

**YEŞİL SARIMSAK (*ALLIUM SATIVUM* L.) YAPRAKLARINDA BULUNAN
FENOLİK VE ANTİOKSİDAN MADDELERİN EKSTRAKSİYON
KOŞULLARININ YÜZEY YANIT YÖNTEMİ İLE OPTİMİZASYONU**

Hatice Aybüke KARAOĞLAN*

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sivas, Türkiye

Geliş/Received: 05.08.2024; Kabul /Accepted: 25.09.2024; Online baskı /Published online: 28.09.2024

Karaoğlan H. A. (2024). Yeşil sarımsak (*Allium sativum* L.) yapraklarında bulunan fenolik ve antioksidan maddelerin ekstraksiyon koşullarının yüzey yanıt yöntemi ile optimizasyonu. GIDA (2024) 49 (5) 920-933 doi: 10.15237/gida.GD24080

Karaoğlan H. A. (2024). Optimization of phenolic and antioxidant compounds extraction conditions in green garlic (*Allium sativum* L.) leaves by surface response methodology. GIDA (2024) 49 (5) 920-933 doi: 10.15237/gida.GD24080

ÖZ

Günümüzde sağlıklı yaşam tarzını benimseyen insan sayısındaki artış doğal biyoaktif bileşiklere ve bu bileşikleri içeren ürünlere olan talebin artmasına neden olmuştur. Bu çalışmada, iyi bir biyoaktif bileşen kaynağı olan yeşil sarımsak yapraklarından (*Allium sativum* L.), en yüksek düzeyde toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan madde (AM) ekstraksiyonu için gerekli optimum koşullar Yüzey Yanıt Yöntemi (YYY) kullanılarak belirlenmiştir. Araştırmada bağımsız değişken olarak; etanol konsantrasyonu (% 60-80), uygulama süresi (15-45 dk.) ve ürün/solvent (Ü/S) oranı (1/50-1/100) belirlenmiştir. Yanıt olarak, TFM ve AM analizleri seçilmiştir. Optimizasyon çalışması sonuçları, yeşil sarımsak yapraklarından en yüksek verimde TFM ve AM ekstraksiyonu sağlamak için optimum parametrelerin; % 69.70 etanol, 15 dk. uygulama süresi ve 1/50 Ü/S oranı olduğunu göstermiştir. Bu koşullar altında, ekstrakte edilen örneklerin deneysel TFM ve AM değerleri sırasıyla 15.18 ± 1.4 mg GAE/g KM ve % 88.16 ± 1.18 olarak bulunmuştur. Deneysel değerlerin YYY ile tahmin edilen değerlerle yakın bir uyum içerisinde olması geliştirilen modellerin uygunluğunu kanıtlamıştır.

Anahtar kelime: *Allium sativum* L., Box Behnken, antioksidan madde, toplam fenolik madde

**OPTIMIZATION OF PHENOLIC AND ANTIOXIDANT COMPOUNDS
EXTRACTION CONDITIONS IN GREEN GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.)
LEAVES BY SURFACE RESPONSE METHODOLOGY**

ABSTRACT

The demand for natural bioactive compounds and products that contain these compounds has increased because of the desire to live healthier. The Response Surface Methodology (RSM) was used to find the optimum parameters for getting the highest level of total phenolic compounds (TPC) and antioxidant compounds (AC) out of green garlic leaves (*Allium sativum* L.). In this study the ethanol concentration (60–80%), application time (15–45 min.), and product/solvent (P/S) ratio (1/50–1/100) were selected as independent variables. As responses, TPC and AC analyses were used. The study found that 69.70% ethanol, 15 min., and 1/50 U/S ratio were the optimum conditions. Under

* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: akaroglan@cumhuriyet.edu.tr

☎: (+90) 346 487 0000

Hatice Aybüke Karaoğlan; ORCID no: 0000-0002-0790-186X

these conditions, the experimental TPC and AC values of the extracted samples were found to be 15.18 ± 1.4 mg GAE/g DM and $88.16 \pm 1.18\%$, respectively. The fact that the experimental values were very close to RSM's expected values demonstrated that the models were suitable.

Keywords: *Allium sativum* L., Box Behnken, antioxidant compounds, total phenolic compounds

GİRİŞ

Son yıllarda, giderek artan sayıda insan doğal ve sağlıklı yaşam tarzı isteğinde olup, diyetinde özellikle doğal biyoaktif bileşikleri içeren bitkisel maddelere yer verme eğilimindedir. Bu bitkisel maddeler güçlü antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, yan etkilerinin olmaması ve ekonomik uygulanabilirliği nedeniyle de araştırmalara konu olmaktadır (Singh vd., 2012).

Sarımsak (*Allium sativum* L.), *Allium* türüne bağlı, sebze, baharat ve tıbbi ot olarak yaygın olarak tüketilen bir bitkidir (Bonaccorsi vd., 2008). Sarımsak, Doğu, Güney ve Güneydoğu Asya, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'da sıklıkla yetiştirilmekte ve birçok alanda kullanılmaktadır (Fратиanni vd., 2016). Ülkemizde yeşil sarımsak üretimi 2023 yılında 47487 ton iken, 2024 yılında 54127 tona ulaşmıştır (Anonymous, 2024). Diyetlerde genellikle kuru veya taze sarımsağın baş veya dişleri yaygın kullanılırken, yeşil sarımsak yaprakları da tüketilmektedir. Yeşil sarımsak, soğan oluşmadan önce erken aşamada hasat edilen, yumuşak yapraklı genç sarımsak olarak tanımlanmakta ve pişirilerek veya taze şekilde salata ve yemeklerde tüketilmektedir (Akan vd., 2019).

Sarımsak kükürt ihtiva eden bileşiklerden (alicin, alliin ve ajoene) oluşan uçucu yağlar, enzimler (alinaz, peroksidaz ve mirasinaz), karbohidratlar (sakkaroz, glikoz), mineraller, aminoasitler, A, B1, B2, Niasin ve C vitamini gibi 200 den fazla kimyasal bileşiğe sahiptir (Ayaz vd., 2007). İçerisinde yer alan organik sülfidler, saponinler, fenolik bileşikler ve polisakkaritler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler nedeniyle sağlık açısından pek çok faydası bulunmaktadır (Lu vd., 2011). Hem fenolik hem de organosülfür bileşikler *Allium* türlerinde antioksidan aktiviteye katkıda bulunan biyoaktif bileşenlerdir. Son yıllarda, çok sayıda çalışma sarımsağın antioksidan, kardiyovasküler koruyucu, antikarsinojen, antiinflamatuvar, immünomodülatör, antidiyabetik, antiobezite ve antibakteriyel özellikler de dahil olmak üzere

birçok biyolojik fonksiyonlarını ortaya koymuştur (Ayaz vd., 2007; Strati vd., 2018). Sarımsak antik çağlardan beri, ateş, bağırsak kurtları, baş ağrıları ve dizanteri gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır (Fратиanni vd., 2016).

Doğal antioksidanlar, gıda takviyeleri ve fonksiyonel gıdalarda insan ve hayvan sağlığı üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilen sentetik antioksidanların yerine tercih edilmektedir (Arruda vd., 2017). Sahip olduğu biyoaktif maddeler nedeniyle sarımsak gıda olarak tüketilmesinin yanı sıra biyoaktif maddelerin ekstrakte edilmesi ile ilaç ve kozmetik endüstrileri gibi birçok farklı endüstri sektöründe de kullanılabilir.

Ekstraksiyon, bitki matrislerinden fenolik bileşiklerin alınması ve saflaştırılmasında kullanılan ilk ve en önemli adımlardan biridir (Arruda vd., 2017). Uygun bir çözücü ile ekstraksiyon işlemi, çok çeşitli bitkisel matrislerden yüksek fenolik içerikli özütler elde etmek için kullanılan en yaygın tekniktir. Bu amaçla kullanılan tek bir yol veya ekstraksiyon koşulu bulunmamaktadır. Biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için genellikle su, metanol, etanol ve aseton kullanılmaktadır. Ekstraksiyon tekniği, sıcaklık, süre, tip ve solvent konsantrasyonu, ürün/solvent (Ü/S) oranı ve ekstraksiyon döngüleri, tek başına ve/veya birarada ekstraksiyon verimliliğini etkileyen faktörler arasındadır (Simić vd., 2016; Chebbi vd., 2024). Çözücünün ve farklı antioksidan bileşiklerin polaritesi, ekstraksiyonun verimliliğini ve elde edilen ekstraktların aktivitesini etkilemektedir (González-Montelongo vd., 2010). Ayrıca kullanılan çözücünün konsantrasyonu da ekstraksiyonu etkilemektedir (Simić vd., 2016; Arruda vd., 2017; Erol vd., 2022). Çözücü konsantrasyonundaki su oranının artırılması, glikozitler gibi polar bileşiklerin matristen çıkarılmasını kolaylaştırırken, tersine, flavonlar ve flavonoller gibi belirli flavonoid grupları, heterosikliklik kombinasyonların karmaşıklığı

nedeniyle genellikle sağlam bileşikler olarak değil, ağlikonlarının formuna göre karakterize edilmektedir (Tsao ve Deng, 2004). Ekstraksiyon çalışmalarında bu faktörlerin bireysel ve/veya birlikte ele alınarak incelenmesinde fayda vardır.

Yanıt yüzeyi yöntemi (YYY), deneysel tasarımıla ilgili olarak elde edilen deneysel verilerin ampirik modellerle ifade edilmesine dayalı, birden fazla bağımsız faktörün ve bu faktörlerin etkileşimlerinin etkilerini değerlendirmek için kullanılan etkili bir istatistiksel tekniktir (Durukan vd., 2024). Bu yöntem, geleneksel optimizasyon yöntemlerine göre daha az sayıda deney gerektirmekte, verileri yorumlamak için istatistiksel bir temel sunmakta, değerkenler arasındaki etkileşimi ortaya koymakta, ayrıca daha az zahmetli ve zaman alıcı olarak tanımlanmaktadır (Kumar vd., 2017; Durukan vd., 2023; Karaoğlan ve Aktas, 2023). Bu sağladığı avantajlar nedeniyle YYY birçok bitki kaynaklı materyalin sahip oldukları fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda başarıyla kullanılmıştır (Singh vd., 2012; Arruda vd., 2017; Zhou vd., 2019; Erol vd., 2022).

Yapılan detaylı araştırmada şimdiye kadar yeşil sarımsak yapraklarından fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu için YYY kullanılarak yapılmış bir optimizasyon çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, fenolik ve antioksidan maddeler açısından iyi bir kaynak olan yeşil sarımsak bitkisinden en yüksek verimde fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için YYY kullanılarak optimum koşullar araştırılmıştır. Çalışmada, bağımsız

değerkenler olarak etanol konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve /S oranı belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada 39.707950, 36.909753 enlem ve boylamında yer alan Serpincik, Sivas (Türkiye) bölgesinde yetişen sarımsak (*Allium sativum* L.)’un yeşil yaprakları kullanılmıştır. Taze şekilde toplanan yapraklar plastik poşetlerde laboratuvara getirilmıştir. Denemeler Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği run Geliştirme ve Araştırma laboratuvarında gerekleştirilmıştir.

Yöntem

Deney Düzeneğinin Kurulması

Çalışmada, yeşil sarımsak yapraklarında yer alan Toplam fenolik madde (TFM) ve Antioksidan madde (AM) ekstraksiyon şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Bağımsız değerken olarak; etanol konsantrasyonu (% 60-100), uygulama süresi (15-45 dk.) ve /S oranı (1/50-1/100) şeklinde belirlenmiştir (izelge 1). Daha önceli yapılan çalışmalarda TFM ve AM ekstraksiyonunda başarılı sonuçlar veren (Simi vd., 2016; Arruda vd., 2017; Erol vd., 2022), ayrıca evre dostu ve ucuz olması nedeniyle ozucu olarak etanol kullanılmıştır (Alide vd., 2020; Chebbi vd., 2024). Deney düzeneği, YYY içerisinde Box-Behnken deney tasarımı (BBD) kullanılarak üç bağımsız değerkenli ve üç seviyeli, merkez noktada 3 tekrar olacak şekilde 30 deney olarak oluşturulmuştur (izelge 2). BBD tasarımında, yanıt olarak; TFM ve AM analizleri seçilmiştir. Tüm analizler üç tekrarlı gerekleştirilmıştir.

Çizelge 1. Box-Behnken deneme tasarımında kullanılan bağımsız değerkenler ve seviyeleri
Table 1. Independent variables and their levels used in the Box-Behnken experimental design

| Bağımsız değerken/ Independent variable | Kodlanmış Seviyeler/ Coded Levels | | |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------|------|-------|
| | -1 | 0 | 1 |
| Etanol konsantrasyonu (%)/ Ethanol Concentration (%) | 60 | 80 | 100 |
| Uygulama süresi (dk.)/ Application time (min.) | 15 | 30 | 45 |
| /S oranı/P/S ratio | 1/50 | 1/75 | 1/100 |

*Kısaltmalar; /S: run/solvent
Abbreviations; P/S: product/solvent

Yeşil sarımsak yapraklarındaki fenolik ve antioksidan maddeler

Çizelge 2. Box-Behnken deney tasarımı
Table 2. Box-Behnken experimental design

| Örnek No/sample number | Bağımsız değişkenler ve seviyeleri/ Independent variables and codes | | |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------|
| | Etanol Konsantrasyonu (%)/ Ethanol Concentration (%) | Uygulama süresi (dk.)/ Application time (min.) | Ü/S oranı/ P/S ratio |
| 1 | 80 | 30 | 75 |
| 2 | 60 | 30 | 100 |
| 3 | 60 | 30 | 100 |
| 4 | 100 | 30 | 100 |
| 5 | 60 | 15 | 75 |
| 6 | 80 | 15 | 100 |
| 7 | 60 | 45 | 75 |
| 8 | 80 | 30 | 75 |
| 9 | 100 | 45 | 75 |
| 10 | 80 | 15 | 50 |
| 11 | 60 | 15 | 75 |
| 12 | 80 | 45 | 100 |
| 13 | 100 | 15 | 75 |
| 14 | 100 | 30 | 50 |
| 15 | 80 | 30 | 75 |
| 16 | 100 | 30 | 50 |
| 17 | 80 | 45 | 50 |
| 18 | 60 | 30 | 50 |
| 19 | 80 | 45 | 50 |
| 20 | 100 | 30 | 100 |
| 21 | 80 | 30 | 75 |
| 22 | 60 | 45 | 75 |
| 23 | 80 | 45 | 100 |
| 24 | 100 | 15 | 75 |
| 25 | 80 | 15 | 50 |
| 26 | 80 | 30 | 75 |
| 27 | 80 | 30 | 75 |
| 28 | 60 | 30 | 50 |
| 29 | 100 | 45 | 75 |
| 30 | 80 | 15 | 100 |

*Kısaltmalar; Ü/S: ürün/solvent
Abbreviations; P/S: product/solvent

Örneklerin Hazırlanması

Sarımsak örneklerinin yeşil yaprakları koparılmış ve yıkama işlemi yapılmıştır. Küçük parçalar halinde kesilen yeşil sarımsak yaprakları, 50°C'ya ayarlanan etüvde (Memmert, Almanya) nem değeri yaklaşık % 9'a (Shimadzu, MOC63u) düşüncüye kadar bekletilmiştir. Kurutulmuş örnekler kahve öğütücünde (Sinbo, SCM-2914, Çin) geçirildikten sonra gözenek aralığı 300 µm ve 150 µm olan eleklerden (RETSCH, S200 basic, Hann, Almanya) sırasıyla geçirilmiş ve elek altında kalan kısım analizlerde kullanılmıştır. Analizlerin gerçekleştirileceği zamana kadar örnekler plastik poşetlerde +4°C'de saklanmıştır.

Örneklerin Ekstraksiyonu

Her bir örnek Çizelge 2'de belirtilen etanol konsantrasyonu ve Ü/S (w/v) oranında Falcon tüpü içerisinde hazırlanmış ve aynı çizelgede belirtilen ekstraksiyon süresi boyunca mekanik çalkalayıcıda (Memmert WNB 22) bekletilmiştir. Ekstraksiyon süresinin tamamlanmasından sonra, süspansiyon Whatman No.1 filtre kağıdından süzülüş ve ekstraktlar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Analizi

TFM tayini (Cemeroğlu, 2010)'un önerdiği yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

Analizde 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu ayracı ve %20'lik doymuş Na₂CO₃ çözeltisi kullanılmıştır. Doymuş Na₂CO₃ çözeltisi hazırlanırken; az miktarda saf su içerisinde çözündürülen Na₂CO₃ 10 dakika Bunsen alevinde kaynatıldıktan sonra bir gece buzdolabında bekletilip süzölmüş, ardından süzöntü planlanan hacime kadar seyreltilmiştir.

Örneklerin TFM hesaplamalarında standart gallik asit eğrisi kullanılmıştır. Standart eğri hazırlamak amacıyla 500 µg/mL gallik asit stok çözeltisi hazırlanmış, bu stok çözeltiden farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 200, 300, 400 µg/mL) hazırlanarak spektrofotometrede (Optima, SP-3000 Plus, Japonya) absorbans değerleri ölçölmüştür. Kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisinin denklemi $Y=0.0116x$ olup R² değeri 0.99'dur. Örneklere ait TFM değerleri mg gallik asit eşdeğeri gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde (KM) olarak ifade edilmiştir.

Analiz sırasında tüplerin içerisine sırasıyla 2400 µL saf su, 40 µL örnek ve 200 µL Folin-Ciocalteu ayracı eklenmiş, ardından tüpler karıştırılmıştır. Tüpler, 15 dk. süreyle karanlık bir ortamda bekletildikten sonra üzerine sırasıyla 600 µL doymuş Na₂CO₃ çözeltisi ve 760 µL saf su eklenip tekrar karıştırılmıştır. Örnekler, 30 dk. karanlık bir ortamda bekletilmesinin ardından spektrofotometrede (Optima, SP-3000 Plus, Japonya) 765 nm'de absorbansları ölçölmüştür.

Antioksidan Madde Analizi

Ekstraktların antioksidan miktarları, Türkmen vd. (2005) tarafından önerilen 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemine göre belirlenmiştir. Ekstraktlardan 50 µL alınarak üzerine 1950 µL metanolde hazırlanmış 6x10⁻⁵ M DPPH radikali eklenmiştir. Vorteks yardımıyla karıştırıcıdan geçirildikten sonra, karışım oda sıcaklığında 60 dk. süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Sürenin bitiminde spektrofotometrede (Optima, SP-3000 Plus, Japonya) 517 nm'de metanole karşı absorbans değerleri belirlenmiştir. Örneklere ait AM değerleri, aşağıdaki eşitlikten faydalanılarak hesaplanmıştır. Kontrol olarak saf su kullanılmıştır.

$$AM (\%) = \frac{abs_{kontrol} - abs_{örnek}}{abs_{kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

Optimizasyon ve Validasyon

Örneklerin TFM ve AM analizleri gerçekleştirildikten sonra optimizasyon çalışmasına geçilmiştir. YYY içerisinde örneklerin hem TFM hem de AM değerleri en yüksek elde edilen, optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Ayrıca bu koşullar ampirik ikinci dereceden polinom regresyon modeline uyarlanmıştır:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

Burada Y; yanıt (TFM ve AM), β_0 , β_i , β_{ii} ve β_{ij} sırasıyla intercept, doğrusal, ikinci dereceden ve interaksiyon terimleri için regresyon katsayılarıdır. X_i ve X_j bağımsız değişkenleri temsil etmektedir. Validasyon işlemi için belirlenen optimum koşullarda ekstraksiyon işlemi tekrar edilmiş ve bu örneklere ait TFM ve AM analizleri tekrar gerçekleştirilmiştir. Ardından optimizasyon ile tahmin edilen verilerle, deneysel verilerin birbirine yakınlığı belirlenmiştir.

İstatistik Analizi

Çalışma planı Minitab 20.0 (State College, PA) programı kullanılarak YYY içerisindeki BBD ile oluşturulmuştur. Farklı ekstraksiyon parametrelerinin örneklerin TFM ve AM üzerine etkisi, varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir.

Modelin yeterliliği, belirlilik katsayısı (R²) ve düzeltilmiş belirlilik katsayısı (adj-R²) terimleri ile ifade edilirken, regresyon katsayısının anlamlılığını kontrol etmek için F ve P değerleri kullanılmıştır. Son olarak, kurulan modelin yeterliliğini belirlemek amacıyla deneysel ve tahmin edilen değerler karşılaştırılmıştır. Model ile tahmin edilen değerler ve deneysel değerler arasında istatistikteki önemli bir farklılık olup olmadığı MINITAB 20.0 (State Collge, PA)'de % 95 güven aralığında iki örnek t testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma kapsamında farklı bağımsız değişkenlerin (etanol konsantrasyonu, uygulama süresi, Ü/S oranı) yeşil sarımsak yaprakları TFM ve AM üzerine etkisi YYY ile incelenmiştir. İncelenen koşullar ve elde edilen veriler YYY içerisinde analiz edilerek her bir yanıt için uygun fonksiyonlar belirlenmiştir.

Örneklerin Toplam Fenolik Madde Değerleri

Farklı ekstraksiyon koşullarında tutulan örneklerin TFM içerikleri Çizelge 3’de verildiği gibi 1.37 mg GAE/g KM ile 16.39 mg GAE/g KM arasında değişmektedir. Optimizasyon çalışmalarında bağımsız değişkenlerin seviyeleri geniş bir aralıkta belirlendiği için yanıtların değerleri de geniş bir aralıkta çıkabilmektedir. Düşük TFM değerleri ekstraksiyon koşullarının uygun olmadığını gösterirken, tam tersi yüksek TFM değerleri ekstraksiyon koşullarının uygunluğunu göstermektedir. Dolayısıyla çalışmada elde edilen yüksek TFM değerlerini diğer çalışmalar ile kıyasladığımızda; değerlerin farklı bölgelerden tedarik edilen sarımsaklarda

15.61-16.39 mg GAE/g KM değerlerini kaydeden Lu vd., (2011) ile benzerlik göstermektedir. Çalışmada belirlenen TFM değerleri yüksek değerler olup, yeşil sarımsak yaprakların iyi bir fenolik kaynak olduğunu, dolayısıyla gıda takviyeleri ve ilaçlar için iyi biyoaktif bileşen kaynağı olabileceğini göstermektedir. Polifenollerin oksidatif strese karşı hücre zarları, hücresel bileşenleri ve nükleik asitleri korurken, aynı zamanda kanser hücrelerinin çoğalmasını engellediği de bilinmektedir (Fratianni vd., 2016). Bununla birlikte, bitki kaynaklı fenolikler ayrıca antikarsinogen ve apoptozis indükleyici özellikleri için önemli bir mekanizma olabilecek pro-oksidan etki gösterebilir (Szychowski vd., 2018).

Çizelge 3. Yeşil sarımsak yaprağı örneklerinin ekstraksiyon sonucu elde edilen TFM ve AM değerleri

Table 3. TFC and AC values obtained as a result of extraction of green garlic leaf samples

| Örnek kodu/ sample number | Etanol kons./ Ethanol Concentration (%) | Uygulama süresi (dk.)/ Application time (min.) | Ü/S oranı/ P/S ratio | TFM (mg GAE/g KM)/ TPC mg GAE/g DM | AM/AC (%) |
|------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------|--------------|
| 1 | 80 | 30 | 75 | 13.74 | 77.88 |
| 2 | 60 | 30 | 50 | 12.80 | 67.45 |
| 3 | 80 | 45 | 50 | 13.11 | 77.41 |
| 4 | 80 | 45 | 50 | 11.98 | 75.55 |
| 5 | 100 | 45 | 75 | 3.82 | 46.11 |
| 6 | 60 | 45 | 75 | 14.19 | 80.69 |
| 7 | 100 | 30 | 50 | 1.43 | 39.10 |
| 8 | 60 | 30 | 50 | 14.54 | 81.00 |
| 9 | 80 | 15 | 50 | 14.34 | 84.42 |
| 10 | 60 | 15 | 75 | 12.06 | 77.88 |
| 11 | 100 | 45 | 75 | 4.88 | 50.16 |
| 12 | 80 | 30 | 75 | 13.13 | 77.73 |
| 13 | 100 | 30 | 100 | 4.06 | 49.84 |
| 14 | 80 | 30 | 75 | 13.74 | 78.04 |
| 15 | 100 | 15 | 75 | 1.37 | 38.94 |
| 16 | 80 | 30 | 75 | 13.89 | 78.97 |
| 17 | 80 | 15 | 100 | 13.79 | 78.04 |
| 18 | 80 | 15 | 100 | 12.17 | 77.88 |
| 19 | 60 | 15 | 75 | 13.43 | 77.10 |
| 20 | 100 | 30 | 50 | 2.77 | 40.03 |
| 21 | 80 | 45 | 100 | 15.18 | 88.94 |
| 22 | 100 | 15 | 75 | 1.68 | 38.79 |
| 23 | 60 | 30 | 100 | 14.07 | 84.58 |
| 24 | 80 | 30 | 75 | 14.35 | 85.83 |
| 25 | 100 | 30 | 100 | 4.46 | 50.16 |
| 26 | 80 | 45 | 100 | 15.42 | 88.16 |
| 27 | 80 | 30 | 75 | 14.50 | 86.14 |
| 28 | 60 | 45 | 75 | 12.82 | 77.73 |
| 29 | 60 | 30 | 100 | 14.20 | 84.27 |
| 30 | 80 | 15 | 50 | 16.39 | 89.10 |

*Kısaltmalar; TFM; toplam fenolik madde, AM; antioksidan madde, Ü/S: ürün/solvent
Abbreviations; TPC; total phenolic content, AC; antioxidant compounds, P/S: product/solvent

Çizelge 4'te verilen sonuçlar, çok düşük P değeri ($P < 0.001$) ve yüksek F değeri (97.43) oluşturulan modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Çizelge 4'ten anlaşıldığı gibi, TFM verimi üzerinde en büyük etkiye sahip olan faktör etanol konsantrasyonudur. Ayrıca, ikinci

dereceden terimlerden etanol konsantrasyonu*etanol konsantrasyonu ve ikili interaksyondan uygulama süresi*Ü/S oranının ilişkisi de örneklerin TFM değerleri üzerine önemlidir ($P < 0.001$) (Çizelge 3).

Çizelge 4. Yeşil sarımsak yaprağı örneklerinin TFM değerlerine ait ANOVA ve regresyon model özetleri

Table 4. ANOVA and regression model summaries of TPC values of green garlic leaf samples

| Kaynak/ Sources | Serbestlik derecesi / Degree of freedom | Kareler toplamı/ Sum of squares | Kareler ortalaması/ Mean of squares | F değeri/ F value | P değeri/P value |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------|------------------|
| Model /Model | 9 | 701.821 | 77.980 | 97.43 | 0.000 |
| Doğrusal/ Linear | 3 | 441.922 | 147.307 | 184.05 | 0.000 |
| Etanol konsantrasyonu/ Ethanol concentration (X_1) | 1 | 437.301 | 437.301 | 546.39 | 0.000 |
| Süre (dk.)/ Time (min.) (X_2) | 1 | 2.236 | 2.236 | 2.98 | 0.100 |
| Ü/S oranı/ P/S ratio (X_3) | 1 | 2.236 | 2.236 | 2.79 | 0.110 |
| İkinci dereceden/ Quadratic | 3 | 243.145 | 81.048 | 101.27 | 0.000 |
| $X_1 X_1$ | 1 | 238.410 | 238.410 | 297.88 | 0.000 |
| $X_2 X_2$ | 1 | 0.227 | 0.227 | 0.28 | 0.600 |
| $X_3 X_3$ | 1 | 0.823 | 0.823 | 1.03 | 0.323 |
| İkili interaksiyon/ Binary interaction | 3 | 16.754 | 5.585 | 6.98 | 0.002 |
| $X_1 \times X_2$ | 1 | 2.123 | 2.123 | 2.65 | 0.119 |
| $X_1 \times X_3$ | 1 | 1.446 | 1.446 | 1.81 | 0.194 |
| $X_2 \times X_3$ | 1 | 13.185 | 13.185 | 16.47 | 0.001 |
| Hata/Error | 20 | 16.007 | 0.800 | | |
| /Lack of Fit | 3 | 5.722 | | | |
| Saf hata/ Pure error | 17 | 10.285 | | | |
| Toplam/ Total | 29 | 717.828 | | | |
| $R_2 = \% 97.77$ | R_2 (adj) = % 96.77 | CV = % 0.365 | | | |

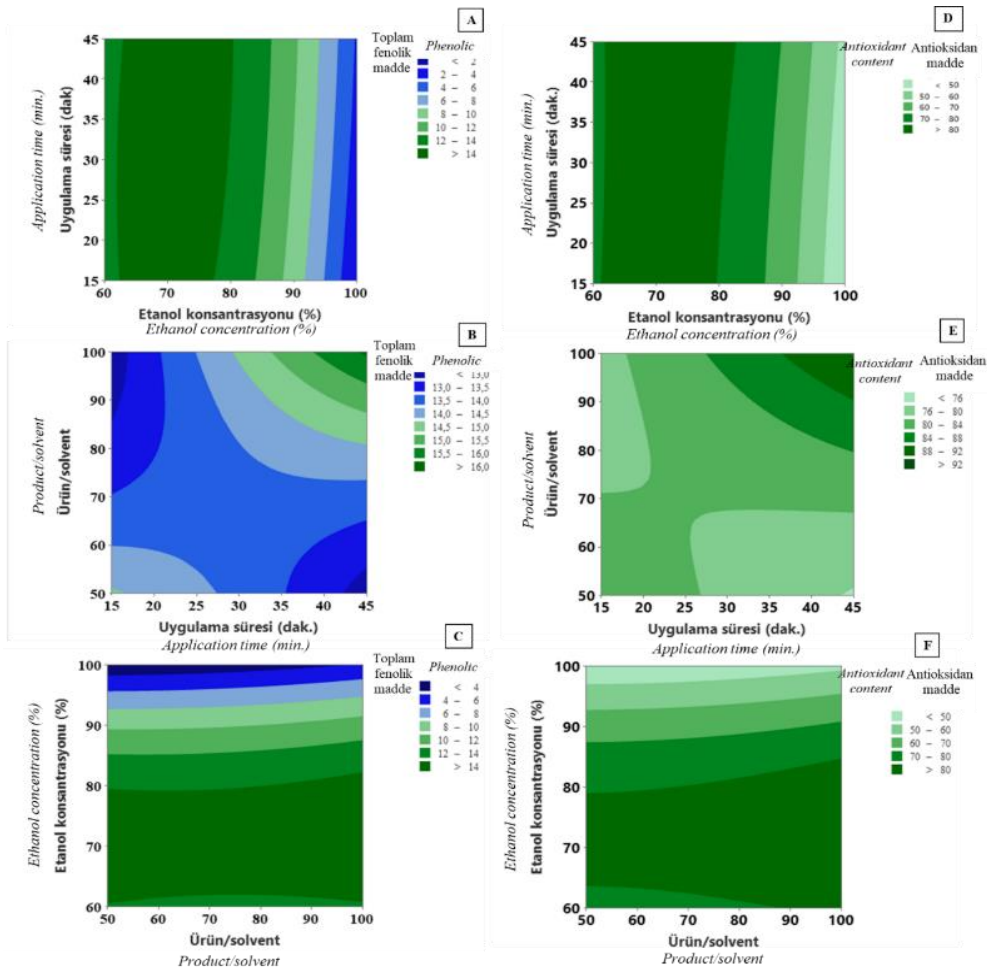
*Kısaltmalar; TFM; toplam fenolik madde, Ü/S: ürün/solvent
Abbreviations; TPC; total phenolic content, P/S: product/solvent

Modele ait R^2 değeri % 100'e yaklaştıkça, modelin yanıtları tahmin etmedeki başarısı da artar. Modele eklenen gereksiz terimler modelin R^2 değerinde gereksiz artışa neden olduğu için, bu terimlerin çıkarılması ile elde edilen adj- R^2 değerinin de kullanılması önerilmektedir (Montgomery, 2017). TFM için belirlenen R^2 değerinin % 97.77 ve adj- R^2 değerinin % 96.77 olarak belirlenmiş olması, modelin TFM verimindeki varyasyonun % 96.77'sini açıklayabildiğini gösterirken, varyasyon katsayısının düşük değeri (CV = % 0.365)

deneysel değerlerin güvenilirliğinin yüksek derecede olduğunu işaret etmektedir (Çizelge 4). CV değerinin % 10'dan düşük olmasının, modelin makul şekilde tekrarlanabilir olduğunu gösterdiği yaygın olarak kabul edilmektedir (Karabegović vd., 2013; Simić vd., 2016). Yani, yeşil sarımsak TFM ekstraksiyon koşullarının bu model ile iyi bir şekilde tanımlanabileceğini söyleyebiliriz. Uyum eksikliği değerleri Çizelge 4'te verildiği gibi istatistiki olarak anlamlı değildir ($P > 0.05$), bu da modelin geçerliliğini doğrulamaktadır.

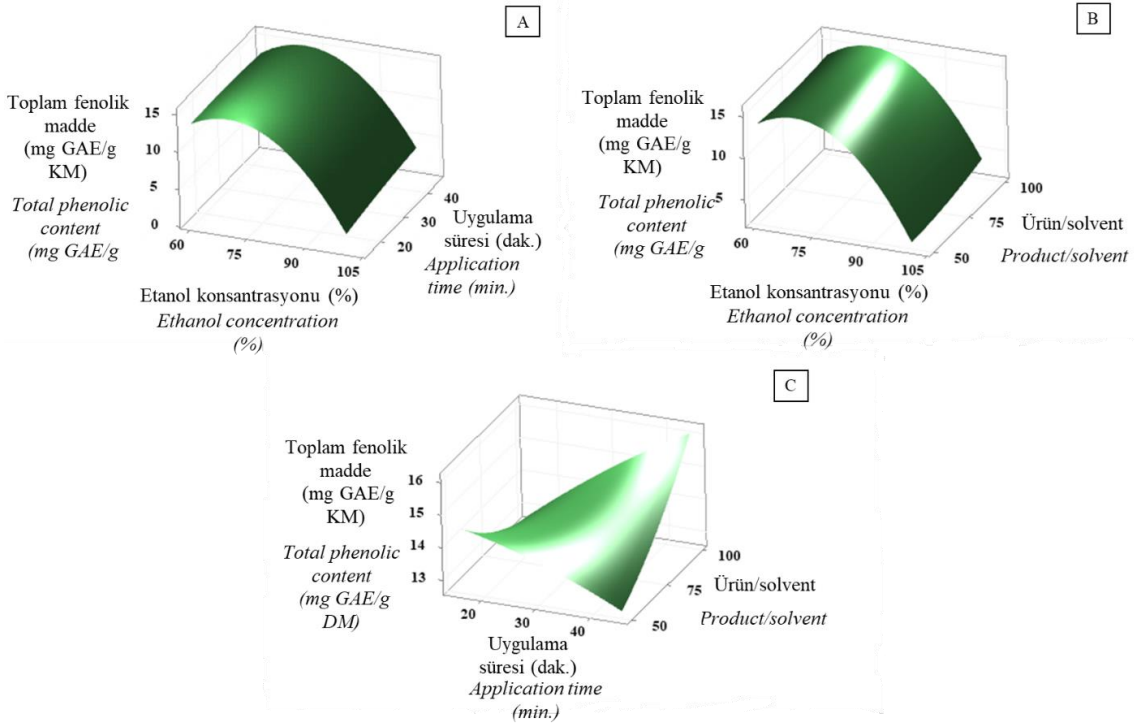
Kontur çizimleri ve 3D yüzey yanıt yöntemi grafikleri ile yanıtlar üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi incelenmiş, Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Uygulama süresi ve Ü/S oranına bağlı olmaksızın etanol konsantrasyonunun % 60-80 arasında olması örneklerin ekstrakte edilen TFM miktarının en yüksek değerde olmasına ve etanol konsantrasyonunda artış olursa örneklerin ekstrakte edilen TFM değerlerinin düşmesine neden olmaktadır. Uygulama süresi yaklaşık 35 dk. ve üzerine, Ü/S oranı 1/80 ve üzerine çıktığında örneklerin ekstrakte edilen TFM miktarları artmaktadır. Benzer şekilde Alide vd. (2020)

25°C'de yapılan fenolik maddelerin ekstraksiyon işleminde ekstraksiyon süresinin önemsiz olduğunu bildirmiştir. Farklı bitkilerden TFM ekstraksiyonu amacıyla en yüksek verim için gerekli olan etanol konsantrasyon aralığı, yapılan diğer çalışmalardan taze çay yaprakları için % 84.6 (Chebbi vd., 2024), kurkumin için % 40-80 (Jayaprakasha vd., 2002), endemik bir bitki olan *Tabernaemontana beyneana* yaprakları için % 75 (Sathishkumar, et al. 2008) ve yeşil limon kabukları için % 52.9 (Chan vd., 2009) olarak belirlenmiş olan çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.



* Her çizimde eksik olan bağımsız değişkenin değeri merkez noktasında tutulmuştur.
In each plot, the value of the missing independent variable was kept at the center point.

Şekil 1. Bağımsız değişkenlerin (etanol konsantrasyonu, uygulama süresi ve ürün/solvent oranı) yeşil sarımsak yapraklarından ekstrakte edilen TFM ve AM üzerine etkisinin kontur çizimleri ile gösterimi
Figure 1. Contour plots of the effects of independent variables (ethanol concentration, application time, and P/S ratio) on TPC and AC extracted from green garlic leaves.



* Her çizimde eksik olan bağımsız değişkenin değeri merkez noktasında tutulmuştur.
In each plot, the value of the missing independent variable was kept at the center point.

Şekil 2. Bağımsız değişkenlerin (etanol konsantrasyonu, uygulama süresi ve Ü/S oranı) yeşil sarımsak yapraklarından ekstrakte edilen TFM üzerine etkisinin 3D grafik ile gösterimi

Figure 2. 3D graphic of the effect of independent variables (ethanol concentration, application time, and P/S ratio) on TPC extracted from green garlic leaves.

Örneklerin Antioksidan Madde Değerleri

Kao vd. (2023) birçok bitkinin TFM ve AM değerleri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmiştir ($P < 0.05$). Her ne kadar, TFM analizinde kullanılan Folin Ciocalteu yöntemi kısmen antioksidan madde bileşenlerinin miktarı hakkında bilgi verse de, tamamen yeterli olmamaktadır (Lu vd., 2011). Fenolik bileşenlerin yanı sıra proteinler ve peptitler de önemli bir antioksidan aktiviteye de sahip olabilirler (Szychowski vd., 2018). Çalışma kapsamında kullanılan örneklerin AM değerleri % 38.79-89.10 arasında değişmektedir (Çizelge 3). Diğer çalışmalar ile kıyaslandığında; farklı sarımsak çeşitlerinde % 46.3-75.9 AM belirleyen (Szychowski vd., 2018) ve yeşil sarımsak yapraklarında % 63.78 AM (Koca, 2016) belirleyen çalışmalarla benzerlik göstermekte, % 20.05-23.27 arasında AM belirleyen (Fratiani vd.,

2016) çalışmanın sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Farklı örnekler için farklı AM değerleri genetik kaynak, ekolojik faktörler ve depolama koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir (Akan vd., 2019).

ANOVA sonuçları, modelin istatistiksel anlamlılık sergilediğini göstermektedir ($P < 0.001$) (Çizelge 5). Sonuçlara göre, çok düşük bir P değeri ($P < 0.001$) ve yüksek F değeri (60.56) modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. P ve F değerlerine göre, AM verimi üzerinde en büyük etkiye sahip olan faktör etanol konsantrasyonu, daha sonra da Ü/S oranıdır. Ayrıca, ikinci dereceden etanol konsantrasyonu*etanol konsantrasyonu ve ikili etkileşimden de uygulama süresi ve Ü/S'in ilişkisi de örneklerin AM değerleri üzerine önemlidir ($P < 0.001$).

Yeşil sarımsak yapraklarındaki fenolik ve antioksidan maddeler

Çizelge 5. Yeşil sarımsak yaprağı örneklerinin AM değerlerine ait ANOVA ve regresyon model özetleri
Table 5. ANOVA and regression model summaries of AC values of green garlic leaf samples.

| Kaynak/ <i>Sources</i> | Serbestlik derecesi / <i>Degree of freedom</i> | Kareler toplamı/ <i>Sum of squares</i> | Kareler ortalaması/ <i>Mean of squares</i> | F değeri/ <i>F value</i> | P değeri/ <i>P value</i> |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Model | 9 | 8307.75 | 923.08 | 60.56 | 0.000 |
| Model / <i>Model</i> | 3 | 4990.12 | 1663.37 | 109.12 | 0.000 |
| Doğrusal/ <i>Linear</i> | 1 | 4815.32 | 4815.32 | 315.89 | 0.000 |
| Etanol konsantrasyonu/ <i>Ethanol concentration (X₁)</i> | 1 | 31.88 | 31.88 | 2.09 | 0.164 |
| Süre (dk.)/ <i>Time (min.)</i> (X ₂) | 1 | 142.92 | 142.92 | 9.38 | 0.006 |
| Ü/S oranı/ <i>P/S ratio</i> (X ₃) | 3 | 3071.23 | 1023.74 | 67.16 | 0.000 |
| İkinci dereceden/ <i>Quadratic</i> | 1 | 2987.30 | 2987.30 | 195.97 | 0.000 |
| X ₁ X ₁ | 1 | 0.55 | 0.55 | 0.04 | 0.851 |
| X ₂ X ₂ | 1 | 14.51 | 14.51 | 0.95 | 0.341 |
| X ₃ X ₃ | 3 | 246.39 | 82.13 | 5.39 | 0.007 |
| İkili interaksiyon/ <i>Binary interaction</i> | 1 | 28.54 | 28.54 | 1.87 | 0.186 |
| X ₁ x X ₂ | 1 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.967 |
| X ₁ x X ₃ | 1 | 217.83 | 217.83 | 14.29 | 0.001 |
| X ₂ x X ₃ | 20 | 304.87 | 15.24 | | |
| Hata/ <i>Error</i> | 3 | 103.97 | 34.66 | 2.93 | 0.063 |
| /Lack of Fit | 17 | 200.90 | 11.82 | | |
| Saf hata/ <i>Pure error</i> | 29 | 8612.61 | | | |
| Toplam/ <i>Total</i> | R ₂ (adj)= % 94.87 | CV= % 1.59 | | | |

*Kısaltmalar; AM; antioksidan madde, Ü/S: ürün/solvent
Abbreviations; AC; antioxidant compounds, P/S: product/solvent

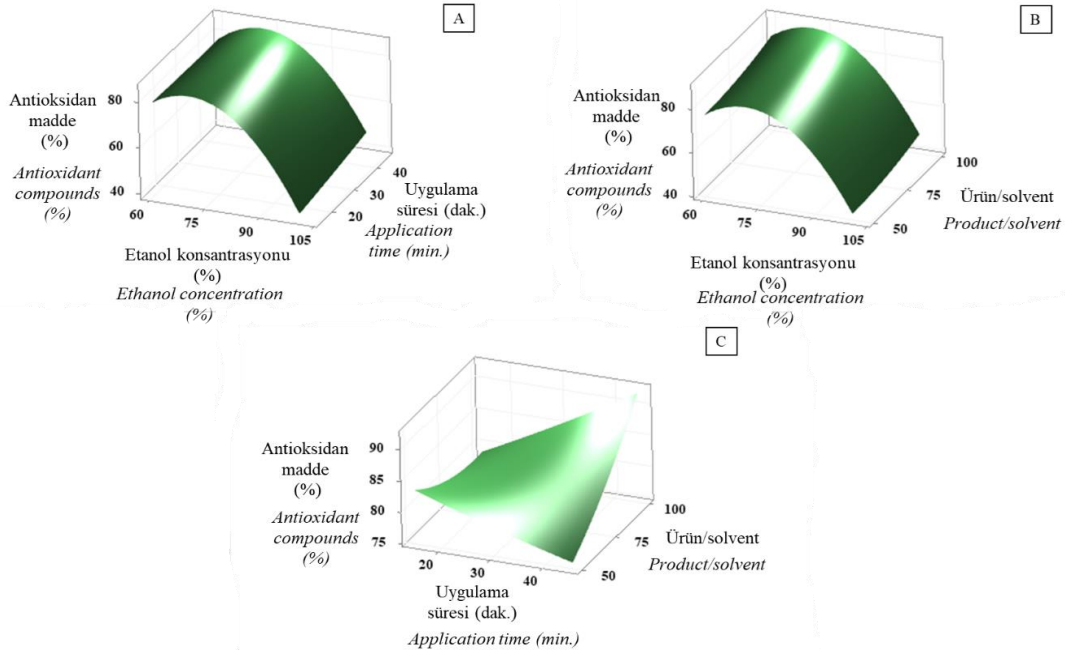
Örneklerin AM için belirlenen R² değeri % 96.46 ve adj-R² değeri % 94.87'dir (Çizelge 5). Kurulan bu modelin AM verimindeki varyasyonun % 94.87'sini açıklayabildiğini, varyasyon katsayısının düşük değeri (CV = % 1.59) yeşil sarımsak AM ekstraksiyon koşullarının bu model ile iyi bir şekilde tanımlanabileceğini öne sürmektedir. Modele ilişkin uyum eksikliği değeri istatistiki olarak önemsizdir, bu da modelin kullanılabilirliğini kanıtlamaktadır (Çizelge 5).

Örneklere ait AM değerleri üzerine bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler kontur çizimleri ve 3D yüzey yanıt yöntemi grafikleri ile Şekil 1 ve Şekil 3'te verilmiştir. TFM içeriklerinde elde edilen sonuçlara benzer olarak, örneklere % 60-80 arasında etanol uygulanmasının ekstrakte edilen AM miktarının en yüksek değerde olmasına neden olduğu ve uygulanan etanol konsantrasyonunda artışa bağlı olarak örneklerin ekstrakte edilen AM

değerlerinin düştüğü belirlenmiştir. Benzer eğilim, farklı etanol konsantrasyonlarının farklı bitki materyallerin AM değeri üzeri etkisini inceleyen çalışmalarda da belirlenmiştir (Lee vd., 2016; Zhou vd., 2019; Chebbi vd., 2024). Ayrıca, elde edilen sonuçlar farklı bitki ekstraktlarında yapılan çalışmalarda en iyi ekstraksiyonun sağlandığı etanol konsantrasyonlarını, yasemin çiçeğinde (Sathishkumar vd., 2013) ve kahverengi soya fasulyesinde (Lee vd., 2016) % 75, kırmızı kılıç fasulyesinin tohum kabuğunda % 60 (Zhou vd., 2019) belirleyen çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Çözücünün ve farklı antioksidan bileşiklerin polaritesi, ekstraksiyonun verimliliğini ve elde edilen ekstraktların aktivitesini etkilemektedir (González-Montelongo vd., 2010). Farklı etanol konsantrasyonlarının çözücünün fiziksel özelliklerini etkilediği, bu nedenle biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon veriminin çözücü konsantrasyonuna bağlı olduğu

bildirilmiştir (Lee vd., 2016). Su, güçlü bir polar çözücü iken, etanol daha düşük polariteye sahiptir, ancak her ikisi de herhangi bir oranda karışabildiği için herhangi bir tek çözücü sisteminden daha etkili fenolik bileşikler çıkarma kombinasyonları oluşturulabileceği belirtilmektedir (Arruda vd., 2017). Ayrıca, polar olmayan kovalent moleküller, su molekülleri

arasındaki etkileşimi bozmak için gereken enerji nedeniyle düşük konsantrasyonlu etanol çözücüsünde daha az çözünebilir (Lee vd., 2016). Uygulama süresi yaklaşık 30 dk. ve üzerine, Ü/S oranının % 80 ve üzerine çıktığında örneklerin ekstrakte edilen AM miktarları en yüksek seviyelerde tespit edilmektedir.



* Her çizimde eksik olan bağımsız değişkenin değeri merkez noktasında tutulmuştur.
In each plot, the value of the missing independent variable was kept at the center point.

Şekil 3 Bağımsız değişkenlerin (etanol konsantrasyonu, uygulama süresi ve Ü/S oranı) yeşil sarımsak yapraklarından ekstrakte edilen AM üzerine etkisinin 3D grafik ile gösterimi

Figure 3. 3D graphic of the effect of independent variables (ethanol concentration, application time, and P/S ratio) on AC extracted from green garlic leaves.

Yeşil sarımsak TFM ve AM verimi ile ekstraksiyon koşulları arasındaki ampirik ilişki kodlanmış değerler cinsinden ikinci dereceden polinom modelleri ile oluşturulmuş ve aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{TFM} = & 13.890 - 5.228 X_1 + 0.386 X_2 + 0.374 X_3 \\ & - 5.682 X_1 * X_1 - 0.175 X_2 * X_2 + 0.334 X_3 * X_3 \\ & + 0.515 X_1 * X_2 + 0.425 X_1 * X_3 + 1.284 X_2 * X_3 \end{aligned} \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \% \text{ AM} = & 80.76 - 17.348 X_1 + 1.412 X_2 + 2.989 X_3 \\ & - 20.11 X_1 * X_1 + 0.27 X_2 * X_2 + 1.40 X_3 * X_3 \\ & + 1.89 X_1 * X_2 + 0.06 X_1 * X_3 + 5.22 X_2 * X_3 \end{aligned} \quad (4)$$

Optimizasyon ve Validasyon

YYY ile yapılan optimizasyon çalışmasına göre yeşil sarımsakta hem TFM ve hem AM değerleri en yüksek tespit edilen optimum ekstraksiyon koşulları; % 69.70 etanol, 15 dk. uygulama süresi ve Ü/S oranı 1/50 olarak belirlenmiştir. Bu optimize edilmiş parametrelere dayanarak, TFM değeri 16.242 mg GAE/g KM, AM % 87.86 olarak tahmin edilmiştir. YYY'nin bu modeli tanımlamak için geçerliliğini değerlendirmek amacıyla, optimum koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonunda ekstraktın TFM ve AM değerleri tekrar belirlenmiştir. Validasyon

amacıyla yapılan çalışma sonucunda örneklerin TFM ve AM değerleri sırasıyla tahmin edilen aralıkta olan 15.18 ± 1.4 ve $\% 88.16 \pm 1.18$ mg GAE/g KM olarak belirlenmiştir. Model ile tahmin edilen değerler ve deneysel değerler t testi ile karşılaştırıldığında önemli farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$). Böylece modelin güvenilir ve yeşil sarımsak TFM ve AM ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için kullanılabilir olduğu kanıtlanmıştır.

SONUÇ

Sahip olduğu biyoaktif maddeler nedeniyle sağlık üzerine birçok olumlu özelliği olan sarımsak birçok hastalığın tedavisinde de önerilmektedir.

Bu çalışmada, yeşil sarımsağın TFM ve AM ekstraksiyon koşulları araştırılmış ve optimize edilmiştir. YYY'den elde edilen sonuçlar, ekstraksiyon işlemi üzerine esas olarak etanol konsantrasyonunun etkili olduğunu göstermiştir. $\% 60-80$ aralığında uygulanan etanolün örneklerin TFM ve AM ekstraksiyonunu artırdığı, daha yüksek konsantrasyonda etanolün verimi düşürdüğü belirlenmiştir. Yapılan optimizasyon sonucunda; optimum koşullar $\% 69.70$ etanol, 15 dk. uygulama süresi ve Ü/S oranı 1/50 olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında, ekstraktın TFM ve AM değerleri sırasıyla 15.18 ± 1.4 mg GAE/g KM ve $\% 88.16 \pm 1.18$ olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma sonuçlarının, yeşil sarımsak veya diğer bitki kaynaklı fenolik ve antioksidan maddelerin en yüksek verimde ekstra edilmesi üzerine yapılan optimizasyon çalışmalarına yol göstermesi ve bitkisel ekstraktların farklı gıdalarda veya ilaçlarda uygulanmasının araştırılmasına öncü olması beklenilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın hiçbir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

Akan, S., Horzum, O., Tuna Güneş, N. (2019). "The effect of modified atmosphere packaging on keeping quality in green garlic (*Allium sativum* L.) leaves." *Mustafa Kemal University Journal of*

Agricultural Sciences/Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 24.3.

Alide, T., Wangila, P., Kipro, A. (2020). Effect of cooking temperature and time on total phenolic content, total flavonoid content and total in vitro antioxidant activity of garlic. *BMC Research Notes*, 13(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-05404-8>

Anonymous (2024) TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-1.Tahmini-2024-53449>. (Erişim tarihi: 01.08.2024)

Arruda, H. S., Pereira, G. A., Pastore, G. M. (2017). Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolics from *Annona crassiflora* Mart. (*Araticum*) Fruits Using Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 10(1), 100–110. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0554-y>

Ayaz, E., Can, H. (2007). Sarımsak (*Allium sativum*) ve Geleneksel Tedavide Kullanımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 31(2), 145–149.

Bonaccorsi, P., Caristi, C., Gargiulli, C., Leuzzi, U. (2008). Flavonol glucosides in *Allium* species: A comparative study by means of HPLC-DAD-ESI-MS-MS. *Food Chemistry*, 107(4), 1668–1673. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.053>

Cemeroğlu, B. (2010). General methods in food analysis. *Food analysis*. Food Technology Association.

Chan, S. W., Lee, C. Y., Yap, C. F., Wan Aida, W. M., Ho, C. W. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal*, 16(2), 203–213.

Chebbi, H., Turkmen Erol, N., Incedayi, B., Sari, F. (2024). Bioactive compounds of fresh tea shoots plucked in different seasons: optimization of extraction of polyphenols. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 4192–4203. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-02486-x>

Durukan, G., Sari, F., Karaoglan, H. A. (2023). Microbial Evaluation of Fermented Beetroot Juice Produced by Probiotic *Lactocaseibacillus paracasei*. 4(1), 1–9. *Journal of Raw*

- Materials to Processed Foods, 4(1), 1-9.
- Durukan, G., Sari, F., Karaoğlan, H. A. (2024). A beetroot-based beverage produced by adding *Lactocaseibacillus paracasei*: an optimization study. *Quality Assurance of Crop and Foods*, 16(3), 10–24. <https://doi.org/10.15586/qas.v16i3.1499>
- Erol, N. T., Incedayi, B., Sari, F., Copur, O. U. (2022). Valorization of agricultural by-product: Optimization of alcohol-based extraction of polyphenols from chestnut peel using Box-Behnken Design. *International Food Research Journal*, 29(1), 86–97. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.1.10>
- Fратиани, F., Ombra, M. N., Cozzolino, A., Riccardi, R., Spigno, P., Tremonte, P., Coppola, R., Nazzaro, F. (2016). Phenolic constituents, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of different endemic Italian varieties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Functional Foods*, 21, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.019>
- González-Montelongo, R., Gloria Lobo, M., González, M. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 119(3), 1030–1039. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.012>
- Jayaprakasha, G.K., Jena, B.S., Negi, P.S., Sakariah, K.K. (2002) Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: a byproduct from curcumin production. *Z Naturforsch*, 57c:828–835
- Kao, C.-C., Wang, H.-M., Tsai, S.-J., Lin, J.-Y. (2023). Sensory and microbial analyses on naturally lacto-fermented cucumbers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 32(February), 100714. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100714>
- Karabegović, I. T., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L. (2013). Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. *Separation and Purification Technology*, 120, 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.10.021>
- Karaoğlan, H. A., Aktas, A. B. (2023). Optimization of Spontaneous Fermentation Conditions of Kohlrabi by Response Surface Methodology. *Fermentation*, 9(6), 1–10. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060550>
- Koca, I., Tekgöler, B., Koca, A.F. (2016) Antioxidant properties of green Allium vegetables. ISHS. VII Int. Sym. on Edible Alliaceae, October 28, Niğde, Turkey. pp 201-206.
- Kumar, S. N. A., Ritesh, S. K., Sharmila, G., Muthukumaran, C. (2017). Extraction optimization and characterization of water soluble red purple pigment from floral bracts of Bougainvillea glabra. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2145–S2150. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.047>
- Lee, C. H., Hwang, K. E., Kim, H. W., Song, D. H., Kim, Y. J., Ham, Y. K., Choi, Y. S., Jang, S. J., Jeong, T. J., Kim, C. J. (2016). Antioxidant activity of brown soybean ethanolic extracts and application to cooked pork patties. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 359–368. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.359>
- Lu, X., Ross, C. F., Powers, J. R., Aston, D. E., Rasco, B. A. (2011). Determination of total phenolic content and antioxidant activity of garlic (*Allium sativum*) and elephant garlic (*Allium ampeloprasum*) by attenuated total reflectance-fourier transformed infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5215–5221. <https://doi.org/10.1021/jf201254f>
- Montgomery, D. C. (2017). Design and analysis of experiments. John Wiley & sons.
- Sathishkumar, T., Baskar, R., Aravind, M., Tilak, S., Deepthi, S., Bharathikumar, V. M. (2013). Simultaneous Extraction Optimization and Analysis of Flavonoids from the Flowers of Tabernaemontana heyneana by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Diode Array Detector and Electron Spray Ionization/Mass Spectrometry. *ISRN Biotechnology*, 2013, 1–10. <https://doi.org/10.5402/2013/450948>

- Simić, V. M., Rajković, K. M., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N., Lazić, M. L., Karabegović, I. T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Separation and Purification Technology*, 160, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.019>
- Singh, B., Sharma, H. K., Sarkar, B. C. (2012). Optimization of extraction of antioxidants from wheat bran (*Triticum* spp.) using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 294–308. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0276-5>
- Strati, I. F., Kostomitsopoulos, G., Lytras, F., Zoumpoulakis, P., Proestos, C., Sinanoglou, V. J. (2018). Optimization of polyphenol extraction from allium ampeloprasum var. porrum through response surface methodology. *Foods*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/foods7100162>
- Szychowski, K. A., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Gawel-Bęben, K., Aświeca, M., Kara, M., Jakubczyk, A., Matysiak, M., Binduga, U. E., Gmiński, J. (2018). Characterization of Active Compounds of Different Garlic (*Allium sativum* L.) Cultivars. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(1), 73–81. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0005>
- Sathishkumar, T., Baskar, R., Shanmugam, S. (2008). Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana beyneana* wall using L16 orthogonal design. *Nature and Science*. 2008;6(3):10-21.
- Tsao, R., Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 812(1-2 SPEC. ISS.), 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.09.028>
- Zhou, Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Zheng, J., Li, Y., Zhang, J. J., Xu, D. P., Li, H. Bin. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from the seed coats of red sword bean (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.). *Antioxidants*, 8(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/antiox8070200>