

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yelda PİRGÜN

**HATAY'DA YETİŞTİRİLEN GEMLİK VE HALHALI ZEYTİNLERİNİN
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HATAY'DA YETİŞTİRİLEN GEMLİK VE HALHALI ZEYTİNLERİNİN
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Yelda PİRGÜN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu Tez 18 / 12 / 2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile
Kabul Edilmiştir.**

İmza..... İmza..... İmza.....
Yrd.Doç.Dr Türkan KEÇELİ Prof.Dr. Turgut CABAROĞLU Yrd.Doç.Dr. Ramazan BİLGİN
DANIŞMAN ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No :

**Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir.**

Proje No :ZF2006YL15

Not : Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY'DA YETİŞTİRİLEN GEMLİK VE HALHALI ZEYTİNLERİNİN
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yelda PİRGÜN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ-
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ
Yıl : 2007 Sayfa : 46
Jüri : Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ
Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
Yrd. Doç. Dr. Ramazan BİLGİN

Bu çalışmada, Hatay'da yetiştirilen Halhalı ve Gemlik zeytin çeşitlerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi sentetik bir antioksidan olan Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Zeytin örneklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve bunu izleyen analizler, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarlarında yapılmıştır. Zeytin örneklerinde toplam fenol içeriği olgunluk başı ve olgunluk sonu Gemlik'te 278,5 ve 206,5 mg/100g, olgunluk başı ve olgunluk sonu Halhalı'da 314,8 ve 288,9 mg/100g kafeik asit eşdeğeri (CAE) olarak bulunmuştur. Zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH'e karşı antioksidan etkileri incelendiğinde 60. dakikada antioksidan aktivitenin olgunluk başı Halhalı ve olgunluk sonu Gemlik'te en iyi olduğu ve her iki hasat döneminde de ekstraktların ya BHT'den daha iyi veya benzer olduğu bulunmuştur. Zeytinden elde edilen fenolik ekstraktlar ve BHT'nin antioksidan aktiviteleri, substrat olarak zeytinyağı ve ayçiçek yağı-su emülsiyonunun kullanıldığı iki farklı sistemde değerlendirilmiştir. Gemlik ve Halhalı zeytinlerinin antioksidan etkisinin zeytinyağı içerisinde 100 ve 200 meq/kg'da BHT ile benzer veya daha etkili olduğu, suda yağ emülsiyonlarında ise aynı konsantrasyonlarda ekstraktların antioksidan etkilerinin oksidasyon başlangıcında iyice azaldığı ve BHT'den daha az etkili olduğu, oksidasyon sonunda ise ekstraktların ve BHT'nin prooksidan olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Zeytin, BHT, Fenolik Bileşikler, Antioksidanlar

ABSTRACT

MSc THESIS

THE DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GEMLIK AND HALHALI OLIVES GROWN IN HATAY

Yelda PİRGÜN

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor : Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ
Year : 2007 Pages : 46
Jury : Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ
Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
Yrd. Doç. Dr. Ramazan BİLGİN

In this study, the antioxidant activity of natural phenolic extracts obtained from Gemlik and Halhalı olive variety grown in Hatay were investigated and the activity was compared to that of synthetic antioxidant which is BHT. Extraction of phenolic compounds from olive samples and the following analyses were done in Cukurova University Food Engineering Department Labs. Total phenolic contents of olives were found as 278,5 ve 206,5 mg/100g for Gemlik and 314,8 and 288,9 mg/100g CAE for Halhalı variety at the beginning and end of ripening period respectively. When the antioxidant effects of phenolic extracts of Gemlik and Halhalı compared to BHT against DPPH; antioxidant effects of both olive extracts were better or similar to that of BHT and the activity of harvested at beginning of ripening Halhalı and harvested at the end of ripening Gemlik were the most effective antioxidants on scavenging DPPH radicals at 60 minutes. Antioxidant activities of phenolic extracts which were obtained from Gemlik and Halhalı olives and BHT were also evaluated in olive oil and in sunflower oil-in-water emulsions. The antioxidants effect of the olive extracts at 100 and 200 ppm were less than BHT in olive oil stored at 60°C and the activity of the extracts were less than BHT at the beginning of oxidation and the extracts and BHT showed prooxidant effect in sunflower oil emulsions at the end of the oxidation at 60°C.

Key Words : Olive, BHT, Phenolic Compounds, Antioxidants

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım ilk günden itibaren gerek ders aşamasında ve gerekse deneysel çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, destek ve ilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ'ye teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında sorumlu oldukları laboratuvarları ve bu laboratuvardaki çeşitli alet-ekipmanları kullanmama izin veren Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ, Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ ve Yrd. Doç. Dr. Işıl VAR'a teşekkürlerimi sunarım. İstatistiksel analizlerimin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Ar. Gör. Adnan BOZDOĞAN'a ve laboratuvar çalışmalarımında yardımcı olan Ar. Gör. Dilşat BOZDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu çalışmanın her aşamasında yardımını gördüğüm tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimi değerlendirerek katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Ramazan BİLGİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Doğumumdan bugüne her geçen gün beni daha da çok sevdiğini bildiğim, hayatımın her anında sevgi ve şefkatini benden esirgemeyip sonsuz desteğini daima hissettiren canımdan çok sevdiğim Annem Ferah BÜYÜKASLAN'a, tanıyamamış olsam da varolmamı sağlayan Babam Cabbar BÜYÜKASLAN'a, ne olursa olsun beni yalnız bırakmayacaklarını bildiğim ve sevgimin üstlerinden asla eksik olmayacağı çok değerli Abim Selçuk BÜYÜKASLAN ve Kardeşim Naciye BÜYÜKASLAN'a, her zaman kalbimde özel bir yeri olan Dayım Ramazan KÖZİĞ'e ve iyi günümde kötü günümde hep yanımda olan, sevginin tüm güzelliklerini bana yaşatan, hayatımı paylaşmaya söz verdiğim hayatımın anlamı sevgili Eşim Erol PİRGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerinden dolayı Ç.Ü Araştırma Fonu ve Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Zeytinin Bileşimi.....	4
2.2. Zeytinde Bulunan Fenol Bileşikleri.....	6
2.3. Antioksidanların Lipit Oksidasyonunu Önleme Mekanizması.....	13
2.3.1. Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	14
2.3.1.1. DPPH Serbest Kök Bağlama Metodu.....	14
2.3.1.2. Yağ ve Su Emülsiyon Sistemlerinde Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Fenol Bileşiklerinin Ekstraksiyonu.....	16
3.2.2. Toplam Fenol Bileşiklerinin Belirlenmesi.....	17
3.2.3. Zeytin Ekstraktlarının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi.....	17
3.2.3.1. Serbest Radikal Bağlama Özelliğinin Belirlenmesi.....	17
3.2.3.2. Lipit Oksidasyonunu Önleme Özelliklerinin Yağda Belirlenmesi..	18
3.2.3.3. Lipit Oksidasyonunu Önleme Özelliklerinin Suda Yağ Emülsiyonlarında Belirlenmesi.....	18
3.2.3.4. Peroksit Değerinin Belirlenmesi.....	18
3.2.3.5. Konjuge Dienlerin Belirlenmesi.....	19
3.2.4. İstatistiksel Analizler.....	19

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1. Zeytinlerin Toplam Fenol Bileşimi İçeriği.....	20
4.2. Antioksidan Aktivitenin Metanol İçerisinde Değerlendirilmesi.....	21
4.2.1. Deneme 1: DPPH Metodu İle Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	21
4.3. Antioksidan Aktivitenin Trigliserid Karışımlarında Değerlendirilmesi....	27
4.3.1. Deneme 2 : Zeytinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktlar ve BHT'nin Antioksidan Aktivitesinin 60 ⁰ C'ye Isıtılan Zeytinyağı İçerisinde Değerlendirilmesi.....	27
4.3.2. Deneme 3: Zeytinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktlar ve BHT'nin Antioksidan Aktivitesinin 60 ⁰ C'ye Isıtılan Ayçiçekyağı-Su Emülsiyonu İçerisinde Değerlendirilmesi.....	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ**SAYFA**

Çizelge 2.1.	Zeytin Tanesinin Ortalama Bileşimi.....	4
Çizelge 4.1	Zeytin Örneklerinin Toplam Fenol Bileşikleri Miktarı.....	20
Çizelge 4.2.	Olgunluk Başlı Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin EC50 Değerleri.....	21
Çizelge 4.3.	Olgunluk Sonu Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin EC50 Değerleri.....	22
Çizelge 4.4.	Olgunluk Başlı Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin Antiradikal Etkinliği (ARP=1/EC50).....	22
Çizelge 4.5.	Olgunluk Sonu Zeytin Örneklerinin Fenolik ekstraktlarının ve BHT'nin Antiradikal Etkinliği (ARP=1/EC50).....	23
Çizelge 4.6.	Olgunluk Başlı Örneklerinin 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Peroksit Değerleri.....	28
Çizelge 4.7.	Olgunluk Sonu Örneklerinin 100 mg/kg Konsantrasyonunda ki Peroksit Değerleri.....	29
Çizelge 4.8.	Olgunluk Başlı Örneklerinin 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Peroksit Değerleri.....	30
Çizelge 4.9.	Olgunluk Sonu Örneklerinin 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Peroksit Değerleri.....	30
Çizelge 4.10.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Olgunluk Başlı Örneklerinin Peroksit Değerleri.....	34
Çizelge 4.11.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Olgunluk Sonu Örneklerinin Peroksit Değerleri.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1.	Zeytinin Temel Fenolik Bileşenlerinin Kimyasal Yapısı.....	8
Şekil 2.2.	Zeytinde Bulunan Bazı Flavon, Flavonol ve Siyanidin Glikozitlerinin Kimyasal Yapısı.....	13
Şekil 3.1.	Kafeik Asit Standart Eğrisi.....	17
Şekil 4.1.	Olgunluk Başı Gemlik Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi.....	23
Şekil 4.2.	Olgunluk Sonu Gemlik Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi.....	24
Şekil 4.3.	Olgunluk Başı Halhalı Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi.....	24
Şekil 4.4.	Olgunluk Sonu Halhalı Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi.....	25
Şekil 4.5.	BHT Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi.....	26
Şekil 4.6.	Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	27
Şekil 4.7.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	31
Şekil 4.8.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	32
Şekil 4.9.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Konjuge Dien Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler...	33
Şekil 4.10.	Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Konjuge Dien Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler...	33

KISALTMALAR

- AOCS : Amerikan yağ kimyacıları derneği
ARP : Antiradikal etkinlik
BHA : Bütillenmiş hidroksi anilin
BHT : Bütillenmiş hidroksi toluen
CA : Kafeik asit
CAE : Kafeik asit eşdeğeri
CAPE : Kafeik asit feniletil ester
CHA : Klorojenik asit
EC50 : Başlangıç DPPH konsantrasyonunu %50 azaltmak için gereken antioksidan miktarı
DHA : L-Dehidroksi Karboksilik asit
DPPH : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FA : Ferulik asit
FAPE : Ferulik asit feniletil esteri
RA : Rosmarinik asit
SPSS : Statistical package for the social sciences
TBHQ : Tersiyer bütül hidroksi kinon

1. GİRİŞ

Dünyada zeytin yetiştiriciliği, kaynağını Akdeniz havzasını çevreleyen ülkelerden almıştır. Akdeniz Medeniyetinin sembolü olan zeytin ağacı en iyi yetiştirme şartlarını bu bölgede bulmuş ve zeytincilik tarihte çeşitli medeniyetlerin bu bölgede kurulmasında önemli bir etken olmuştur. Zeytin ve zeytinyağı, çok eski bir geçmişli olan Akdeniz diyetinin tipik bir unsurları olup, aynı zamanda insan beslenmesinde de değerli gıda maddeleridir. Kalite değeri yüksek natürel zeytinyağı, gerek kimyasal bileşimi, gerekse doğal yapısı açısından insan beslenmesinin temel taşlarından biridir (Nas ve ark., 1992)

Zeytinyağı, zeytin ağacı (*Olea europea* L.)'nin olgun meyvelerinden sıkılmak suretiyle elde edilen oda sıcaklığında (20-25 °C) sıvı olan ve yemeklik olarak kullanılan yağdır. Zeytinyağı, iyi kalitede taze, olgun meyveden presleme, santrifüjleme ve süzme ile mekanik olarak elde edilmektedir. Meyvenin bu özellikleri ona tüm bitkisel yağlar arasında ham halinde yani rafinasyona tabi tutulmaksızın yenebilen hemen hemen tek yağ olma özelliğini vermektedir. Kalori değeri yüksek, esansiyel yağ asitlerinin kaynağı ve yağda çözünen A, D, E, K vitaminlerinin ve birçok antioksidan özellikteki maddelerin (fenolik bileşenler) deposu olan zeytinyağı, kendine has güzel tat ve kokusu ile diğer bitkisel yağlara tercih edilen hazmolma derecesi yüksek önemli bir yağ kaynağıdır. Yapılan birçok tıbbi araştırma sonuçlarına göre, zeytinyağının bünyesindeki oleik asit kalp damar hastalıklarını önleyici etkisi de bulunmakta bunun yanında, yine yağın yapısındaki antioksidan nitelikli E vitamini ve bazı fenolik bileşenlerin de yaşlanma ve bazı hastalıkların faktörü olan serbest radikallerin oluşumunu azalttığı son yıllarda tıp otoritelerince ifade edilmektedir (Dıraman, 2000).

Dünya zeytinyağı üretimi açısından ilk üç sırayı İspanya, İtalya, Yunanistan (1850000 ton) almakta, Türkiye (1800000) ise bazı yıllara göre Tunus'tan önce veya sonra dördüncü veya beşinci üretici ülke olmaktadır (Dıraman, 2000). DİE'nin 2001 yılı istatistiklerine göre dünyadaki zeytin ağacı varlığının yaklaşık % 13'ü ülkemizde bulunmaktadır. Üretim açısından geride bulunmamızın temel sebebi ise ağaçlarımızın verimliliklerinin düşük olmasıdır (DİE, 2001).

Ülkemizde zeytin yetiştiriciliği coğrafi olarak beş bölge üzerinde dağılım göstermiştir. Üretim; Marmara Bölgesi, Ege Bölgesi, Akdeniz Bölgesi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Karadeniz Bölgesi'nde yapılmaktadır (Pala ve ark., 2001). Günümüzde zeytin ağacının yetiştirilmesi ve olgun meyveden zeytinyağının üretimi Akdeniz ülkelerinde zeytincilik uygulamalarının en önemli parçasını oluşturmaktadır (Owen ve ark., 2000).

Zeytinde bulunan fenol bileşikleri, sofralık zeytin veya zeytinyağının oksidatif stabilitesini ve duyuşal özelliklerini etkilediği için oldukça önemlidirler. Bunun dışında fenol bileşenlerinin beslenme ve farmokolojik etkileri doğal antioksidatif ve antimikrobiyel özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca bu işlemler renk ve tadı etkilediğinden meyvenin işlenmesinde de önemlidirler (Esti ve ark. 1998). Meyvenin doğal savunma sisteminin oluşturulmasında da fenol bileşenleri önemli rol oynamaktadır (Siciancalepore ve Longone; 1984; Brenes-Balbuena et al. 1995; Robards ve ark., 1999).

Zeytinde olgunlaşma 6 – 8 ay içerisinde meydana gelen uzun bir işlemdir (Kritsakis, 1998). Meyvenin iriliği, sonbaharda nem içeriğine bağılı olarak artar ve zeytin hücrelerinde yağ, haziran sonlarına doğru meyve belli bir büyüklüğe eriştiğinde ve çekirdek sertleşmeye başladığında oluşmaya başlar. Meyvedeki büyüme oranı ve olgunlaşma, zeytin ağacının yaşına, ağacın sağılık durumuna, çeşide, yüksekliğe, iklim koşullarına ve uygulanan tarımsal tekniklere bağılı olarak değışir. Olgunlaşmada meyve ağırlığı 2 ile 12 g arasında değışir, ancak bu ağırlık 0,5 veya 20 g arasında oynayabilir. Zeytini olgunlaşması (kuzey yarımküre için temmuzdan kasıma kadar) sırasında ağırlığındaki artış yanında birçok diğere değışiklikler de olmaktadır. Olgunlaşma sırasında meyvenin yağ içeriğinde devamlı bir artış ve indirgen şeker miktarında düşme meydana gelir, ham lif oranı başlangıçtaki ani bir düşüşten sonra düşmeye devam eder, protein içeriği olgunlaşma boyunca düşük düzeydedir (Kritsakis, 1998).

Optimum hasat zamanı, zeytinin değıerlendirme amacına göre farklılıklar gösterir (Anon, 2006a). Eđer yeşil sofralık zeytin yapılacaksa meyveler sarımsı- yeşil renge döndüğü (Eylül-Ekim), siyah sofralık zeytin yapılacaksa kararmanın kabuktan meyve etine geçtiği (Kasım- Aralık), yağlık olarak değıerlendirilecekse ağaçta yeşil

meyve kalmadığı zaman hasat edilmelidir (Anon, 2006b). Hasat yöntemleri bölge halkının sosyo-ekonomik koşulları, çeşit özellikleri, ağaç ölçüleri gibi faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterir. Mevcut uygulamalar genel olarak üçe ayrılır; Yerden Toplama (Bu yöntemle toplanan zeytinlerin sofralık değerleri düşüktür, daha ziyade yağa işlenirler), Doğrudan Ağaç Üzerinden Toplama (Bu şekilde toplanan zeytinler hem sofralık hem yağlık olarak değerlendirme açısından kalite özelliklerini korurlar), Sırıkla Silkerek Toplama (hasat sırasında meyvenin ve ağacın göreceği zararlanmadan ötürü tavsiye edilmemektedir) (Anon, 2006c).

Bu çalışmada, Hatay'da yetiştirilen Halhalı ve Gemlik zeytin çeşitlerinin olgunluk başı ve olgunluk sonu hasatlarından elde edilen doğal fenolik ekstraktlar ile sentetik antioksidanlardan Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)'nin antioksidan etkisinin sentetik ortamda zeytinyağı ve ayçiçek-su emülsiyonu içerisinde antioksidan etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Zeytinin Bileşimi

Zeytin, çeşidine göre şekli ve rengi değişen, besin değeri açısından oldukça zengin bir üründür. Zeytinin yapısında önemli miktarda su ve yağ bulunurken protein, selüloz, şeker, mineral maddeler, hidrokarbonlar, fenolik bileşikler ve tokoferoller de bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Bunlar arasında zeytinde iz miktarda bulunduğu halde özellikle yağı oksidasyona karşı koruyarak antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler, yağın rengi, lezzeti, oksidatif stabilitesi ve besin değeri açısından önemli rol oynamaktadır (Kritsakis, 1998).

Çizelge 2.1. Zeytin Tanesinin Ortalama Bileşimi (Kritsakis, 1998)

Bileşim	Miktar (%)
Su	50 - 60
Yağ	18 - 25
Protein	1,5 - 2
Şeker	18
Selüloz	5
Mineral Madde (kül)	1,5
Hidrokarbonlar	0,8 - 1
Polifenoller	0,5 - 0,8
Tokoferoller	0,3 - 0,8

Fenol bileşenlerinin miktarı ve çeşidi zeytinin olgunlaşmasına çeşidine, yağış miktarına, sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle bazı çeşitler fenol bileşenlerce zengin bazı çeşitler ise fakirdir. Zeytinde bulunan başlıca fenolik bileşenler; oleuropein, verbaskosid, ligrosit gibi fenolik glikozitler ile flavonoidler, flavonol glikozitleri, antosiyaninler ve glikozitleri, fenolik asitler ve diğer bileşenlerdir (Ryan ve Robards, 1998; Keçeli, 2000).

Zeytin üretimine etki eden faktörler :

Zeytinler için en uygun iklim, Akdeniz ılıman iklimidir. Kışları ılık ve yağışlı, yazları kuru ve sıcak geçen, yıllık 400- 800 mm yağış alan yerler zeytin yetiştiriciliği için uygundur. Toprak konusunda pek seçici olmayıp daha ziyade kalkerli-kumlu, derin ve besin maddelerince zengin toprakları sever (Anonim, 2006b).

Gemlik zeytin çeşidi Gemlik, Trilye, Kaplık, Kıvırcık, Kara olarak da bilinen zeytin türü Bursa, Tekirdağ, Kocaeli, Bilecik, Kastamonu, Zonguldak, Sinop, Samsun, Trabzon, Balıkesir, İzmir, Manisa, Aydın, İçel, Adana, Antalya, Adıyaman illerinde yetiştirilmekte ve oldukça geniş bir coğrafi dağılım göstermektedir. Genellikle orta büyüklükte, düzgün yuvarlak bir taç oluşturur. Yeşil meyve rengi puslu, tipik zeytin yeşili renginde olup; olgun meyve rengi parlak, koyu siyahtır. Et rengi koyu vişne renginde olup çekirdeğe doğru rengi açılır ve krem-beyaz rengi alır. Çekirdekleri orta büyüklükte ve ovaldir. Sofralık olarak ta kullanımı yoğundur. Yağ bakımından zengin olduğu için yağlık olarak ta işlenebilir (Gökçe, 1991).

Halhalı çeşidi zeytin ise Güneydoğu Anadolu bölgesinin önemli çeşitlerindedir. Mardin, Hatay, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerinde ağaçları vardır. Meyveleri orta büyüklükte olup çekirdekleri iridir. Meyveleri %21.9 oranında yağ içerir. Yeşil olum döneminde hasat edilen meyveler “kıрма zeytin” tipinde işlenir. Siyah olum döneminde hasat edilen meyveler ise siyah sofralık ve yağlık olarak değerlendirilir. Bölge içinde tüketiminin dışında komşu Arap ülkelerine ihraç edilir.

Zeytin ağaçları diğer meyve türlerine oranla olumsuz koşullara daha dayanıklı olmakla beraber verim ve kalite düşmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Beslenme problemleri olarak tanımlayabileceğimiz durumlar; Besin elementlerinin noksanlığı, fazlalığı, besin elementleri arasındaki dengesizliklerdir. Besin maddesi noksanlıklarının başlangıcında normal ve sıhhatli gibi görünen ağaçlarda; ileri noksanlık durumlarında yaprak, çiçek, sürgün, gövde ve meyvelerde bariz belirtiler ortaya çıkar (Anonim, 2006a).

Zeytinlerin gübrenmesinde, zeytinin yaşına, gelişmesine, sulama durumuna, iklim, kaldırılacak ürün miktarına ve yaprak- toprak tahlilleri sonucunda bitkide ve toprakta belirlenen besin elementlerine göre uygun bir besleme programı hazırlanmalıdır. Zeytin ağacı derin bir kök sistemine sahip olmadığından ve en önemli besleyici kökler gövdeye yakın olduğundan verilecek gübreler hemen taç altına verilmelidir (Anon, 2006b).

Sulama, optimum bitki gelişimi yönünden gereksinim duyulan ve doğal yolla karşılanamayan suyun uygun zamanda ve miktarda, yapay yollarla bitki kök bölgesine verilmesidir. Zeytinde iyi ve düzenli bir sulama programı uygulanması

sonucu elde edilecek yararlar yıldan yıla kendini gösterecektir ve aynı zamanda ağaçların üretken ve sağlıklı kalmasını sağladığı, yetersiz bir sulamanın ise verim düşüklüğüne, kalitede bozulmaya ve ağaçları bodurlaştırdığı belirlenmiştir (Anon, 2006c). Zeytinin, ürün miktarı ve kalitesini yağ randımanını artırmak için sulanması gereken hassas dönemler; çiçeklenme öncesi ve sonrası (nisan- mayıs), meyve oluşum başlangıcı (haziran sonu- temmuz başı) ve meyvenin renk değişimi devresidir (Anon, 2006b).

Budamada önemli olan her yaşta yaprak/kök ve yaprak/odun dengesini optimum düzeyde tutmaktır. Bu amaçla zeytinde değişik budamalar yapılmaktadır. Şekil budaması (amaç, ağacın iskeletini ortaya çıkarmaktır), Mahsul budaması (amaç, taç içerisindeki ışıklanmayı artırarak ağacın verimli periyodunu maksimum düzeyde tutmaktır), Gençleştirme budaması (ağacın kendini yenilemesi mümkün olmaktadır) (Anon, 2006b).

Zararlılar açısından özellikle hasat öncesi zeytine zarar verdiği çok iyi bilinen Zeytin Sineği (*Bactrocera olea Gml.*) ile yeterince mücadele edilmelidir. Zeytin Sineği zararlısı yağın hidroliz (asitlik artışı) ve oksidasyonuna sebep olmasının yanında, yağ asidi kompozisyonuna da ve yağın sabunlaşmayan bileşikleri üzerine de etkilidir. Zeytin Sineği ülkemiz zeytinciliğinde en önemli zararlı olup, bunun ile yapılacak mücadele zeytinyağı kalitesi üzerine yapılacak tedbirlerin ilk ve en önemli aşamasını oluşturmaktır (Dıraman, 2000).

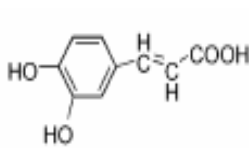
2.2 Zeytinde Bulunan Fenol Bileşikleri

Fenol bileşikleri sağlık açısından da önemlidirler. Kılcal dolaşım sistemi ile ilgili olumlu etkileri nedeni ile belirli dönem P vitamini olarak adlandırıldıkları bilinmektedir. Bir yandan mutajenik ve karsinojenik, bir yandan da anti mutajenik ve antikarsinojenik oldukları tartışılmaktadır. Bununla birlikte fenol bileşiklerinin antimikrobiyel, antioksidatif ve enzim inhibisyonu etkileri de vardır (Karadeniz ve Ekşi, 2001).

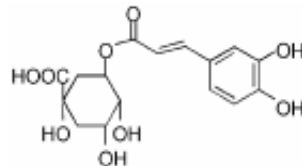
Zeytinyağı sahip olduğu fenol bileşikleri ve tokoferoller ile oksidasyona dayanıklılık göstermektedir (Nergiz ve Ünal, 1989; Miled ve ark., 2000; Tuck ve

Hayball, 2002). Yağın duyuşal karakteri üzerinde etkisi bulunan fenolik bileşiklerin miktarı (Satue ve ark., 1995; Visioli ve Gali, 1998; Visoli ve ark., 2001; Caruso ve ark., 2000; Visioli ve ark., 2002a; Visioli, Belloma ve Galli, 2002b; Galli ve ark., 2004) meyvenin olgunluk derecesine bağı olarak azalmakta, iklim, çeşit, zeytinin yetiştiğı toprak, hasat yöntemi, ezme makinesinin tipi, yoğurma, yağ ekstraksiyon yöntemi de etkili olmaktadır (Nergiz ve Ünal, 1989; Brenes ve ark., 1999; Angerosa ve ark., 2000).

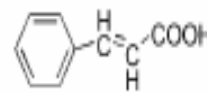
Kaliteli bir yağ 200 mg/kg'ı aşan fenolik madde içeriğine sahip olmalıdır (Tiryaki ve Karaman, 2004). Zeytinde bulunan fenolik maddeler başlıca oleuropein, verbaskosit, ligrosit gibi fenolik glikozitler ile flavonoidler, flavonol glikozitleri, antosiyaninler ve glikozitleri, fenolik asitler ve diğler bileşenlerdir. Zeytinlerde flavonoidlerden apigenin, luteolin ve kuersetin ve flavanol glikozitlerden özellikle kuersetin-3-rutinozite (rutin), luteolin-7-glikozit, kuersetin-3-ramnosit ve apigenin-7-glikozit bulunur. Ayrıca zeytinlerde antosiyanidinlerin glikozitleri olan antosiyaninler de bulunur ve bunlar özellikle siyanidin ve peonidinin glikozitleridir ve olgun zeytinlere eflatun ve mavi rengi verirler. Ayrıca zeytinlerde leuko-antosiyanidinlerin de bulunduğu bildirilmiştir. Siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-rutinozite olgun zeytinlerde bulunan en önemli renk maddeleridir. Ayrıca zeytinlerde fenolik asitler (kafeik, ferulik, p-kumarik, o-kumarik, gallik, sirenjik ve vanilik asitler) ve diğler bileşenlerden karnosid, halleridon, hidroksitirozol, tirozol glikozitleri, elenolik asit ve dimetiloleuropein'in de bulunduğu bildirilmiştir (Montedoro ve ark., 1978; Bianco ve ark., 1993; Ryan ve Robards, 1998).



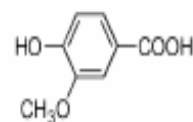
Kafeik asit



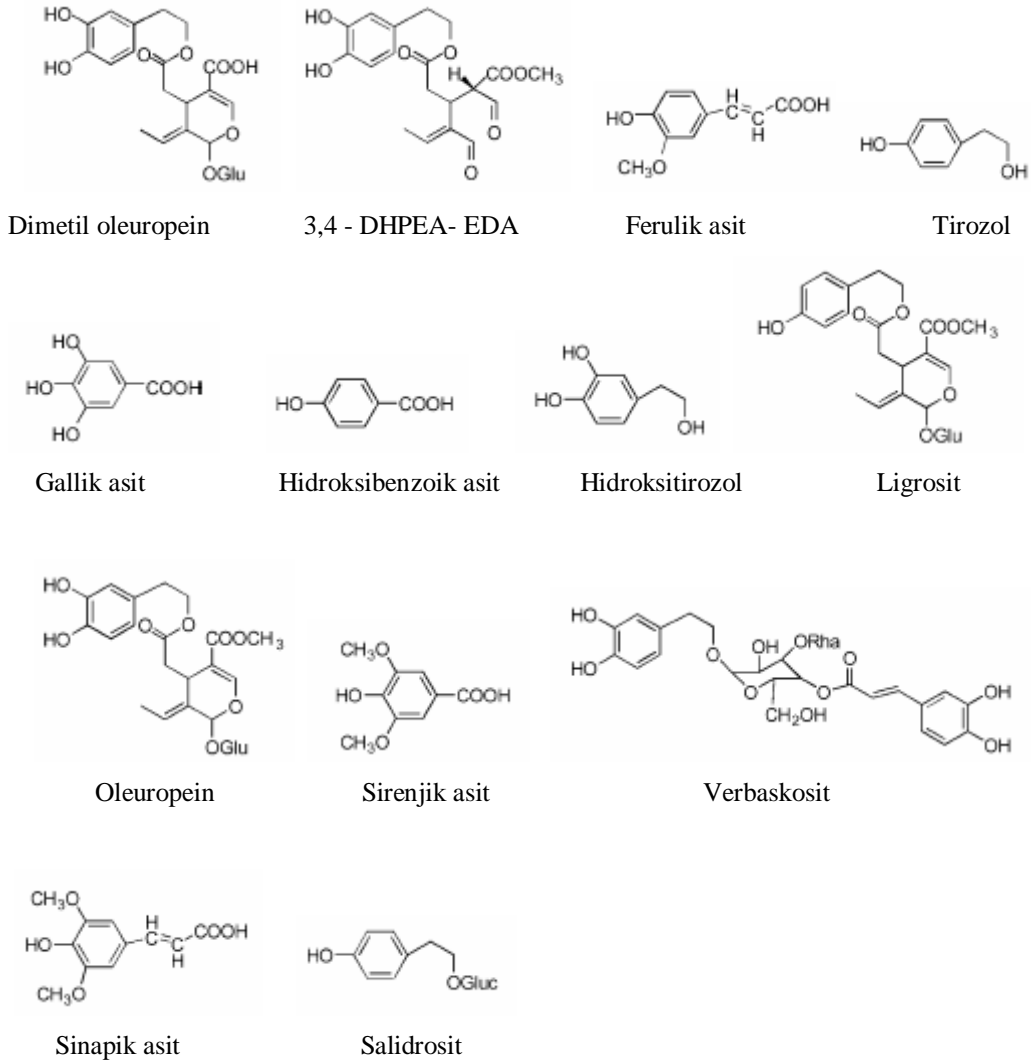
5- kaffeolkuinik asit



Sinamik asit



Vanilik asit



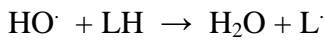
Şekil 2.1 Zeytinin Temel Fenolik Bileşenlerinin Kimyasal Yapısı (Ryan ve ark., 2001)

Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri lipit köklerini kararlı bileşikler haline dönüştürerek zincir tepkimesini kırmak olup birincil antioksidan olarak görev yaparlar (Altan, 1989). Fenolik bileşikten ayrılan hidrojenler kararsız serbest (R) radikalle birleşerek inaktif ürün oluşturmaktadır. Aynı zamanda yeni radikaller bu etkileşme sonucu meydana gelmektedir. Fakat bu radikallerdeki elektronlar molekül içerisinde yer değiştirdiğinden kararlı serbest hibrit kökleri olarak kalmaktadır (Nergiz ve Ünal, 1989).

Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluştururlar. Bu peroksi radikali lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup çok uzun ömürlüdür. Biyomembranlar ve hücre içi organeller

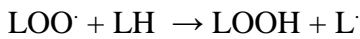
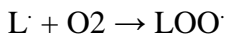
(mitokondri, endoplazmik retikulum, vs.) membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdırlar. Reaktif oksijen türleri ile hücre hasarı meydana gelirken serbest lipid kökleri ve lipid peroksitler de oluşmaktadır. Bu tip reaksiyonlar “Serbest Kök Reaksiyonları veya Otooksidasyonu” olarak isimlendirilir ve zincirleme reaksiyonun başlatılması için bir tetikleyici (başlatıcı, initiator) faktör gereklidir. Sözü edilen bu faktörün Hidroksi (HO[·]) radikali olduğu kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu, çok doymamış yağ asitlerinin zincirleme bir kök reaksiyonudur ve dört aşamada oluşur (Pinchuk ve ark. 1998; Marnett, 1999; Nyska ve Kohen, 2002):

Başlama safhası: HO[·] radikali, bir yağ asitinin (LH) metilen kısmından bir hidrojen atomu (H⁺) kopararak bir lipid kökü oluşturur.



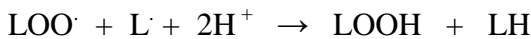
Bu reaksiyon hem membran lipidleri hem besinsel yağlar için geçerlidir. Buna göre, gıdaların korunması için iyonize radyasyon uygulanması sakıncalıdır.

İlerleme safhası: Zincirleme reaksiyon oluşan lipid radikaline O₂ ilavesi ile devam eder ve lipid peroksi kökü (LOO[·]) ile lipid peroksit (LOOH) oluşur.

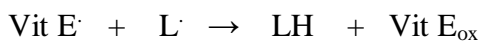
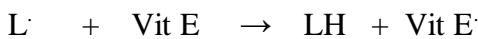


Yıkım safhası: Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanır. Burada oluşan ürünlerden birisi, malondialdehit (MDA), çözünebilir ve kan ile idrarda saptanabilir. Oluşan ürünlerin başlıcaları MDA, 4-hidroksinonenal, 4-hidroksi-2,3-transnonenaldir.

Sonlanma safhası: Zincir reaksiyonu (vitamin E gibi) antioksidanlar tarafından sonlandırılabilir.



Veya



Yukarıda ki reaksiyon akışına dikkatli bakıldığında, lipid peroksidasyonunun kendisini tetikleyerek yeniden lipid kökleri ve peroksitleri oluşturduğu görülmektedir. Lipid peroksitlerinin konsantrasyonları arttıkça, membranların akışkanlıkları azalır ve

kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişi kolaylaşır ve nihayet hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkar.

Nergiz ve Ünal (1989), zeytindeki olgunlaşmanın zeytinyağının bileşimi ve niteliklerine olan etkilerini inceledikleri bir çalışmada, olgunlaşma ile zeytindeki toplam fenolik madde içeriğinin azaldığını ve dolayısıyla zeytinyağının oksidatif stabilitesinin ve bazı duyuşal özelliklerinin olumsuz olarak etkilendiğini belirtmişlerdir. Örneğin ; oleuropein gibi bazı fenoller renk, tat ve lezzet gibi duyuşal özellikleri etkilemektedir. Zeytinin en önemli acılık maddesi oleuropeindir. Zeytinde oluşun ve acılığa katkıda bulunan diğler fenol bileşikleri; glikozitler, salidroşit, nuezhenid ve nuezhenid oleosidi ve tirozol ve elenoik asit glikozit uçlarını içeren bileşenlerdir (Ryan ve ark., 1999a).

Beltran ve ark. (2005), zeytinin olgunluk dönemi süresince zeytinyağında bulunan; fenolik maddeleri, tokoferoller, karotenoidleri, klorofilleri ve yağın oksidatif stabilitesinde meydana gelen değışiklikleri incelemişlerdir. Araştırmacılar, fenol bileşikleri, tokoferoller, karotenoidler ve klorofil gibi antioksidan özellikteki maddelerin miktarlarının olgunluk süresince azaldığını, yağın oksidatif stabilitesinin de bu özelliklere göre azaldığını belirtmişlerdir.

Doğal antioksidanlardan olan tokoferoller, en iyi bilinen ve en geniş kapsamlı kullanılan antioksidanlardır. Tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere iki gruba ayrılırlar ve her iki grup için dört izomer (α -, β -, γ - ve δ -) vardır. Böylelikle toplam sekiz tokoferol izomeri bulunmaktadır. Hemen hemen tüm gıdalarda eser miktarda dahi olsa bulunurlar. Bu gruptaki en önemli antioksidan E vitamininin en aktif formu olan α -tokoferoldür (Shi ve ark., 2001). Tokoferoller, hidroşil grubunun hidrojenini lipid perokşil radikaline vererek antioksidatif aktivite göstermektedirler. α -Tokoferolün aynı zamanda hidroperokşitlerin parçalanmasını yavaşlattıkları bilinmektedir. Tokoferoller ısıya karşı oldukça dayanıklıdırlar. α -Tokoferolün oksidatif stabilizeyi artırmada ve sıcaklık arttıkça oksidasyon hızını azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Maslarova, 2001).

Flavonoidler, genellikle bitkilerde bulunan ve günlük diyetle sıklıkla tüketilen difenilpropanlardır. En önemli flavanoid kaynakları sebzeler, meyveler ve içeceklerdir (Shi ve ark., 2001). Flavonoidler, C6–C3–C6 karbon iskeleti ile

karakterize edilmektedirler. İki aromatik halka, üç karbonlu bir alifatik zincir ile birbirine bağlanmaktadır. Flavon, flavonol, izoflavon, flavonon ve çalkonları içeren flavonoidler tüm bitki dokularında bulunmaktadır (Maslarova, 2001). Flavonoidler, antioksidatif aktivitelerini ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek, ve süperoksit anyonları, lipid peroksi kökleri ve hidroksil kökleri gibi serbest radikalleri yakalayıp göstermektedirler (Disilvestro, 2001; Shi ve ark., 2001).

Fenolik asitler, p-Hidroksibenzoik, 3,4-dihidroksibenzoik, vanillik, sirinjik, p-kumarik, kafeik, ferulik, sinapik, klorojenik ve rosmarinik asit gibi fenolik asitlere bitkiler aleminde sıklıkla rastlanmaktadır. Organik asit esterleri veya glikozitler olarak bulunmaktadır. Hidroksil grubunun pozisyonu antioksidatif aktivitede oldukça önemlidir (Maslarova, 2001; Awad, ve De Jager, 2003).

Askorbik asit, C vitamininin meyvelerde bulunan en baskın formudur. Birincil oksidasyon ürünü olan L-Dehidroksiaskorbik asit (DHA) de biyolojik aktiviteye sahip olduğu için önemlidir. Meyvelerdeki ortalama DHA miktarı, toplam C vitamini içeriğinin %10'undan azdır. Okside olmuş olan form parçalanmaya daha dayanıksız olduğu ve biyolojik aktivite kaybına yol açtığı için, askorbik asit formlarındaki değişiklikler hem teknolojik hem de besinsel açıdan önemlidir (Cordenunsi ve ark., 2004).

Karotenoidler, bitkilerde ve hayvansal dokularda bulunan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Gıdalarda bulunan karotenoidler, sekiz tane beş karbonlu izoprenoid biriminin biraraya gelmesiyle oluşan 40 karbonlu polienlerdir. Doğada 670'ten fazla karotenoid bulunmakta ve bunların çoğu antioksidatif aktivite göstermektedir. Gıdalarda bulunan en önemli karotenoidler β -karoten, α -karoten, likopen, lutein ve β -kriptoksantindir. β -Karoten, vücutta A vitaminine dönüştürülmektedir. Sarı-turuncu renkli meyve ve sebzeler, koyu yeşil renkli sebzeler karotenoid kaynağı gıdalar olarak gösterilmektedir (Langseth, 2000; Faulks ve Sauthon, 2001).

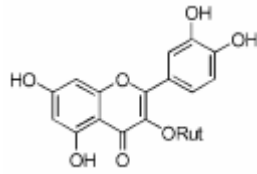
Antioksidan enzimler "serbest radikalleri yakalayan enzimler" (superoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz) gıdalarda bulunan bazı enzimler oksijeni uzaklaştırarak, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi aktif oksijen türlerini

uzaklaştırarak veya lipid hidroperoksitlerini azaltarak antioksidatif aktivite gösterebilmektedirler. Superoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz bu gruba giren enzimler arasındadırlar (Meyer ve ark., 2000).

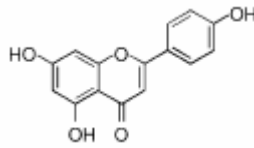
Aktan ve Kalkan (1999), farklı zeytin çeşitleri üzerinde yaptıkları çalışmalarla fenolik maddelerden bazılarının tek bir çeşitte bulunabileceği gibi bazı fenolik maddelerin miktarında çeşide göre farklılıklar içerebileceğini bildirmişlerdir.

Vinha ve ark. (2005), 29 zeytin örneğindeki fenolik bileşenleri analiz ettiği araştırmasında, oleuropein içeriğini 388-21 681 mg/kg, hidroksitirozol içeriğini 1477-15763 mg/kg, verbaskosid içeriğini 174 mg/kg, 5-kafeoilkuinik asit içeriğini 12.5 mg/kg kuru ağırlık olarak bulmuşlardır.

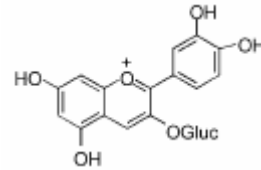
Zeytinde bulunan bazı flavon, flavonol ve siyanidin glikozitlerinin kimyasal yapısı Şekil 2.2'de verilmiştir.



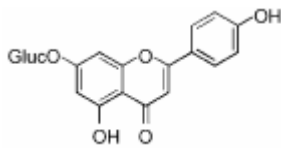
Rutin



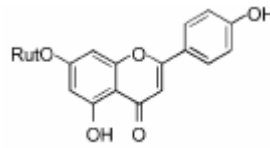
Apigenin



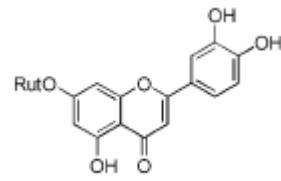
Siyanidin 3-glikozit



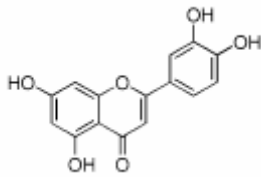
Apigenin 7 -glikozit



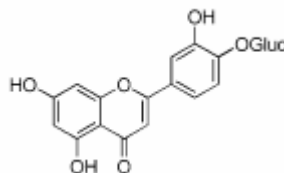
Apigenin 7- rutinosit



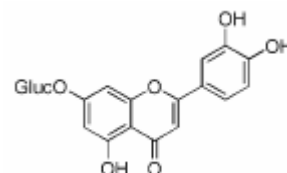
Luteolin 7-rutinosit



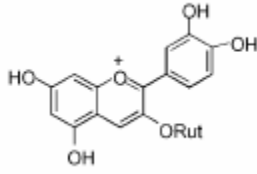
Luteolin



Luteolin 4-glikozit



Luteolin 7- glikozit



Siyanidin 3-rutinosit

Şekil 2.2 Zeytinde Bulunan Bazı Flavon, Flavonol ve Siyanidin Glikozitlerinin Kimyasal Yapısı (Ryan ve ark., 2001)

McDonald ve ark. (2001) kurutulmuş zeytin meyvesinin fenolik bileşenlerini ultraviyole, atmosferik basınç kimyasal iyonizasyonu (APCI) ve püskürtmeli elektron iyonizasyonu (ESI) kullanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografi ile kısımlara ayırmışlardır. Bazı standartlarla fraksiyonların sıvı ve lipit sistemde antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Antioksidan aktivite ve kimyasal yapı arasında bir ilişki vardır. Sulu ve lipit sistemlerde bu fraksiyonların antioksidan aktivitesi substrata ve test sistemine bağlıdır. Araştırmacılar, kinetik oksidasyon süreci kompleks olduğuna ve antioksidanların farklı konsantrasyonlarda test edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

2.3 Antioksidanların Lipit Oksidasyonunu Önleme Mekanizması

Oksidasyon reaksiyonları insan fizyolojisinde olduğu gibi gıda endüstrisinde de önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar zeytin ve zeytinyağında bulunan fenolik maddelerden özellikle oleuropein ve hidroksitirozolun koruyucu ve besinsel özellikleri olduğunu ve insan sağlığında koruyucu özellikleri nedeni ile önemli bir rol oynadıklarını ortaya koymuş ve fenolik maddelerin antropojenik etkileri nedeniyle düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidatif modifikasyonuna karşı hücreleri koruduklarını göstermiştir (Le Tutour ve Guedon, 1992; Visioli ve Galli 1994,1995). Daha ileri çalışmalarda, zeytin ve zeytinyağındaki fenolik maddelerin günlük alımlarının kronik kalp hastalığı gibi serbest oksijen radikallerince oluşan gastrointestinal hastalıklara karşı riski azalttığını göstermiştir (Gali ve Visioli,1999). Oksidatif metabolizmanın

zararlı etkileri güvenilirlik kazanmış antioksidanlarca zengin besinleri içeren ve “fonksiyonel gıdalar” olarak adlandırılan bir diyetle ıslah edilebilir.

Hidroksillenmiş fenol bileşikleri (PheOH), serbest radikalleri tutma özelliğine sahiptirler. Monofenoller, polifenollerden daha az antioksidan aktiviteye sahiptirler. Gallik asitte üç hidroksil grubunun bulunuşu aktiviteyi arttırabilen önemli bir faktördür. Monofenollerin antioksidan gücünü arttıran diğer bir faktör ise BHA’da olduğu gibi metoksi kökünün halkaya bağlanmasıdır (Sanchez-Moreno ve ark., 1998).

Fenolik maddelerin serbest radikal tutma potansiyelleri onların kimyasal ve sterokimyasal yapılarıyla yakından ilişkilidir (Gaulejac ve ark, 1999). Fenolik bileşenler (hem doğal hem sentetik), zincir kıran antioksidanlardır; bunların lipid peroksidasyonu zararına karşı önleyici etkileri, her bir molekülde bir hidroksil grubunun hidrojen verme kapasitesine bağlıdır (Saija ve ark., 1998).

Zeytin, özellikle fenolik antioksidanların zengin kaynağı olan, verbaskosit, ligstrosit ve oleuropein gibi ayırt edici bileşikler içermektedir (Robards ve ark., 1999). Zeytinden fenol bileşiklerinin ekstraksiyonu genellikle metanol veya sulu metanolle yapılır (Amiot ve ark., 1986; Antolovich ve ark., 2000).

2.3.1 Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi

2.3.1.1 DPPH Serbest Kök Bağlama Metodu

Altı doğal hidroksisinamik asitin [kafeik asit (CA), kafeik asit feniletıl ester (CAPE), ferulik asit (FA), ferulik asit feniletıl esteri (FAPE), rosmarinik asit (RA) ve klorojenik asit (CHA)] antioksidatif ve serbest radikal tutma özellikleri tipik gıda antioksidanlarından tokoferol ve BHT’nin aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. Test bileşenlerinin DPPH radikal tutma aktivitesinin, BHT ve tokoferolle karşılaştırıldığında rosmarinik asit ve kafeik asit fenil esterinde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Chen ve Ho, 1997).

2.3.1.2 Yağ ve Su Emülsiyon Sistemlerinde Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi

Oksidasyonu önlemek veya ortadan kaldırmak amacıyla gıdalara dışarıdan sentetik antioksidanlar eklenmektedir. Bu amaçla yıllardır en çok Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), Bütillenmiş Hidroksi Anilin (BHA) ve Tertsiyer Bütil Hidroksi Kinon (TBHQ) kullanılmaktadır (Nenadis ve ark., 2003).

Nedanis ve ark. (2003), BHA, BHT, TBHQ, α - tokoferol, trolox ve kafeik asit gibi bazı antioksidanları fosfatidilkolin lipozomları ve yağ/su emülsiyonlarında karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Sonuçlar, BHA ve BHT'nin çok az eklendiklerinde bile en yüksek etkiye sahip olduğunu; α -tokoferolün orta aktiviteye sahip olduğunu; CA'nın pro-/antioksidan davranışının konsantrasyona bağlı olduğunu; TBHQ'nun aktivitesinin CA'dan biraz daha iyi ve Troloxla karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu göstermiştir.

Birçok çalışmada, özgün polifenollerin alkoksi kökleri ve hidroksil köklerini tuttuğunu, lipit peroksil köklerini indirgediğini ve lipit peroksidasyonunu önlediğini bildirmektedir (Sánchez-Moreno ve ark., 1998).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırmada materyal olarak; 23 Eylül ve 19 Kasım tarihlerinde daha önceden belirlenmiş ağaçlardan örnek alma tekniğine uygun olarak hasat edilen Hatay'ın Narlıca (Antakya) yöresinde yetiştirilen Halhalı, Gemlik zeytin çeşitleri kullanılmıştır.

Sentetik antioksidan (BHT), 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve diğer kimyasal maddeler Sigma ve Merck firmalarından sağlanmıştır. Oksidasyon çalışmalarında, substrat olarak rafine zeytinyağı (Komili marka) ve rafine ayçiçek yağı (Ona marka) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fenol Bileşiklerinin Ekstraksiyonu

Fenol bileşikleri zeytinden Amiot ve ark. (1986)'na göre ekstrakte edilmiş ve örneklerde toplam fenol analizleri Gutfinger (1981)'e göre spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir.

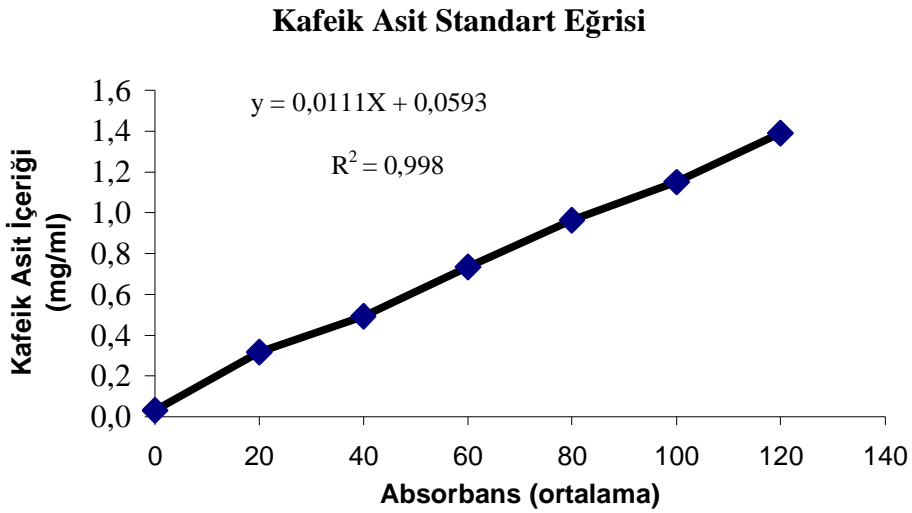
Zeytinlerde Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu :

10-15 adet zeytin çekirdeğinden ayrılır, derin dondurucuda 1 gün ardından dondurarak kurutucuda 2 gün bekletilir. Havanda ezilerek 10 'ar gram tartılır ve 250 ml'lik erlene alınır. Üzerine 80 ml metanol + 20 ml %2'lik Nametabisülfite eklenir. 4-5⁰C 'de (buzdolabında) 20dk. manyetik karıştırıcı ile karıştırılır. Nuçe erleni, Buhner hunisi ve vakum pompası düzeneğinde 0,45µm filtre kağıdında filtre edilir. Alman süzöntü 3 kez (3 x 50 ml) hekzanla ayırma hunisinde yıkanır. Metanollü faz kahverengi cam şişelere alınır ve fenolik zeytin ekstraktı elde edilir. Ekstraksiyon süresi yaklaşık 45 dakikadır.

3.2.2 Toplam Fenol Bileşiklerinin Belirlenmesi

Toplam fenolik bileşiklerini belirlemede Folin-Ciocalteou yöntemi kullanılmış 725 nm’de spektrofotometrik olarak belirlenen sonuçlar kafeik asit ile hazırlanan standart eğriden yararlanılarak mg/100g olarak hesaplanmıştır (Gutfinger, 1981).

Zeytin örneklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan kafeik asitin standart eğrisi Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Kafeik Asit Standart Eğrisi

3.2.3 Zeytin Ekstraktlarının Antioksidan Etkisinin Belirlenmesi

3.2.3.1 Serbest Radikal Bağlama Özelliklerinin Belirlenmesi

Zeytinden elde edilen fenolik fraksiyonun antioksidan aktivitesi, fenol bileşenlerinin serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH kullanılarak metanol içinde gerçekleşen reaksiyonun zamana karşı değişiminin spektrofotometrede 515 nm’de ölçülmesiyle yapılmıştır (Keçeli, 2000). Her bir fenol bileşiği ve ekstraktları için konsantrasyonlar (0,0; 3,6; 7,2; 9,0; 10,8) x 10⁻⁴ M olarak hazırlanmış antioksidan etki değerleri hesaplanmıştır. Fenol yada ekstrakt çözeltileri (0.1 ml içinde) 2.9 ml 6 x 10⁻⁵ mol /L metanolik DPPH çözeltisine eklenerek 515 nm

de absorbanstaki düşüş 0., 1. ve her 15 d bir ölçülerek reaksiyon dengeye gelinceye kadar devam ettirilmiştir. Reaksiyon kinetiği grafiğinden yararlanılarak antioksidan aktivite hesaplanmıştır (Keçeli and Gordon, 2002).

3.2.3.2. Lipid Oksidasyonunu Önleme Özelliklerinin Yağda Belirlenmesi

Zeytinden elde edilen fenolik fraksiyonun lipid oksidasyonu sırasında antioksidan etkisinin belirlenmesi için substrat olarak yağ (rafine zeytinyağı) kullanılmış ve oksidasyonun 60 °C lik etüvde depolama sırasında gelişimi izlenerek fenolik ekstraktların ve sentetik antioksidanların oksidasyonu önleme-geciktirme özellikleri belirlenmiştir (Keçeli ve Gordon, 2001). 20 g yağ örnekleri beherler içerisinde tanık ve antioksidan katılmış (saf fenol bileşikleri, zeytin ekstraktı ve sentetik antioksidanlar) 100 ve 200 mg/kg miktarlarında zenginleştirilmiş olarak ayrı ayrı depolanarak oksidasyonun gelişimi takip edilmiştir. Uygulanan dozlar Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na (2003) göre bitkisel yağlar için izin verilen değerler dikkate alınarak belirlenmiştir.

3.2.3.3. Lipid Oksidasyonunu Önleme Özelliklerinin Suda-Yağ Emülsiyonlarında Belirlenmesi

Zeytinlerden elde edilen fenolik fraksiyonun lipid oksidasyonu sırasında antioksidan etkisinin belirlenmesi için substrat olarak sodyum asetat tampon içerisinde yağ:su (30:70) emülsiyonları hazırlanmış ve oksidasyonun depolama sırasında gelişimi izlenerek fenolik ekstraktların oksidasyonu önleme-geciktirme özellikleri belirlenmiştir (Keçeli ve Gordon, 2001). 20 g emülsiyon örnekleri beherler içerisinde tanık ve antioksidan katılmış (saf fenol bileşikleri, zeytin ekstraktı ve sentetik antioksidanlar) 100 ve 200 mg/kg miktarlarında zenginleştirilmiş olarak ayrı ayrı depolanarak oksidasyonun gelişimi takip edilmiştir. Uygulanacak dozlar Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na (2003) göre bitkisel yağlar için izin verilen değerler dikkate alınarak belirlenmiştir.

3.2.3.4 Peroksit Değerinin Belirlenmesi

Peroksit değeri 1kg yağdaki milieşdeğergram oksijen olarak ifade edilir. Yağlarda ve yağ asitlerinde bulunan peroksitlerin miktarının belirlenmesini temel alan

bu yöntemde peroksitlerin glasiyel asetik asit çözeltisinde bulunan potasyum iyodürdeki iyodu serbest hale geçirmesinden yararlanılır (Altan 1989; AOCS Cd-8-53, 1989). Aşağıdaki formüle göre hesaplanır;

$$PV = \frac{S - B \times N \times 1000}{\text{Örnek ağırlığı}}$$

B : Kör (şahit) yağ olmayan örneğin sarfiyatı

S : Örnek titrasyonda harcanan 0,01N Na₂S₂O₃ (ml)

N : Normalitesi

3.2.3.5 Konjuge Dienlerin Belirlenmesi

Otooksidasyon sonucu malonik strüktürdeki yağ asitlerinde birbirini izleyen 2 çift bağın bir metilen grubu ile ayrıldığı durumlarda yalnızca merkezdeki metilen aktif olur. Bu durumda serbest kök 2 etilenik bağla çevrilmiş olur. Etilenik bağlardan biri diğerine yaklaşarak dienik konjuge sistem oluşturur. Oluşan bu dienik konjuge sistemlerin toplam miktarı bu yöntemle belirlenebilir (Altan, 1989; AOCS, 1989).

Oksidasyonun gelişimi sırasında oluşan hidroperoksitlerin 233 nm'de ölçümüne yarayan konjuge dien metodu AOCS Ti 1a-64, 1989'a göre yapılmıştır.

3.2.4 İstatistiksel Analizler

Denemeler 2 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve elde edilen veriler SPSS istatistik paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizine tabii tutulmuştur ve önemli bulunan farklılıklar Duncan karşılaştırma testine göre % 5 önem seviyesinde belirlenmiştir (Mead ve ark., 1993).

4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Zeytinlerin Toplam Fenol Bileşikleri İçeriği

Zeytin örneklerinin Folin-Ciocalteau Yöntemi ile belirlenen kafeik asit eşdeğeri (CAE) cinsinden toplam fenol içeriği aşağıdaki Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Zeytin Örneklerinin Toplam Fenol Bileşikleri Miktarı

Örnek	Kafeik Asit Eşdeğeri (CAE) Cinsinden Toplam Fenol İçeriği
Olgunluk Başı Gemlik	278,5 mg/100g ^b
Olgunluk Sonu Gemlik	206,5 mg/100g ^c
Olgunluk Başı Halhalı	314,8 mg/100g ^a
Olgunluk Sonu Halhalı	288,9 mg/100g ^b

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05)

*Kafeik asit cinsinden

Visoli ve Galli (1995), zeytinin fenolik bileşik içeriğinin 50-800 mg/kg arasında bildirmektedir. Bu çalışmada kullanılan Gemlik ve Halhalı çeşidi zeytinler olgunluk başı ve sonunda hasat edilmiş ve toplam fenolik bileşik 206,5 mg/100g ile 314,8 mg/100g (CAE) arasında bulunmuştur ve toplam fenol içeriğinin olgunluk ilerledikçe azaldığı saptanmıştır. Olgunlaşma ile birlikte fenolik maddelerde meydana gelen başlıca değişmeler, büyük molekül ağırlıklı bileşiklerin hidrolizasyonu sonucu tirozol, hidroksitirozol ve elenolik asit glikozitlerinin oluşumudur (Amiot ve ark., 1989). Olgunlaşma sırasında oluşan yeni fenol bileşenlerinin yine çeşide bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir (Amiot ve ark., 1986; Esti ve ark., 1998).

Olgunlaşmanın farklı zeytin çeşitleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bir araştırmada, zeytinlerdeki oleuropein içeriğinin yeşil olumdan siyah oluma kadar olan sürede önemli derecede azaldığı, hidroksitirozol ve elenolik asit glikozitleri miktarının arttığı bildirilmiştir (Amiot ve ark., 1989). Esti ve ark. (1998) olgunlaşma sırasında elenolik asit glikozit, dimetiloluuropein ve hidroksitirozol miktarının arttığını ve oleuropein miktarının düştüğünü belirtmişler ve bunun zeytindeki hidrolik enzimlerdeki aktivitenin artışı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

4.2 Antioksidan Aktivitenin Metanol İçerisinde Değerlendirilmesi

4.2.1 Deneme 1 : DPPH Metodu İle Antioksidan Aktivitenin Değerlendirilmesi

Bu denemede zeytin çeşitlerinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest radikalini tutma kapasiteleri sentetik bir antioksidan olan BHT ile karşılaştırılmıştır.

Fenolik ekstraktların ve BHT'nin DPPH radikalini 60. ve 120. dakikalarda tutma kapasiteleri bulunmuştur.

Başlangıç DPPH konsantrasyonunu %50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonu (EC50), antioksidan aktiviteyi saptamada sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Düşük EC50 değeri yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Diğer bir parametre ise antiradikal etkinlik (AE=1/EC50) veya antiradikal güçtür. Antiradikal etkinliğin yüksek olması antioksidan aktivitenin yüksek olması anlamına gelmektedir (El- Nehir ve Karakaya, 2003).

Zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktlar ile BHT'nin analizi sonucu elde edilen EC50 değeri Çizelge 4.2 ve 4.3'de verilirken; ARP (1/EC50) değeri Çizelge 4.4 ve 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.2 Olgunluk Başı Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin EC50 Değerleri

Antioksidan Kaynağı	Başlangıç DPPH Konsantrasyonunu %50 Azaltma İçin Gereken Antioksidan Miktarı (EC50)	
	60. dakika	120. dakika
Gemlik	0,46 ± 0,06 ^b	0,38 ± 0,004 ^a
Halhalı	0,26 ± 0,012 ^c	0,36 ± 0,012 ^b
BHT	0,50 ± 0,056 ^a	0,37 ± 0,007 ^b

* Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

Antioksidan aktivite sonuçlarının istatistiksel analizlerine göre, olgunluk başında 60. dakika için EC50 değerleri BHT > Gemlik > Halhalı olarak bulunurken; 120. dakika için Gemlik > BHT ≥ Halhalı olarak bulunmuştur. Daha düşük EC50 değeri daha yüksek antioksidan aktivite anlamına geldiğinden örneklerin antioksidan

aktiviteleri 60. dakikada en fazla Halhalı'da, en az BHT'de bulunmuştur, 120. dakikada da en fazla Halhalı ve BHT'de en az ise Gemlik'te bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.3 Olgunluk Sonu Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin EC50 Değerleri

Antioksidan Kaynağı	Başlangıç DPPH Konsantrasyonunu %50 Azaltma İçin Gereken Antioksidan Miktarı (EC50)	
	60. dakika	120. dakika
Gemlik	0,45 ± 0,007 ^c	0,23 ± 0,001 ^c
Halhalı	0,48 ± 0,004 ^b	0,40 ± 0,002 ^a
BHT	0,50 ± 0,056 ^a	0,37 ± 0,07 ^b

* Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır ($p < 0,05$)

Olgunluk sonunda antioksidan aktivite sonuçlarının istatistiksel analizlerine göre, 60. dakika için EC50 değerleri BHT > Halhalı > Gemlik olarak bulunurken; 120. dakika için Halhalı > BHT > Gemlik olarak bulunmuştur. Örneklerin antioksidan aktiviteleri 60. dakikada en fazla Gemlik'te en az BHT'de bulunmuştur, 120. dakikada da en fazla Gemlik'te en az ise Halhalı'da bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.4 Olgunluk Başı Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin Antiradikal Etkinliği (ARP=1/EC50)

Antioksidan Kaynağı	Antiradikal Etkinlik (ARP = 1/EC50)	
	60. dakika	120. dakika
Gemlik	2,197 ± 0,288 ^b	2,607 ± 0,297 ^b
Halhalı	3,899 ± 0,239 ^a	2,798 ± 0,467 ^a
BHT	1,983 ± 0,220 ^c	2,724 ± 0,252 ^a

* Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır ($p < 0,05$)

Fenolik ekstraktların Antiradikal Etkinlik (ARP) sonuçlarının istatistiksel analizlerine göre; İlk derim de 60. dakikada ARP değerleri Halhalı > Gemlik > BHT olarak, 120. dakikada ise Halhalı ≥ BHT > Gemlik olarak bulunmuştur. Daha yüksek olan ARP değeri yüksek antioksidan aktivite anlamına gelir. Burada da en iyi antioksidan aktivite Halhalı'da görülmüştür ($p < 0,05$).

Çizelge 4.5'te verilen olgunluk sonunda fenolik ekstraktların Antiradikal Etkinlik (ARP) sonuçlarının istatistiksel analizlerine göre; 60. dakikada ARP değerleri Gemlik > Halhalı > BHT olarak, 120. dakikada ise Gemlik ≥ BHT > Halhalı olarak

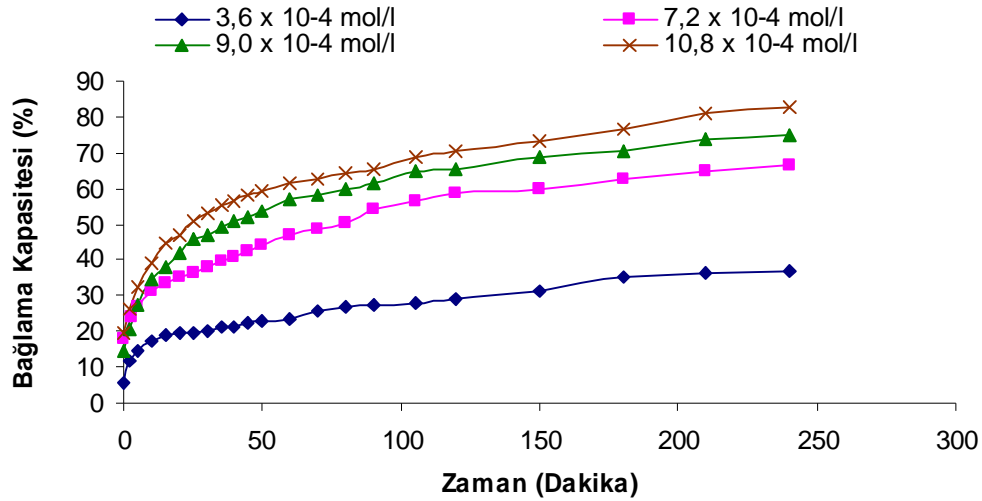
bulunmuştur. 60. ve 120. dakikada en iyi antioksidan aktivite Gemlik'te görülmüştür ($p<0,05$).

Çizelge 4.5 Olgunluk Sonu Zeytin Örneklerinin Fenolik ekstraktlarının ve BHT'nin Antiradikal Etkinliği (ARP=1/EC50)

Antioksidan Kaynağı	Antiradikal Etkinlik (ARP = 1/EC50)	
	60. dakika	120. dakika
Gemlik	2,218 ± 0,369 ^a	2,750 ± 0,209 ^a
Halhalı	2,077 ± 0,179 ^b	2,486 ± 0,128 ^c
BHT	1,983 ± 0,220 ^c	2,724 ± 0,252 ^b

* Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır ($p<0,05$)

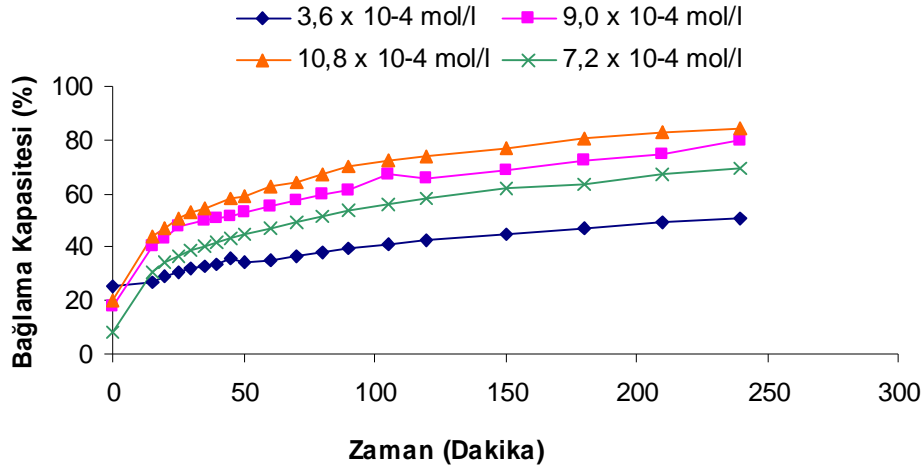
Şekil 4.1'de; olgunluk başı Gemlik örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi verilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi; Olgunluk başı gemlik örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH ile reaksiyonu oldukça yavaş seyretmiştir. Fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama yeteneği konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır.



Şekil 4.1. Olgunluk Başı Gemlik Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi

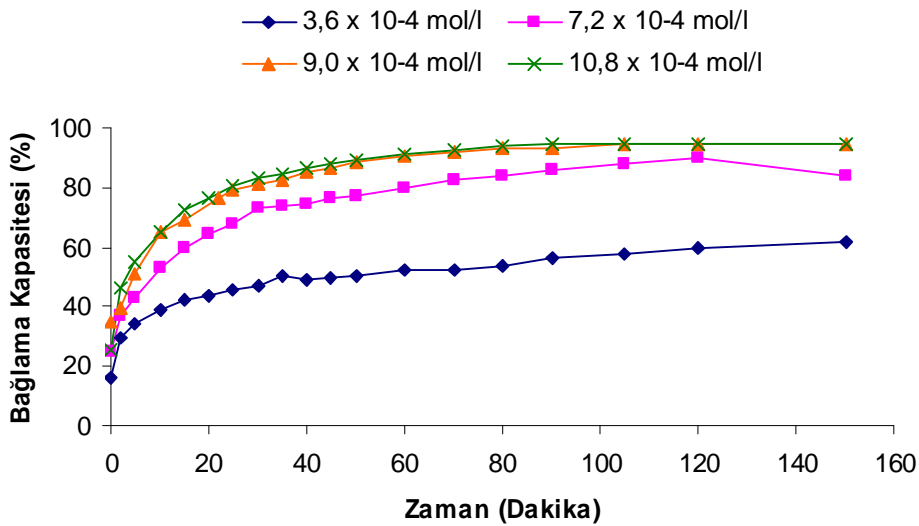
Olgunluk sonu Gemlik örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi ise Şekil 4.2'de verilmiştir. Olgunluk sonu Gemlik örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi de diğer zeytin örnekleriyle aynı şekilde artan konsantrasyon ile artmış $10,8 \times 10^{-4}$

mol/l konsantrasyonunda en iyi $3,6 \times 10^{-4}$ mol/l konsantrasyonunda ise en düşük DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi değerini vermiştir.



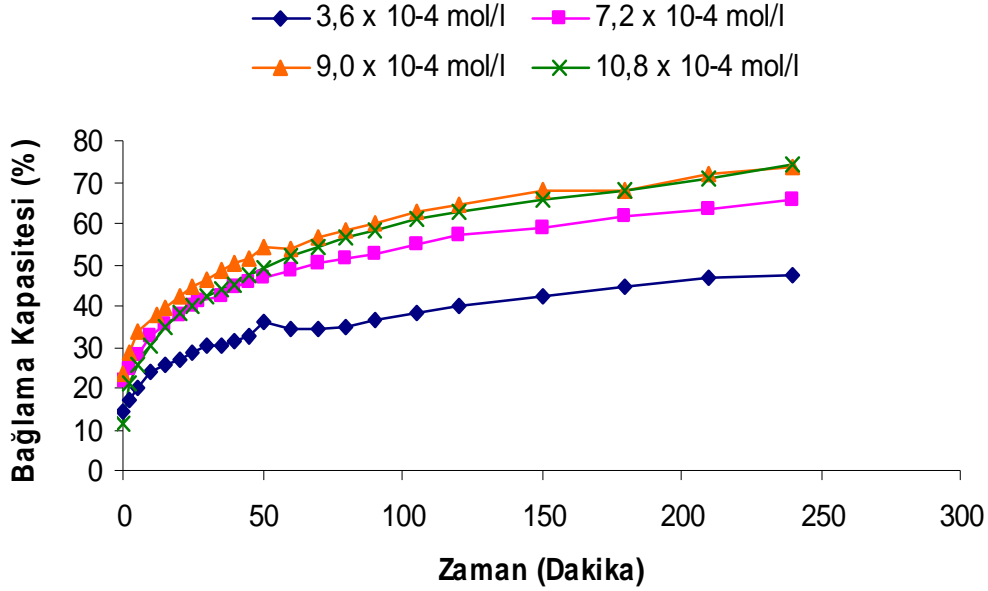
Şekil 4.2. Olgunluk Sonu Gemlik Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi

Olgunluk başı Halhalı örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi Şekil 4.3'te verilmiştir. Burada da fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama yeteneği konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır.



Şekil 4.3. Olgunluk Başı Halhalı Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi

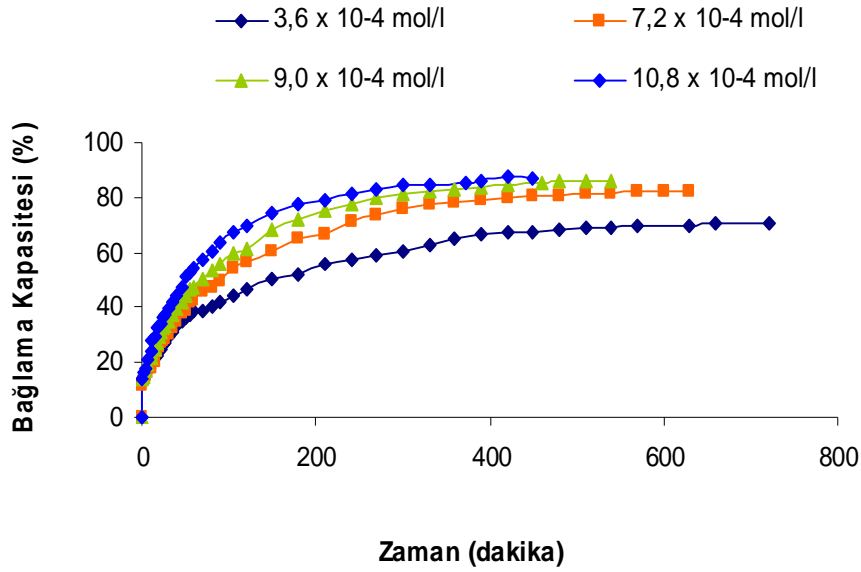
Şekil 4.4'te; olgunluk sonu Halhalı örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi verilmiştir.



Şekil 4.4. Olgunluk Sonu Halhalı Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi

Burada da olgunluk başı Halhalı'da olduğu gibi artan konsantrasyon ile DPPH serbest kökünü bağlama yeteneği artmıştır. Yine $9,0 \times 10^{-4}$ mol/l konsantrasyonu ile $10,8 \times 10^{-4}$ mol/l konsantrasyonunda DPPH serbest kökünü bağlama yeteneğinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Ancak olgunluk başı Halhalı'dan farklı olarak olgunluk sonu Halhalı'da fenolik ekstraktların DPPH ile reaksiyonu daha yavaş seyretmiştir.

Şekil 4.5'te; BHT örneğinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi verilmiştir.



Şekil 4.5. BHT Örneğinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktların DPPH Serbest Kökünü Bağlama Kapasitesi

Burada da zeytin örneklerinde olduğu gibi artan konsantrasyon ile DPPH serbest kökünü bağlama kapasitesi artan konsantrasyon ile artmıştır.

Daha yüksek DPPH kökünü bağlama kapasitesi (%) daha fazla hidrojen verme yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Bu durum daha yüksek antioksidan anlamına gelmektedir (von Gadov ve ark., 1997).

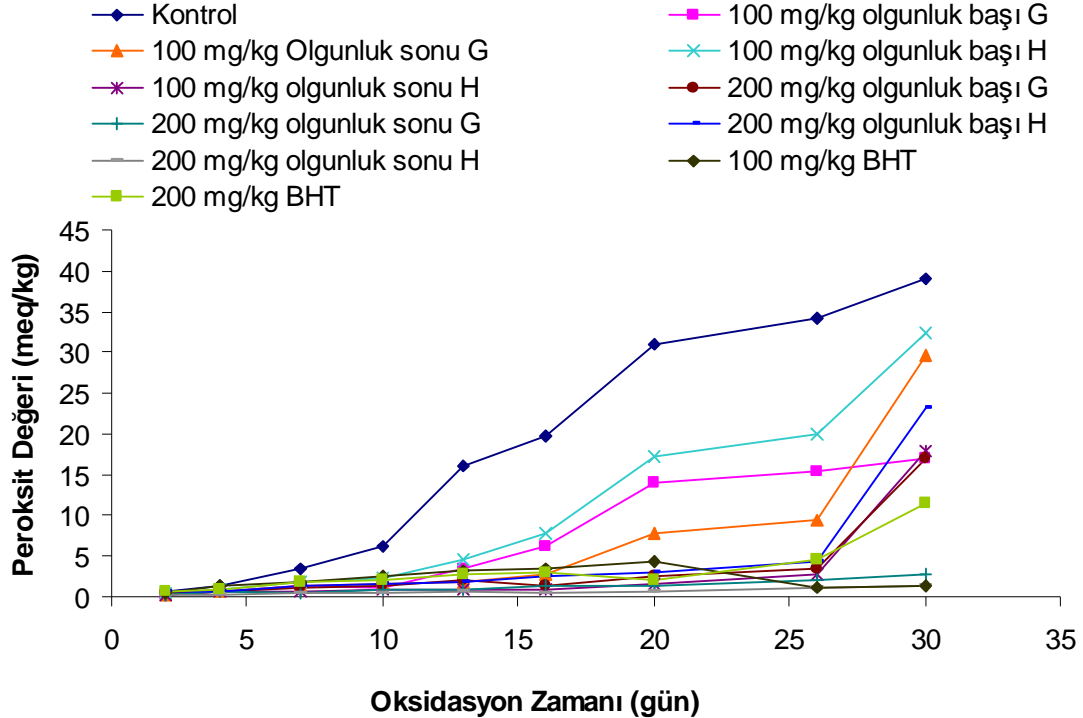
Brand-Williams ve ark. (1995), kafeik asit ferulik ve protokateşik asitin yavaş kinetik davranışlarına rağmen bunların güçlü bir DPPH bağlama kapasitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların DPPH ile yavaş reaksiyon göstermesinin de bu nedenden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3. Antioksidan Aktivitenin Trigliserid Karışımlarında Değerlendirilmesi

4.3.1. Deneme 2 : Zeytinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktlar ve BHT'nin Antioksidan Aktivitesinin 60°C'ye Isıtılan Zeytinyağı İçerisinde Değerlendirilmesi

Substrat olarak ayçiçek yağının kullanıldığı denemelerde fenolik ekstraktların oksidasyonu oldukça hızlı seyretmiştir. Örneklerin tamamı ikinci günde oksitlenmiştir. Bu nedenle örnekler arasında bir farklılık gözlenememiştir. Bunun üzerine örnekler zeytinyağı içerisinde hazırlanmış ve oksitlenmeleri arasındaki fark belirli aralıklarla ölçülerek belirlenebilmiştir.

Zeytin ekstraktları ile BHT; zeytinyağına, 100 mg/kg ve 200mg/kg konsantrasyonlarda eklenip katkılı ve katkısız zeytin yağları 60°C'lik etüvde bekletilmiştir. Bekleme sırasında örneklerin peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler belirli aralıklarla ölçülmüştür. Bu değişimler Şekil 4.6 'da gösterilmektedir.



Şekil 4.6. Zeytin Örnekleri Fenolik Ekstraktlarının ve BHT'nin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

10 meq/kg 'ın üzerinde peroksit değerine sahip olan yağlar ransit olarak değerlendirilmektedirler (Rossell, 1989). Çalışmamızda örneklerin büyük bir kısma depolama süresine bağlı olarak bu değerlerin çok üstüne çıkmışlardır. Şekil 4.6'da substrat olarak zeytinyağını kullanmamızdan dolayı zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların oksidasyonu yavaş seyretmiştir. 100 mg/kg konsantrasyondaki örnekler 200 mg/kg konsantrasyonlara göre daha fazla oksitlenmişlerdir. Özellikle kontrol örneğinin peroksit değeri 30. günde 40 meq/kg'a ulaşmıştır. Peroksit değerine bakılınca ancak olgunluk başında ve olgunluk sonunda elde edilen zeytin ekstraktlarının ve BHT'nin kontrol ile karşılaştırıldığında antioksidan etki gösterdikleri bulunmuştur (Şekil 4.7).

Çizelge 4.6 Olgunluk Başı Örneklerinin 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Peroksit Değerleri

Zeytinyağı İçerisinde 60°C'de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri	Peroksit Değeri
	16. Gün	30. Gün
Kontrol	19,76 ± 2,455 ^a	39,15 ± 0,450 ^a
Gemlik	6,25 ± 1,510 ^b	17,05 ± 2,650 ^b
Halhalı	7,75 ± 1,140 ^b	32,30 ± 3,200 ^a
BHT	3,48 ± 0,450 ^b	11,94 ± 4,040 ^b

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

100 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk başı zeytin örneklerinde 16. günde en yüksek peroksit değerini 19,76 meq/kg ile kontrol, en düşük değeri ise 3.48 ile BHT içeren örnek vermiştir. Peroksit değeri sıralaması Kontrol > Gemlik ≥ Halhalı ≥ BHT şeklinde olmuştur. Yüksek peroksit değeri düşük antioksidan aktivite anlamına geldiğine göre olgunluk başı örneklerinde 16. günde en iyi antioksidan aktiviteyi BHT vermektedir. Ancak Çizelge 4.6'da verilen peroksit değerlerinden de anlaşılacağı gibi BHT, Halhalı ve Gemlik örnekleri arasında önemli bir farklılık yoktur (p<0,05). 30. güne bakıldığında da yine en yüksek peroksit değeri kontrol içeren örneğe (39,15 meq/kg) ait iken en düşük peroksit değeri de BHT içeren örneğe aittir. Diğerlerinin sıralaması Kontrol ≥ Halhalı > Gemlik ≥ BHT şeklinde olmuştur. Yani 100 mg/kg de olgunluk başı ürünlerinde 16. ve 30. günde en iyi antioksidan aktiviteyi gösteren örnek BHT olmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7’de zeytinyağı içerisinde 60⁰C’ye ısıtılan 100 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk sonu örneklerinin 16. ve 30. günlerdeki peroksit değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.7. Olgunluk Sonu Örneklerinin 100 mg/kg Konsantrasyondaki Peroksit Değerleri

Zeytinyağı İçerisinde 60⁰C’de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri 16. Gün	Peroksit Değeri 30. Gün
Kontrol	19,76 ± 2,455 ^a	39,15 ± 0,450 ^a
Gemlik	5,73 ± 3,423 ^b	29,55 ± 0,150 ^b
Halhalı	1,01 ± 0,185 ^b	11,14 ± 1,660 ^c
BHT	3,48 ± 0,450 ^b	11,94 ± 4,040 ^c

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

16. günde olgunluk sonu zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların peroksit değerlerinin sıralaması Kontrol > Gemlik ≥ BHT ≥ Halhalı şeklinde olmuştur. Ancak 16. günde Gemlik, Halhalı ve BHT arasında önemli farklılıklar bulunamamıştır (p<0,05). Burada en yüksek peroksit değeri yani en düşük antioksidan aktivite Kontrol örneğinde iken, en düşük peroksit değeri yani en yüksek antioksidan aktivite ise Halhalı örneğinde görülmüştür (p<0,05). 30.günde peroksit değerlerinin sıralaması Kontrol > Gemlik > BHT ≥ Halhalı şeklinde oluşmuştur. 30. günde de Halhalı ve BHT arasındaki fark önemsiz bulunmuş ve zeytin ekstraktlarının ve BHT’nin kontrol örneği ile karşılaştırıldığında önemli antioksidan etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

100 mg/kg konsantrasyonunda BHT’nin olgunluk başı ve olgunluk sonu zeytin örneklerine göre benzer veya daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur.

200 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk başı örneklerinin 16. ve 30. günlerdeki peroksit değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Olgunluk Başı Örneklerinin 200 mg/kg Konsantrasyondaki Peroksit Değerleri

Zeytinyağı İçerisinde 60⁰C'de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri 16. Gün	Peroksit Değeri 30. Gün
Kontrol	19,76 ± 2,455 ^a	39,15 ± 0,450 ^a
Gemlik	2,17 ± 0,020 ^b	17,00 ± 0,700 ^{bc}
Halhalı	2,51 ± 0,076 ^b	23,25 ± 1,050 ^b
BHT	2,91 ± 0,060 ^b	10,8 ± 3,800 ^c

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

200 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk başı zeytin örneklerinde 16. günde en yüksek peroksit değerini 19,76 meq/kg ile kontrol, en düşük değeri ise 2,17 ile Gemlik çeşidinin fonolik ekstraktını içeren örnek vermiştir. 30. günde de en yüksek peroksit değerini Kontrol, en düşük peroksit değerini ise BHT içeren örnek vermiştir.

Çizelge 4.9 Olgunluk Sonu Örneklerinin 200 mg/kg Konsantrasyonda Peroksit Değerleri

Zeytinyağı İçerisinde 60⁰C'de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri 16. Gün	Peroksit Değeri 30. Gün
Kontrol	19,76 ± 2,455 ^a	39,15 ± 0,450 ^a
Gemlik	1,29 ± 0,065 ^b	2,755 ± 1,025 ^c
Halhalı	0,68 ± 0,000 ^b	1,29 ± 0,350 ^c
BHT	2,91 ± 0,060 ^b	10,8 ± 3,800 ^b

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

Çizelgeden de görüleceği gibi 16. günde Kontrol çözeltisi 19,76 meq/kg peroksit değerine ulaşırken en düşük değeri 0,68 meq/kg ile Halhalı ekstraktını içeren örnek vermiştir. 30. günde ise peroksit değerleri sıralaması Kontrol > BHT > Gemlik ≥ Halhalı şeklinde oluşmuştur. Burada da en iyi antioksidan aktiviteyi Halhalı çeşidine ait fenolik ekstraktı içeren örnek vermiştir.

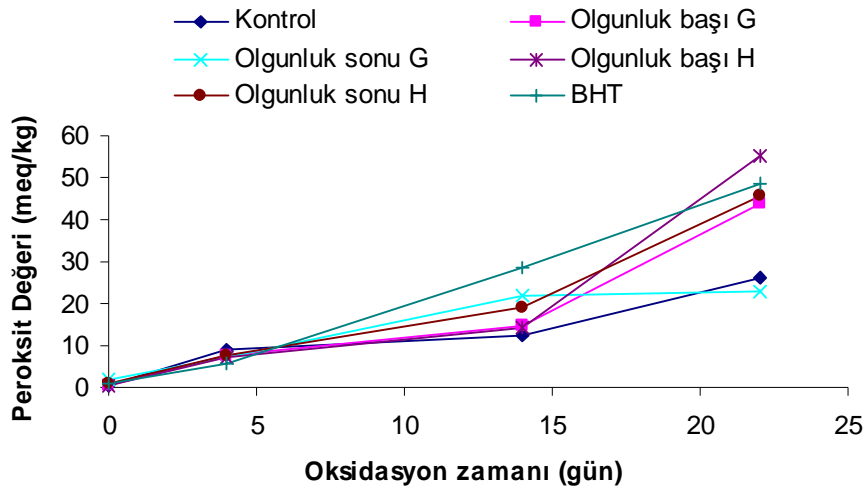
16. ve 30. günde 200 mg/kg konsantrasyonunda zeytin ekstraktlarının BHT ile benzer veya daha etkili oldukları bulunmuştur.

Fenolik bileşiklerin, zeytin ve zeytinyağından elde edilen fenolik ekstraktlarının DPPH radikaline hidrojen verme yatkınlığının BHT, BHA, sitrik asit, tokoferol ve troloxu eşit veya daha yüksek bulunduğu başka araştırmacılarca da gösterilmiştir (Duh ve ark., 1997; Pryzbyliski ve ark., 1998, Keçeli, 2000).

McDonald ve ark. (2000)'e göre fenolik bileşiklerin hidrojen iyonu vermeye yatkınlığı aromatik halkadaki hidroksil gruplarının sayısı ve derecesine bağlı olarak artmaktadır. Diğer taraftan ortodifenol yapısının bulunuşu (örneğin kafeik asitteki gibi) fenolik maddenin antioksidan rol oynamasında çok etkilidir ve iyi bir metal şelatlayıcısı olarak da aktive görmesini sağlar. Yapıda bir metoksi grubunun bulunuşu (örneğin parahidroksi benzoik asitteki gibi) fenoksi radikalının stabilizasyonu nedeni ile antioksidan aktiviteyi yükseltir. oksidasyonu önleme ve hidrojen iyonu verme yatkınlığı ve oksidasyonu önleme etkinliği üzerine oldukça etkilidir (Brand-Williams ve ark., 1995).

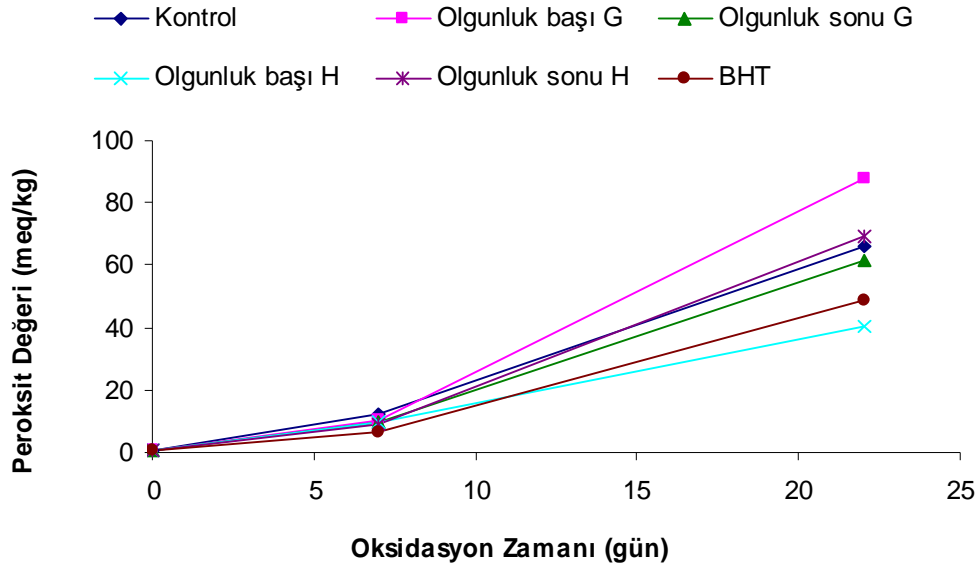
4.3.2 Deneme 3 :Zeytinden Elde Edilen Fenolik Ekstraktlar ve BHT'nin Antioksidan Aktivitesinin 60°C'ye Isıtılan Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde Değerlendirilmesi

Araştırmada yağ-su emülsiyonu ile yapılan çalışmada ayçiçek yağı trigliseridleri substrat olarak kullanıldığından otooksidasyon oldukça hızlı gerçekleşmiştir ve 100 mg/kg konsantrasyonundaki örneklerde oluşan hidroperoksitlerin miktarı Şekil 4.7'de, 200 mg/kg konsantrasyonundaki örneklerin hiperoksit miktarı ise Şekil 4.8'de görülmektedir.



Şekil 4.7 Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişmeler

Burada 22. gün itibari ile örneklerdeki peroksit artışı kontrol örneğinde 26,32 meq/kg, BHT (48,48 meq/kg) iken zeytin örneklerinde bu değer 22,81 meq/kg (Olgunluk sonu Gemlik) ile 55,01 meq/kg (Olgunluk başı Halhalı) arasında olmuştur.

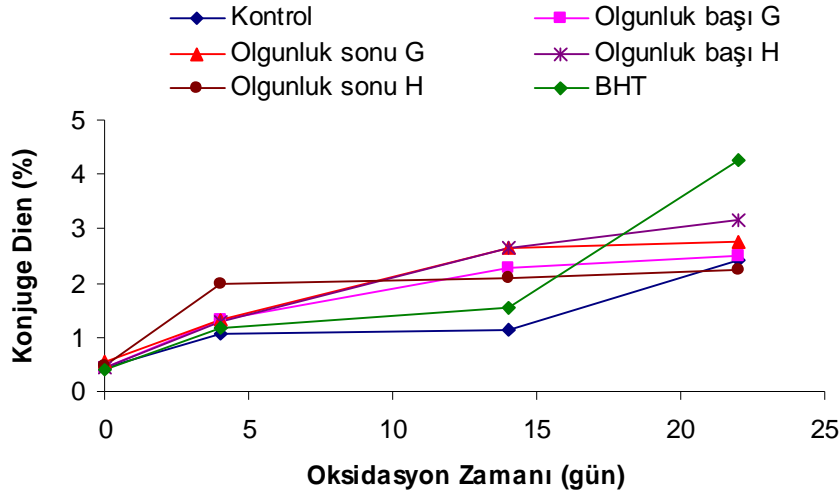


Şekil 4.8 Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Peroksit Değerlerinde Meydana Gelen Değişmeler

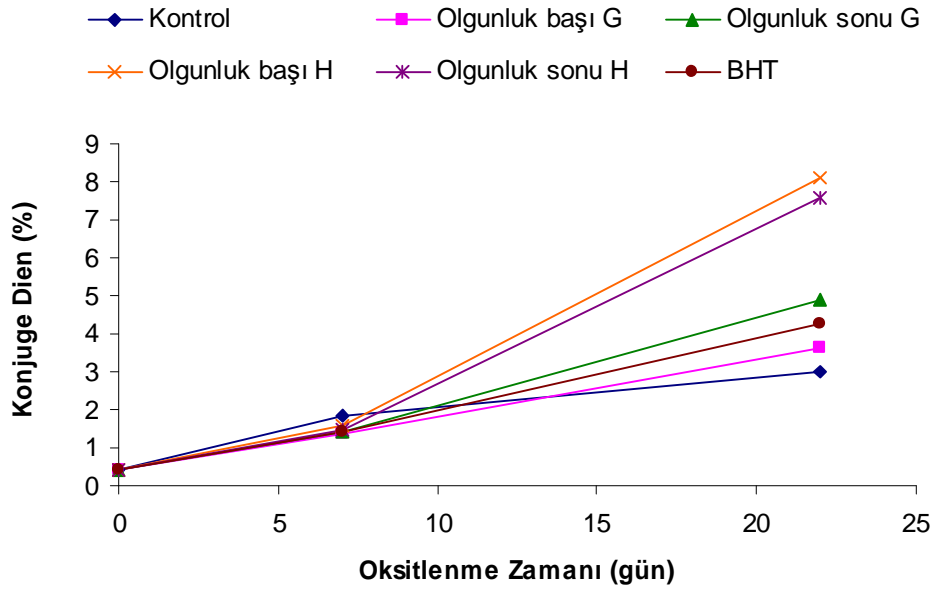
200 mg/kg olarak hazırlanan yağ-su emülsiyonunda da kontrol örneğinin peroksit değeri 22. gün itibari ile kontrol 65,75 meq/kg; BHT 48,48 meq/kg iken zeytin örneklerinde 87,84 meq/kg (olgunluk başı Gemlik) ile 40,14 meq/kg (olgunluk başı Halhalı) arasında olmuştur.

Emülsiyonlar gibi su içeren sistemlerde gözlenen antioksidan aktivite ile yağ sistemlerinde gözlenen aktivite farklıdır. Bunun sebebinin ekstraktlar içerisindeki polifenollerin çözünürlüğünün farklılığı ve hidrofobik/hidrofilik özellikleri olabileceği ileri sürülmektedir (Şkerget ve ark., 2005).

Örneklerin 100 mg/kg konsantrasyonunda konjuge dien değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.9'da, 200 mg/kg konsantrasyonundaki konjuge dien değerleri ise Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 100 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Konjuge Dien Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



Şekil 4.10. Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Örneklerin Konjuge Dien Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Şekil 4.9'da 22.gün sonunda kontrolün konjuge dien değeri 2.42'ye ulaşırken bu değer 100 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk başı Gemlik, olgunluk sonu Gemlik, olgunluk başı Halhalı, olgunluk sonu Halhalı ve BHT için sırasıyla 2.49; 2.77; 3.17; 2.23; 4.26 olarak bulunmuştur.

Şekil 4.10'da görüldüğü gibi 22.gün sonunda konjuge dien değerleri sıralaması olgunluk başı Halhalı > olgunluk sonu Halhalı > olgunluk sonu Gemlik > BHT > olgunluk başı Gemlik > Kontrol şeklinde oluşmuştur.

Ayçiçek yağı-su emülsiyonu içerisinde 60⁰C'ye ısıtılan 200 mg/kg konsantrasyonundaki olgunluk başı örneklerin 7. gün peroksit değerleri Çizelge 4.10'da, olgunluk sonu örneklerinin ki ise Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Ayçiçek Yağı – Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Olgunluk Başı Örneklerinin Peroksit Değerleri

Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 60 ⁰ C'de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri 7.gün
Kontrol	12,18 ± 0,230 ^a
Gemlik	10,27 ± 0,585 ^b
Halhalı	9,53 ± 0,345 ^b
BHT	6,72 ± 0,900 ^c

*Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi ayçiçek yağı su emülsiyonunda 60⁰C'de bekletilen 200 mg/kg konsantrasyonlu olgunluk başı zeytin örneklerinin 7. gününde en yüksek peroksit değerini 12,18 meq/kg değeri ile Kontrol, en düşük peroksit değerini ise BHT vermiştir. Düşük peroksit değeri yüksek antioksidan aktivite anlamına geldiğinden burada en yüksek antioksidan aktiviteyi BHT göstermektedir (p<0,05).

Çizelge 4.11 Ayçiçek Yağı - Su Emülsiyonu İçerisinde 200 mg/kg Konsantrasyonundaki Olgunluk Sonu Örneklerinin Peroksit Değerleri

Ayçiçek Yağı-Su Emülsiyonu İçerisinde 60 ⁰ C'de Bekletilen Örnekler	Peroksit Değeri 7.gün
Kontrol	12,18 ± 0,230 ^a
Gemlik	9,34 ± 0,535 ^b
Halhalı	8,89 ± 0,145 ^b
BHT	6,72 ± 0,900 ^c

* Satırlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasında farklılıklar vardır (p<0,05).

Çizelge 4.11’de görüldüğü gibi örneklerin peroksit değerlerinin sıralaması Kontrol > Gemlik \geq Halhalı > BHT şeklinde oluşmuştur. Burada da en yüksek peroksit değerini Kontrol en düşüğünü ise BHT içeren örnek vermiştir. Yani en yüksek antioksidan aktivite burada da BHT’ye aittir ($p < 0,05$).

%30 ayçiçek yağı-su emülsiyonu ile yapılan bu çalışmada oksidasyon sonunda BHT ve zeytin ekstraktlarının kontrol örneği ile karşılaştırıldığında prooksidan etki gösterdikleri ve BHT’nin suda yağ emülsiyonunda olgunluk başında ve olgunluk sonunda elde edilen zeytin ekstraktlarından daha etkili olduğu bulunmuştur.

BHT yağdaki çözünürlük özelliğinden dolayı yağ içerisinde iyi bir antioksidan aktivite gösterir. Yağ içerisinde çözünürlüğü daha az olan zeytin ekstraktlarının daha çok yağ hava arafazına konsantre olmaları sonucu oluşan serbest köklerini önleme yeteneklerinin BHT’den az olmasından dolayı antioksidan aktiviteleride daha düşük olabilir. Bu durum polar özellikteki antioksidanların yağ içerisinde iyi bir antioksidan aktivite göstermesinin nedenini açıklayan polar paradoks ile uyumludur (Frankel ve ark., 2000). Ancak metanol içerisinde bu ekstraktların iyi çözünme özelliklerinden dolayı antioksidan etkileri artmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada, Hatay'ın Narlıca (Antakya) yöresinde yetiştirilen Halhalı ve Gemlik çeşitlerinden elde edilen ekstraktların antioksidan etkisi sentetik bir antioksidan olan Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

Örneklerin toplam fenol içeriğinin olgunlaşma ile azaldığı en yüksek toplam fenol içeriğinin olgunluk başı Halhalı'da (315 mg/100g) ve en düşüğün ise olgunluk sonu Gemlik'te (207 mg/100g) olduğu belirlenmiştir.

Zeytin örneklerinden elde edilen fenolik ekstraktların antioksidan aktivitelerinin sıralaması 60.dakika ARP değerine göre olgunluk başı zeytin örneklerinde Halhalı > Gemlik > BHT, olgunluk sonu zeytin örneklerinde de Gemlik > Halhalı > BHT olarak bulunmuştur. Buna göre zeytin ekstraktlarının olgunluk başı ve olgunluk sonunda antioksidan aktivitenin BHT'den daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu durum zeytin türlerinde bulunan fenolik bileşiklerin oranlarının farklılığına bağlı olarak antioksidan aktivitenin etkilendiğini göstermektedir. Örneklerimizden elde edilen fenolik ekstraktlar reaksiyon süresine ve konsantrasyona bağlı olarak farklı kök bağlama özellikleri göstermişlerdir. Olgunluk başı Halhalı ve olgunluk sonu Gemlik DPPH serbest kökünü bağlama özelliği bakımından en iyi aktiviteyi göstermiştir ($p < 0,05$).

Zeytinyağının substrat olarak kullanıldığı depolamanın 60°C'de gerçekleştirildiği deneyimizde fenolik ekstraktların antioksidan aktiviteleri 100 mg/kg'da olgunluk başı zeytin örneklerinde sıralama Kontrol \geq Halhalı > Gemlik \geq BHT olarak, olgunluk sonu zeytin örneklerinde de Kontrol > Gemlik > BHT \geq Halhalı olarak belirlenmiştir. 200 mg/kg'da olgunluk başı zeytin örneklerinin peroksit değeri sıralaması Kontrol > Halhalı > Gemlik > BHT şeklinde, olgunluk sonu zeytin örneklerinin sıralaması Kontrol > BHT > Gemlik \geq Halhalı şeklinde oluşmuştur. Olgunluk başı ve olgunluk sonunda elde edilen zeytin ekstraktlarının yağ içerisinde lipid oksidasyonunu önleme bakımından antioksidan etkisi gösterdiği ancak bu etkinin 100 mg/kg'da BHT ile benzer olduğu, 200 mg/kg'da ise olgunluk sonu zeytin ekstraktlarının BHT'den daha etkili olduğu bulunmuştur.

Ayçiçek yağı - su emülsiyonunda yapılan çalışmada fenolik ekstraktların antioksidan aktiviteleri 100 mg/kg'da olgunluk sonu Gemlik > Kontrol > olgunluk

başı Gemlik > olgunluk sonu Halhalı > BHT > olgunluk başı Halhalı olarak, 200 mg/kg'da ise olgunluk sonu Gemlik > olgunluk başı Halhalı > Kontrol > olgunluk başı Gemlik > BHT > olgunluk sonu Halhalı olarak belirlenmiştir. Suda yağ emülsiyonunda zeytin ekstraktlarının lipit oksidasyonunu önlemede prooksidan etki gösterdiği ve BHT'den daha az etkili olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Olgunluk başı ve olgunluk sonunda Gemlik ve Halhalı zeytinlerinden elde edilen fenolik ekstraktlar gıda endüstrisinde de yaygın olarak kullanılan BHT ile karşılaştırıldığında kullanılan test sistemine bağlı olarak antioksidan etkilerinin değiştiği bulunmuştur. Gemlik ve Halhalı zeytinlerinden elde edilen fenolik ekstraktların metanol içerisinde BHT'den daha etkili olduğu, yağ içerisinde BHT ile benzer veya BHT'den daha etkili olduğu ve suda yağ emülsiyonunda ise antioksidan etkilerinin iyice azaldığı prooksidan etkili oldukları bulunmuştur. Doğal zeytin ekstraktlarının içindeki polifenollerin polar/apolar özelliklerinin antioksidan veya prooksidan etki göstermelerinde oldukça etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Doğal ekstraktların antioksidan etkileri araştırılırken bu etkinin farklı test sistemlerinde (metanol, yağ ve suda yağ emülsiyonları) araştırılması antioksidan etkilerinin doğru belirlenmesi bakımından çok önemlidir.

KAYNAKLAR

- AKTAN, N., ve KALKAN, H., 1999. Sofralık Zeytin Teknolojisi., İzmir : Ege Üniversitesi, 122
- ALTAN, A., 1989. Yemeklik Yağ Teknolojisi Ders Notları, Ç.Ü. ziraat Fakültesi, Adana.
- AMIOT, M. – J., FLEURIET, A. ve MACHEIX, JEAN-JACQUES., 1986. Importance and Evolution of Phenolic Compounds in Olive During Growth and Maturation. J. Agric. Food Chemistry, 34 (5) : s. 823- 826.
- AMIOT, M.-J., FLEURIET, A. and MACHEIX, JEAN-JACQUES., 1989. Accumulation of Oleuropein Derivatives During Olive Maturation. Phytochemistry, 28 (1): p. 67-69.
- ANGEROSA, F., MOSTALLINO, R., BASTI, C., VITO, R. and SERRAIOCCO, A., 2000. Virgin Olive Oil Differentiation in relation to Extraction Methodologies. J. Sci. Food Agric. 80 , 2190-2195
- ANONYMOUS, 2006a. Bademli Fidancılık Tarımsal Kalkınma Kooperatifi
www.bademlikoop.org.tr/zeytiny.html
- ANONYMOUS, 2006b, Modern Zeytincilikte Kültürel İşlemler
www.zae.gov.tr/yetiştirme/41.asp
- ANONYMOUS, 2006c, Modern Zeytincilikte Kültürel İşlemler
www.zae.gov.tr/yetiştirme/44.asp
- ANATOLOVICH M., Suzy McDonald, Paul D. Prenzler, Michael ve Kevin Robards, 2000. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts. School of Science and Technology, Charles Sturt University, PO Box 588
- A.O.C.S. Official Method Cd 8-53, 1989
- A.O.C.S. Official Method Ti 1a-64, 1989
- AWAD, M.A., DE JAGER, A. 2003. Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. Postharvest Biology and Technology, (27), 53-58.

- BALDIOLI, M., SERVILI, M., PERETTÌ, G., ve MONTEDORO, G. F., 1996. Antioxidant Activity of α -Tocopherol and Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil. *JAOCC*, 73 : 1589-1593
- BELTRAN, G., AGUILERA, M. P., DEL RÍO, C., SANCHEZ, S., MARTINEZ, L., 2005. Influence of Fruit Ripening Process on the Natural Antioxidant Content of Hojiblanca Virgin Olive Oils, *Food Chemistry* 89 (2005) 207 – 215.
- BIANCO, A., LA SCALZO, R. VE SCARPATÌ, M. L., 1993. Isolation of Carnoside from *Olea europaea* and Its Transformation into Halleridone. *Phytochemistry*, 32(2): s. 455-457.
- BOSKOU, D., 1996. Olive Oil Chemistry and Technology. Department of Chemistry Aristotle University of Thessaloniki. Thessaloniki, Greece.
- BRENES-BALBUENA, M., ROMERO, C., GARCIA, P. AND GARRIDO, A., 1995. Effect of pH on the Colour Formed by Fe-Phenolic Complexes in Ripe Olives. *J. Sci. Food Agric.*, 67: p. 35-41.
- BRENES, M., GARCIA, A., GARCIA, P., RIOS, J. J. and GARRIDO, A., 1999. Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 43 (9): 3535-3540
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E. & BERSET, C., 1995. Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28,ü 25-30
- CARUSO, D., COLOMBO, R., PATELLÌ, R., GIÀVARINI, F. And GALLI, G., 2000. RAPID EVALUATION of Phenolic Component Profile and Analysis of Oleuropein Aglycon in Olive Oil by Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry (APCI-MS). *J. Agric. Food Chem.*, 48 (4); 1182-1185
- CHEN, J. H. ve HO, C-T., 1997. Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (7) :s. 2374 – 2378
- CORDENUNSI, B.R., GENOVESE, M.I., NASCIMENTO, J.R.O., HASSIMOTTO, N.M.A., SANTOS, R.J., AND LAJOLO, F.M. 2004. Effects of temperature

on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. Food Chemistry, article in press.

DIE, 2001. www.die.gov.tr

DIRAMAN, H., 2000. Zeytinyağı Kalitesine Etki Eden Faktörlere Genel Bir Bakış. Gıda, 2000 (11), 88 – 93

DISILVESTRO, R.A. 2001. Flavonoids as Antioxidants. In R.E.C. Wildman (ed), Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. CRC Press, USA.

DUH P. D., YEN W. J., DU, PİN-CHAN., and YEN, GOW-CHİN, 1997. Antioxidant Activity of Mung Bean Hulls. JAOCS 74: 1059-1063

EL-NEHIR, S. VE KARAKAYA, S., 2003. Bazı Bitkisel Gıdaların Antioksidan Aktivitelerinin Saptanması. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, TMMOB Gıda Mühendisliği Odası 2 – 4 Ekim, Ankara : s. 253- 266

ESTI, M., CINQUANTA, L. ve LA NOTTE, E., 1998. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties. J. Agric. Food Chemistry, 46 (1) :s. 32 -35

FAULKS, R.M., SAUTHON, S. 2001. Carotenoids, Metabolism and Disease. In R.E.C. Wildman (ed), Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. CRC Press, USA.

FEDELI, E. 1985. Flovar Chemistry of Olive Oil. 76th Amer. Oil Chem. Soc. Annual_Abst.

FRANKEL, E. N., ve MEYER, A. S., 2000. The Problems of Using One – Dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food and Biological Antioxidants. J. Sci. Food Agric., 80 (13) :s. 1925 - 1941

GALLI, C., VE VISIOLI, F., 1999. Antioxidant and other Activities of Phenolics in Olives/Olive Oil, Typical Components of the Mediterranean Diet. Lipids, 34 (Supplement) : s. 23 - 26

GALLI, C., VISIOLI, F., CARUSO, D. AND GALLÌ, G., 2004. Biological Properties of Phenol Present in Extra Virgin Olive Oil. Department of Pharmacologica School of Pharmacy, Milan Italy, <http://www.carapellifiranze.it>

GAULEJAC, N. S. – C., PROVOST, C. VE VIVAS, N., 1999. Comparative Study of Polyphenol scavenging Activities Assesed by Different Methods. J. Agric. Food Chem., 47 (2) : s 425 – 431

- GÖKCE, H., ED. 1991. Standard Zeytin Çeşitleri Katalogu. Yayın No 334. T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Yayın Dairesi Başkanlığı: Ankara. 107.
- GUTFINGER, T., 1981. Polyphenols in Olive Oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 58 : 966 – 968
- HEINONEN, I.M. 2002. Antioxidants in Fruits, Berries and Vegetables. In W. Jongen (ed), fruit and vegetable processing – improving quality. CRC Press, USA.
- KARADENİZ, F., ve EKŞİ, A., 2001. Elma Suyunda Fenolik Madde Dağılımı Üzerine Araştırma. Tarım Bilimleri Dergisi 2001, 7 (3) : s 135 - 141
- KEÇELİ, T., 2000. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Olive Oil Phenolics, in Food Science and Technology. The University of Reading : Reading 312 s.
- KEÇELİ, T., ve GORDON, M. H., 2001. The Atioxidant Activity and Stabillity of the Phenolic Fraction of Green Olives and Extra Virgin Olive Oil. J. Sci. Food and Agric., 81 :s. 1391 – 1396.
- KRISTAKIS, A. K., 1998. Olive Oil. From Tree to the Table. 2nd Edition. Food & Nutrition Pres., Inc., 347 s.
- LANGSETH, L. 2000. Antioxidants and Their Effect on Health. In M.K. Schmidl and T.P. Labuza (eds), Essentials of Functional Foods. Aspen Publication, USA.
- Le TUTOUR, B., ve GUEDON, D., 1992. Antioxidative Activities of Olea europea Leaves and Retated Phenolic Compounds. Phytochemistry, 31 (4) : s. 73 – 74
- MARNETT, L. J., 1999. Lipid Peroxidation – DNA Damage by Malondialdehyde, Mut Rest – Fund Mol Mech Mutagen , 424 , 83 – 95
- MASLAROVA, N.V.Y. 2001. Inhibiting Oxidation. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, and M. Gordon (eds), Antioxidants in food. CRC Press, USA.
- McDONALD, S., PRENZLER, P. D., ANTOLOVICH, M. VE ROBARDS, K., 2001. Phenolic Content and Antioxidant Avtivity of Olive Extracts. Food Chemistry, 73 (1) : s. 73 -74

- MEAD, R., CURNOW R. N., HASTED A. M., 1993. Statistical Methods in Agriculture and Experimental Biology 2nd ed. London: Chapman & hall. s. 300.
- MEYER, A.S., SUHR, K.I., AND NIELSEN, P. 2000. Natural Food Preservatives. In T. Ohlsson and N. Bengtsson (eds), Minimal processing technologies in the food industry. CRC Press, USA.
- MILED, D.D. B., SMAOUI, A., ZAROUK, M. and CHERIFT, A., 2000. Do Extraction Procedures Affect Olive Oil Quality and Stability. Biochem., Soc. Trans 28, 929-933
- MONTEDORO, G., BERTUCCIOLÌ, M. And ANICHINI, F. 1978. Aroma Analysis of Virgin Olive Oil By Head Space Volatiles And Extraction Techniques. In Flovar Foods and Beverages. Chemistry and Technology. G. Charalampous And G. Inglett, eds. Academic Pres, N. Y.
- NAS, S., GÖKALP, H. Y., ÜNSAL, M., 1992. Bitkisel Yağ Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum.
- NENADIS, N., ZAFIROPOULOU, I. ve TSIMIDOU, M., 2003. Commonly Used Food Antioxidants : A Comparative Study in Dispersed Systems. Food chemistry, 82 (3) : s. 403 - 407
- NERGİZ, C. ve ÜNAL, K., 1989. Natürel Zeytinyağında Bulunan Fenolik Bileşikler ve Stabiliteye Olan Etkileri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri : B Gıda Mühendisliği, Cilt :7 Sayı :2, 119 – 127
- NYSKA, A., KOHEN, R., 2002. Oxidation of Biological Systems : Oxidative Stress Phenomena, Antioxidant, Redox Reactions and Methods for Their Quantification., Toxicol Pathol, 30, 620 – 650
- OWEN, R. W., GIACOSA, A., HULL, W. E., HAUBNER, R., WURTELE, G., SPIGELHALDER, B. ve BARTSCH, H., 2000. Olive – Oil Consumption and Health : The Possible Role of Antioxidants. The Lancet Oncology, 1 (2) : s. 107 – 112
- PALA, Y., NOGAY, A., DAMGACI, E. ve ALTIN, M., 2001. Zeytin Bahçelerinde Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal

- Araştırmalar Genel M¼d¼rl¼ę¼, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı.
<http://www.tagem.gov.tr/yeni%20web/YAYINLAR/ZEYTIN/10.html>
- PINCHUK, I., SCHNİTZER, E., LICHTENBERG, D., 1998. Kinetic Analysis of Copper-Induced Peroxidation of LDL, *Biochim Biophys Acta – Lipids Lipid Metab*, 1389, 155 – 172
- PRYZBİSKİ R., and ESKİN, N. A. M., LEE, Y. C., 1998. Antioksidant and Radical Scavenging Activities of Buckwheat Seed Compensents. *JAOCS* 75:1595-1601.
- ROBARDS, K., PRENZLER, P. D., TUCKER, G., SWATSITANG, P. ve GLOVER, W., 1999. Phenolic Compounds and Their role in Oxidative Process in Fruits. *Food Chemistry.*, 66 (4) : s. 401 - 436
- RYAN, D., ve ROBARDS, K., 1998. Phenolic Compounds in Olives. *Analyst*, 123 (5) : s. 31R – 44R
- RYAN, D., ROBARDS, K. ve LAVEE, S., 1999a. Determination of Phenolic Compounds in Olives by Reversed Phase Chromatography and Mass Spectrometry. *J. Chromatography*, 832 (1 - 2) :s 87 – 96
- RYAN, D., ROBARDS, K. ve LAVEE, S., 1999b. Changes in Phenolic Content of Olive During Maturation. *International Journal of Food Science & Tecnology*, 34 (3) : p. 265 – 274
- RYAN, D., LAVEE, S., PRENZLER, P. D., ANTOLOVICH, M. ve ROBARDS, K., 2001. Biotransformations of Phenolic Compounds in *Olea europea* L. s. 150 -152
- RYAN, D., LAWRENCE, H., PRENZLER, P. D., ANTOLOVICH, M. ve ROBARDS, K., 2001 Recovery of Phenolic Coumpounds from *Olea europea*. *Analytica Chimica Acta*, 445 : s. 75-78
- SAIJA, A., TROMBETTA, D., CASCIÒ, R., PRINCI, P., UCCELLA, N., BONINA, F. ve CASTELLI, F., 1998. ‘In Vitro’ Evaluation of the Antioxidant Activity and Biomembrane Intraction of the Plant Phenols Oleuropein and Hydroxytyrosol. *İnternational Journal of Pharmaceutics*, 166 (2) : s. 123 – 133.

- SÁNCHEZ – MORENO, C., LARRAURI, J. ve SAURA – CALIXTO, F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 76 (2) : s. 270 – 276
- SHI, H., NOGUCHI, N., AND NIKI, E. 2001. Introducing Natural Antioxidants. In J. Pokorny, N. Yanishlieva and M. Gordon (eds), *Antioxidants in food*. CRC Press, USA.
- ŠKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., RIŽNER HRAS, A., SIMONIČ, M. ve KNEZ, Ž., 2005. Phenols, Proantocyanidins, Flavones and Flavonols in Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities. *Food Chemistry*, 89 (2) : s. 191- 198
- STAUE, M. T., HUANG, S.M. ve FRANKEL, E. N., 1995. Effect of Natural Antioxidants in Virgin Olive Oil on Oxidative Stability of Refined, Bleached And Deodorized Olive Oil. *JAOC* 72, 1131-1137
- TARIM ve KÖY İŞLERİ BAKANLIĞI, 2003. Tebliğ no: 44
- TİRYAKI, G. Y. VE KARAMAN, H. T., 2004. Erken Hasadın Zeytinyağı Kalitesi Üzerine Etkileri 8. Ulusal Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2004, Bursa
- TUCK, K. L. and HAYBALL, P. J., 2002. Major Phenolic Compounds in Olive Oil: Metabolism and Health Effects. *J. Nutr. Biochem.*, Nov., 13 (119): 636-644
- VINHA, A., F., FERRERES, F., SILVA, B. M., VALENTÃO, P., GONÇALVES, A., PEREIRA, J. A., OLÍVERIA, M. B., SEABRE, R. M. ve ANDRADE, P. B., 2005. Phenolic Profiles of Portuguese Olive Fruits (*Olea europaea* L.) : Influence of Cultivar and Geographical Origin. *Food Chemistry*, 89 (4) : s. 561 – 568
- VISIOLI, F., ve GALLI, C., 1994. Oleuropein Protects LDL from Oxidation. *Life Sciences*, 55 (24) : s. 1965 – 1971
- VISIOLI, F., ve GALLI, C., 1995. Natural Antioxidants and Prevention of Coronary Heart Disease: The Potential Role of Olive Oil and Its Minor Constituents. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 5 (4): s. 306-314
- VISIOLI, F., BELLOMO, G. ve GALLI, C., 1998. Free Radical-Scavenging Properties of Olive Oil Polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 247 (1) : s. 60 -64

- VISIOLI, F. and GALLI, C., 2001. Antiatherogenic Compensents of Olive Oil. *Curr. Ath. Rep. Jan.*, 3 (1): 64-67
- VISIOLI, F. and GALLI, C., 2002. Biological Properties of Olive Oil Phytochemicals. *Crit. Rev. Food Sci., Nutr.*, 42 (3): 209-218
- VISIOLI, F., POLI, A. and GALLI, C., 2002. Antioksidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil. *Med. Res. Rev.*, Jan., 22 (1): 65-75

ÖZGEÇMİŞ

30.12.1979 tarihinde Adana'da doğdum. İlkokulu Çukurova İlkokulu'nda, ortaokulu Abdürrahim Gizer İlköğretim Okulu'nda ve liseyi de Çağrı Bey Lisesinde tamamladım. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde 1998 yılında başladığım lisans eğitiminden 2003 yılında mezun oldum ve aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilimdalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.