

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ZEYTİN YAPRAĞI İLAVESİ İLE AYVALIK ÇEŞİDİ ZEYTİN MEYVESİNDEN
ÜRETİLEN NATÜREL ZEYTİNYAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

Emine DOĞRU

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2019

Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK'in danışmanlığında Emine DOĞRU'nun hazırladığı “**Zeytin Yaprağı İlavesi İle Ayvalık Çeşidi Zeytin Meyvesinden Üretilen Natürel Zeytinyağının Oksidatif Stabilitesinin Belirlenmesi**” konulu bu çalışma 22/11/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman: Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Abdulkerim HATİPOĞLU

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Yasin YAKAR

Bu Tezin Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ

Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 17120

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.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL ve METOD	13
3.1. MATERYAL	13
3.2. METOD	14
3.2.1. Serbest asitlik tayini	14
3.2.2. Peroksit değeri tayini	14
3.2.3. Toplam fenolik madde tayini	14
3.2.4. Antioksidan kapasite tayini.....	14
3.2.5. İndüksiyon süresi tayini	15
3.2.6. Renk tayini	15
3.2.7. Yağ asitleri kompozisyonu tayini	15
3.2.8. UV ışığında Özgül absorbands tayini	16
3.3. İstatistiksel analizler	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	17
4.1. Kimyasal Parametreler	17
4.1.1. Serbest asitlik.....	18
4.1.2. Peroksit değeri	19
4.1.3. Toplam fenolik madde	21
4.1.4. Antioksidan kapasite.....	22
4.1.5. İndüksiyon süresi	24
4.1.6. Renk.....	25
4.1.7. Yağ asitleri bileşimi	27
4.1.8. UV ışığında özgül absorbands	30
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ZEYTİN YAPRAĞI İLAVESİ İLE AYVALIK ÇEŞİDİ ZEYTİN MEYVESİNDEN ÜRETİLEN NATÜREL ZEYTİNYAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

Emine DOĞRU

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK
Yıl: 2019, Sayfa: 40

Bu çalışmada, zeytin yaprağı ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağı örneklerinin oksidatif stabilitesinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla, kontrol ve iki farklı oranda (%2 ve %4) zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağı örneklerinin serbest asitlik, peroksit değeri, toplam fenolik madde, antioksidan kapasitesi, indüksiyon süresi, yağ asitleri kompozisyonu, UV özgül absorbans değeri, renk değişimleri 12 aylık depolama periyodu boyunca analiz edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, kontrol örneğine oranla, yaprak ilavesi ile üretilen natürel zeytinyağı örneklerinde serbest asitlik (% oleik asit) ve peroksit değerinde (meq O₂/kg) önemli düzeyde azalma, fenolik madde içeriği (mg CAE/kg), antioksidan kapasite (%) ile indüksiyon süresi (saat) değerinde ise önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Depolama periyodunun 12. ayında, natürel zeytinyağı örneklerinde serbest asitlik değeri %1.246 (oleik asit), peroksit değeri 2.176 meq O₂/kg, fenolik madde içeriği 162.338 mg CAE/kg, antioksidan kapasite (%) 53.350, indüksiyon süresi (saat) değeri 10.561, K232 değeri 2.424, K270 değeri ise 0.243, olarak hesaplanmıştır. Bu değerlendirmeler ışığında, iki farklı oranda (%2 ve 4) yaprak ilavesi yapılarak üretilen natürel zeytinyağının amber şişede oda şartlarında 12 aylık süre ile oksidatif stabilitesini koruduğu ve güvenli bir şekilde depolanabileceği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Natürel zeytinyağı, zeytin yaprağı, fenolik madde, indüksiyon süresi

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF OXIDATIVE STABILITY OF NATURAL OLIVE OIL CONTAINED OF OLIVE LEAF OF AYVALIK VARIETIES

Emine DOĞRU

**Harran University
Institute of Natural and Applied Science
Department of Food Engineering**

**Supervisor: Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK
Year: 2019, Page: 40**

In this study, it was aimed to determine the oxidative stability of natural olive oil samples produced with adding different ratios of olive leaves. Forth is purpose, control sample and natural olive oil samples produced with adding two different ratios (2% and 4%) of olive leaves were analyzed for free acidity, peroxide value, total phenolic content, fatty acid composition, antioxidant capacity, UV specific absorbance value and color changes for during storage period. As a result of the statistical evaluation, natural olive oil samples produced with the addition of leaves had significant decrease in free acidity (% oleic acid), peroxide value (meq O₂/ kg), increase in phenolic content (mg CAE/ kg), antioxidant capacity (%) and induction time (h). There were no difference between natural olive oil samples produced with adding two different ratios of olive leaves except for the induction time (h). Acidity values, peroxide values, phenolic contents, antioxidant capacity and induction time of natural olive oils at the end of storage period were as %1.246 (oleic acid), 2.176 meq O₂/kg, 162.338 mg CAE/kg, (%) 53.350 and 10.561 h. As a result, it was concluded that natural olive oil produced with adding two different ratios of leaves were maintained the oxidative stability under room conditions and can be stored safely for 12 months.

KEY WORDS: Virgin olive oil, olive leaf, oxidative stability, color, phenolic content, induction time

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın konu seçiminde ve çalışmanın gerçekleőtirilmesi aőamasında, her turlu konuda ilgi ve alakasını esirgemeyen baőtta danıőmanım sayın Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK'e ve Araő. Gör. Naciye ÜNVER'e, çalışma süresince bana yardımcı olan arkadaőtım Gıda Yük. Müh. İőra YİŐİTVAR'a ve hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teőkür ederim.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Natürel zeytinyağı üretim akım şeması	173
Şekil 4.1. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının serbest asitlik değerinin depolama periyodu boyunca değişimi	189
Şekil 4.2. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının peroksit değerinin depolama periyodu boyunca değişimi	260
Şekil 4.3. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının toplam fenolik madde miktarının depolama periyodu boyunca değişimi	262
Şekil 4.4. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının antioksidan kapasitenin depolama periyodu boyunca değişimi	273
Şekil 4.5. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının indüksiyon süresinin depolama periyodu boyunca değişimi	285

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4. 1. Natürel zeytinyağının bazı kimyasal parametrelere ilişkin varyans analiz sonuçları	17
Çizelge 4. 2. Natürel zeytinyağının bazı kimyasal parametrelerine ilişkin ortalama değerler ve oluşan gruplar ..	18
Çizelge 4. 3. Natürel zeytinyağının renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları	26
Çizelge 4. 4. Natürel zeytinyağının renk değerlerine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar	26
Çizelge 4. 5. Natürel zeytinyağının yağ asitleri bileşimine ait varyans analiz sonuçları	27
Çizelge 4. 6. Natürel zeytinyağının yağ asitleri bileşimine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar	28
Çizelge 4. 7. Natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları	30
Çizelge 4. 8. Natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar	31





1. GİRİŞ

Dünyada zeytin ağacı tarımı, 30-40° enlemler arasında gerçekleşmekte ve bu ağaçların yaklaşık %98'i Akdeniz havzasında yer almaktadır (Peralbo-Molina ve Castro 2013; Talhaoui ve ark. 2015). Türkiye'de zeytin meyvesi üretimi Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yoğunlaşmıştır (Yavuz ve Gürbüz., 2000). Ege bölgesi, zeytin üretiminin %80,5 ile ilk sırada yer almakta, bu bölgeyi %11.8 ile Akdeniz, %6.1 ile Marmara ve %1.6 ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi takip etmektedir.

Genel olarak zeytin meyvesi %50 su, %1.6 protein, %22 yağ, %19.1 karbonhidrat, %5.8 selüloz ve %1.5 mineral maddelerden oluşmaktadır. Meyvenin diğer önemli bileşenleri ise pektin, organik asitler, pigmentler ve fenol glikozitlerdir. Zeytinyağı kalitesi ve bileşimini, meyvenin olgunluk durumu, tür ve çeşit özelliği, hasat zamanı ve şekli, nakil, depolama koşulları ve işleme teknolojisi etkilemektedir (Boskou, 1996; Yemişçioğlu ve ark., 2005).

Zeytinyağı, zeytin ağacı (*Olea europea* L.) meyvesinin fiziksel ve mekanik işlemler sonucu elde edilen, yeşilden sarıya doğru değişen renkte kendine özgü tat-koku ve aroması olan, rafine edilmeden tüketilebilen bir yağdır. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde (Tebliğ No: 2017/26), natürel zeytinyağını, zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında, sadece yıkama, dekantasyon, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi mekanik veya fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen; kendi kategorisindeki ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini taşıyan yağlar olarak tanımlamaktadır. Ayrıca, anılan tebliğde natürel zeytin yağını serbest yağ asitliği içeriğine göre, natürel zeytinyağı (doğrudan tüketime uygun, serbest yağ asitliği en fazla %0.8 oleik asit), natürel birinci zeytinyağı (doğrudan tüketime uygun, serbest yağ asitliği en fazla %2.0 oleik asit) ve ham zeytinyağı/rafinajlık (serbest yağ asitliği %2.0 oleik asitten fazla olan ve duyuşsal ve karakteristik özellikleri bakımından doğrudan tüketime uygun olmayan, rafinasyon veya teknik amaçlı kullanıma uygun yağlar) olarak 3 sınıfa ayrılmaktadır (Anonim, 2017)

Zeytinyağının kalitesi, çeşit, toprak, iklim gibi çeşitli faktörlerden etkilenecek değişmektedir. Ayrıca yağlardaki lezzet kaybının da gelişme devresindeki hava koşulları,

bununla ilgili olarak haşere ve hastalıkların etkileri, hasat, taşıma, depolama, yağ ekstraksiyon tekniği, yağların yabancı madde ve rutubetten arıtılma derecesi ile saklama süresince kullanılan kapların cinsi ve temizlikleri gibi birçok faktörün etkilerine göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Zeytinyağının %98'i sabunlaşan fraksiyon (trigliserid, yağ asidi esterleri gibi), %2'lik kısmı ise sabunlaşmayan maddeler (sterol, fenoller, pigment, flavonoid ve uçucu bileşenler) oluşturmaktadır (Cavalli ve ark. 2004). Zeytinyağı, ağırlıklı olarak yağ asitlerini ihtiva etmekte ancak fenoller, tokoferoller, steroller, pigmentler, squalen gibi lezzet bileşenlerini de içermektedir. Bu minör bileşenlerin yağın oksidasyon stabilitesi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır (Kiritsakis 2002, Kayahan ve Tekin 2006).

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi verilerine göre zeytinyağı üretimi en fazla İspanya (841 200 ton), Yunanistan (300 000 ton), İtalya (222 000 ton), Tunus (340 000 ton) ve Türkiye'de (170 000 ton) gerçekleşmektedir (IOC, 2015). Türkiye'de üretilen zeytin meyvesinin yaklaşık %65-70'i yağ üretiminde kullanılmaktadır (Tunalıoğlu, 2006).

Yağ ve yağlı ürünler, parçalanma reaksiyonları sebebiyle kısa sürede bozulmaktadır. Bu reaksiyonlardan en önemlisi olan lipit oksidasyonu, yağın lezzet, tekstür ve renk gibi birçok kalite parametresini olumsuz etkilemekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Lipit oksidasyonu, insan sağlığı açısından olumsuz etkileri olan ve serbest radikal oluşumunu teşvik eden reaksiyon zinciridir ve bu nedenle önlenmesi son derece önemlidir (Kayahan 2003, Bayrak 2006). Zeytinyağı, kardiyovasküler rahatsızlıklar, sinirsel bozukluklar, meme ve kolon kanseri gibi hastalıklara yakalanma riskini azalttığı, HDL kolestrole olumlu etkisi bulunduğu ve önemli bir antioksidan kaynağı olduğu bildirilmektedir (Medeiros, 2001; Gimeno ve ark., 2002). Bu nedenle, zeytinyağı çok önemli ve değerli bir gıda maddesidir, ayrıca ekonomik açıdan önemli bir üründür (Morello ark. 2004).

Antioksidan maddeler, zeytinyağının depolanmasında yağın kalitesi ve stabilitesinin korunmasına katkı sağlamaktadırlar. Natürel zeytinyağının fenolik komponentler açısından zengin olduğu ve en az 30 civarında fenolik bileşik içerdiği bilinmektedir. Bu bileşik grupları arasında en önemlileri flavonoid ve fenolik asitler gibi polifenollerdir. Bu bileşikler en fazla zeytin meyvesi, zeytin yaprağı, zeytinyağı, karasu ve pirinada bulunmaktadır (Frag, 2003). Fenolik bileşikler yağa, acımsı ve yakıcı tad verdiği aynı zamanda yağa stabilite ve güçlü

meyve lezzeti sağladığı, toplam fenol içeriği ile yağın antioksidan kapasitesi arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu ifade edilmektedir (Visioli, 2002; Ögütçü ve ark.,2008).

Hidroperoksitlerin oluşumunu geciktirmek veya yavaşlatmak için kullanılan antioksidan maddeler, gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmaktadır. Ancak günümüzde daha çok yapay antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Yapay antioksidanların tüketici sağlığı üzerindeki olumsuz etkisinden dolayı, güvenilir doğal antioksidan maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal antioksidan kaynağı olan zeytin yaprakları, zeytin hasadı ile birlikte zeytin meyvesinin %10'u kadar elde edilmektedir (Ferreira et al.,2007). Zeytin yaprakları, sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan kaynağı olduğu ve gıda maddelerinin raf ömrü üzerinde olumlu etkide bulunduğu bildirilmektedir (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009; Bouaziz ve ark., 2010).

Natürel zeytinyağının %2'i, alifatik ve triterpenik alkoller, steroller, hidrokarbonlar, uçucu bileşenler ve antioksidanlardan oluşmaktadır. Antioksidanlar, çoğunlukla karotenler ile lipofilik ve hidrofilik karakterde fenolik bileşiklerden oluşmaktadır (Boskou, 1996). Lipofilik fenollerden olan tokoferoller, önemli bir antioksidan kaynağıdır ve bitkisel yağlarda da önemli düzeyde bulunmaktadır. Natürel zeytinyağının minör bileşiklerinden biri olan fenoller, kuvvetli antioksidan özelliğe sahip olmalarından dolayı, serbest radikallerden kaynaklanan zararları bertaraf etmekte ve vücudu çeşitli hastalıklara karşı korumaktadırlar (Boskou, 1996; Shahidi, 1996; Skevin ve ark. 2003).

Zeytinyağında en önemli kalite problemi, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanan oksidatif bozulma sonucu, yağda istenmeyen tat ve lezzete neden olan bileşiklerin oluşmasıdır. Zeytinyağının oksidasyona direnci ve oksidatif bozulma derecesi, yağ asidi bileşimi ile tokoferol, karotenoid ve klorofiller gibi doğal antioksidanların konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Papadimitriou ve ark., 2006; Mateos ve ark., 2005).

Zeytin yaprakları sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan kaynağı olup ve gıda ürünlerinin duyuusal ve besinsel özelliklerindeki kayıpları önleyerek raf ömrünü

uzatma özelliğine sahiptir (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009; Bouaziz ve ark., 2010). Günümüzde büyük problemlere neden olan gıda işleme atıklarının ekonomiye kazandırılması, bu atıklardan biyoaktif ve teknolojik olarak önemli metabolitlerin geri kazanımı önem kazanmaktadır (Schieber ve ark., 2001). Fenolik bileşenler açısından zengin olan zeytin yaprağı gibi atıkların değerlendirilmesi günümüzde büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda zeytin yaprağı ekstraktının rafine bitkisel yağa ilave edilmesi, depolama esnasında oksidatif bozulmaya karşı yağa fark edilebilir bir direnç kazandırdığı bildirilmektedir (Bouaziz ve ark., 2008).

Zeytinyağı üretim aşamalarında, meyve dışında toprak, taş ve yapraklar uzaklaştırılmaktadır. Zeytinyağı üretiminde atık olarak çevreye bırakılan ve zamanla çevre kirliliğine de neden olan zeytin yaprağı, fenolik maddeler açısından zengin olduğu bildirilmektedir (Ünver, 2018). Bu nedenle bu çalışmada, zeytinyağı üretiminde yağa işlenen meyvelere farklı oranlarda zeytin yaprağı ilavesi yapıldıktan sonra, zeytinyağı üretimi amaçlanmıştır.

Bu çalışma, zeytin yaprağı ilavesinin zeytinyağının oksidasyon stabilitesi üzerine etkisini tespit etmek amacıyla, iki farklı oranda (%2 ve %4) zeytin yaprağı Ayvalık çeşidinden elde edilen natürel zeytinyağı üretiminde kullanılmıştır. Bu amaçla, üretilen natürel zeytinyağları oda sıcaklığında 12 ay süre ile amber şişelerde depolanmış ve periyod boyunca zeytinyağının oksidatif stabilitesi başta olmak üzere planlanan analizler yapılmış ve elde edilen veriler Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği (Tebliğ No: 2017/26) ile bilimsel çalışmalar bağlamında değerlendirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Günümüzde gıda endüstrisinde biyolojik aktiviteye sahip bileşikleri içeren fonksiyonel gıdaların üretimi için büyük bir çaba sarf edilmektedir. Zeytinyağı üretiminde zeytin yapraklarının doğal antioksidan katkısı olarak kullanımı geçmişten beri, özellikle fazla olgunlaşmış zeytinlerden zeytinyağı üretiminde zeytinlerin içerisine %2-3 oranında zeytin yaprağı katılması şeklinde uygulanmaktadır. Bu işlemle zeytin meyvesinde olgunlaştıkça azalan oleuropeinden kaynaklanan son ürünlerdeki tat değişiminin önlenmesi ve düşen antioksidan direncin artırıldığı bilinmektedir (Ranalli ve ark., 2006).

Zeytin ağacı yan ürünlerinin ekstraktları oksidasyonu önleyebilen ve yavaşlatabilen önemli antioksidan bileşenleri içermesi sebebiyle kozmetik, tıp, farmasotik ve gıda endüstrisinde işleme alınabilmektedir. Zeytin yaprakları yüksek bir biyolojik aktivite gösteren kaynak olarak kullanıldığında sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan deposudur. Bu özelliği sebebiyle gıda ürünlerinin duyu ve besinsel özelliklerindeki kayıpları önlemede büyük rol oynar. Böylelikle gıdaların dayanıklılığını koruma ve uzatma amacıyla başvurulan ilk kaynaktır (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009; Bouaziz ve ark., 2010).

Bitkisel ve hayvansal yağlar ile yağlı ürünler, çeşitli parçalanma reaksiyonları ile kısa sürede bozulabilmektedir. Bu reaksiyonlardan en önemlisi lipit oksidasyonudur. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonu önleme, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere antioksidan adı verilir. Antioksidanlar peroksit zincir reaksiyonlarını engelleyerek reaktif oksijen türlerini toplamakta ve lipit peroksidasyonunu inhibe etmektedirler.

Yağ ve yağlı gıda maddelerinde, oksidasyonun önlenmesinde doğal veya yapay antioksidanlar kullanılabilir. Meyveler, sebzeler, zeytin meyvesi ve aromatik bitkiler, önemli doğal antioksidan kaynağıdır (Dimitrios, 2006). Günümüzde doğal antioksidanların kullanımı hızla artmaktadır. Bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propilgallat (PG) ve tersiyer bütillenmiş hidroksikinon (TBHQ), yaygın olarak

kullanılan yapay antioksidanlardır. Bazı ülkelerde gıdalarda yapay antioksidanların kullanımı, kanserojenik etkisi olabileceği şüphesinden dolayı yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır (Frag ve ark., 2003). Böylece sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Kıralan, 2006).

Yapılan çalışmalarda, zeytin yaprağının yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu, özellikle antioksidan kapasitesi ile fenolik madde içeriğinin yüksek düzeyde olduğu (Delgado-Pertinez, 1998; Bouaziz ve ark., 2008; Lafka ve ark., 2011), zeytin yaprağı çayının 70 mg/L toplam fenolik madde içeriği bildirilmiştir (Standley ve ark., 2001). Oleuropein, zeytin posasında, zeytinyağında ve zeytinyağı üretimi aşamalarında ortaya çıkan atıklarda bulunmakta, bu bileşiğin doğada bilinen en önemli kaynağı zeytin yaprağının (60-90 mg/g, kuru ağırlık) olduğu bildirilmektedir (Soler-Rivas ve ark., 2000; Gikas ve ark., 2007).

Oleuropein bileşiğinin antioksidan, antimikrobiyel, antienflamatuar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral aktiviteler dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Visioli ve ark., 1998; Owen ve ark., 2000; Visioli ve ark., 2002; Carluccio, 2003; Micol ve ark., 2005; Tripoli ve ark., 2005; Sanchez ve ark., 2007; Gikas ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda, yüksek miktarda oleuropein içeren zeytin yaprağı ekstraktının , lipoprotein oksidasyonunu önlediği ve bu nedenle besin takviyesi olarak önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Visioli ve ark., 1995; Tuck ve Hayball, 2002).

Günümüzde yapılan çalışmalarda rafine zeytinyağlarının fenolik bileşiklerce zenginleştirilmesi gerektiği, toplam fenol bileşik içeriği ile yağın stabilitesi arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bu bileşiklerin zeytinyağı stabilitesine etkisi ile ilgili fazla sayıda çalışma yapıldığı bildirilmektedir (Bouaziz ve ark., 2010).

Kritsakis ve ark. (1985) farklı çeşit ve oranlarda antioksidan ilave ettikleri zeytinyağını farklı şartlarda depolayarak, antioksidanların yağın stabilitesine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, kullanılan bütün antioksidanların oksidatif stabiliteyi yükselttiği, ancak gün ışığında depolanan yağ örneklerinde peroksit oluşumunu önleyemediği, bunun da ortamda bulunan klorofilin oksidasyona olan katalitik etkisine bağladıklarını bildirmişlerdir.

Zeytin yaprağı ilavesinin zeytinyağı kalitesi üzerine etkilerini araştıran Di Giovacchino ve ark. (1996), farklı zeytin çeşitlerine değişen oranlarda zeytin yaprağı ekleyerek araştırma yapmıştır. Çalışmada, zeytinyağının toplam fenol içeriği (mg/L) ve indüksiyon süresinin (ransimat, saat) önemsenmeyecek seviyede değiştiği ifade edilmiştir.

Kızartma yağlarının oksidatif stabilitesini artırmak için, bitki kaynaklı doğal antioksidan bileşiklerinin yağa ilave edilmesinin en uygun bir yöntem olabileceği ifade edilmektedir (Chiou ve ark., 2009). Bu bağlamda, Farag ve ark. (2003) ayçiçeği yağının stabilitesi üzerine zeytin meyvesinden elde edilen fenolik ekstraktlarının etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, *Picual* ve *Kronakii* iki farklı zeytin çeşidinden meyve, yaprak, prina olarak bilinen etanol ve su ile elde ettikleri ekstraktların, ayçiçeği yağının oksidasyon stabilitesine etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, *Picual* ve *Kronakii* zeytin çeşitlerine ait meyve, yaprak, pirina ve sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 485, 234, 65, 193 ppm ve 495, 250, 73, 170 ppm olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar, rafine ayçiçeği yağına, 100, 200 ve 400 ppm düzeyinde fenolik madde ile zenginleştirme yaptıkları çalışmada, 400 ppm düzeyinde fenolik madde ilavesinin, ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesini izin verilen BHT ilavesinden daha fazla etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen, ayçiçeği yağının 180 °C’ de uygulanan ısıtma işlemde dikkate değer bir antioksidan aktivite gözlenmiştir. Isıtma işlemi uygulanan ayçiçeği yağının asit değerleri, 400, 800, 1600 ve 2400 ppm polifenol ile zenginleştirilen yağlardan 0.91, 1.04, 0.41 ve 0.14 katı kadar daha yüksek olduğu; peroksit değerlerinin ise 11.3, 9.2, 2.8 ve 11.4 katı kadar daha az olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, ısıtma işlemi uygulaması ile fenolik bileşiklerin miktarında lineer bir düşüş olduğu, ayçiçeği yağının stabilitesinin kaybedilen polifenol içeriği arasında negatif bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir (Farag ve ark., 2007).

Kızartma işleminde kızartma yağı ile kızartılmış gıda arasında fiziksel ve kimyasal etkileşimlerin meydana geldiği, bu bağlamda gıdanın içerdiği nem ve yağın oksidatif stabilitesi nedeniyle, kızartma yağları ve gıdalar arasında fiziksel değişimler gerçekleştiği Dobarganes ve ark. (2000) tarafından bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, 120 ve 240 mg/kg zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle zenginleştirilen palm yağı, zeytinyağı ve ayçiçek yağları, patates kızartmasında kullanılmıştır. Çalışmada, zenginleşme sonucunda bu yağların oleuropein ve diğer polifenol içeriklerinde artış gözlemlendiği, kızartılan patateslerle alınan

polifenol miktarının, normal yağ ile kızartılan patateslerin tüketimiyle alınan miktardan 6-31 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Chiouve ark., 2007).

Salta ve ark. (2007) palm yağı, zeytinyağı ve ayçiçeği yağı ile bitkisel shortening yağını 200 mg/kg polifenolik madde içeren zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirerek, adı geçen yağların oksidatif stabilitesini araştırmışlardır. Çalışmada, zeytin yaprağı ekstraktının hidroksitirozol, kuersetin ve özellikle oleuropein açısından çok önemli bir kaynak olduğu ve yemeklik yağların oksidatif stabilitesini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir.

Paiva-Martins ve ark. (2007) zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle rafine zeytinyağlarının toplam fenolik madde içeriğini, natürel zeytinyağı fenolik madde miktarı seviyesine çıkarmayı hedeflemiştir. Araştırmacılar, 1 kg zeytin yaprağından elde edilen ekstraktın, 50-320 L rafine zeytinyağının fenolik madde içeriğini natürel zeytinyağının seviyesine çıkardığını, bu şekilde zenginleştirilme işleminin rafine zeytinyağının tat özelliklerini iyileştirdiğini ve stabilitesini arttırdığını ifade etmişlerdir.

Japon-Lujan ve Castro (2008) zeytinyağı, ayçiçek yağı ve soya yağına farklı düzeyde (187, 261 ve 442 mg/mL) zeytin yaprağı ekstraktını ilave ederek, yağların fenolik madde içeriğini araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu uygulamanın yağların fenolik madde içeriğini önemli düzeyde zenginleştirdiğini ve bunun endüstriyel uygulamalarda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Bouaziz ve ark. (2008) 400 ppm düzeyinde zeytin yaprağı ekstraktı ve hidrolizatı rafine zeytinyağı ile prina yağına ilave ederek 6 ay boyunca 50 °C' de depolamış ve yağların raf ömrüne etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin, yağların raf ömrünü önemli ölçüde uzattığı, gıda endüstrisi için antioksidan olarak zeytin yaprağı ekstraktının büyük bir potansiyel taşıdığı, bu bağlamda söz konusu ekstraktın gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada yapay antioksidanların ikamesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Bouaziz ve ark. (2008) yaptıkları başka bir çalışmada ise depolama işleminin rafine ve husk zeytinyağlarının bileşimi üzerine etkisini ve Chemlali zeytin yapraklarından elde edilen doğal antioksidanların yağların stabilizasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, 50 °C' de karanlık ortamda 6 aylık depolama süresince yağın stabilitesinde kayıplar meydana geldiğini, peroksit değerinde artış ve indüksiyon değeri ile sterol içeriğinde azalma

görüldüğünü, rafine zeytinyağı ve husk yağlarının zeytin yaprağı ve yaprak hidrolizatlarıyla zenginleştirilmesi ile oksidatif bozulmaya karşı direnç gözlendiğini zeytin yaprağı ekstraktının potansiyel antioksidan kaynağı olarak düşünülebileceğini ifade etmişlerdir.

Chiou ve ark. (2009) kızartma yağı olarak kullanılan rafine palm yağı, zeytinyağı ve ayçiçek yağını, 120 ve 240 mg/kg zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle zenginleştirmişlerdir. Araştırmacılar, zenginleştirilmiş kızartma yağlarının, kontrol grubuna oranla, daha yüksek toplam polifenol, tokoferol, fitosteroller ve skualen içeriğine sahip olduğu ve daha yüksek oksidatif stabilite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Lee ve ark. (2009) ise zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan aktivitesinin tespit edilmesi, uygun ekstraksiyon metodlarının tanımlanması, biyoaktif bileşenlerin veriminin belirlenmesi, farklı çözücüler ile ekstraksiyonu, antioksidan aktiviteleri farklı radikal süpürücü sistemler kullanılarak belirlemeyi değerlendirmişlerdir.

Allouche ve ark. (2009) zeytin çekirdeği ve zeytin yaprağı ilavesinin Picual çeşidi zeytin meyvesinin, yağın triterpenik asit içeriği ve yağın stabilitesine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, %2 oranında yaprak ilavesinin, yağın oleanolik asit, maslinik asit ve eritrodiol içeriğini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir.

Nenadis ve ark. (2010) zeytinyağına %5, 10 ve 15 zeytin yaprağı ilave ederek hazırladıkları zeytinyağı-zeytin yaprağı karışımlarında, bitkisel materyali santrifüj ile ayırdıktan sonra, yağın kalite ve duyuşal özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, elde edilen zeytinyağı karışımlarının oksidatif stabilitesi ve DPPH radikalini süpürme aktivitesinin, ilave edilen yaprakların miktarına bağlı olarak yaklaşık 2-7 kat artış gösterdiğini ve fonksiyonel ürün pazarının ilgisini çektiğini, zeytin yaprağı ilavesiyle yağın klorofil ile acılık, aroma ve burukluk gibi duyuşal parametrelerini önemli ölçüde etkilendiğini ve bu etkinin ilave edilen yaprağın taze veya olgun oluşuna ve miktarına bağlı olduğunu, böylece son üründe arzu edilen fiziko kimyasal ve duyuşal karakteristiklere bağlı olarak bu oranın ayarlanabileceğini belirtmişlerdir.

Bouaziz ve ark. (2010) zeytin yaprağı ekstraktı ilave ederek rafine zeytinyağı ve prina yağını zenginleştirmişlerdir. Böylece yağların kalitesini iyileştirmiş ve yağları natürel

zeytinyağına benzetmeye çalışmışlardır. Bu amaçla, 400 ppm zeytin yaprağı ekstraktı ilave ettikleri rafine zeytinyağı ve prina yağını 50 °C’ de hızlandırılmış test koşullarında depolanmış ve yağların depolama stabilitesi araştırılmıştır. Araştırmacılar, zeytin yaprağı ekstraktının yağın oksidatif stabilitesini en yüksek seviyeye çıkardığını belirtmişlerdir.

Hayes ve ark. (2010b) zeytin yaprağı ekstraktının paketlenmiş kıyma köftesinin oksidasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, 100 ve 200 ppm zeytin yaprağı ekstraktının köftenin raf ömrünü uzatmada, sentetik antioksidanlar yerine güvenli bir şekilde ikame edilebileceği ve et endüstrisinin fonksiyonel bir bileşeni olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Harp (2011) Gemlik, Domat, Adana topağı ve Adana yerli zeytin ağaçlarına ait yaprakların antioksidan aktivitesini, ticari zeytin yaprağı ekstraktı, BHT ve BHA gibi yapay antioksidanlarla karşılaştırmıştır. Araştırmacı, Domat zeytin yaprağının tüm derim zamanlarında, diğer zeytin çeşitlerine ait yaprak ekstraktlarının ise bazı derim zamanlarında, ticari zeytin yaprağı ekstraktına göre daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğunu; antioksidan aktiviteleri bağlamında ise zeytin yapraklarının radikal tutma kapasitesinin 100 ve 200 ppm konsantrasyonda, ticari zeytin yaprağı ekstraktına benzer, BHT’ den daha yüksek ve BHA ile benzer veya daha etkili olduğunu; oksidatif stabilite bakımından ise, tüm derim zamanlarında, aynı konsantrasyonda zeytin yaprağı ekstraktları, ticari zeytin yaprağı ekstraktından daha etkili olduğunu bildirmiştir.

Sevim (2011) iki farklı hasat zamanında (erken ve geç) toplanan Ayvalık ve Memecik zeytin çeşitlerine %1 ve %3 oranında kendine ait zeytin yaprağı eklenerek elde edilen zeytinyağının kalite kriterleri, antioksidan kapasitesi, raf ömrü (18 ay) ve duyuşal özelliğini araştırmıştır. Çalışmada, zeytinlere eklenen yaprak oranının artmasıyla birlikte elde edilen yağların antioksidan içeriği ile antioksidan aktivitesinin arttığı, duyuşal olarak meyve lezzeti, acılık ve yakıcılık şiddetinin ise yükseldiği tespit edilmiştir.

Aydeniz ve Yılmaz (2012) zeytin yaprağı ekstraktı gibi doğal antioksidanların bitkisel yağlara ilave edilmesinin yağın antioksidan aktivitesine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, zenginleştirme yapılan yağlarda serbest asitlik değerlerinde artışın, kontrol örneğine oranla, daha düşük olduğunu ve doğal fenolik ekstraktların yağın stabilite ve kalitesini koruduğunu belirtmişlerdir.

Malheiro ve ark. (2013) farklı oranlarda (%1, 2.5, 5 ve 10) zeytin yaprağı ilavesinin Cobrançosa çeşidi zeytinyağının bileşimi ve kalitesine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, zeytin yaprağı ilavesi yapılarak üretilen zeytinyağının asitlik, peroksit, K232 ve K270 değerlerinde hafif artışa, oksidatif stabiliteyi ise önemli ölçüde iyileştirdiği ve %10 oranında yaprak ilavesinin, yapraklardaki α - tokoferol nedeniyle E vitamin oranını yaklaşık %30 arttırdığını, yağ ekstraksiyonu sırasında yaprak ilavesinin zeytinyağının özelliklerini ve bileşimini anlamlı şekilde değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Sonda ve ark. (2013) dört farklı zeytin çeşidine %3 oranında yaprak ilavesi yaparak üretilen zeytinyağlarının serbest asitlik, peroksit değeri, toplam fenolik miktarı, oksidatif stabilite, toplam tokoferol miktarı ve yağ asitleri kompozisyonunu araştırmışlardır. Araştırmacılar, zeytin yaprağı ilavesinin dört zeytinyağı çeşidinde serbest asitlik, peroksit değeri, toplam fenolik miktarı ve yağ asitleri kompozisyonunda artışa, oksidatif stabilite ve toplam tokoferol miktarında ise azalışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda yaprak ilavesinin zeytinyağı kalitesini geliştirdiği ifade edilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstraktı kullanılarak fonksiyonel gıda üretiminin amaçlandığı bir çalışmada, organik durum buğdayı unu ve zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilerek hazırlanan krakerler ile zeytin yaprağı ekstraktı yerine su kullanılarak aynı formülasyonla hazırlanan krakerler (kontrol grubu) karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilerek zenginleştirilen krakerlerin, daha yüksek fenolik madde içeriğe sahip olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, zeytin yaprağı ekstraktlarının hem fonksiyonel bileşenleri içermesi hem de ürünlerin raf ömrünü uzatması nedeniyle kraker üretiminde alternatif olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Palmeri ve ark. 2016).

Kritsakis ve ark. (2017) zeytin yaprağı ekstraktı (su ile elde edilen) ilave edilmesiyle zenginleştirilen zeytinyağını, ekstrakt ilave edilmeyen zeytinyağı ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, ekstrakt ilave edilerek elde edilen yağlarda toplam fenolik madde oranı ve antioksidan aktivitenin arttığını, karotenoid ve klorofillerin artması nedeniyle daha koyu yeşil renkte bir yağ elde edildiğini, bu bağlamda zeytin yaprağı ekstraktının, yağların raf ömrünü uzatmak ve fonksiyonel özelliklerini artırmak için doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

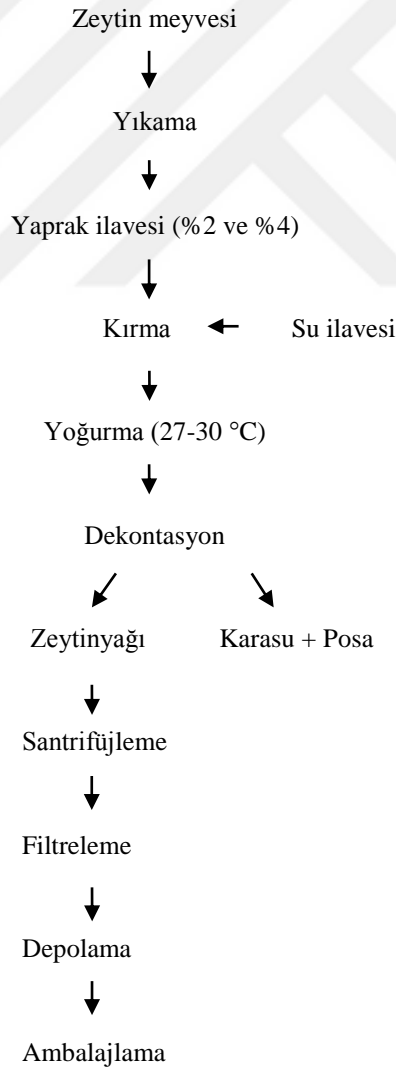
Tarchoune ve ark. (2019) hasat ettikleri NebJmel ve Queslati zeytin çeşitlerine %3 oranında zeytin yaprağı ilave etmek suretiyle elde ettikleri zeytinyağlarında fenolikler, tokoferoller, antioksidan kapasite, serbest asitlik, peroksit değeri, klorofil ve karotenoid miktarlarını araştırmışlardır. Oueslati zeytinyağı ile karşılaştırıldığında, Neb Jmel zeytinyağının serbest asitlik miktarında 1.5, peroksit değerinde 5.6 kat düşüş gösterdiği; klorofil miktarında 1.6 kat, toplam fenolik madde miktarında 1.3 kat, flavonoid miktarında 3 kat, oleuropein türevleri konsantrasyonunda 1.5 kat ve antioksidan aktivitesinde 1.6 kat artış gösterdiği bulunmuştur.



3. MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

Şanlıurfa'da yetiştirilen Ayvalık çeşidine ait zeytin meyvesine %2 ve %4 oranında Ayvalık zeytin yaprağı ilave edilerek Şekil 3.1' de gösterildiği gibi natürel zeytinyağı üretilmiştir. Zeytinyağı üretimi Ebrulim Zeytinyağı İşletmesi'nde gerçekleştirilmiş, üretilen zeytinyağı 250 mL' lik renkli (amber) şişelere ambalajlanmış ve oda sıcaklığında 12 ay süre ile depolanmıştır.



Şekil 1. Natürel zeytinyağı üretim akım şeması

3.2. METOD

3.2.1. Serbest asitlik tayini

Zeytinyağında serbest asitlik analizi, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Prina Yağı Analiz Metotları Tebliğinde verilen yönteme göre yapılmış, sonuçlar % oleik asit cinsinden hesaplanmıştır (Anonim, 2014).

3.2.2. Peroksit değeri tayini

Zeytinyağında peroksit tayini, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Prina Yağı Analiz Metotları Tebliğinde verilen yönteme göre yapılmış, sonuçlar meq O₂/kg yağ olarak verilmiştir (Anonim, 2014).

3.2.3. Toplam fenolik madde tayini

Zeytinyağında toplam fenol Gutfinger (1981) tarafından önerilen yönteme göre belirlenmiştir. Bunun için 2.5 g zeytinyağı 5 mL hekzanda çözülmüş ve fenolik maddelerin ekstraksiyonu için 5 mL metanol/su (60:40 v/v) ilavesi ile 2 dak çalkalandıktan sonra, hekzan ve metanol/su fazları birbirlerinden 3500 rpm 10 dak santrifüjleme ile ayrılmıştır (Hencirik and Fritsche, 2004). Metanollü kısımda toplam fenolik madde analizi yapılmıştır. Bu işlem için, metanolik fazdan 0.2 mL bir tüpe alınarak saf su ile 5 mL'ye tamamlanmış, daha sonra 0.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiştir. Yaklaşık 3 dak sonra 1 mL sodyum karbonat çözeltisi (%35, kütle/hacim) tüpe ilave edilerek, karışım saf su ile 10 mL' ye seyreltilmiştir. Çözeltinin absorbansı 60 dak sonra şahit çözeltiliye karşı 725 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Zeytinyağında toplam fenolik madde tayini için standart olarak kafeik asit çözeltisinden yararlanılmıştır. Elde edilen kalibrasyon grafiği (R₂=0.99) yardımıyla kafeik asit değeri hesaplanmıştır.

3.2.4. Antioksidan kapasite tayini

Zeytinyağı örneklerinin antioksidan kapasitesi güçlü bir serbest radikal olan DPPH'nın (Aldrich Chemical Co. Milwaukee, WI) (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil) nötrleştirilmesi

işleminin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptanmıştır (Jiang et al., 2005; Carrasco-Pancorbo et al., 2005; Lavelli, 2002). DPPH radikali (100 µM) metanol ile hazırlanmıştır. 0.1 ml örnek üzerine 1.9 ml DPPH solüsyonu eklenmiş, karışım 15 dak karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüştür.

$$\% \text{TAK} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{örnek}}}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}}\right)$$

TAK: toplam antioksidan kapasitesi; Abs: Absorbans değeri.

3.2.5. İndüksiyon süresi tayini

Zeytinyağı örneklerinde indüksiyon süresi (saat), Ransimat 679 cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

3.2.6. Renk tayini

Zeytinyağı örneklerinin renk tayini Hunter Lab Colourflex cihazıyla yapılmıştır. Enstrümantal renk verileri CIE sisteminde belirtilen L* (açıklık), a* (kırmızlık ve yeşillik), b* (sarılık ve mavilik) terimleri ile ifade edilmiştir.

3.2.7. Yağ asitleri kompozisyonu tayini

Zeytinyağı örnekleri, aşağıda belirtilen çalışma koşullarında gaz kromatografi cihazına (Thermo Trace GC Ultra) enjekte edilmiş yağ asitlerine ait dağılım sonuçları % olarak gösterilmiştir.

Gaz Kromatografisi çalışma aşağıda yer almaktadır. Bunlar,

- Fırın (Kolon) sıcaklık programı: 90 °C' de 2 dak bekleme, 90 °C' dan 200 °C' ye kadar dakikada 10 °C, 200 °C'den 230 °C' ye ise dakikada 3 °C artacak şekilde hedeflenen sıcaklığa ulaşma ve bu sıcaklıkta 12 dakika bekleme.
- Kolon: DB-Wax kolon (30.0m x 250mm x 0.25µm)
- Enjeksiyon bloğu sıcaklığı: 250 °C
- Dedektör (FID) sıcaklığı: 280 °C

- e. Taşıyıcı gaz (He) hızı: 25 mL/dak (sabit akış)
- f. Split oranı: 1/50
- g. Enjekte edilen örnek miktarı: 1µL
- h. Analiz süresi: 30 dak

3.2.8. UV ışığında özgül absorbans tayini

Zeytinyağı örneklerinin ultraviyole ışığında özgül absorbans tayini Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Analiz Metotları Tebliğinde verilen yönteme göre yapılmıştır (Anonim, 2014).

3.3. İstatistiksel analizler

Çalışmadan elde edilen verilere, çift yönlü varyans analizi uygulanarak değerlendirilmiştir. Analiz sonucu önemli çıkan ortalamalar arasındaki farklılık Tukey testi ile test edilmiştir (Yıldız ve Bircan, 1992).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Parametreler

Ayvalık çeşidi zeytininden üretilen natürel zeytinyağının bazı kimyasal parametrelerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede yaprak oranı ve depolama periyodu bakımından zeytinyağı örneklerinin araştırılan tüm parametreleri arasındaki farklılık $P<0.001$ düzeyinde çok önemli; yaprak oranı x depolama periyodu interaksiyonu bakımından ise peroksit (meq O₂ /kg), antioksidan kapasite (%) ve indüksiyon süresi (saat) değerleri arasındaki farklılık $P<0.001$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 1. Natürel zeytinyağının bazı kimyasal parametrelere ilişkin varyans analiz sonuçları

	SD	Serbest asitlik (% oleik asit)	Peroksit değeri (meq O ₂ /kg)	Fenolik madde içeriği (mg CAE/kg)	Antioksidan kapasite (%)	İndüksiyon süresi (saat)
Yaprak oranı	2	0.018046 **	1.40254 **	32029.3**	7885.31**	85.6193 **
Depolama periyodu	4	0.155161 **	1.75717 **	10896.6**	827.40**	0.9133 **
Yaprak oranı x Depolama periyodu	8	0.003152	0.08772 **	279.8	245.73**	0.5933**
Tekerrür	2	0.00692	0.04428	477.9	48.63	0.4284
Hata	73	0.001946	0.02445	212.6	9.95	0.0801
Toplam	89					

SD: Serbestlik derecesi

Kontrol ve farklı oranlarda Ayvalık zeytin yaprağı ilavesiyle Ayvalık çeşidi meyvesinden üretilen natürel zeytinyağının kimyasal parametrelerine ait ortalama değerler ve oluşan gruplar Çizelge 4.2' de verilmiştir.

4.1.1. Serbest Asitlik

Zeytinyağının kalitesini belirleyen serbest asitlik, yağın sınıflandırılmasında ve ticari değerinin belirlenmesi hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle, meyve hasadından başlayarak, zeytinyağının üretilmesine kadar geçen süreçte serbest asitlik artışına neden olabilecek etkenlerin minimuma indirilmesi büyük önem taşımaktadır (Bıyıklı, 2009).

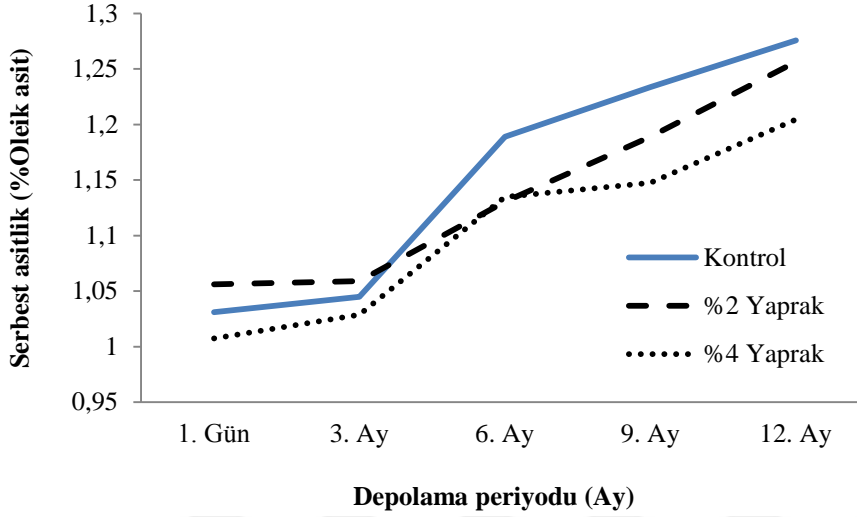
Yapılan bu çalışmada, kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının serbest asitlik değeri %1.155-1.107 olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde belirtilen değerler göz önüne alındığında, üretilen kontrol ve yaprak katkılı zeytinyağlarının natürel birinci zeytinyağı sınıfında yer aldığı görülmektedir.

Çizelge 4. 2. Natürel zeytinyağının bazı kimyasal parametrelerine ilişkin ortalama değerler ve oluşan gruplar

		Serbest		Fenolik madde içeriği (mg CAE/kg)	Antioksidan kapasite (%)	İndüksiyon süresi (saat)
		asitlik (% oleik asit)	Peroksit değeri (meq O ₂ /kg)			
Yaprak oranı	Kontrol	1.155 ^a	2.108 ^a	160.802 ^c	47.210 ^c	9.113 ^c
	% 2	1.138 ^a	1.783 ^b	188.077 ^b	61.249 ^b	9.454 ^b
	% 4	1.107 ^b	1.698 ^b	225.869 ^a	79.542 ^a	12.195 ^a
Depolama periyodu	0.gün	1.032 ^c	1.394 ^d	225.849 ^a	71.544 ^a	10.111 ^b
	3.ay	1.044 ^c	1.712 ^c	205.550 ^b	66.204 ^b	10.117 ^b
	6.ay	1.156 ^b	1.982 ^b	184.973 ^c	61.809 ^c	10.054 ^b
	9.ay	1.189 ^b	2.052 ^{ab}	179.204 ^c	60.428 ^c	10.427 ^a
	12.ay	1.246 ^a	2.176 ^a	162.338 ^d	53.350 ^d	10.561 ^a

Zeytinyağı üretiminde yaprak ilavesinin yapılması zeytinyağında serbest asitliğin azalmasına neden olmuştur. Bu bağlamda, %2 ve %4 oranında zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağı örneklerinin serbest asitlik değeri, kontrol grubu zeytinyağına oranla, daha düşük bulunmuştur. Depolama periyodu süresince zeytinyağı örneklerinin serbest asitlik değeri (% oleik asit) 12. aya kadar yükselmiştir. Malheiro ve ark. (2013) zeytine ilave edilen yaprak oranının artışıyla birlikte serbest asitlik değerlerinin arttığını bildirmiştir. Sevim (2011) zeytinyağı üretiminde yaprak ilavesinin elde edilen yağların serbest yağ asitliğine etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı depolama periyodu boyunca serbest asitlik değerinde artış görüldüğünü belirtmiştir. Sonda ve ark. (2013) dört farklı zeytin çeşidinde

yaptıkları çalışmada %3 oranında yaprak ilavesinin, kontrol grubuna kıyasla, iki çeşitte serbest asitliği yükselttiğini, geriye kalan iki çeşitte ise önemli bir değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir. Tarchoune ve ark. (2019) yağ ekstraksiyonu sırasında NebJmel zeytin meyvesine %3 yaprak ilavesinin serbest asitliği etkilemediğini, Queslati çeşidinde ise serbest asitliği düşürdüğünü ifade etmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının serbest asitlik değerinin depolama periyodu boyunca değişimi

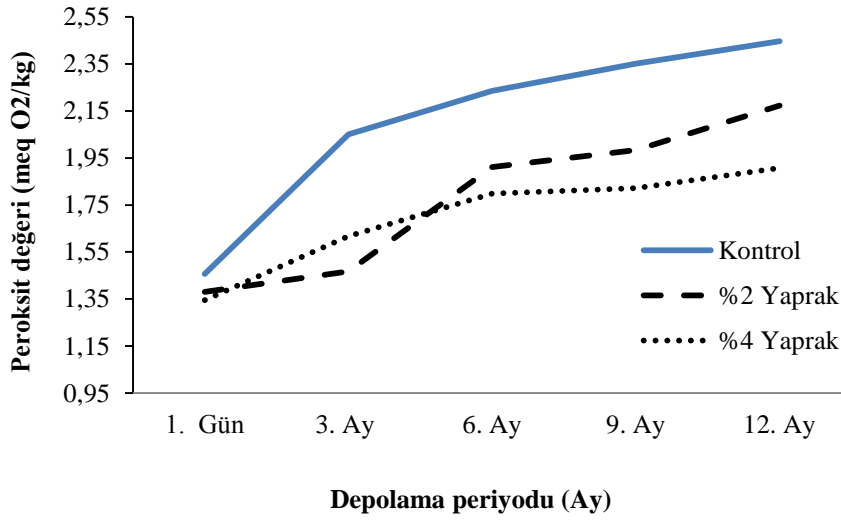
Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının serbest asitlik değerinin depolama periyodu boyunca değişimi, Şekil 4.1’de verilmiştir. Natürel zeytinyağında serbest asitlik değeri, depolama periyodu boyunca artmış, kontrol grubu yağda daha yüksek, yaprak oranının artışına paralel olarak yağda serbest asitlik değerinde azalma tespit edilmiştir.

Natürel zeytinyağının serbest asitlik değerleri ile antioksidan (-0.468) ve fenolik madde (-0.649) değerleri arasında negatif, peroksit değeri arasında ise pozitif ve çok önemli ($P < 0.01$) bir korelasyon hesaplanmıştır.

4.1.2. Peroksit Değeri

Peroksit değeri, oksidasyon sonucu yağda oluşan hidroperoksitlerin doğrudan ölçümüne dayanmaktadır (Kayahan ve Tekin 2006). Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı

Tebliğinde natürel zeytinyağında peroksit değerinin (meq O₂/kg) ≤20 olması gerektiği belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada peroksit değeri 1.69-2.10 meq O₂/kg aralığında bulunan bu değerler anılan tebliğde bildirilen üst sınırdan daha düşük bulunmuştur. Çizelge 4. 2’de görüldüğü gibi, kontrol grubuna oranla, farklı oranda (%2 ve 4) zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağı örneklerinin ortalama peroksit değerleri daha düşük, yaprak oranının artışına paralel olarak zeytinyağının peroksit değerinde azalma tespit edilmiştir. Zeytinyağı örneklerinde depolama periyodu boyunca önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Benzer şekilde, zeytin meyvelerine %1 ve %3 yaprak ilavesiyle elde edilen yağların ortalama peroksit değerlerinin, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu, depolama süresi boyunca yağların peroksit değerinde önemli düzeyde artış olduğu bildirilmiştir (Sevim, 2011). Ancak Malheiro ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, yaprak ilavesiyle üretilen zeytinyağında peroksit değerinin arttığı bildirilmiştir. Yine benzer şekilde, dört farklı zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağında yaprak ilavesinin (%3) peroksit değerini arttırdığı (Sonda ve ark., 2013), Tarchoune ve ark. (2019) ise NebJmel çeşidi zeytinyağı üretiminde peroksitte yaprak ilavesinin peroksit değerini değiştirmedigini; buna karşılık Oueslati çeşidi zeytinyağında ise yaprak ilavesinin peroksit değerini ortalama %50 oranında düşürdüğünü tespit etmişlerdir.



Şekil 4.2. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının peroksit değerinin depolama periyodu boyunca değişimi

Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının peroksit değerinin depolama periyodu boyunca değişimi, Şekil 4.2’de verilmiştir. Depolama periyodu boyunca, yaprak katkılı zeytinyağlarındaki peroksit değeri, kontrol grubu yağa oranla, daha

düşük seyretmiştir. Ayrıca, %4 yaprak ilavesiyle üretilen zeytinyağında peroksit değeri, %2 yaprak katkılı zeytinyağına oranla, periyodun 3. Ayı hariç, daha düşük bulunmuştur.

Natürel zeytinyağının peroksit değerleri ile fenolik madde (-0.690) ve antioksidan (-0.492) değerleri arasında negatif ve çok önemli ($P<0.01$), inhibisyon süresi (-0.224) arasında ise negatif ve $P<0.05$ düzeyinde önemli bir ilişki tespit edilmiştir.

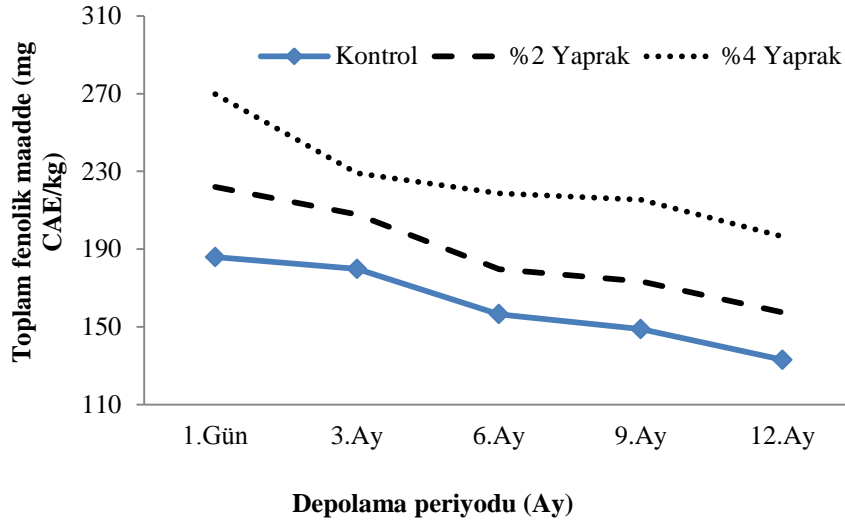
4.1.3. Toplam Fenolik Madde

Fenolik bileşikler, zeytin meyvesinin rengini, besin değerini, zeytinyağının oksidasyon ve mikrobiyal aktiviteye karşı stabilitesini etkilemektedir. Tyrosol, hydroxytyrosol ile bunların konjuge ürünleri, elenolik asit ve oleuropein, zeytinde bulunan başlıca fenolik bileşiklerdir. Bu bileşiklerin miktarı, zeytinin cinsi, yetiştiği yer, iklim koşulları, olgunlaşma ve depolama koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Alkın, 2003).

Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere, kontrol ve yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının toplam fenolik madde miktarı 160.8-225.8 mg CAE/kg arasında tespit edilmiştir. Kontrol grubuna oranla, yaprak katkılı zeytinyağının toplam fenolik madde içeriği daha yüksek bulunmuş, yaprak oranındaki artışa paralel olarak, toplam fenolik madde miktarının da arttığı görülmektedir. Depolama periyodunun başlangıcında 225.869 mg CAE/kg olan toplam fenolik miktarı, depolama periyodu boyunca azalmış ve 12. ayın sonunda bu değer 162.338 mg CAE/kg olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada elde veriler, %1 ve %3 oranında yaprak ilavesi ile üretilen zeytinyağının toplam fenolik madde miktarı ile benzerlik göstermektedir (Sevim, 2011). Benzer şekilde, Sonda ve ark. (2013) %3 oranında zeytin yaprağını dört farklı zeytin çeşidine ilave ederek ürettikleri zeytinyağında, kontrol grubuna oranla, daha fazla toplam fenolik elde edildiğini bildirmişlerdir.

Natürel zeytinyağının toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasite değerleri (0.732), indüksiyon süresi (0.502) arasında pozitif ve çok önemli ($P<0.01$) düzeyde bir ilişki tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının toplam fenolik madde miktarının depolama periyodu boyunca değişimi

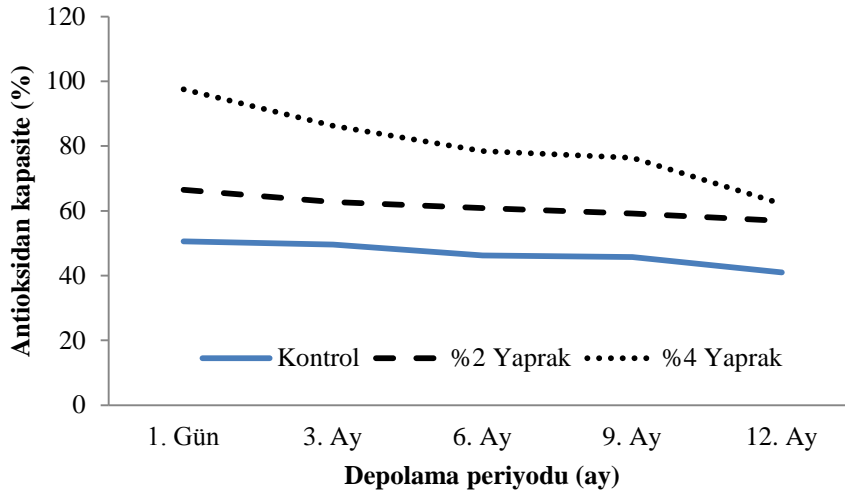
Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının toplam fenolik madde miktarının depolama periyodu boyunca değişimi, Şekil 4.3'te verilmiştir. Kontrol grubuna oranla, iki farklı oranda yaprak ilavesi ile üretilen natürel zeytinyağında toplam fenolik madde miktarı daha yüksek bulunmuş ve bu durum depolama periyodu boyunca aynı şekilde devam etmiştir. Ayrıca, yaprak oranının yükselmesine paralel olarak, zeytinyağında toplam fenolik madde miktarında artış olduğu ve bu durumun depolama periyodu boyunca devam ettiği tespit edilmiştir.

4.1.4. Antioksidan Kapasite

Rafine edilmemiş yağlar, oksidatif ransiditeye karşı oldukça stabil oldukları ve bu stabilitenin çoğunlukla fenolik yapıda olan doğal antioksidantların varlığından kaynaklandığı bildirilmektedir. Bu bileşikler, bitkisel dokularda yaygın olarak bulunmakta, sıcaklık ve yağların rafine edilmesi ile bozunmaktadırlar (Meyer, 1960). Oksidatif bozulma, çoğunlukla depolama sırasında ortaya çıkmakta, gıdanın renk, lezzet, doku ve duyuşsal nitelikleri ile besin değerini olumsuz yönde etkilemekte, istenmeyen ürünlerin oluşmasına ve ürünün raf ömrünü olumsuz etkilemektedir (Bouaziz ve ark., 2010). Antioksidan maddeler, hidroperoksit radikalleriyle tepkimeye girerek otooksidasyonun zincir reaksiyonunu bozmaktadır.

Çizelge 4.2’ de görüldüğü gibi, yaprak oranının artmasıyla birlikte zeytinyağı örneklerinin antioksidan kapasitesi artmaktadır. Kontrol grubunda %47.210 olan antioksidan kapasite, yaprak ilavesine bağlı olarak artış göstermiş ve %4 zeytin yaprağı ilaveli grupta %79.54’ e yükselmiştir. Depolama periyodu boyunca natürel zeytinyağının antioksidan kapasitenin azaldığı görülmektedir. Bu bağlamda başlangıçta ortalama %71.544 olan antioksidan kapasite, 12. ayın sonunda azalarak ortalama %53.350 olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde, kontrol grubu zeytinyağına oranla, farklı oranlarda (%1 ve 3) yaprak ilave edilerek elde edilen zeytinyağının DPPH radikal süpürücü aktivitesinin yükseldiği, en yüksek değerin meyvelere %3 oranda yaprak ilavesi ile elde edilen yağda tespit edildiği, 18 aylık depolama periyodu boyunca zeytinyağının antioksidan kapasitesinin düştüğü bildirilmiştir (Sevim, 2011). Bu çalışmada elde edilen değerler, literatür bildirimleri ile uyum içinde olduğu söylenebilir.

Natürel zeytinyağının antioksidan kapasite değerleri ile indüksiyon süresi değerleri arasında pozitif (0.764) ve $P < 0.01$ düzeyinde çok önemli korelasyon hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının antioksidan kapasitenin depolama periyodu boyunca değişimi

Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının antioksidan kapasitesinin depolama periyodu boyunca değişimi, Şekil 4.4’te verilmiştir. Natürel zeytinyağının içerdiği toplam fenolik madde miktarına benzer şekilde, kontrol grubu natürel zeytinyağına oranla, yaprak ilavesi içeren zeytinyağının antioksidan kapasitesi daha yüksek

bulunmuş ve bu durum depolama periyodu boyunca devam etmiştir. Ayrıca, %4 oranında yaprak ilavesi yapılarak üretilen zeytinyağında antioksidan kapasite, %2 oranında yaprak ilavesi yapılan zeytinyağına oranla, daha yüksek bulunmuştur.

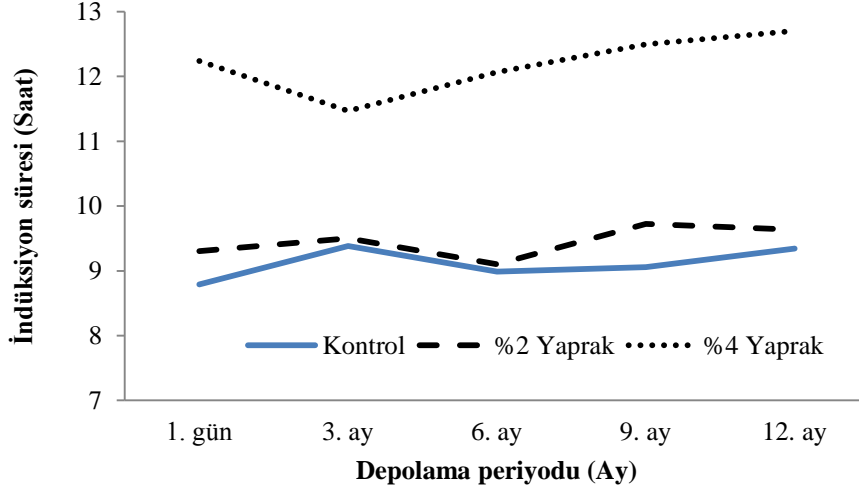
4.1.5. İndüksiyon Süresi

Oksidatif stabilite, zamana bağlı olarak yağ örneğinin oksidasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır. Bu direnç noktasına ulaşıncaya kadar geçen süreye indüksiyon süresi denilmektedir (Tan ve ark. 2002; Coppin ve Pike, 2001). Oksidatif stabilitenin belirlenmesinde birçok hızlandırılmış oksidasyon yöntemi uygulanmaktadır. Bunlardan, yağ örneğinin yüksek sıcaklıkta, aşırı oranda oksijen ve hava akımına maruz bırakılmasıyla kısa sürede sonuca ulaşmanın uygun yöntem olduğu bildirilmektedir (Paul ve Mittal, 1997).

Yağ sanayinde yaygın bir şekilde Rancimat ve Oksidatif Stabilite cihazları kullanılmaktadır (Tan ve ark. 2002). Bu sistemlerde bitiş noktası, sabit hava akışı altında yüksek sıcaklıklarda yağda oluşan uçucu bileşenlerin oranında meydana gelen ani yükselişin belirlenmesiyle tespit edilmektedir. Bu bileşenler su ile tutulmakta ve elektro-iletkenlik ile belirlenmektedir. Bu şartlarda, yağ asitlerinin uçucu organik asitlere parçalanması sağlanırken, hava akımı, uçucu asitleri su içeren iletkenlik hücresine sürükleyerek suda çözünmesini sağlamaktadır. Çözünen bu asitler iyonlarına ayrışmaktadır. Daha sonra suyun iletkenliği ölçülerek, iletkenlikteki hızlı artışın elde edildiği süre, indüksiyon süresi olarak tespit edilmektedir (Isbell ve ark. 1999).

Yaprak oranının artmasına paralel olarak zeytinyağı örneklerinin indüksiyon süresi (saat) artış göstermiştir. Kontrol grubu zeytinyağının ortalama 9.1 saat olarak bulunan indüksiyon süresi, %2 yaprak katkılı grupta ortalama 9.454 saat, %4 yaprak katkılı grupta ise ortalama 12.1 saat değerine ulaşmıştır. Depolama periyodu boyunca indüksiyon süresi (saat) önemli bir artış göstermiştir. Başlangıçta 10.111 saat olarak bulunan indüksiyon süresi depolama süresince artış göstermiş ve 12. ayda 10.561 saat olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Yapmış olduğumuz çalışmadan farklı olarak, dört çeşit zeytinyağı örneğine %3 oranında zeytin yaprağı ilavesinin, kontrol grubuna oranla, zeytinyağının indüksiyon süresini (oksidasyon stabilitesi) düşürdüğü (Sonda ve ark., 2013); başka bir çalışmada ise %0, 1, 2.5, 5

ve 10 oranında zeytin yaprağı ilavesiyle elde edilen zeytinyağında oksidasyon stabilitesinin (indüksiyon süresi) arttığı bildirilmiştir (Malheiro ve ark., 2013).



Şekil 4.5. Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının indüksiyon süresinin depolama periyodu boyunca değişimi

Kontrol ve farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının indüksiyon süresinin depolama periyodu boyunca değişimi, Şekil 4.5'te verilmiştir. Kontrol grubuna oranla, 12 aylık depolama periyodu boyunca yaprak ilavesi yapılarak üretilen natürel zeytinyağında indüksiyon süresi daha yüksek seyretmiştir. Ayrıca, periyot boyunca %4 yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağında indüksiyon süresi, %2 yaprak ilavesiyle elde edilen zeytinyağına oranla, daha yüksek bulunmuştur.

4.1.6. Renk

Yağların bileşiminde bulunan pigmentlerin, yağa verdiği doğal rengin durumunu kontrol etmek, ayrıca rafinasyon aşamalarında ağartma işleminin ne derece etkili yapıldığını veya yağlara sonradan yağa ilave edilen b-karoten gibi renk maddelerinin yeterli düzeyde olup- olmadığını kontrol edilmesi açısından önem taşımaktadır (Nas ve ark., 2001).

Çizelge 4.3'de natürel zeytinyağının renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları verilmiştir. Bu değerlendirmeler ışığında, zeytinyağı örneklerine ait L değerleri arasındaki farklılık; yaprak oranı ve depolama periyodu açısından $P < 0.001$ düzeyinde çok önemli bulunurken, yaprak oranı x depolama periyodu interaksyonu bakımından $P < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Zeytinyağı örneklerine ait a değerleri arasındaki farklılık yaprak oranı ve

depolama periyodu bakımından $P < 0.001$ düzeyinde çok önemli; yaprak oranı x depolama periyodu interaksyonu açısından önemli bulunmamıştır. Zeytinyağı örneklerine ait b değerleri arasındaki farklılık, yaprak oranı ve depolama periyodu bakımından $P < 0,001$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 3. Natürel zeytinyağının renk değerlerine ait varyans analiz sonuçları

	SD	L*	a*	b*
Yaprak oranı	2	14.6972 **	3.95481 **	39.219**
Depolama periyodu	4	38.576**	0.7338 **	278.34**
Yaprak oranı x depolama periyodu	8	0.6859 *	0.05942	0.802
Tekerrür	2	1.4003	0.22522	1.084
Hata	73	0.2912	0.04673	0.741
Toplam	89			

SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.4’de görüldüğü üzere; en yüksek L ortalama değerinin kontrol grubu natürel zeytinyağında olduğu, başka bir ifade ile en parlak olduğu tespit edilmiştir. Depolama periyodu boyunca L değeri düşüş göstererek ortalama 19.781 değerine ulaşmıştır. Natürel zeytinyağının a (kırmızılık) değerinin %2 yaprak oranı ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağında en yüksek seviyede ortalama 2.199 değerinde olduğu tespit edilmiştir. Depolama periyodu boyunca a değeri azalma göstererek ortalama 1.626 değerine ulaşmıştır. Zeytinyağında en yüksek b (sarılık) değeri kontrol grubu zeytinyağında ortalama 11.554 olarak tespit edilmiştir. Depolama periyodu boyunca b değeri artış göstererek ortalama 14.645 değerine ulaştığı gözlenmiştir.

Çizelge 4. 4. Natürel zeytinyağının renk değerlerine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar

		L*	a*	b*
Yaprak oranı	Kontrol	23.054 ^a	1.994 ^b	11.554 ^a
	% 2	21.697 ^c	2.199 ^a	9.274 ^c
	% 4	22.076 ^b	1.493 ^c	10.259 ^b
Depolama periyodu	0.gün	23.347 ^a	2.170 ^a	5.976 ^d
	3.ay	23.282 ^a	1.983 ^{ab}	6.514 ^d
	6.ay	22.709 ^b	1.886 ^b	11.431 ^c
	9.ay	22.258 ^b	1.811 ^{bc}	13.244 ^b
	12.ay	19.781 ^c	1.626 ^c	14.645 ^a

4.1.7. Yağ Asitleri Bileşimi

Zeytinyağını oluşturan trigliseritlerin yapısında yaygın olarak oleik, palmitik, linoleik ve stearik asitler başta olmak üzere çok sayıda yağ asitleri bulunmaktadır. Zeytinyağının bileşiminde yer alan yağ asitlerinin oranı, çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Anonim, 2010). Çoklu doymamış yağ asitleri, oleik aside göre daha kolay oksidasyona uğrayabilmektedir. Bu nedenle oleik asit oranının yüksek olması, zeytinyağının oksidasyona karşı daha stabil olmasını sağlamaktadır (Değirmencioğlu, 2006; Covas, 2007; Konuşkan ve Altan, 2008).

Ayvalık çeşidi yaprak ve meyvesinden üretilen natürel zeytinyağının yağ asitleri bileşimine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, yaprak oranı bakımından zeytinyağı gruplarına ait stearik asit oranları arasındaki farklılık $P<0.05$ önemli, linoleik asit oranları arasındaki farklılık ise $P<0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 5. Natürel zeytinyağının yağ asitleri bileşimine ilişkin varyans analiz sonuçları

	SD	Palmitik asit (C16:0)	Palmitoleik asit (C16:1)	Stearik asit (C18:0)	Oleik asit (C18:1)	Linoleik asit (C18:2)	α -Linolenik asit (C18:3)	Araşidik asit(C20:0)
Yaprak oranı	2	0.04424	0.004443	0.013710*	0.07164	0.25786**	0.000173	0.000070
Depolama periyodu	4	0.02317	0.010005	0.001847	0.02586	0.008503	0.000580	0.000322
Yaprak oranı x depolama periyodu	8	0.02465	0.00261	0.000952	0.04364	0.020776	0.000265	0.000124
Hata	15	0.0151	0.02084	0.003003	0.02147	0.01513	0.000463	0.0003
Toplam	29							

SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.6’ da görüldüğü gibi, kontrol grubu zeytinyağında en yüksek palmitik asit değeri tespit edilmiştir. Depolama periyodunun başlangıcında palmitik asit oranı en yüksek seviyedeyken sonraki aylarda azalma meydana gelmiştir. Sonda ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesi ile üretilen zeytinyağında palmitik asit oranının azaldığını bildirmişlerdir. Buna karşın Malheiro ve ark. (2013) yaprak ilave oranının artmasına paralel olarak, zeytinyağında palmitik asit oranının arttığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 4. 6. Natürel zeytinyağının yağ asitleri bileşimine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar

		Palmitik asit (C16:0)	Palmitoleik asit (C16:1)	Stearik asit (C18:0)	Oleik asit (C18:1)	Linoleik asit (C18:2)	α -Linolenik asit (C18:3)	Araşidik asit (C:20)
Yaprak oranı	Kontrol	13.669	0.797	2.822 ^a	68.448	11.825 ^b	0.681	0.481
	% 2	13.536	0.756	2.771 ^b	68.355	12.098 ^a	0.689	0.485
	% 4	13.605	0.785	2.750 ^b	68.279	12.108 ^a	0.687	0.486
Depolama periyodu	0.gün	13.687	0.800	2.763	68.318	11.983	0.677	0.473
	3.ay	13.535	0.803	2.800	68.425	11.978	0.693	0.488
	6.ay	13.555	0.775	2.797	68.408	11.990	0.677	0.492
	9.ay	13.642	0.808	2.782	68.268	12.063	0.698	0.480
	12.ay	13.598	0.710	2.763	68.383	12.037	0.683	0.487

SD: Serbestlik derecesi

Kontrol ve %2 ve %4 oranında zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağlarında palmitoleik asit oranı arasında rakamsal bir fark olmasına rağmen, istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir. İstatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, depolama periyodu boyunca zeytinyağında palmitoleik asit miktarının azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.6). Sonda ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesi ile üretilen zeytinyağında palmitoleik asit miktarının azaldığı, Malheiro ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada ise yaprak ilavesinin zeytinyağının palmitoleik asit oranını yükselttiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.6'da, kontrol grubuna oranla, farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağında stearik asit oranları nemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Ayrıca, yaprak ilavesinin elde edilen zeytinyağında stearik asit oranı bakımından önemli düzeyde bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir. Depolama periyodu boyunca ise stearik asit miktarında istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, bir değişim gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Benzer olarak Sonda ve ark. (2013), dört farklı zeytin çeşidinde yaptıkları çalışmada yaprak ilavesinin stearik asit düzeyine etkisinin önemsiz olduğunu; Malheiro ve ark. (2013) ise %2.5 ve %5 yaprak ilavesiyle elde edilen zeytinyağında stearik asit oranında önemli bir artışın olduğunu; Sevim (2011) tarafından yapılan çalışmada ise %1 ve %3 oranında yaprak ilavesinin zeytinyağında stearik asit oranını arttırdığını ifade etmiştir.

Zeytinyağının en önemli majör yağ asidinin oleik asit olduğu bilinmektedir. Oleik asit oranı bakımından kontrol grubu natürel zeytinyağı ile farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen zeytinyağı arasında; aynı şekilde farklı oranlarda yaprak ilavesi ile üretilen zeytinyağları arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir. Benzer şekilde, 12 aylık

depolama periyodu boyunca zeytinyağının oleik asit oranındaki değişim önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.6). Malheiro ve ark. (2013) ile Sevim (2011) tarafından yapılan çalışmalarda, yaprak ilavesinin zeytinyağının oleik asit oranını düşürdüğü, buna karşın Sonda ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada ise bu işlemin zeytinyağında oleik asit oranını arttırdığı bildirilmiştir.

Farklı oranlarda (%2 ve 4) zeytin yaprağı ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağının linoleik asit oranları önemli düzeyde, kontrol grubu zeytinyağına oranla, daha yüksek, ancak yaprak ilave edilerek üretilen zeytinyağlarının linoleik asit oranları arasında ise önemli bir farklılık bulunmamıştır. Natürel zeytinyağının linoleik asit oranı, istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte depolama periyodu süresince değişim göstermiştir (Çizelge 4.6). Sonda ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesinin iki çeşit zeytinyağı örneğinde linoleik asit miktarını artırdığını, diğer iki çeşit zeytinyağında ise azalttığını; Malheiro ve ark. (2013) ilave edilen zeytin yaprağı oranının artmasıyla birlikte zeytinyağı örneklerinde linoleik asit oranını arttırdığı; Sevim (2011) ise yapmış olduğu çalışmada kontrol grubu zeytinyağının linoleik asit oranını, yaprak ilave edilerek üretilen zeytinyağlarına oranla, daha düşük olduğunu belirtmiştir.

Kontrol grubuna oranla, istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, farklı oranlarda yaprak ilave edilerek üretilen zeytinyağlarında α -linolenik asit oranları daha yüksek bulunmuştur. Natürel zeytinyağının α -linolenik asit oranı depolama periyodu boyunca değişim gösterdiği Çizelge 4.6'da görülmektedir. Malheiro ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesiyle 2009 yılında üretilen zeytinyağlarında α -linolenik asit oranının arttığı, 2010 yılında üretilen zeytinyağlarında ise α -linolenik asit oranının azaldığını; Sonda ve ark. (2013) %3 oranında zeytin yaprağı ilavesinin zeytinyağında α -linolenik asit oranını düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere; kontrol grubu ile %2 ve %4 oranında zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağlarının araşidik asit oranları arasında önemli bir fark tespit edilememiş, natürel zeytinyağının araşidik asit oranı, depolama periyodu boyunca değişim göstermiş, en yüksek araşidik asit oranı periyodun 6. ayında tespit edilmiştir. Malheiro ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesiyle 2009 yılında üretilen zeytinyağlarında araşidik asit oranının arttığı, 2010 yılında üretilen zeytinyağlarında ise araşidik asit oranının azaldığını; Sonda ve ark. (2013) zeytin yaprağı ilavesinin zeytinyağında araşidik asit oranını arttırdığını bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, kontrol grubu ile %2 ve %4 zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağlarının yağ asitleri bileşimleri, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde natürel zeytinyağı için bildirilen palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, α -linolenik asit ve araşidik asit oranları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.1.8. UV Işığında Özgül Absorbans

Zeytinyağında 232 ve 270 nm'de ölçülen özgül absorbans değerleri, oksidasyona dayanıklılığın bir ölçütü olan önemli bir kalite kriteri olduğu, 232 nm dalga boyunda ölçülen değer, oksidasyonun birinci basamağı olan hidroperoksitler ile konjuge dienlerin; 270 nm'de ölçülen değer ise oksidasyonun ikinci basamağı olan karbonik bileşikler ile konjuge trienlerin göstergesi olduğu bildirilmektedir. Delta K değeri ise, 266, 270 ve 274 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri dikkate alınarak hesaplanmakta ve zeytinyağının kalitesi hakkında fikir vermektedir (Anonim, 2017).

Kontrol ve farklı oranlarda zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Yaprak oranı bakımından, zeytinyağının ΔK değerleri arasındaki farklılık $P < 0.05$ düzeyinde önemli, depolama periyodu zaviyesinden K232 ve K270 değerleri arasındaki farklılık ise $P < 0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 7. Natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

	SD	K232	K270	ΔK
Yaprak oranı	2	0.14113	0.00054	0.000274*
Depolama periyodu	4	1.04507**	0.018837**	0.000034
Yaprak oranı x Depolama periyodu	8	0.05855	0.000397	0.000094
Tekerrür	2	0.11012	0.000064	0.000065
Hata	73	0.07208	0.000908	0.000078
Toplam	89			

SD: Serbestlik derecesi

Natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ait ortalama değerler ve oluşan gruplar Çizelge 4.8' de verilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Analiz

Metotları Tebliği'ne (Anonim, 2014) göre; ultraviyole ışığında özgül soğurma analizi sonucu, natürel zeytinyağında K232 değerinin en yüksek 2.5 olabileceği ifade edilmiştir. Analizler sonucu hesaplanan K232 değeri anılan tebliğde belirtilen en üst değer ile paralellik göstermektedir. Zeytinyağında hesaplanan K232 değeri, depolama periyodu boyunca önemli düzeyde değişim göstermekle beraber, tebliğde belirtilen limitle paralellik arz etmektedir.

Çizelge 4. 8. Natürel zeytinyağının özgül absorbans değerlerine ait oluşan ortalama değerler ve oluşan gruplar

		K232	K270	ΔK
Yaprak oranı	Kontrol	2.343	0.205	- 0.001 ^{ab}
	% 2	2.254	0.212	- 0.004 ^b
	% 4	2.208	0.204	0.002 ^a
Depolama periyodu	0.gün	1.979 ^b	0.199 ^b	- 0.001
	3.ay	2.449 ^a	0.212 ^b	- 0.003
	6.ay	2.034 ^b	0.157 ^c	- 0.000
	9.ay	2.449 ^a	0.225 ^{ab}	- 0.000
	12.ay	2.424 ^a	0.243 ^a	0.000

Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Analiz Metotları Tebliği'nde (Anonim, 2014) zeytinyağının K270 değerinin en yüksek 0.25 olabileceği belirtilmiştir. Kontrol ve farklı oranlarda zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen zeytinyağlarının K270 değerleri, anılan tebliğ ile uyumluluk arz etmektedir. Natürel zeytinyağının K270 değeri, depolama periyodu boyunca çok önemli düzeyde değişim göstermekle beraber, giderek artış göstermiştir.

Anılan tebliğde, zeytinyağının ΔK değerinin ≤ 0.01 olması gerektiği anlaşılmaktadır. Bu bağlamda, kontrol grubu ile yaprak katkılı zeytinyağlarının ΔK değerleri, tebliğ ile uyumluluk göstermektedir. Malheiro ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, 2009 yılına ait zeytinyağında ilave edilen yaprak oranının artmasıyla beraber K232 değerinin arttığı ve tebliğde bu parametre için belirlenen 2.5 sınırının altında kaldığını, 2010 yılı zeytinyağlarında ise K232 değerinin belirlenen limiti aştığı; K270 değerinin her iki yılda üretilen zeytinyağında bildirilen sınırın altında kaldığı; ΔK değerinin ise her iki yılda üretilen zeytinyağında da tebliğde bildirilen en üst sınır ile uygunluk arz ettiği tespit edilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, kontrol grubu ile iki farklı oranda (%2 ve %4) Ayvalık zeytin çeşidi yaprağı ilave edilerek Ayvalık çeşidi zeytin meyvesinden üretilen natürel zeytinyağlarının oksidatif stabilitesi, renk ve serbest yağ asitleri bileşiminin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, araştırma planına uygun olarak üretilen ve 12 ay süre ile oda şartlarında amber şişede muhafaza edilen zeytinyağı örneklerinde serbest asitlik, peroksit değeri, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite, indüksiyon süresi, yağ asitleri bileşimi, UV özgül absorbans değerleri ve renk analizleri yapılmıştır.

Kontrol örneğine oranla, farklı oranlarda yaprak ilavesiyle üretilen natürel zeytinyağında, serbest asitlik (% oleik asit) ve peroksit değerinde (meq O₂/kg) önemli düzeyde azalma, fenolik madde içeriği (mg CAE/kg), antioksidan kapasite (%) ile indüksiyon süresi (saat) değerinde ise önemli düzeyde artış tespit edilmiştir.

Natürel zeytinyağında depolama periyodu boyunca, serbest asitlik (% oleik asit), peroksit değeri (meq O₂/kg) ve indüksiyon süresinin (saat) arttığı, fenolik madde içeriği (mg CAE/kg) ve antioksidan kapasitenin (%) ise azaldığı görülmüştür. Yapılan analizler sonucu, bu çalışma kapsamında üretilen natürel zeytinyağları, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde natürel zeytinyağı için bildirilen limitlere uygunluk gösterdiği ve bu bağlamda, natürel birinci zeytinyağı sınıfında yer aldığı tespit edilmiştir.

Kontrol örneğine oranla, yaprak ilave edilerek üretilen zeytinyağı örneklerinde parlaklık (L* değeri) ve sarılık (b* değeri) değerlerinin daha yüksek olduğu, depolama periyodu boyunca, zeytinyağında L* ve a* değerlerinin önemli düzeyde azaldığı, b* değerinin ise önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

Kontrol ve farklı oranlarda zeytin yaprağı ilave edilerek üretilen natürel zeytinyağlarının yağ asitleri bileşimi, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde natürel zeytinyağı için bildirilen yağ asitleri bileşimi ile uygunluk arz ettiği, yaprak ilavesiyle üretilen zeytinyağında stearik asit miktarının önemli düzeyde azaldığı, linoleik asit miktarının ise önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada kontrol ve farklı oranlarda zeytin yaprağı ilavesi ile üretilen natürel zeytinyağına ait K232 ve K270 özgül absorbans değerleri, anılan tebliğde natürel zeytinyağı için bildirilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür.

Tüm bu değerlendirmeler ışığında, Ayvalık çeşidi zeytin yaprağı ilavesinin, Ayvalık çeşidi zeytin meyvesinden üretilen natürel zeytinyağının oksidatif stabilitesinde önemli rol oynayan fenolik madde içeriği (mg CAE/kg), antioksidan kapasite (%) ve indüksiyon süresi (saat) değerlerinin artmasına neden olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak önemli bulunduğu, bunun yansıması olarak zeytinyağının hidrolizi ve oksidasyonu ile ilgili olan ve aynı zamanda kalite kriterleri olarak anılan serbest asitlik (% oleik asit) ve peroksit değerinde (meq O₂/kg) de azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, %2 ve %4 oranlarında zeytin yaprağı ilavesiyle elde edilen Ayvalık çeşidi zeytin meyvesinden üretilen natürel zeytinyağı, amber şişede ve oda sıcaklığında, en az 12 aylık süre ile güvenli bir şekilde depolanabilecektir.

KAYNAKLAR

- ALKIN, E. 2003. Zeytin meyvesinde bulunan hydroxytyrosolün özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. 1. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Sempozyumu, 02-03 Ekim, İzmir, s.107-111.
- ALLOUCHE, Y., UCEDA, M., JIMENEZ, A., AGUILERA, M.P., GAFORIO, J.J., and BELTRAN, G., 2009. Fruit Quality and Olive Leaf and Stone Addition Affect Picual Virgin Olive Oil Triterpenic Content. *J.Agric. Food Chem.* 57:8998-9001.
- ANONİM, 2014. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı Ve Pirina Yağı Tebliği. 2014/53, Ankara, 97s.
- ANONİM, 2017, Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği. 2017/26, Ankara, s. 6-53.
- AYDENİZ, B., and YILMAZ, E., 2012. Enrichment of Frying Oils with Plant Phenolic Extractsto Extend the Usage Life. *Eur. J. LipidSci. Technol.*, 114, s.933–941.
- BAYRAK, A. 2006. Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi yayın no:32, Ankara, 497s.
- BIYIKLI, K. 2009. Türk Zeytinyağlarının Saflık Derecelerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 75s.
- BOSKOU, D. 1996. Olive oil chemistry and technology. AOCS Press, Champaign, IL, USA,161s.
- BOUAZİZ, M., FKİ, I., JEMAİ, H., AYADI, M. and SAYADI, S., 2008. Effect of Storage on Refined and Husk Olive Oils Composition: Stabilization by Addition of Natural Antioxidants from Chemlali Olive Leaves. *Food Chemistry*, 108, s.253-262.
- BOUAZİZ, M., HAMMAMİ, H., BOUALLAGUİ, Z., JEMAİ, H. and SAYADI, S., 2008. Production of Antioxidants from Olive Processingby-Products. *Sayadi Et Al. Ejeafche*, 7 (8): 3231-3236.
- BOUAZIZ, M., FEKI, I., AYADI, M., JEMAI, H. and SAYADI, S., 2010. Stability of Refined Olive Oil and Olive-Pomace Oil Added by Phenolic Compunds From Olive Leaves. *Eur.J.Lipid Sci. Technol*, 112:894-905.
- BOUDHRIOUA, N., BAHLOUL, N., SLIMEN, B.I. and KECHAOU, N., 2009. Comparison on The Total Phenol Contentsand The Color of Fresh and Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops and Products*, 29: 412-419.
- CARLUCCIO, M.A., L. SÍCULELLA, M.A. ANCORA, M. MASSARO, E. SCODİTTİ, C. STORELLİ, F. VİSİOLÌ, A. DİSTANTE and R. DECATERÌNA., 2003. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibitendo the lialactivation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 23:622–629.
- CARRASCO-PANCORBO, A., CERRETANÌ, L., BENDİNÌ, A., SEGURA-CARRETERO, A., DEL CARLO, M., GALLÌNA-TOSCHÌ, T., LERCKER, G., COMPAGNONE, D., and FERNANDEZ-GUTİERREZ, A., 2005, Evaluation of the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8918-8925.
- CAVALLÌ, J., FERNANDEZ, X., CUVELÌER, L and LOÌSEAU A., 2004, Characterisation Of Volatile Compounds Of French And Spanish Virgin Olive Oils By HS-SPME: Identification Of Quality freshness Markers, *Food Chemistry*, vol:88, s.151-157.
- CHÌOU,A., SALTA, F.N., KALEGEROPOULOS, N., MYLONA, A., NTALLA, I. and ANDRÌKOPOULOS, N.K., 2007. Retention and distrubution of polyphenols after pan

- frying of french fries in oil senriched with olive leaf extract. Sensory and Nutritive Qualities of Food, 72, s.574- 584.
- CHIOU, A., KALOGEROPOULOS, N., SALTA, F.N., EFSTATHIOU, P. and ANDRIKOPOULOS, K.N., 2009. Pan-Frying of French Fries in Three Different Edible Oils Enriched with Olive Leaf Extract: Oxidative Stability and Fate of Micro constituents. *Lwt – Food Science And Technology*, 42, s.1090–1097.
- COPPIN, E.A. AND PIKE, O.A., 2001. Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil. *Journal of American Oil Chemists Society*, 78: 13-18.
- COVAS, MAR'IA-ISABEL. 2007. Olive oil and the cardiovascular system. Review. *Pharmacological Research* 55: 175–186.
- DEĞİRMENCİOĞLU, N., 2006. Zeytinyağı Fenolik Bileşiklerinin Sağlık Üzerindeki Etkileri. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu, s.411- 412.
- DELGADO-PERTINEZ, M., CHESSON, A., PROVAN, G.J., GARRIDO, A. and GOMEZ-CABRERA, A., 1998. Effect of different drying systems forthe conservation of olive leaves on their nutritive value forruminantsl, *Ann. Zootech*, 47, s.141-150.
- DÌ GIOVACCHINO, L., ANGEROSA, F. and DÌ GIACINTO, L. 1996. Effect of mixing leaves with olives on organo leptic quality of oil obtained by centrifugation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 371-374.
- DİMİTRİOS, B., 2006, Sources of Natural Phenolic Antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, s.505–512.
- DOBARGANES, C., MÁRQUEZ-RUIZ, G. and VELASCO, J., 2000, Interactions between fat and food during deep-frying. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102 , s.521 – 528 .
- FARAG, R., S., EL-BAROTY, G., S., and BASUNY, A., M., 2003. The Influence of Phenolic Extracts Obtained from the Olive Plant (Cvs. Picual and Kroneki), on the Stability of Sun flower Oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, s.81–87.
- FARAG, R.S., MAHMOUD, E.A. and BASUNY, A.M., 2007. Use Crude Olive Leaf Juice as Natural Antioxidant for The Stability of Sunflower Oil During Heating. *International Journal of Food Science and Techonology*, 42, s.107-115.
- FERREIRA, I., C.,F., R., BARROS, L., SOARES, M., E., BASTOS, M., L. and PEREIRA, J., A., 2007, Antioxidant Activity and Phenolic Contetnts of *Olea Europea* L. Leaves Sprayed with Different Copper Formulations, *Food Chemistry*, 103, s.188-195.
- GİMENO, A., CASTELLOTE, A.I., LAMUELA-RAVENTO'S, R.M., DE LA TORRE, M.C. and SABATERM.C.L., 2002. The effects of harvest and extractionmethods on the antioxidant content (phenolics, a-tocopheroland b-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78: 207–211.
- GİMENO, E., FİTO',M., LAMUELA-RAVENTO'S, R.M., CASTELLOTE, A. I., COVAS and M. ANDFARRE', M., 2002. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipo protein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56:114–120.
- GİKAS, E., F.N. BAZOTİ and A. TSARBOPOULOS. 2007. Conformation of Oleuropein, the majör bioactive compound of *Oleauropea*. *J. Mol. Struct.: Theochem.* 821:125-132.
- GUINDA, T.A., CAMİNO, C.P. and LANZON, A., 2004. Supplementation of Oils With Oleanolic Acid From The Olive Leaf (*Olea Europaea*), *European Journal of Lipid Science Technology*, 106: 22-26.
- GUTFİNGER, T., 1981, Polyphenols in Olive Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 966–968.
- HARP, F., 2011. Gemlik, Domat, Adana Topağı ve Adana Yerli Zeytin Yapraklarının Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 55s.

- HAYES, J.E., STEPANYAN, V., ALLEN, P., O'GRADY, M.N. and KERRY, J.P., 2010b. Effect of Lutein, Sesamol, Ellagic Acid and Olive Leaf Extract on The Quality and Shelf-Life Stability of Packaged Raw Minced Beef Patties, *Meat Science*, 84:613-620.
- HENCİRİK, K., and FRİTSCHÉ, S., 2004, Comparability and Reliability of Different Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil, *Eur. J.Lipid Sci. Technol*, 106: 540-549.
- ISBELL, T.A., ABOU, T.P. and CARLSON, K.D., 1999. Oxidative stability index of vegetable oils in binary mixtures with meadowfoam oil, *Industrial Crops and Products*, 9: 115-123.
- JAPON-LUJAN, R. and CASTRO, M.D.L., 2008. Liquid-Liquid Extraction for The Enrichment of Edible Oils with Phenols from Olive Leaf Extracts, *J.Agric. Food Chem.* 56:2505-2511.
- JEMAI, H., EL FEKI, A. and SAYADI, S., 2009. Anti diabetic and Antioxidant Effect of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57: 8798-8804.
- JİANG, L., YAMAGUCHİ, T., TAKAMURA, H., and MATOBA, T., 2005, Characteristics of Shodo Island Olive Oils in Japan: Fatty Acid Composition and Antioxidative Compounds, *Food Sci. Technol. Res.*, 18, 11: 254-260.
- KAYAHAN, M., 2003. Yağ kimyası. ODTÜ Geliştirme Vakfı, Yayıncılık ve İletişim A.Ş. Yayınları, Ankara, 220s.
- KAYAHAN, M. ve TEKİN A. 2006. Zeytinyağı üretim teknolojisi. Filiz Matbaacılık San. Ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 198s.
- KIRALAN, M., 2006. Ayçiçek Yağının Oksidatif stabilitesi üzerine Isırgan (*Urtica Diocia* L.), Keten (*Linum Usitassium* L.), Kisnis (*Coriandrum Sativum* L.) ve Çörekotu (*Nigella Sativa* L.) Tohum Ekstraktlarının Etkileri. AÜ. FBE Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 40s.
- KİRİTSAKİS, A. K., C. M., STINE and L. R. DUGAN, 1985. Effects of Selected Antioxidants On The Stability of Virgin Olive Oil. *J. Amer. Oil Chem. Sec.* , 60, 7: 1286- 1290.
- KİRİTSAKİS, A. K. 2002. Virgin olive oil composition and its effect on human health. *Health and Nutrition*. 13: 237-241.
- KİRİTSAKİS, K., RODRİGUEZ, PEREZ, C., GERASOPOULOS, D. and SEGURA CARRETERO, A., 2017. Olive oil enrichment in phenolic compounds during malaxation in the presence of olive leaves or olive mill waste water extracts. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(9): 1-13.
- KONUŞKAN, D. B. and ALTAN, A. 2008. Zeytin ve zeytinyağında doğal olarak bulunan biyoaktif bileşikler ve fizyolojik etkileri. *Gıda*, 33(6) : 297-302.
- LAFKA, T.I., LAZOU, A.E., SINANOĞLOU, V.J. and LAZOS, E.S., 2011. Phenolic and Antioxidant Potential of Olive Oil Mill Wastes. *Food Chemistry*, 125, s.92-98.
- LAVELLİ, V., 2002, Comparison of the Antioxidant Activities of Extra Virgin Olive Oils, *J. Agric. Food Chem*, 50, 1: 7704-7708.
- LEE, OK-HWAN, LEE, BOO-YONG, LEE, J., LEE, HEE-BONG, SON, JONG-YOUN, PARK, CHEON- SEOK, SHETTY, K. and KIM, YOUNG-CHEUL, 2009. Assessment of Phenolics-Enriched Extractand Fractions of Olive Leaves and Their Antioxidant Activities. *Bioresource Technology* 100, s.6107–6113.
- MALHEİRO, R., CASAL, S., TEIXEİRA, H., BENTO, A. and PEREİRA, J. A. 2013. Effect of olive leaves addition during the extraction process of over mature fruits on olive oil quality. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2): 509-521.

- MATEOS, R., TRUJILLO, M., PEÑA REZ-CAMINO, M., C., MOREDA, W. and CERT, A., 2005. Relationships Between Oxidative Stability, Triacylglycerol Composition, and Antioxidant Content in Olive Oil Matrices. *J. Agric. Food Chem.*, 53:5766-5771.
- MEDEIROS, M.D. 2001. Olive oil and health benefits, In R. E. C. Wildman Ed., *The handbook of nutraceuticals and functional foods*. CRC Pres, Boca Raton, Florida, 330s.
- MEYER, L.H., 1960, *Food Chemistry*, The Avi publishing Company, Westport.
- MÍCOL, V., N. CATURLA, L. PEREZ-FONS, V. MAS, L. PEREZ, and A. ESTEPA. 2005. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). *Antivir. Res.* 66:129–136.
- MORELLO, J.R., MOTILVA, M.J., TOVAR, M.J. and ROMERO, M.P. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85(3); 357-364.
- NAS, S., GÖKALP, H.Y. ve ÜNSAL, M. 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. 3. Baskı, Pamukkale Üniversitesi Ders Kitapları No:005, Denizli, 329s.
- NENADIS, N., MOUTAFIDOU, A., GERASOPOULOS, D. and TSIMIDOU, M.Z., 2010. Quality Characteristics of Olive Leaf-Olive Oil Preparations, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112:1337-1344.
- OWEN, R.W., A. GIACOSA, W.E. HULL, R. HAUBNER, G. WÜRTELE, B. SPIEGELHALDER and H. BARTSCH. 2000. Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet. Oncol.* 21:107–112.
- ÖĞÜTÇÜ, M. MENDEŞ, M. ve YILMAZ, E., 2008, Sensorial and Physico-Chemical Characterization of Virgin Olive Oils Produced in Çanakkale, *JAm Oil Chem Soc.* 85: 441–456.
- PAIVA-MARTINS, F., CORREIRA, R., FELIX, S., FERREIRA, P. and GORDON, M.H., 2007. Effects of Enrichment of Refined Olive Oils with Phenolic Compounds from Olive Leaves, *J. Agric. Food Chem.* 55:4139-4143.
- PALMERI, R., MONTELEONE, J. I., BARBERA, A. C., MAUCIERI, C., TODARO, A., GIANNONE, V. and SPAGNA, G. 2016. Production of Functional Crackers Enriched with Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Extract. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 3(7):1.
- PAPADIMITRIOU, V., SOTIROUDIS, T.G., XENAKIS, A., SOFIKITI, N., STAVYIANNIOUDAKI, V. and CHANIOTAKIS, N.A., 2006. Oxidative Stability and Radical Scavenging Activity of Extra Virgin Olive Oils: An Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy Study, *Analytical Chimical Acta*, 573–574, 453–458.
- PAUL, S. and MITTAL, G.S., 1997. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 635-662.
- PERALBO-MOLINA, A. and LUQUE DE CASTRO, M.D. 2013. Potential of residues from the Mediterranean agriculture and Agrifood industry. *Trends in Food Science & Technology*, 32:16–24.
- RANALLI, A., CONTENTO, S., LUCERA, L., FEBO, M.D., MARCHEGANI, D. and FONZO V.D., 2006. Factors Affecting The Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.), *J. Agric. Food Chem.* 54:434-440.
- SALTA, F., N., MYLONA, A., CHIOU, A., BOSKOU, G. and ANDRIKOPOULOS, N., K., 2007. Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract, *Food Sci Tech Int*, 13,413–421.
- SANCHEZ, J.C., M.A. ALSINA, M.K. HERRLEIN and C. MESTRES, 2007. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid Polym. Sci.* 285:1351–1360.

- SEVİM, D., 2011. Zeytin Yaprağı İlave Edilerek Elde Edilen Zeytinyağlarının Bazı Temel Kalite Kriterleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir, 323s.
- SHAHİDİ, F. 1996. Natural antioxidants Chemistry, health effect and applications. AOCS Press, Champaign, IL, USA, s.97-149.
- SCHIEBER A., STINTZING, F.C. and CARLE R., 2001. By-Products of Plant Food Processing as a Source of Functional Compounds Recent Developments. Trends in Food Sci. Technol. 12, s.401-413.
- SKEVİN, D., RADE D., STRUCELJ, D., MOKROVCAK Z., NEDERAL, S. and BENCİC, D., 2003. The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil. Eur.J.LipidSci. Technol.105: 536-541.
- SOLER-RÍVAS, C., J.C. ESPÍN and H.J. WÍCHERS., 2000. Oleuropein and related compounds. J. Sci. Food Agric. 80:1013-1023.
- SONDA A., AKRAM Z., BOUTHEİNA G., GUİDO F. and MOHAMED B., 2013. Effect of Addition of Olive Leaves before Fruits Extraction Process to Some Monovarietal Tunisian Extra-Virgin Olive Oils Using Chemometric Analysis. J. Agric. Food Chem, 2014, 62, 251–263.
- STANDLEY L, WİNTERTON P, MARNEWİCK JL, GELDERBLOM WCA, JOUBERT E. and BRİTZ TJ., 2001. Influence of process ingstages on antimutagenic and antioxidant potentials of roobiosteal, J. Agric. Food Chem, 49, 114–117,
- TALHAOUİ, N., TAAMALLİ, A., GOMEZ-CARAVACA, A. M., FERNANDEZ-GUTİERREZ, A. and SEGURA-CARRETERO, A. 2015. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abioticin flurence, and health benefits. Food Research International, 77: 92-108.
- TAN, C.P., CHE MAN, Y.B., SELAMAT, J. and YUSOFF, M.S.A., 2002. Comparative study of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index method. Food Chemistry, 76: 385-389.
- TARHOUNE I., SGHERRİ C., EDDOUZİ J., ZİNNAİ A., QUARTACCİ M.F. and ZARROUK M., 2019. Olive Leaf Addition Increases Olive Oil Nutraceutical Properties. Molecules Sci, 24, 545.
- TRİPOLİ, E., M. GİAMMANCO, G. TABACCHİ, D. Dİ MAJO, S. GİAMMANCO and M. LA GUARDİA. 2005. The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. Nutr. Res. Rev. 18:98–112.
- TUCK, K.L. and P.J. HAYBALL, 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. J. Nut. Biochem. 13:636-644.
- TUNALIOĞLU, R., KARAHOCAGİL, P. and TAN, M. 2003. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Durum ve Tahmin: 2002/2003. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü. Yayın No: 96, ISBN 975- 407-121-7, ISSN 1303-9636, 58s.
- TUNALIOĞLU, R. ve KARAHOCAGİL, P. 2006. Zeytinyağı & Sofralık Zeytin & Pirina Yağı Durum ve Tahmin. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, İzmir, 142 ISBN 975-407- 195-0 ISSN 1305-5321, 126s.
- ÜNVER, N. 2018. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak zeytin yaprağı ekstraksiyon işleminin optimize edilmesi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 84s.
- VİSİOLİ, F., G. BELLOMO, G. MONTEDORO and C. GALLİ. 1995. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. Athero sclerosis. 117(1):25-32.
- VİSİOLİ, F., S. BELLOSTA and C. GALLİ. 1998. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by Mouse macrophages. Life Sci. 62:541–546.

- VİSİOLİ, F., A. POLİ and C. GALLİ, 2002. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.* 22:65–75.
- YAVUZ, O. ve GÜRBÜZ, B., 2000. Türkiye Zeytin ve Zeytinyağı Sektörünün Üretim Ve Pazar Yapısı Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Türkiye Zeytincilik Sempozyumu, 6-9 Haziran, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri ve Gıda Mühendisliği Bölümleri, Bursa, s.412-418.
- YEMİŞÇİOĞLU, F., GÜMÜSKESEN, A., S. ve TİBET, Ü., 2005. Türk Zeytinyağlarının Bölgesel Karakterizasyonu. Zeytinyağı ve Pirina Yağı Sempozyumu ve Sergisi, 10-12 Kasım, İzmir, s.72-80.
- YILDIZ N. ve BİRCAN H., 1992. Uygulamalı İstatistik. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No.704, Erzurum, 218s.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Emine DOĞRU
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : ŞANLIURFA 08/08/1991
Telefon : 05541334759
e-mail : eminedogru04@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İl, İlçe	Bitirme Yılı
Lise	ÇEAŞ Anadolu Lisesi, Şanlıurfa	2009
Üniversite	İnönü Üniversitesi, Malatya	2014
Yüksek Lisans	Harran Üniversitesi, Şanlıurfa	2019

