüzyonlarının herhangi bir sağlık riski oluşturmadığı düşünülmektedir. Ancak, bitkinin içerdiği mineral madde kompozisyonu toprak, bitkinin türü, hasat zamanı ve diğer çevre şartları ile direk ilişkili olduğundan; farklı bölgelerden ve/veya farklı zamanlarda toplanan bitkilerden elde edilecek infüzyonların ağır metal içerikleri değişim gösterecektir.

## TEŞEKKÜR

Liyofilize infüzyonların hazırlanması ve antioksidan özelliklerin belirlenebilmesi için araştırma laboratuvarı olanaklarını kullanmamı sağlayan Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne teşekkürlerimi sunarım.

## Çıkar Çatışması

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması sırasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim

## Yazar Katkısı

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılmasının makalenin tek yazarı olarak tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

## KAYNAKLAR

- Ababneh FA, 2017. The Hazard Content of Cadmium, Lead, and Other Trace Elements in Some Medicinal Herbs and Their Water Infusions. *International Journal of Analytical Chemistry*, 6971916.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Budak U, 2010a. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 34: 463-473.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Hamzaoglu E, 2010b. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*, 119: 114-122.
- Altıntig E, Altundag H, Tuzen M, 2014. Determination of multi element levels in leaves and herbal teas from turkey by ICP-OES. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 28(1): 9-16.
- Anonymous, 1998. U.S. Environmental Protection Agency, Nickel Compounds, Chemical Assessment Summary. [https://iris.epa.gov/static/pdfs/0271\\_summary.pdf](https://iris.epa.gov/static/pdfs/0271_summary.pdf). (Date of access: 25.11.2021).
- Anonymous, 2001. Institute of Medicine. Panel on Micronutrients. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academies Press, Washington-US.
- Anonymous, 2007. Nordic Committee On Food Analysis. Trace elements As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. No:186: 14.
- Anonymous, 2011. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 2011. Summary and conclusions of the seventy-fourth meeting, Rome, 14-23 June 2011, JECFA/74/SC.
- Anonymous, 2013. WHO/FAO (World Health Organization/Food and Agriculture Organization), 2013. Technical Report, "Guidelines for the safe use of wastewater and food stuff", Volume 2 no. 1, Geneva, Switzerland. (Date of access: 25.11.2021).

- Anonymous, 2019. European Food Safety Authority (EFSA), Dietary Reference Values for Nutrients (2019).<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>. (Date of access: 20.10.2021).
- Anonymous, 2020. U.S. National Library of Medicine, Toxnet Database. Available online: <http://toxnet.nlm.nih.gov> (Date of access: 21.10.2020).
- Attard E, 2011a. Herbal medicine: a legal perspective. Synapse, 1: 11.
- Attard, E., 2011b. The safety of herbal medicinal products. Synapse, 4: 9.
- Balaydın HT, Gülçin İ, Menzek A, Göksu S, Şahin E, 2010. Synthesis and antioxidant properties of diphenylmethane derivative bromophenols including a natural product. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 25 (5): 685-695.
- Benabdelkader T, Zitouni A, Guitton Y, Jullien F, Maitre D, Casabianca H, Legendre L, Kameli A, 2011. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. Chemistry and Biodiversity, 8: 937-953.
- Bezerra KGO, Silva IGS, Almeida FCG, Rufino RD, Sarubbo LA, 2021. Plant-derived biosurfactants: Extraction, characteristics and properties for application in cosmetics. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 34: 102036.
- Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I, 2016. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 35: 107-115.
- Brug P, Fralle P, 1995. Vitamin C destruction during the cooking of a potato dish. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 28: 506-514.
- Buřičová L, Andjelković M, Čermáková A, Réblová Z, Jurček O, Kolehmainen E, Verhé R, Kvasnička F, 2011. Antioxidant capacity and antioxidants of strawberry blackberry, and raspberry leaves. Czech Journal of Food Science, 29: 181-189.
- Carrasco A, Ortiz-Ruiz V, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J, 2015. Lavandula stoechas essential oil from Spain: aromatic profile determined by gas chromatography-mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. Industrial Crops and Products, 73: 16-27.
- Carvalho M, Silva BM, Silva R, Valentao P, Andrade PB, Bastos ML, 2010. First report on Cydonia oblonga Miller anti cancer potential: differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 3366-3370.
- Celep E, Akyüz S, İnan Y, Yesilada E, 2018. Assessment of potential bioavailability of major phenolic compounds in Lavandula stoechas L. ssp. Stoechas. Industrial Crops and Products, 118: 111-117.
- Chen QY, Brocato J, Laulicht F, Costa M. Mechanisms of nickel carcinogenesis, 2017. Essential and Non-Essential metals. In Molecular and Integrative Toxicology, eds. Mudipalli A, Zelikoff JT., Springer International Publishing AG, pp. 181-197, New York- USA.
- Cittan M, Altuntaş E, Çelik A, 2018. Evaluation of antioxidant capacities and phenolic profiles in Tilia cordata fruit extracts: a comparative study to determine the efficiency of traditional hot water infusion method, Industrial Crops and Products, 122: 553-558.
- Costa RM, Magalhaes AS, Pereira JA, Andrade PB, Valentao P, Carvalho M, Silva B, 2009. Evaluation of free radical-scavenging and anti-hemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: a comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). Food and Chemical Toxicology, 47: 860-865.
- Dai J, Patel JD, Mumper RJ, 2007. Characterization of blackberry extract and its antiproliferative and anti-inflammatory properties. Journal of Medicinal Food, 10: 258-265.

- Deligiannidou GE, Kontogiorgis C, Hadjipavlou-Litina D, Lazari D, Konstantinidis TO, Papadopoulos A, 2018. Antioxidant Contribution of Lavender (*Lavandula angustifolia*), Sage (*Salvia officinalis*), Tilia (*Tilia tomentosa*) and Sideritis (*Sideritis perfoliata*) Beverages Prepared at Home. SDRP Journal of Food Science and Technology, 3(4):360-377.
- Demirci-Kayıran SD, 2019. A research on the present uses of the medicinal plants in De Materia Medica written by Dioscorides in eastern mediterranean region. Lokman Hekim Dergisi, 9 (2): 189-202.
- Demirezen D, Aksoy A, 2006. Heavy metal levels in vegetables in Turkey are within safe limits for Cu, Zn, Ni and exceeded for Cd and Pb. Journal of Food Quality, 29(3): 252-265.
- Dimitrios B, 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science and Technology, 17: 505-512.
- Długaszek M, Kaszczuk M, 2020. Assessment of the nutritional value of various teas infusions in terms of themacro- and trace elements content. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 59: 126428.
- Dzido TH, Soczewinski E, Gudej J, 1991. Computer-aided optimization of high-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from some species of the genus Althaea. Journal of Chromatography, 550: 71-76.
- Ercan N, Ozkarakas İ, 2005. Ege Bölgesinden toplanan ayva (*Cydonia vulgaris* Pers.) materyalinin adaptasyonu ve değerlendirilmesi. Anadolu, 15(2): 27-42.
- Farid M, Hanaa FMA, Gehan FAM, Sherein SA, 2017. Biochemical Studies on Bio Extracts as Antioxidant and Antibacterial Activity. Journal of Agricultural, Environmental and Veterinary Sciences, 1: 45-69.
- Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK, 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. Journal of Food Composition and Analysis, 24(7): 1043-1048.
- Gadjalova AV, Mihaylova D, 2019. Ultrasound-assisted extraction of medicinal plants and evaluation of their biological activity. Food Research, 3(5): 530-536.
- Ghuniem MM, Khorshed MA, Reda M, Mahmoud SM, Hammad G, 2019. Assessment of the Potential Health Risk of Heavy Metal Exposure from the Consumption of Herbal, Black and Green Tea. Biomedical Journal of Scientific & Technical Research, 16 (1):11810-11817.
- González-Vallinas M, González-Castejón M, Rodríguez-Casado A, Ramírez De Molina A, 2013. Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy, a complementary approach with promising perspectives. Nutrition Reviews, 71: 585-599.
- Grochowski DM, Uysal S, Zengin G, Tomczyk M, 2019. In vitro antioxidant and enzyme inhibitory properties of *Rubus caesius* L, International Journal of Environmental Health Research, 29(3): 237-245.
- Gürdal B, Kültür S, 2013. An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). Journal of Ethnopharmacology, 146(1): 113-126.
- Hamid HF, Moezzi A, Khouzani MA, Mahmoud Janlou Y, Niknejad F, Faramarzi MA, 2013. Synthetic dye decolorization by three sources of fungal laccase. Research journal of Chemical and Environmental Sciences, 17: 76-81.
- İlbay Z, 2016. Turunçgil Meyve ve Yapraklarının Farklı Ekstraksiyon Yöntemleriyle Ekstraksiyonu ve Matematik Modellemesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Jeszka-Skowron M, Zgola-Grześkowiak A, Frankowski R, 2018. *Cistus incanus* a promising herbal tea rich in bioactive compounds: LC–MS/MS determination of catechins, flavonols, phenolic acids



- and alkaloids—A comparison with *Camellia sinensis*, Rooibos and Hoan Ngoc herbal tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 74: 71-81.
- Kalubula M, Shen H, Khanam T, 2020. Assessment of carcinogenic and toxic substances in ‘Insunko’ herb. *Toxicology Reports*, 7: 468-474.
- Karabagias IK, Karabagias VK, Riganakos KA, 2019. Physico-Chemical Parameters, Phenolic Profile, In Vitro Antioxidant Activity and Volatile Compounds of *Ladastacho (Lavandula stoechas)* from the Region of Saidona. *Antioxidants*, 8: 80.
- Karavoltos S, Plavšic M, Kalogeropoulos N, Kogiannou DAA, Strmec`ki S, Sakellari A, Dassenakis M, Scoullou M, 2014. Copper complexing properties and physico-chemical characterisation of the organic matter in Greek herbal infusions. *Food Chemistry*, 160: 53-60.
- Katsube T, Tabata H, Ohta Y, Yamasaki Y, Anuurad E, Shiwaku K, Yamane Y, 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52: 2391-2396.
- Keskes H., Belhadj S, Jlail L, El Feki A, Damak M, Sayadi S, Allouche N, 2017. LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian *Juniperus phoenicea* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 55: 88-95.
- Koch IS, Muller M, Joubert E, van der Rijst M, Næs T, 2012. Sensory characterization of rooibos tea and the development of a rooibos sensory wheel and lexicon. *Food Research International*, 46(1): 217-228.
- Köksal E, Gülçin İ, Öztürk SB, Bursal E, 2009. On the in vitro antioxidant activity of silymarin. *Journal of Enzym Inhibition Medicine Chemistry*, 24: 395-405.
- Kumar A, Kumar A, Cabral-Pinto MMS, Chaturvedi AK, Shabnam AA, Subrahmanyam G, Mondal R, Gupta DK, Malyan SK, Kumar SS, A. Khan S, Yadav KK, 2020. Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7): 2179.
- Kumar S, 2011. Free radicals and antioxidants: Human and food system. *Advances Applied Sciences Research*, 2(1): 129-135.
- Lasekan O, Lasekan A, 2012. Flavour chemistry of mate and some common herbal teas. *Trends Food Science and Technology*, 1: 37-46.
- Limmatvapirat C, Charoentearaboon J, Phaechamud T, 2012. Determination of heavy metals in herbal teas by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3: 952-958.
- Łozak A, Sołtyk K, Ostapczuk P, Fijałek Z, 2002. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. *Science of the Total Environment*, 289: 33-40.
- Lucie B, Zuzana R, 2008. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(2): 132-138.
- Malik J, Frankova A, Drabek O, Szakova J, Ash C, Kokoska L, 2013. Aluminium and other elements in selected herbal tea plant species and their infusions. *Food Chemistry*, 1(4): 728-734.
- Mansourri G, Madani M, 2016. Examination of the level of heavy metals in wastewater of Bandar Abbas Wastewater Treatment Plant. *Open Journal of Ecology*, 6: 55-61.
- Mojzer EB, Hrcic MK, Skerget M, Knez Z, Bren U, 2016. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic. *Molecules*, 21: 901- 939.

- Monbaliu S, Wu A, Zhang D, Van Peteghem C, De Saeger S. 2010. Multimycotoxin UPLC–MS/MS for tea, herbal infusions and the derived drinkable products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24): 12664-12671.
- Mutter J, Curth A, Naumann J, Deth R, Walach H, 2010. Does inorganic mercury play a role in Alzheimer's disease? A systematic review and a integrated molecular mechanism. *Journal of Alzheimer's Disease*, 22: 357-374.
- Muzykiewicz A, Zielonka-Brzezicka J, Klimowicz A, 2018. Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) as a useful source of antioxidants – antioxidant activity evaluation. *Herba Polonica*, 64(4): 23-33.
- O'Neal SL, Zheng W, 2015. Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*, 2: 315-328.
- Olanrewaju OO, Olusegun NO, Adeleke TT, Temilade FA, Adeniyi AA, Kabir AO, 2017. Phyto-metals screening of selected anti-diabetic herbs and infused concoctions. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(10): 909-914.
- Oliveira AP, Pereira JA, Andrade PB, Valentao P, Seabra RM, Silva BM, 2007. Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 7926-7930.
- Oliveira H, 2012. Chromium as an Environmental Pollutant: Insights on Induced Plant Toxicity. *Journal of Botany*, 375843: 8.
- Olivier J, Symington EA, Jonker CZ, Rampedi IT, van Eeden TS, 2012. Comparison of the mineral composition of leaves and infusions of traditional and herbal teas. *South African Journal of Science*, 108: 1-7.
- Panda SK, Baluska F, Matsumoto H, 2009. Aluminum stress signaling in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 4(7): 592-597.
- Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Contado JL, 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis Mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos De Biologiae Technologia*, 40: 97-106.
- Paşca C, Mărghitaş LA, Bobiş O, Dezmirean DS, Mărgăoan R, Mureşan C, 2016. Total Content of Polyphenols and Antioxidant Activity of Different Melliferous Plants. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 73(1).
- Pavlović T, Dimkić I, Andrić S, Milojković-Opsenica D, Stanković S, Janačković P, Gavrilović M, Ristivojević P, 2020. Linden tea from Serbia – an insight into the phenolic profile, radical scavenging and antimicrobial activities, *Industrial Crops and Products*, 154: 112639.
- Plum LM, Rink L, Haase H, 2010. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 7: 1342-1365.
- Poschenrieder C, Amenós M, Corrales I, Doncheva S, Barceló J, 2009. "Root behavior in response to aluminum toxicity," in *Plant–Environment Interactions*, ed. Baluška F. Springer-Verlag, pp. 21-43, Berlin-Germany.
- Preedy VR, 2013. *Tea in Health and Disease Prevention*. Academic Press, USA 1612pp.
- Rashed K, Medda R, Spano D, Pintus F, 2016. Evaluation of antioxidant, anti-tyrosinase potentials and phytochemical composition of four Egyptian plants. *International Food Research Journal*, 23(1): 203-210.
- Razic S, Kuntic V, 2013. Diverse elements in herbal tea products consumed in Serbia using inductively coupled plasma mass spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 16: 1-8.
- Rengel Z, 2004. Aluminium cycling in the soil-plant-animal-human continuum. *Biometals*, 17(6): 669-89.

- Riehle P, Vollmer M, Rohn S, 2013. Phenolic compounds in *Cistus incanus* herbal infusions - Antioxidant capacity and thermal stability during the brewing process. *Food Research International*, 53 (2): 891-899.
- Sacchetti G, Medici A, Maietti S, Radice M, Muzzoli M, Manfredini S, Braccioli E, Bruni R, 2004. Composition and functional properties of the essential oil of Amazonian basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in comparison with commercial essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3486-3491.
- Sagdic O, Karahan AG, Ozcan M, Ozkan, G, 2003. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International*, 9: 353-356.
- Saklar S, Ertas E, Ozdemir IS, Karadeniz B, 2015. Effects of different brewing conditions on catechin content and sensory acceptance in Turkish green tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10): 6639-6646.
- Sala A, Recio MC, Schinella GR, Máñez S, Giner RM, Cerdá-Nicolás M, Rosí JL, 2003. Assessment of the antiinflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *European Journal of Pharmacology*, 461: 53-61.
- Saygi KO, Cacan E, 2021. Antioxidant and cytotoxic activities of silver nanoparticles synthesized using *Tilia cordata* flowers extract. *Materials Today Communications*, 27: 102316.
- Scaduto Jr. RC, 1995. Oxidation of DMSO and methanesulfinic acid by the hydroxyl radical. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 271-277.
- Shang J, Pi J, Zong M, Wang Y, Wenhong L, Qianjiahua L, 2016. Chromium removal using magnetic biochar derived from herb-residue. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 68: 289-294.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods In Enzymology*, 299: 152-178.
- Stankov S, Fidan H, Petkova N, Stoyanova A, Dincheva I, Dogan H, Senkal BC, Uskutoglu T, Bas H, Yilmaz G, 2020. Phytochemical composition of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench essential oil (aerial parts) from Turkey. *Ukrainian Food Journal*, 9(3):503-512.
- Statista, 2018. Beverage sales share worldwide by beverage type 2011-2016. In. [www. statista.com](http://www.statista.com): Statista Research Department. (Date of access: 5 October 2021).
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A, 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chemistry*, 90: 685-689.
- Tinkov AA, Filippini T, Ajsuvakovae OP, Skalnaya MG, Aasethf J, Bjørklundh G, Gatiatulina ER, Popova EV, Nemereshina ON, Huangk PT, Vinceti M, Skalny AV, 2018. Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environmental Research*, 162: 240-260.
- Tokalioglu S, 2012. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 134: 2504-2508.
- Toker G, Aslan M, Yeşilada E, Memişolu MS, 2001. Ito, Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26: 111-121.
- Topdas EF, Demirbaş M, Şengül M, Şat İG, 2021. Farklı Kurutma Tekniklerinin *Smilax excelsa* Genç Sürgünlerinin Antioksidan Aktivitesi ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52 (3): 314-324.

- Veličković I, Grujić S, Džamić A, Krivošej Z, Marin PD, 2015. In vitro antioxidant activity of dewberry (*Rubus caesius* L. var. *Aquaticus* Weihe. & Nees.) leaf extracts. Archives of Biological Science Belgrade, 67(4): 1323-1330.
- Veljkovic, B., Djordjevic, N., Dolicanin, Z., Licina, B., Topuzovic, M., Stankovic, M., Zlatic, N., & Dajic-Stevanovic, Z. (2018). Antioxidant and Anticancer Properties of Leaf and Fruit Extracts of the Wild Raspberry (*Rubus idaeus* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 47(2): 359-367.
- Vinha AF, Soares MO, Castro A, Santos A, Oliveira MBPP, Machado M, 2012. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of aqueous extracts of medicinal plants from Portugal. European Journal Medicinal Plants, 2(4): 336-347.
- Yuan J, Chen F, 1998. Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 5078-5082.
- Zia-Ul-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar HZ, Moga M, 2014. *Rubus fruticosus* L.: Constituents, biological activities and health related uses. Molecules, 19: 10998-1029.