

**GELENEKSEL ANJELİKA REÇELİNİN TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE,
TOPLAM FENOLİK MADDE VE *IN VITRO* SİNDİRİM MODELİ İLE
BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Elif Koç, Perihan Yolcu Ömeroğlu*

Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 29.11.2019; Kabul / Accepted: 10.02.2020; Online baskı / Published online: 16.02.2020

Koç, E., Ömeroğlu, P. Y. (2020). Geleneksel anjelika reçelinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve *in vitro* sindirim modeli ile biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(1) 171-181 doi: 10.15237/gida.GD19154

Koç, E., Ömeroğlu, P. Y. (2020). Determination of total phenolic compound, antioxidant capacity of the traditional angelica jam and their bioaccessibility with *in vitro* digestive model. *GIDA* (2020) 45(1) 171-181 doi: 10.15237/gida.GD19154

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Bursa'ya ait unutulmaya yüz tutmuş geleneksel bir gıda olan Anjelika reçelinin biyoaktif bileşenlerini ortaya koyarak fonksiyonel özelliklerini değerlendirmektir. Bu bağlamda, farklı özütleme yöntemlerinin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarlarına olan etkisi ve *in vitro* sindirim modeli ile bu biyoaktif bileşenlerin biyoerişilebilirliği de incelenmiştir. Geleneksel yöntemine göre üretilen Anjelika reçeli %0.1 formik asit içeren %75 metanol, %0.5 asetik asit içeren %70 aseton ve %70 etanol ile özütlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre biyoaktif bileşen miktarları özütleme yöntemlerine göre farklılık göstermiştir. Reçelin toplam antioksidan kapasitesi en fazla metanolik bazlı özütünden, DPPH, CUPRAC ve ABTS yöntemleriyle sırasıyla 21.77 ± 3.38 mg troloks eşdeğeri (TE)/100 g kuru madde (KM), 69.97 ± 10.85 mg TE/100g KM ve 111.97 ± 9.17 mg TE/100g KM olarak elde edilmiştir. Sonuçlara göre, fenolik ve flavonoid madde miktarı en fazla aseton bazlı özütten sırasıyla 12.10 ± 0.55 mg gallik asit eşdeğeri/100 g KM ve 10.48 ± 0.63 mg rutin eşdeğeri/100 g KM olarak elde edilmiştir. Ayrıca, reçellerin bağırsakta sindirimi neticesinde elde edilen toplam fenol miktarı ve toplam antioksidan miktarlarında (DPPH metoduyla) artış gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Anjelika, reçel, biyoaktif bileşen, geleneksel gıdalar, antioksidan kapasite

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUND, ANTIOXIDANT CAPACITY
OF THE TRADITIONAL ANGELICA JAM AND THEIR BIOACCESSIBILITY WITH *IN
VITRO* DIGESTIVE MODEL**

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the functional properties of Angelica jam, a traditional food produced in Bursa, by revealing its bioactive components. In this context, the effect of different extraction methods on total antioxidant capacity, total phenolic and total flavonoid contents and bioavailability of those bioactive components with the *in vitro* digestion model were also investigated. For this purposes, Angelica jam produced according to its traditional method was extracted with three different solvents including 75% methanol containing 0.1% formic acid, 70% acetone containing 0.5% acetic acid, and 70% ethanol. According to the analytical results, the antioxidant capacity of the jams changed with extraction methods and the samples extracted by methanolic solvent showed more antioxidant capacity using DPPH, CUPRAC and ABTS methods, as 21.77 ± 3.38 mg TE/100 g DM, 69.97 ± 10.85 mg trolox equivalent (TE)/100 g dry matter (DM), and 111.97 ± 9.17 mg TE/100 g DM, respectively. Moreover, the highest amount of phenolic and flavonoid contents were obtained from acetone-based extracts as 12.10 ± 0.55 mg gallic acid equivalent/100 g DM and 10.48 ± 0.63 mg rutin equivalent/100 g DM, respectively. Increased total phenol content and total antioxidant levels (by DPPH method) were observed as a result of intestinal digestion of the jam.

Keywords: Angelica, jam, bioactive compounds, traditional foods, antioxidant capacity

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ pyomeroglu@uludag.edu.tr

Tel: (+90) 224 294 1401

Fax: (+90) 224 294 1402

Elif Koç; ORCID no: 0000-0001-8315-6411

Perihan Yolcu Ömeroğlu; ORCID no: 0000-0001-8254-3401

GİRİŞ

Kültürel mirasın bir parçası olan geleneksel gıdalar, bir yörenin iklimi, coğrafyası, geleneksel gıda işleme yöntemleri ve beslenme biçimleri hakkında bilgi veren önemli değerleridir. Nesilden nesile aktararak kültürel bir miras haline gelen geleneksel gıdalar sağlıklı ve lezzetli olmalarının yanında, buldukları bölgenin ihracat potansiyelini artırarak bölge ekonomisine katkı sağlamaktadır (Trichopoulou vd., 2006). Türkiye'nin zengin meyve ve sebze çeşitliliğinin bir sonucu olarak, geleneksel gıdaları arasında reçeller de bulunmaktadır. Anjelika (melek otu) reçeli, Bursa'ya ait unutulmaya yüz tutmuş geleneksel ürünler arasında sıralanmıştır (Koç ve Yolcu Ömeroğlu, 2019).

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği'nde reçeller; reçel, ekstra reçel, geleneksel reçel ve ekstra geleneksel reçel olmak üzere dört farklı grupta sınıflandırmaya tabi tutulmuştur (Anonim, 2006). TGK'ne göre ekstra geleneksel reçel, en az %68 oranında çözünür kuru madde ve %45 oranında meyve içermektedir. Koç ve Yolcu Ömeroğlu (2019), geleneksel Anjelika reçelinin fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerini ortaya koymuş ve mevzuatta belirtilen kriterlere uygunluk gösterdiğinden dolayı "ekstra geleneksel" sınıfında yer aldığını kanıtlamıştır.

Anjelika reçeli, Uludağ'ın eşsiz bitki örtüsünde nadir bulunan bir bitki olan *Angelica sylvestris* gövdesi (melek otu) ile üretilmektedir (Akkor, 2009). Maydanozgiller familyasının bir üyesi olan *Angelica sylvestris*, uzunluğu 2 m'ye yaklaşan çok yıllık bir bitkidir. *Angelica sylvestris* genellikle sulak alanlarda, nemli ve gölgeli yerlerde yetişmekte olup Avrupa ve Asya'nın ılıman ülkelerinde görülmektedir. Çiçekleri açık formda ve çok katmanlı şemsiye şeklinde olan bu bitkinin yaprakları, yeşilimsi veya beyaza yakın toz pembe renktedir (Stpiczynska vd., 2015). Bu familyanın Türkiye'de yetişen iki çeşidinden biri olan *Angelica sylvestris* endemik bir tür olarak bilinmektedir ve Bursa Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herberiyumu'nda 26232 sayı ile kayıt altına alınmıştır (Daşkın ve Kaynak, 2012).

Uzak Doğu başta olmak üzere pek çok ülkede geleneksel tıpta kullanılan *Angelica sylvestris*; bronşit, astım, grip ve solunum, vasküler ve sindirim sistemlerinde görülen hastalıkların tedavisinde antibakteriyel ajan görevi görmektedir (Stankovic vd., 2016). Gıda ve ilaç olarak kullanımının yanı sıra Avrupa'da kadınlar için bir besin takviyesi olarak da kullanıldığı bilinmektedir (Wei vd., 2016). Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek oksidasyonu engelleyen ve bu sayede bağışıklık ve sinir sistemi ile kalp damar hastalıklarında koruyucu etkileri olan biyoaktif maddelerdir. Stankovic vd. (2016) yaptığı çalışmada *Angelica sylvestris*'in antioksidan bileşikler içerdiğini ortaya koymuştur. *Angelica* cinsinin çeşitli türlerinde ve aynı zamanda *Apiaceae* (maydanozgiller) familyasında görülmekte olan kumarinler, steroller ve fenolik asitler hakkında kapsamlı çalışmalar mevcuttur (Wei vd., 2016). Antioksidan bileşiklerin analizleri için etkin bir şekilde spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanılmaktadır (Rice-Evans vd., 1997; Apak vd., 2004; Kumaran ve Karunakaran, 2006; Kamiloğlu, 2019a). Bu yöntemlerin ilk aşamasında, bu bileşenlerin numuneden etkin bir şekilde özütlenmesi gerekmektedir. Özütleme çözücüsü, sıcaklık, katı-sıvı oranı ve partikül büyüklüğü, özütleme işlemini etkileyen önemli parametrelerdir (Qu vd., 2010).

Gıdayla alınan biyoaktif bileşenlerin sağlık üzerindeki etkilerini gösterebilmeleri için; yeme sonrasında gıda matriksinden serbest bırakılması, mide-bağırsak sisteminde biyoerişilebilir olması (gıda matriksinden salınım ile daha sonraki alım ve emilim için elverişli olan form) ve etki göstereceği hedef bölgeye ulaşması, yani bir başka deyişle, biyoyararlı olması gerekmektedir (Manach vd., 2005). Gıda ve beslenme arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi için sağlık ile ilgili gıda bileşenlerinin biyoyararlılıklarının ve biyoerişilebilirliklerinin değerlendirilmesi önemlidir (Fernandez-Garcia vd., 2009). Bu bağlamda, insan sindirim sistemini simüle eden *in vitro* yöntemler; hızlı ve güvenilir olmaları, uygulama koşullarının standardize edilebilir olması ve (*in vivo* yöntemler için bir dezavantaj olan) etik kurallar nedeni ile kısıtlamaların olmaması gibi avantajlı yönleri sayesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (You vd.,

2010). Reçel yapımında meyvelere uygulanan kesme, ezme (parçalama) ve kaynatma (ısı işlem uygulaması) prosesleri, farklı antioksidan grubu bileşenler açısından zengin bileşenlerin (meyve, baharat, limon suyu, vb.) birlikte kullanımı, şeker ilavesi gibi, biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık üzerine etkili olabilecek, çok sayıda faktör bir arada bulunmaktadır (Kamiloğlu vd., 2015; Tomas vd., 2017).

Osmanlı döneminde macun yapımında kullanılan bu bitki ve reçeli günümüzde pek fazla bilinmemektedir. Bu bağlamda, literatüre bakıldığında *Angelica sylvestris*'in antimikrobiyal (Canlı vd., 2016), fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri (Koç ve Yolcu Ömeroğlu, 2019) ile ilgili çalışmaların olduğu; fakat bu bitkinin gövde kısmından üretilen geleneksel reçelin biyoaktif bileşen miktarının ve bunların biyoerişilebilirliğinin tanımlanmadığı görülmüştür. Bu çalışmadaki amacımız; Bursa'da geleneksel olarak üretilen ancak unutulmaya yüz tutmuş Anjelika reçelinin içerdiği biyoaktif bileşenlerini tanımlamak (toplam antioksidan, toplam fenol ve toplam flavonoit olarak), farklı özütleme yöntemlerinin biyoaktif bileşenlerine olan etkisini ve standartlaştırılmış *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanarak bu bileşenlerin biyoerişilebilirliğini incelemektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Reçel Üretimi ve Numune Hazırlama

Anjelika reçeli, Bursa'da bulunan tek yerel üreticisinin (Ulus Pastanesi) yıllardır süregelen geleneksel formülüne uygun olarak üretilmiştir. Reçelin hammaddesi olan *Angelica sylvestris*, üretimin yapıldığı 2017 yılın Mayıs-Haziran aylarında Uludağ'ın eteklerindeki dağ köylerinde yaşayan çiftçiler tarafından el ile hasat edilerek, reçel üretiminde kullanılan gövdeleri, kök ve çiçeklerinden ayrılmış bir şekilde poliüretan torbalarda 1-2 gün içerisinde ulaştırılmıştır. Gövde kısımlarındaki ince kabuklar ayrılıp, yuźük şeklinde (yaklaşık 30 mm çapında ve 10 mm kalınlığında) kesilip reçel üretimine hazır hale getirilmiştir. Şeker ve su 2:1 (w/w) oranında, şurup elde etme amacıyla açık kazanda kaynamaya (koyulaştırma) bırakılmıştır. Bu sırada şeker ile ağırlıkça aynı miktardaki bitki de eklenerek reçel

kıvamı elde edilinceye kadar kaynatma devam ettirilmiştir. Kaynatma (koyulaştırma) işlemi sonlandırılmadan önce reçele asit ilavesi olarak sitrik asit (1 kg reçele 1 g olacak şekilde) eklenmiştir. Son aşamada cam kavanozlara sıcak dolum yapıp, kapağı kapatıldıktan sonra ters çevirilerek soğumaya bırakılmıştır (Akkor, 2009). Şekil 1'de Anjelika reçelinin geleneksel üretim akış şeması yer almaktadır.

Bu çalışmada kullanılan Anjelika reçelinin fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerini Koç ve Yolcu Ömeroğlu (2019) yaptıkları çalışma sonucunda ortaya koymuştur. Yapılan çalışmada, Anjelika reçelinin meyve ağırlığı oranının %45.83, pH'nın 3.72 ve refraktrometre ile tayin edilen suda çözünür kuru madde miktarının %72.24 olduğu belirtilmiştir. Üretilen reçeller analizler gerçekleştirilene kadar 4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Analizlerden önce, reçel numuneleri değirmen (IKA, Almanya) yardımıyla sıvı azot içerisinde ince bir toz halinde öğütülmüş ve analizlere kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Kimyasallar

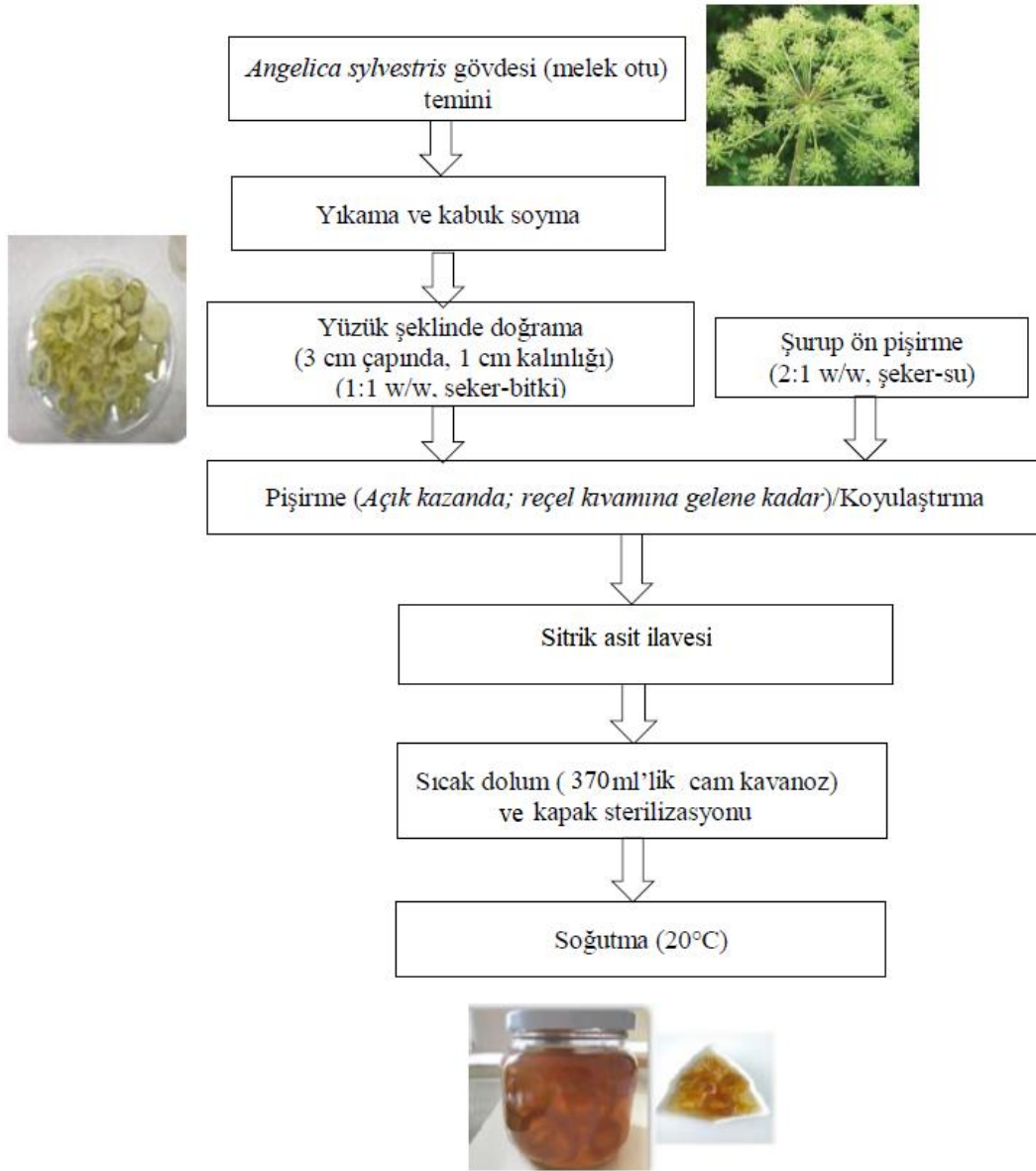
Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Tüm analizlerde damıtık su cihazından elde edilen damıtık su kullanılmıştır (IKA GenPure).

Sindirilmemiş Numunelerin Özütlenmesi

Geleneksel olarak üretilen Anjelika reçelinden antioksidan bileşiklerin doğru bir şekilde özütlenmesi için A-metanol:formik asit:su (75/0.1/24.9, v/v) (Çapanoğlu vd., 2008), B-etanol:su(70:30, v/v) (Perk vd., 2016), C-aseton:asetik asit:su (70:0.5:29, 5, v/v) (Kamiloğlu vd., 2015; Kamiloğlu, 2019a), C-etanol:su (70:30, v/v), olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılmıştır. 1.00±0.01 g toz halinde öğütülmüş numune uygun bir behere alınarak üzerine 5 mL özütleme çözeltileri eklenmiş, 1 dakika vortekslenildikten (IKA VorteksGenius 3, IKA®-WerkeGmbH&CO.KG, Almanya) sonra 15 dakika su banyosunda (Memmert/WNB 22, Almanya) bekletilmiştir. Daha sonra 5000 rpm, 4°C'de 10 dakika santrifüj (Sigma 2-16PK,

Almanya) edildikten sonra üst faz temiz bir falkon tüpüne aktarılarak, dibe çöken kalıntıya tekrar 5 mL özütleme çözeltisi ilave edilmiş ve ilk aşamada yapılan işlemler tekrarlanmıştır. Birleştirilen özütler analize kadar falkon tüpü içerisinde

-20°C'de saklanmıştır. Her bir özütleme yönteminden elde edilen özütlerin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik ve toplam flavonoit madde miktarları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.



Şekil 1. Anjelika reçeli (Başer, 2014; Koç ve Yolcu Ömeroğlu, 2019).
Figure 1. Angelica jam (Başer, 2014; Koç and Yolcu Ömeroğlu, 2019).

***In vitro* Gastrointestinal Sindirim Modeli**

In vitro gastrointestinal sindirim için, Minekus vd. (2014) tarafından ilgili fizyolojik koşullara uygun olarak geliştirilerek standart hale getirilmiş *in vitro* sindirim modeli uygulanmıştır. Bu model, ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirimi simüle eden üç aşamadan oluşmaktadır. Tüm bu aşamaların detayları Kamiloğlu (2019b) tarafından detaylı olarak ele alınmıştır. Birinci basamakta, ağızdaki sindirimi simüle etmek için, 5.00 ± 0.01 g öğütülmüş numune, tükürük sıvısı (değişik derişim ve hacimlerde karıştırılan potasyum klorür, monopotasyum fosfat, sodyum bikarbonat, magnezyum klorür hegzahidrat, amonyum karbonat ve hidroklorik asitten oluşmaktadır; pH 7.0), α -amilaz enzimi, kalsiyum klorür ve damıtık su ile karıştırılarak 37°C 'deki çalkamalı su banyosunda 2 dakika süre ile inkübe edilmiştir. İkinci basamakta, midedeki sindirimin simülasyonu için, ağız sindirimi simülasyonundan alınan numune, mide sıvısı (değişik derişim ve hacimlerde karıştırılan potasyum klorür, monopotasyum fosfat, sodyum bikarbonat, sodyum klorür, magnezyum klorür hegzahidrat, amonyum karbonat ve hidroklorik asitten oluşmaktadır; pH 3.0), pepsin enzimi ve kalsiyum klorür ile karıştırılmış ve pH değeri hidroklorik asit ile 3.0 değerine ayarlanmıştır. Sonrasında 37°C 'deki çalkamalı su banyosunda 2 saat süre ile inkübe edilmiştir. Üçüncü basamakta, bağırsak sindirimini simülasyonu için, mideden gelen numune, bağırsak sıvısı (değişik derişim ve hacimlerde karıştırılan potasyum klorür, monopotasyum fosfat, sodyum bikarbonat, sodyum klorür, magnezyum klorür hegzahidrat ve hidroklorik asitten oluşmaktadır; pH 7.0), pankreatin enzimi, safra ve kalsiyum klorür ile karıştırılmış ve pH değeri sodyum hidroksit ile 7.0 değerine ayarlanmıştır. Bağırsaktan emilen ve atılan kısımların ayrı ayrı gözlemlenebilmesi için bağırsak sıvıları eklendikten sonra diyaliz poşetlerinin içerisine 20 mL NaHCO_3 çözeltisi konularak diyaliz poşetleri bağırsak sıvısının bulunduğu behere konmuştur (beherden diyaliz poşetlerine geçen kısım bağırsaktan emilen kısmı-IN, beherde kalan kısım ise bağırsaktan atılan-OUT kısmı temsil etmektedir). Bağırsak sıvılarının ve diyaliz poşetlerinin içinde bulunduğu beher 37°C 'deki çalkamalı su banyosunda yine 2 saat

süre ile inkübe edilmiştir. Ağız, mide ve bağırsak sindirimi (emilen ve atılan ayrı ayrı) aşamalarından sonra 2 mL numuneler alınarak pH'ları 2'ye ayarlanmış ve $+4^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 23000 g hızında 5 dk santrifüjlenmiş ve üstte kalan sıvı kısım analiz edilmek üzere toplanmıştır. Bu numunelerde toplam antioksidan kapasite, toplam fenol ve flavonoit analizleri spektrofotometrik yöntemlere dayanarak gerçekleştirilmiş ve sindirim sonrası numuneler için elde edilen değerler, başlangıç reçel numuneleri (sindirime uğramamış) için elde edilen değerler ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar ile sindirimin ağız, mide ve bağırsak aşamalarından sonra, orijinal reçel numunelerindeki biyoaktif bileşenlerin etkinliğinin ne oranda korunduğu, yani ne kadarının potansiyel olarak biyoerişilebilir (%) olduğu değerlendirilmiştir.

Spektrofotometrik Analizler

Numunelerin toplam antioksidan kapasitesinin tayini için 3 farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), CUPRAC (Bakır indirgeyici Antioksidan Kapasitesi) ve ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) olarak belirlenmiştir.

CUPRAC yöntemi için (Apak vd., 2004), 100 μL 'lik özütlenmiş numuneler tüpe konulmuş, daha sonra sırasıyla, 1 mL 10 mM $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi, 1 mL 7.5 mM Neocuproine çözeltisi, 1 mL 1 M amonyum asetat (pH=7) çözeltisi ve 1 mL su ilave edilmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometre (Shimadzu UV-1700, Tokyo, Japonya) ile 450 nm'de köre karşı ölçülmüştür. Farklı derişimlerde hazırlanan trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (10-800 ppm) varlığında Cuprac çözeltisinin absorbansındaki değişimin ölçülmesiyle bir trolox kalibrasyon eğrisi elde edilmiş olup ($R^2 > 0.996$) sonuçlar mg TE/100g KM olarak ifade edilmiştir.

ABTS yöntemi için, 220 mg ABTS'nin 200 mL suda çözülmesiyle elde edilen ABTS çözeltisi, 38 mg potasyum persülfatın 2 mL suda çözülmesiyle elde edilen potasyum persülfat çözeltisi ile muamele edilmiştir (Rice-Evans vd., 1997). Karışım oda

sıcaklığında ve karanlık ortamda bir gece (12 saat) koyu mavi renk oluşana kadar bekletilmiştir. Koyu mavi renkli bu çözelti, 0.05 M fosfat tampon çözelti (pH 8.0 kullanılarak) absorbans 734 nm'de 0.9 ± 0.05 olana kadar seyreltilmiştir. Daha sonra 100 µL özütlenmiş numune ile seyreltilmiş çözülden 1 mL (ABTS çözeltisi) alınarak karıştırılmış ve 1 dk bekletildikten sonra absorbans değeri spektrofotometre ile 734 nm'de ölçülmüştür. Farklı derişimlerde hazırlanan trolox (10-800 ppm) varlığında ABTS çözeltisinin absorbansındaki değişimin ölçülmesiyle bir trolox kalibrasyon eğrisi elde edilmiş olup ($R^2 > 0.996$) sonuçlar mg TE/100g KM olarak ifade edilmiştir.

DPPH yöntemi için, gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra tüplere konulan 100 µL numune özütüne ya da standarda 2 mL 0.1 mM DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) ilave edilmiştir (Kumaran ve Karunakaran, 2006). Vorteksleme ve 30 dk oda sıcaklığında karanlıkta bekletme sonrasında spektrofotometre ile 517 nm'de saf suya karşı absorbanslar okunmuştur. Farklı derişimlerde hazırlanan trolox (10-800 ppm) varlığında DPPH çözeltisinin absorbansındaki değişimin ölçülmesiyle bir trolox kalibrasyon eğrisi elde edilmiş ($R^2 > 0.996$) olup, sonuçlar mg TE/100g KM olarak ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde analizinde yaygın olarak kullanılan Folin-Ciocalteu yöntemi (Velioglu vd. 1998) kullanılmıştır. Buna göre; 100 µL özütlenmiş numune üzerine %10'luk 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş, 5 dk bekletildikten sonra bu karışıma 0.75 mL (%6'luk) doymuş sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek vortekslenmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 90 dk karanlıkta bekletildikten sonra oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 725 nm'de okunmuştur. Farklı derişimlerde hazırlanan gallik asit (10-800 ppm) varlığında absorbansın ölçülmesiyle bir gallik asit kalibrasyon eğrisi elde edilmiş olup ($R^2 > 0.996$) sonuçlar mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/100g KM olarak ifade edilmiştir.

Toplam flavonoid madde içeriği, kolorimetrik olarak Kim vd. (2003)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemine göre; 1 mL özütlenmiş numune gerekli seyreltilmeler yapıldıktan sonra

tüplere konulmuştur. Kronometre ile süre başlatılıp oda sıcaklığında sırasıyla 0.3 mL %5'lik NaNO_2 ($t=0$ dk anında), 0.3 mL %10'luk AlCl_3 ($t=5$ dk anında) ve 2 mL 1M NaOH ($t=6$ dk anında) ilave edilmiştir. En son 2.4 mL su ilave edilerek vortekslenmiş ve spektrofotometre ile 510 nm'de absorbansda okunmuştur. Farklı derişimlerde hazırlanan rutin (10-800 ppm) varlığında absorbansın ölçülmesiyle bir rutin kalibrasyon eğrisi elde edilmiş ($R^2 > 0.996$) olup sonuçlar mg RE (rutin eşdeğeri)/100g KM olarak ifade edilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Geleneksel Anjelika reçelinin biyoaktif özelliklerini incelemek için analizler sonrasında elde edilen değerler istatistiksel teknikler kullanılarak yorumlanmıştır. Çalışma kapsamında her deneme (üretim, özütleme, biyoerişilebilirlik modeli, spektrofotometrik analizler) 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler SPSS istatistik programı (versiyon 23.0, SPSS, Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey çoklu-karşılaştırma testi yapılarak $P < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir. Korelasyon katsayıları (R^2), Microsoft Office Excel 2011 yazılımı (Microsoft Corporation, Redmond, WA, ABD) kullanılarak hesaplanıp veriler ortalama \pm standart sapma olarak rapor edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Farklı Özütleme Yöntemlerinin Etkisi

Fizikokimyasal özellikleri Koç ve Yolcu Ömeroğlu (2019) tarafından ortaya konulmuş olan Anjelika reçelinin antioksidan bileşenlerinin sindirilmemiş reçel numunelerinden etkin bir şekilde özütlenmesi için metanol, etanol ve aseton bazlı üç farklı çözgen kullanılmıştır. Her bir özütleme yönteminden elde edilen özütlerle yapılan analizlere ait sonuçlar Çizelge 1'de sunulmuştur.

Toplam antioksidan kapasite analizi için gerçekleştirilen ABTS ve DPPH metanolik ve etanolik bazlı özütlemeler arasında istatistiksel olarak fark olmadığı ($P > 0.05$) fakat aseton özütleme ile elde edilen sonucun bunlardan daha

düşük çıktığı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($P < 0.05$) görülmüştür. CUPRAC metodunda etanol ve aseton bazlı özütleme yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ($P > 0.05$) ve metanolik bazlı özütlemenin bunlardan farklı olarak en yüksek değeri verdiği görülmüştür. Toplam fenolik madde analizinde ise 3 özütleme metodu da

istatistiksel olarak anlamlı derecede birbirinden farklı olup ($P < 0.05$), en fazla fenolik madde aseton bazlı özütleme yöntemi ile elde edildiği, en az fenolik madde miktarı ise metanol bazlı özütlemekten elde edildiği gözlenmiştir. Benzer gözlemler flavonoit madde miktarında da gözlenmiştir. Ancak en az flavonoit maddenin etanolik özütlemekten elde edildiği gözlenmiştir.

Çizelge 1. Farklı özütleme yöntemlerinin Anjelika reçelinin toplam antoksidan kapasitesi, toplam fenolik ve toplam flavonoit madde miktarları üzerine etkisi

Table 1. The effect of different extraction methods on total antioxidant capacity, total phenolic and total flavonoid contents of *Anjelica jam*

	Özütleme yöntemi Extraction method		
	Metanol (A) (metanol:formik asit:su) (75:0.1:24.9 v:v) Methanol (A) (methanol:formic acid:water)	Etanol (B) (etanol:su) (70:30 v:v) Ethanol (B) (ethanol:water)	Aseton (C) (aseton:asetik asit:su) (70:0.5:29.5 v:v) Aseton (C) (aseton:formic acid:water)
Toplam Antioksidan Kapasite (mg TE/ 100 g KM)- Total Antioxidant Capacity (mg TE/ 100 g DM)			
ABTS	111.97±9.17 ^a	110.53±9.88 ^a	96.71±10.13 ^b
CUPRAC	69.97±10.85 ^a	43.43±5.98 ^b	46.43±6.40 ^b
DPPH	21.77±3.38 ^a	19.49±2.11 ^a	7.61±1.03 ^b
Toplam Fenol Madde Miktarı (mg GAE/ 100 g KM)- Total Phenolic Content (mg GAE/ 100 g DM)			
	6.33±1.09 ^c	10.20±1.44 ^b	12.10±0.55 ^a
Toplam Flavonoit Madde Miktarı (mg RE/100 g KM)-Total Flavonoid Content (mg RE/ 100 g DM=			
	3.87±0.73 ^b	2.59±0.35 ^c	10.48±0.63 ^a

Satır boyunca verilen üst simgeler örnekler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$). Different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Biyoaktif bileşenleri etkin bir şekilde özütleyebilecek çözümler her gıda için farklıdır (Demir vd., 2019). Bu nedenle gıdaların bileşimine göre en uygun özütleme solventi seçilmesi gerekmektedir. Ayrıca özütlenecek biyoaktif bileşene uygun polaritedeki çözücü seçmek gerekmektedir. Örneğin, sulu aseton çözgeni özellikle yüksek moleküler ağırlıklı polifenollerin özütlenmesinde etkilidir (Türkyılmaz vd., 2017). Özütleme çözümleri, çözümlerin polaritesindeki farklılıklardan dolayı bu çalışmada toplam antioksidan maddelerin, toplam fenolik

maddelerin ve toplam flavonoit maddelerin numunelerden özütlenmesi üzerinde önemli bir etki göstermiştir. Literatüre paralel olarak (Demir vd., 2019) %75 metanol/ %0.1 formik asit/ %24.9 su özütleme yöntemiyle analiz edilen reçel numunelerinin daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. Doğan vd. (2014), yaptıkları çalışmada farklı özütleme çözümleri ile hazırlanan numunelerin fenolik madde miktarının istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olduğunu ve en yüksek etkinliğin metanol ile özütleme yönteminde görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Ancak yaptığımız çalışmada, toplam fenol ve flavonoit analizlerinde en yüksek sonucu aseton bazlı özütlenme yöntemi vermiştir. Bu durum, numunelerin içerdiği fenoliklerin çeşidine bağlı olması ile açıklanabilir. Ancak aynı özütlenme yöntemiyle tüm biyoaktif madde analizi gerçekleştirilebileceği için bir sonraki çalışmalarda metanolik bazlı özütlenme yönteminin tercih edilmesi önerilebilir.

Toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve toplam flavonoit madde miktarı

Anjelika reçelinin metanolik bazlı özütlenmesi sonucunda sindirilmemiş numunelerin antioksidan kapasitesi ABTS, CUPRAC ve DPPH yöntemiyle sırasıyla 111.97 ± 9.17 mg TE/100 g KM, 69.97 ± 10.85 mg TE/100 g KM ve 21.77 ± 3.38 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). En yüksek antioksidan kapasite sonucu ABTS yöntemi ile elde edilmiştir. Antioksidan kapasite analizleri sonucunda ABTS metodunun en yüksek değeri vermesinin ABTS metodunun, hem sulu radikallerin hem de lipid peroksil radikallerinin antioksidan kapasitelerini ölçebilmesinden (Türkyılmaz vd., 2017) ve ABTS radikalının geniş bir pH aralığında kararlılık (Büyüktuncel, 2013) göstermesinden kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. DPPH radikali sadece organik ortamda çözünüp (özellikle alkol ortamında), sulu ortamda çözünemediği için hidrofilik antioksidanların analizinde önemli bir sınırlamadır. Küçük moleküller radikale daha kolay ulaşacağından, daha yüksek antioksidan kapasite değerlerine sahiptirler. Tiyol tipi antioksidanları okside etmek için hızlı bir yöntem olan CUPRAC reaktifinin daha düşük elektrot potansiyeline sahip olması nedeniyle, girişime neden olacak basit şekerler ve sitrik asit bu reaktifle okside olmazlar (Büyüktuncel 2013). Bu da reçel gibi şekerli matrikslerde güvenilir sonuç alınmasını sağlamaktadır.

Bileşiklerin antioksidan kapasitelerini belirlemede kullanılan çeşitli analitik yöntemlerde bir antioksidan, seçilen bir ölçme yöntemi ile yüksek antioksidan kapasite gösterirken, aynı antioksidanın diğer bir yöntemle daha düşük bir aktivite gösterebildiği literatürde yer alan çalışmalarda da görülmüştür (Güldiken vd., 2016,

Tomas vd., 2017). Dolayısıyla literatürde yapılan önceki çalışmalarda göz önüne alındığında, gıdalarda antioksidan kapasite ölçümünde farklı prensiplere sahip birden fazla metodun uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anjelika reçelinin metanolik bazlı özütlenmesi sonucunda sindirilmemiş numunenin toplam fenolik madde ve flavonoit madde miktarı sırasıyla 6.33 ± 1.09 mg GAE/100 g KM ve 3.87 ± 0.73 mg RE/100g KM olarak tespit edilmiştir. Stankovic vd. (2016) geleneksel şifalı bitkilerin antioksidan ve antibakteriyel özellikleriyle ilgili yaptıkları çalışmada, *Angelica sylvestris*'in polifenol ve flavonoit içeriğinin diğer bitkilere göre daha düşük çıktığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte; reçel ve marmelat işlenmesi sırasında hücre yapısının bozulması ve hammaddenin enzimatik olmayan oksidasyona yatkın hale gelmesinden dolayı fenolik bileşenlerin azaldığını belirten çalışmalar da literatürde mevcuttur (Tomas vd., 2017).

***In vitro* gastrointestinal sindirim modeli**

In vitro gastrointestinal sindirimin Anjelika reçelinin biyoaktif bileşen madde içeriği üzerine etkileri Çizelge 2'de verilmiştir.

Anjelika reçelinin toplam fenol ve flavonoit miktarına, ağız sonrası sindirimin etkisi incelendiğinde, toplam fenol miktarının ihmal edilebilir düzeyde değiştiği (%1.5) ve toplam flavonoit miktarlarının %44 arttığı gözlenmiştir. Bu durum; düşük miktarlarda gerçekleştirilen ölçümlerin doğal hatası olarak açıklanabilir. Toplam antioksidan kapasitesine etkisi incelendiğinde ise, ağız sonrası sindiriminden sonra ölçülen antioksidan kapasitesinin sindirilmemiş numunenin antioksidan kapasitesine oranla %100'e varan oranda düşük çıktığı gözlenmiştir. Kamiloğlu (2019a) bu durumu ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon süresinin (2 dk) bu bileşenlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmadığı şeklinde açıklamıştır. Dolayısıyla, 2 saatlik bir inkübasyon gerektiren mide sindirim modeli süresince, ortam pH'sı ve enzimlerin etkisiyle toplam fenol, flavonoit ve DPPH ile ölçülen toplam antioksidan kapasite miktarlarında, sindirilmemiş numunenin

değerlerine göre fazla artış gözlenmiştir. Kamiloğlu (2019b) bu durumu mide sindirimi sırasında gıdadan geçen fenolik özütleme işleminin etkin bir şekilde devam ederken stabilitesini de korumasına bağlamaktadır. Ayrıca literatürde (Doğan vd., 2014), Folin-Ciocalteu metodunun fenolik bileşenler yanında; askorbik asit, sitrik asit, basit şekerler ve bazı amino asitler gibi indirgen bileşenleri de ölçerek, toplam fenolik madde içeriğinin gerçek değerinden fazla ölçülmesine neden olduğu belirtilmiştir. Bu da spektrofotometrik yöntemlerin yanında bu çalışmaların kromatografik analizlerle desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Biyoaktif bileşenler, bağırsakta gerçekleşen sindirim süresinin yeterli olması sonucunda,

ortamda bulunan sıvılar ve enzimler ile parçalanarak açığa çıkmaktadırlar (Tamer, 2018), dolayısıyla bu bileşenlerin toplam antioksidan değerlerinin (ABTS ve CUPRAC) ve toplam fenol miktarlarının, mide sonrası sindirim değerlerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Anjelika reçelinin toplam antioksidan kapasitesinin ABTS, CUPRAC ve DPPH metoduyla ölçülmesi sonucu sırasıyla sindirilmemiş numuneye göre %97, %18.89 ve %736 oranında biyoerişilebilirlik oranına sahip olduğu (geri kazanım) gözlenmiştir. Toplam fenol miktarı ise %211 oranında geri kazanılmıştır. Toplam flavonoid miktarı ise bağırsak sonrası sindirimde ihmal edilir düzeyde saptanmıştır.

Çizelge 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler

Table 2. Changes in total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity during *in vitro* gastrointestinal digestion

Sindirilmemiş (Metanol özüt)-S <i>Undigested</i> (<i>Methanolic</i> <i>extract</i>)-UD	Ağız <i>Mouth</i>	Mide <i>Stomach</i>	Bağırsakta Emilen-IN <i>Dialysable fraction-</i> <i>IN</i>	Bağırsaktan Atılan-OUT <i>Undialysable</i> <i>fraction-IN</i>	Geri Kazanım, % (S/IN) x100 <i>Recovery, %</i> (UD/IN) x100
Toplam Antioksidan Kapasite (mg TE/ 100 g KM)- <i>Total Antioxidant Capacity (mg TE/100 g DM)</i>					
ABTS					
111.97±9.17 ^b	te-nd	43.53±1.07 ^c	110.10±3.73 ^b	233.26±17.56 ^a	97
CUPRAC					
69.97±10.85 ^a	2.30±0.30 ^d	11.06±1.43 ^c	13.22±1.42 ^c	21.44±1.59 ^b	19
DPPH					
21.77±3.38 ^c	10.70±1.70 ^d	252.04±6.92 ^a	160.47±68.95 ^b	131.12±22.25 ^b	736
Toplam Fenol Madde Miktarı (mg GAE/ 100 g KM)- <i>Total Phenolic Content (mg GAE/ 100 g DM)</i>					
6.33±1.09 ^d	6.40±1.60 ^d	11.03±0.85 ^c	13.39±0.93 ^b	17.12±1.34 ^a	211
Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg RE/ 100 g KM)- <i>Total Flavonoid Content (mg RE/100 g DM)</i>					
3.87±0.73 ^c	5.51±0.53 ^b	13.21±2.95 ^a	0.35±0.06 ^d	0.51±0.05 ^d	9

Bu çizelgede gösterilen veriler 3 tekrarlı olarak temin edilen numunelerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$). te: tespit edilemedi.

Data presented in this table represents average values ± standard deviation of 3 batches. Different letters in the rows represent statistically significant differences (P < 0.05). nd: not detected

Sonuç olarak, Bursa'ya ait geleneksel bir reçel olan Anjelika reçeli ile yapılan bu çalışmada, antioksidan aktivite analizlerinde %75'lik metanol özütlemenin diğer çözümlere göre en verimli sonuçları verdiği ve antioksidan kapasitelerinin

özütleme yöntemine göre farklılık gösterdiği görülmüştür. Yapılan analiz sonuçlarına göre, tek bir antioksidan kapasite ölçüm metodu kullanmasının tatmin edici bir değerlendirme yapılmasına olanak sağlamayacağı sonucuna

varılmıştır. Bu nedenle ölçümlerinde farklı mekanizmalara sahip birden fazla metodun kullanılması önerilmektedir. Anjelika reçelinin biyoaktif bileşenler içermesinin tüketiciler tarafından talebi arttıracığı ve bu sayede unutulmaya yüz tutmuş Anjelika reçelinin tanınırlığının artarak katma değeri olan geleneksel ürünler içerisinde yer alacağı beklenmektedir. Gıdalarda bulunan biyoaktif bileşenlerin biyoerişilebilirliklerini, gıda işlemede kullanılan kesme-parçalama, kurutma, ısıtma işlem gibi uygulamalar pozitif ve negatif yönde etkilemektedir. Dolayısıyla *Angelica sylvestris* gövdesinin sahip olduğu biyoaktif bileşenlerin ortaya konulması, bu bileşenlere reçele işleme sürecinin etkisinin irdelenmesi, bu bağlamda reçelde üretim ve depolama koşullarının optimize edilmesi, gelecekte yapılacak çalışmalarda detaylı bir şekilde ele alınmalıdır. Ayrıca, Anjelika reçelinin geleneksel özelliklerinin korunmasının yanı sıra ticari boyutta üretilmesi için yöntemlerin araştırılması ve ürün çeşitliliğinin ve fonksiyonelliğinin artırılması için reçetenin düzenlenmesi de bir sonraki çalışmalarda ele alınması gereken konulardır.

TEŞEKKÜR

Çalışma kapsamında hammaddelerin temini sürecindeki katkı ve desteklerinden dolayı Ulus Pastanesi'ne içten teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

Akkor, M.Ö. (2009). Bursa Yemeği. İş Bankası Kültür Yayınları, İstanbul, Türkiye, 357 s. ISBN: 978994-488-59-5-9.

Anonim (2006). Türk gıda kodeksi. Reçel, jöle marmelat ve tatlandırılmış kestane püresi tebliği. (2006/55). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 30 Aralık 2006 tarih ve 26392 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agric. Food Chem*, 52(26): 7970–7981.

Başer, K.H.C. (2014). Melekotu (*Angelica archangelica* L.). *BağBahçe*, 56: 28-29.

Büyüktüncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharm J*, 17: 93-103.

Canlı, K., Yetgin, A., Akata, I., Altuner, E.M. (2016). Invitro antimicrobial activity of *Angelica sylvestris* roots. *Int J Biol Sci*, 1: 1-7.

Çapanoğlu, E., Beekwilder, J., Boyacıoğlu, D., Hall, R., De Vos, R. (2008). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *J Agric Food Chem*, 56: 964-73.

Daşkın, R., Kaynak, G. (2012). *Angelica archangelica* (Apiaceae), a new species to Turkey: a contribution to its taxonomy and distribution. *Phytologia Balc*, 18(1), 5-9

Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum* L.) kabuğunun in vitro antidiyabetik, antiinflamatuar, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Akademik Gıda*, 17(1): 61-71.

Doğan, C., Doğan, N., Çelik, Ş. (2014). Farklı solventlerle ekstrakte edilen ceviz dış kabuklarının bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Harran Tar Gıda Bil Derg*, 18(3): 41-47.

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Pérez-Gálvez, A. (2009). *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutr Res*, 29: 751-760.

Güldiken, B., Memis, K.N., Okur, S., Boyacıoğlu, D., Çapanoğlu, E., Toydemir, G. (2016). Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) products: changes in antioxidant properties and bioaccessibility. *Int J Mol Sci*, 17: 858- 871.

Kamiloğlu, S., Pasli, A., Özcelik, B., Van Camp, J., Capanoğlu, E. (2015). Influence of different processing and storage conditions on *in vitro* bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. *Food Chem*, 186: 74-82.

Kamiloğlu, S. (2019a). Bireysel ve hızlı dondurma işlemi basamaklarının Granny Smith elmaların polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(1): 38-46.

- Kamiloğlu, S. (2019b). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA*, 44(3): 409-418.
- Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*, 81: 321–326.
- Koç, E., Yolcu Ömeroğlu, P. (2019). Geleneksel Anjelika (Melek Otu) Reçelinin Fizikokimyasal ve Duyusal Özellikleri. *Akademik Gıda*, 17(4): 485-496.
- Kumaran, A., Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem*, 97(1): 109-114.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Remesy, C. (2005). “Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies”. *Am J Clin Nutr*, 81: 230-242.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T.O.R.S.T.E.N., Bourlieu, C., Dufour, C. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food Funct*, 5(6): 1113-1124.
- Qu, W., Pan, Z., Ma, H. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *J Food Eng*, 99: 16–23.
- Perk, A.A., Ceylan, F.D., Yanar, O., Boztaş, K., Çapanoğlu, E. (2016). Investigating the antioxidant properties and rutin content of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves and branches. *Afr J Biotech*, 15(5): 118-124.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Papanga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*, 2(4): 152-159.
- Stanković, N., Mihajilov-Krstev, T., Zlatković, B., Stankov-Jovanović, V., Mitić, V., Jović, J., Čomić, L., Kocić, B., Bernstein, N. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of traditional medicinal plants from the Balkan Peninsula. *NJAS - Wageningen J Life Sci*, 78: 21–28.
- Stpiczynska, M., Nepi, M., Zych, M. (2015). Nectaries and male-biased nectar production in protandrous flowers of a perennial umbellifer *Angelica sylvestris* L. (Apiaceae). *Plant Syst Evol*, 301: 1099-1113.
- Tamer, C.E. (2018). A Research on the production of green coffee beverage fortified with apricot pulp. *GIDA*, 43(5): 800-811.
- Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R.D., Beekwilder, J., Çapanoğlu, E. (2017). Processing black mulberry into jam: effects on antioxidant potential and *in vitro* bioaccessibility. *J Sci Food Agric*, 97(10): 3106-3113.
- Trichopoulou, A., Vasilopoulou, E., Georga, K., Soukara, S., Dilis, V. (2006). Traditional foods: why and how to sustain them. *Trends Food Sci Technol*, 17: 498–504.
- Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Özkan, M. (2017). Effects of extraction solvents on polyphenol contents, antioxidant and antibacterial activities of pomegranate parts. *Akademik Gıda*, 15(2): 109-118.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J Agric Food Chem*, 46: 4113-4117.
- Wei, W.L., Zeng, R., Gu, C.M., Qu, Y., Huang, L.F. (2016). *Angelica sinensis* in China-A review of botanical profile, ethnopharmacology, phytochemistry and chemical analysis. *J Ethnopharm*, 190: 116-141.
- You, Y.S. Yoo, H.G., Yoon, J. Park, Lee, Y.H., Oh, K.T., Lee, J., Cho, H.Y., Jun, W. (2010). *In vitro* and *in vivo* hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. *Food Chem Toxicology*, 48: 1632-1637.