

Antioksidanlar ve Zeytinyağı

Didar SEVİM

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, Zeytinyağı Teknolojisi Bölümü, Bornova-İZMİR

Geliş tarihi: 15.11.2010

Kabul tarihi: 11.01.2011

GİRİŞ

Yağ ve yağlı ürünlerin kalitesinin geliştirilmesinde oksidatif stabilite çok önemlidir. Bitkisel yağlar, hayvansal yağlar ve 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. Oksidasyonu engellemede veya yavaşlatmakta kullanılan en etkili yol antioksidan kullanımıdır. Antioksidanlar peroksid zincir reaksiyonlarını engelleyerek reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Antioksidanlar gıdalarda doğal ya da sentetik olarak kullanılabilir. Doğal antioksidanların oksidatif hasarlara karşı diyetlerde kullanımı hızla artmaktadır ve insan sağlığı üzerinde önemli etkileri vardır. Çoğunlukla meyveler, sebzeler, zeytinyağı, aromatik bitkiler doğal antioksidan kaynağı olarak dikkat çekmektedir (Dimitrios, 2006). Sentetik antioksidanlardan en yaygın kullanılanlar; BHA (Bütillenmiş hidroksi anizol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PG (Propil gallat) ve TBHQ'dur. Sentetik antioksidanlar, sağlık açısından ciddi tereddütler ortaya çıkarmıştır. Bazı ülkelerde, gıdalarda kullanımı kanserojenik etkisi olabileceği şüphesinden dolayı yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır (Farag, 2003). Böylece sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Kıralan, 2006).

Antioksidanlar etki mekanizmalarına göre ikiye ayrılırlar.

1. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;
 - Giderici, toplayıcı, süpürücü (Scavenging) etki gösterenler,
 - Bastırıcı (Quencher) etki gösterenler,
 - Zincir kırıcı (Chain break) etki gösterenler,
 - Onarıcı (Repair) etki gösterenleri.
2. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;
 - Başlatıcı reaktif türleri uzaklaştırıcı etki,
 - Oksijeni uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki
 - Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

Lipit oksidasyonu üç aşamada (başlangıç, yayılma ve bitiş olmak üzere) meydana gelen serbest radikal oluşum mekanizmasıdır. Bu reaksiyon ışığa, ısıya, ağır metal iyonlarına ve oksijene maruz kalan yağ asidinden (RH) hidrojen (H) ayrılması ile başlar. Böylece serbest radikal oluşur (R•). Serbest radikallerin bu şekilde oluşumundan sonra, oksidasyon tepkimesi, serbest radikallere oksijenin moleküler formda bağlanması ve serbest peroksi radikallerinin (ROO•) oluşması ile gelişir. Oluşan serbest peroksi radikalleri, nötr duruma gelebilmek için, ya aynı zincir üzerindeki, ya da başka bir yağ asiti molekülünün zincirinden hidrojenlerden birini kendine çekerek bağlanır ve böylece ilk oksidasyon ürünleri hidroperoksitler oluşur. Hidroperoksitler kararlı olmadıkları için

ikinci derecedeki oksidasyon ürünlerine, çoğunlukla da karbonilli bileşenlere parçalanırlar. Bunlar; aldehit, keton, asit, hidrokarbon ve epoksi asitlerdir. Peroksitler lezzetin bozulmasında çok etkili olmayıp daha çok ikinci derece oksidasyon ürünlerinin oluşumuna neden olurlar. Radikal zincir reaksiyonu sonucu oluşan lipit oksidasyonu yağlara özgü acılaşıp koku ve lezzete neden olmakta ve pek çok önemli kalite parametresini etkilemektedir. Oksidasyon yağda sadece lezzeti değil besinsel değeri de etkilemektedir. Bu nedenle de büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bunları engellemek için antioksidanlar yağlara veya yağ içeren gıdalara eklenmektedir (Farag, 2003).

Gıdaların toplam antioksidan kapasitelerini belirlemek için bir seri radikal tutma testleri kullanılır. Bütün testler uygun bir substrat, bir oksidasyon başlatıcı ve uygun son nokta ölçüm sistemi esasına dayanır. TEAC (trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi) ve bir geliştirilmiş hali ABTS tekniği (Yılmaz, 2008), DPPH tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son 10 yıldır pek çok yöntem gıda örneklerinde ve biyolojik sıvılarda antioksidan aktivite tayininde kullanılan yöntemler; kromojen bileşenler ve antioksidanlar arasındaki reaksiyon temeline dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda kromojen bileşenlerin kalıntı konsantrasyonu spektrofotometrik veya kolorimetrik olarak tespit edilmektedir. Genellikle kromojen bileşen olarak ABTS ve DPPH kullanılmaktadır. Bunlar antioksidanlarla doğrudan ve hızlı bir şekilde reaksiyon göstermektedir (Milardovic ve ark., 2006).

Antioksidandaki hidrojen atomu DPPH• solisyonuna verilerek stabil serbest radikal azaltılır ve solisyon renginde, mor menekşe renginden mat renge değişim meydana gelir. DPPH'nin reaksiyon göstermeyen radikal formunun görünür bölgede absorblanarak ve spektrofotometrik olarak 517 nm de ölçülmesi temeline dayanır (Milardovic ve ark., 2006). Re ve ark., tarafından yapılan ABTS metodunda ise mavi-yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak 734 nm de ölçülmesi temeline dayanmaktadır.

Zeytinyağı ve Antioksidanlar

Naturel zeytinyağı zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında sadece mekanik ve fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen kendine has duyuşal özelliğe sahip rafinasyon işlemine tabi tutulmadan tüketilebilen bir yağdır. Zeytinyağının %98'lik kısmı major bileşenler olan gliseritler ve yağ asitlerinden oluşmakta, %2'lik kısmı ise minör bileşenlerden oluşmaktadır.

Zeytinyağı için lezzet, tat ve koku bileşimi olarak tüketici tercihinde belirleyici etmen olup, zeytinyağının bileşimindeki değişimlerden etkilenmektedir. Zeytinyağı bileşimindeki bu değişiklikler, çeşit, olgunlaşma, hasat, hasat sonrası depolama ve proses şartları gibi pek çok faktör tarafından belirlenmekte ve bu değişikliklerin izlenmesi tüketici sağlığı açısından da ayrı bir önem taşımaktadır. Zeytinyağında oluşabilecek en önemli kalite problemi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna bağlı olarak meydana gelen oksidatif acılaşıma ve bunun sonucunda yağda istenmeyen tat ve lezzete neden olan bileşenlerin oluşmasıdır. Zeytinyağının oksidasyona direnci ve oksidatif bozunma derecesi (Mateos ve ark., 2005) hem yağ asidi kompozisyonu hem de fenolik bileşenler, tokoferoller, karotenoidler ve klorofil gibi doğal antioksidanların konsantrasyonuna bağlıdır (Papadimitriou ve ark., 2006).

Zeytinyağında özellikle tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) ayçiçek yağı, mısır özü yağı ve soya yağı gibi diğer yağlara göre daha fazladır. Zeytinyağının yüksek stabilitesi (raf ömrü) onun linoleik ve linolenik asitten daha az oksidasyona eğilimli olan yüksek oleik asit içeriğine sahip olmasına bağlıdır (Owen ve ark., 2000). Antioksidanlar zeytinyağının depolanmasında yağın hem kalitesini hem de stabilitesini korurlar. Ekstra sızma zeytinyağı fenolik bileşenler açısından çok zengindir. Yüksek antioksidan potansiyele sahip en az 30 fenolik bileşen içerdiği bilinmektedir. Fenolik grupları arasında en önemlileri flavanoid ve fenolik asitler gibi polifenollerdir. Polifenol miktarı Tablo 1'den de görüldüğü üzere en fazla zeytin meyvesinde, sonra sırası ile yaprağında, zeytinyağı,

karasu ve en son olarak pirinada bulunmaktadır (Farag, 2003).

Tablo 1. Zeytin meyvesi, yaprağı, zeytinyağı, karasu ve pirina polifenol miktarları (ppm)

Ürünler	Polifenol miktarı (ppm)
Zeytin meyvesi	495
Yaprağı	250
Zeytinyağı	195
Karasu	170
Pirina	73

Kaynak: Farag, 2003

Polifenol içeriği değişmekle birlikte sızma zeytin-y ağında yaklaşık olarak 50-1000 mg/kg arasındadır (Dimitrios, 2006). Sızma zeytinyağındaki önemli fenolik bileşikler hidroksityrosol (OH-Tyr), oleuropein ve tyrosol (Tyr)dür. Bunların zeytin meyvesindeki konsantrasyonları çoğunlukla zeytin çeşidine, olgunluğa, iklime, hasat zamanına ve taşıma yöntemlerine, sıklımdan önce bekletme koşullarına ve işleme teknolojisine göre değişmektedir (Ninfali ve ark., 2001; Ögütçü ve ark., 2008). Fenolik bileşikler ayrıca yağa acı ve yakıcı tadı verirler. Ekstra sızma zeytinyağındaki yüksek fenoller yüksek stabilite, güçlü meyve lezzeti sağlar (Visioli 2002). Zeytinyağında bulunan fenolik bileşikler oldukça güçlü serbest radikal gidericilerdir (Papadimitriou ve ark., 2006). Sızma zeytinyağındaki özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda toplam fenol içeriği en yüksek olan yağın antioksidan kapasitesinin de en yüksek olduğu saptanmıştır. Tablo 2’de çeşitli bölgelerdeki zeytinyağlarının toplam fenol içeriği ve antioksidan kapasitesi görülmektedir. Toplam fenol içeriği antioksidan kapasitesi arasında bir korelasyon vardır. Antioksidan kapasitesi fenolik içeriği ile birlikte artmaktadır (Ögütçü ve ark.,

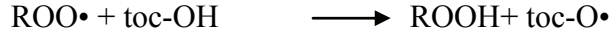
2008). Genellikle bitkilerin antioksidan aktivitesi fenolik bileşiklerin içeriği ile ilişkilidir. Gutfinger 1981 de ekstra sızma zeytinyağındaki yüksek fenolik bileşik içeriğini rapor etmiştir (Lee ve ark., 2008). Işık, sıcaklık, oksijen ve serbest radikaller fenolik bileşiklerin ve yağ asitleri oksidasyonu hızlandırır. Zeytinyağındaki stabilitesi çoğunlukla fenolik bileşiklere, tokoferollere ve yağ asidi kompozisyonuna bağlıdır (Mateos ve ark., 2005).

Zeytinyağındaki ana tokoferol E vitamini eşdeğeri olan α -tokoferol olup yaklaşık olarak %95’lik kısmını oluşturmaktadır (Oliveras-Lopez ve ark., 2008). β -tokoferol, γ -tokoferol ve az miktarda da δ -tokoferol’ün zeytinyağındaki %5’lik kısmında bulunduğu belirtilmektedir. Zeytinyağındaki α -tokoferol miktarı çeşide, meyvenin olgunluğuna, saklama koşulları ve depolama süresine bağlı olarak değişmektedir. Çoğunlukla hasadın ilk dönemindeki yağlarda tokoferol miktarı yüksek, geç hasat yağlarda ise daha azdır (Gimeno ve ark., 2002). Zeytinyağlarında toplam tokoferol içeriği yaklaşık olarak 50-270 mg/kg arasında değişmektedir (Oliveras-Lopez ve ark., 2008). Tokoferoller güçlü antioksidanlardır. Tokoferollerin antioksidan etkisi lipid radikallerine fenolik hidroksit gruplarının hidrojen verme yeteneğindedir. Lipid antioksidan olarak tokoferoller peroksit radikali ile reaksiyona girerek zincir reaksiyonunu sonlandırır bundan dolayı zincir kırıcı antioksidan olarak bilinirler. Oluşan serbest tokoferol radikali sonra yeni bir serbest peroksit radikali ile reaksiyona girer. Tokoferolün küçük miktarı çok miktarda doymamış yağ koruyabilir. Raf ömrüne tokoferollerin olumlu katkısı vardır.

Tablo 2. ABTS Yöntemi İle Zeytinyağı Toplam Fenol İçeriği (mg gallik asit/kg) ve Antioksidan Kapasitesi (mmol TE/kg)

Bölgelere göre Zeytinyağı Örnekleri	Toplam Fenol (mg gallik asit/kg)	Antioksidan Kapasitesi (mmol TE/kg)
Ayvacık	69,97±10,56	0,76±0,103
Ezine	93,97±11,20	0,94±0,109
Bayramiç	109,17±18,29	0,90±0,178
Eceabat	62,54±22,40	0,64±0,218
Gökçeada	80,97±22,40	0,68±0,218
Lapseki	46,33±2,01	0,55±0,18
Gelibolu	47,61±7,93	0,25±0,12

Kaynak: Ögütçü et al., 2008



toc-OH=tokoferol

Yapılan araştırmalarda, sızma zeytinyağının DPPH radikal giderici potansiyeli riviera yağlardan daha yüksek çıkmıştır. Lee ve ark. 2007'de 5 zeytin çeşidinin kimyasal profilini rapor etmişlerdir ve α tokoferol, toplam fenolik içeriği, fenolik bileşikler bütün bunlar ekstra sızma zeytinyağında riviera yağa göre daha fazla çıkmıştır.

Tablo 3. DPPH metodu ile zeytinyağı ve bazı yağların antioksidan kapasitesi (IC₅₀)

Yağlar	IC ₅₀ mg/ml
Sızma zeytinyağı	11±0,6
Ayçiçek yağı	14±0,7
Mısır özü yağı	15±0,9
Riviera yağ	17,5±1,2

Kaynak: Valavanıdı ve ark., 2004

IC₅₀ değerleri ne kadar küçükse antioksidan aktivitesi o kadar etkilidir. Bunun anlamı, aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda giderebilen maddeler daha kuvvetli aktivite göstermektedir. Tablo 3'te antioksidan aktivite yönünden sızma zeytinyağı>ayçiçek yağı>mısır özü yağı>riviera zeytinyağı olduğu görülmektedir.

Tablo 4'te antioksidan aktivite yönünden hidrok-sitirozol>oleuropein> α -tokoferol>tirozol olduğu görülmektedir. Oleuropein türevleri içerisinde hidrok-sitirozol çalışılan bütün fenollerden daha aktif komponent olarak saptanmıştır. Olgunlaşmakta olan yeşil zeytinlerin antioksidan aktivitesi

olgun zeytinlerden daha yüksektir. Bu da hasat zamanının polifenol içeriği ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (Angelo Zullo ve Ciafardini, 2008).

Tablo 4. DPPH Metodu ile bazı fenolik komponentlerin ve α -tokoferolün antioksidan kapasitesi (IC₅₀)

Antioksidanlar	IC ₅₀ μ M (metanolde)
hidrok-sitirozol	0,25±0,02
oleuropein	0,35±0,03
α -tokoferol	4,8±0,30
tyrosol	5,8±0,50

Kaynak: Valavanıdı ve ark., 2004

SONUÇ

Sızma zeytinyağının güçlü antioksidan ve radikal giderici etkisi fenolik komponentlerin yüksek konsantrasyonundan ve tokoferolden kaynaklandığı ve bunun reaktif oksijen radikallerinin hasarından koruduğu söylenebilir. Oksidasyonda α tokoferol ve toplam fenol içeriği arasındaki ilişkide α tokoferol zeytinyağının oksidasyona karşı korunmasında ilk olarak tercih edilerek tüketilmektedir bu da α tokoferolün oksidasyon indüksiyon periyodunda antioksidan olarak önemli role sahip olduğu anlamına gelmektedir (Morello ve ark., 2004). Ekstra sızma zeytinyağının antioksidan potansiyeli yüksek polifenol konsantrasyonuna ve yüksek tokoferol konsantrasyonuna bağlıdır.

Kaynaklar

- Angelo Zullo, B., And Ciafardini, G., 2008, The Olive Oil Oxygen Radical Absorbance Capacity (DPPH Assay) as a Quality Indicator, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110, 428–434.
- Dimitrios, B., 2006, Sources of Natural Phenolic Antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505–512.
- 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 Sunflower Oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 81–87.

- Jimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventó S, R.M., De La Torre, M.C., Lo´ Pez-Sabater, M.C. ,2002, the Effects of Harvest and Extraction Methods on the Antioxidant Content (Phenolics, A-Tocopherol, And B-Carotene) in Virgin Olive Oil. *Food Chemistry*, 78, 207–211p.
- Kalantzakis, G., Blekas, G., Pegklidou, K., Boskou, D., 2006. Stability and Radical-Scavenging Activity of Heated Olive oil and Other Vegetable Oils. *Eur.J.Lip.Sci.Techn.*329–335.
- Kıralan, M., 2006. Ayçiçek Yağının Oksidatif Stabilitesiüzerine 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.
- Lee, O., H., Lee, B., Y., Kim, Y.,C., Shetty, K., and Kim, Y.C., 2008, Radical Scavenging-Linked Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Diverse Types of Extra Virgin Olive Oils. *JFS C: Food Chemistry*, 73, 519-525.
- Mateos, R., Trujillo, M., Peã 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.
- Milardovic, S., Ivekovic, D., S. Grabaric, B., 2006, A Novel Amperometric Method for Antioxidant Activity Determination Using DPPH Free Radical, *Bioelectrochemistry*,175–180.
- Morello, J., R., Motilva, M., J., Tovar, M., J., Romero, M., P., 2004, Changes in Commercial Virgin Olive Oil (Cv Arbequina) During Storage, With Special Emphasis on the Phenolic Fraction. *Food Chemistry*, 85, 357–364.
- Ninfali, P., Aluigi, G., Bacchiocca, M. and Magnani, M., 2001, Antioxidant Capacity of Extra-Virgin Olive Oils, *JAOCS*, vol. 78, 243-247.
- Oliveras- Lopez, M., J., Quesada Granados, J., J., Bermudo, F., M., Serana, H., L, Lopez Martinez, M., C., 2008, Influence of Milling Conditions on the α -tocopherol Content of Picual Olive Oil, *Eur. J.. Lipd Sci. Thechnol.*, 110, 530-536p.
- Owen, R.,W., Giacosa, A., Hull, W.,E., Haubner, R., Spiegelhalter, B., And Bartsch, H., 2000. The Antioxidant/Anticancer Potential of Phenolic Compounds İsolated from Olive Oil. *European Journal of Cancer* 36, 1235-1247.
- Öğütçü, M. Mendes,M.veYılmaz, E., 2008, Sensorial and Physico-Chemical Characterization of Virgin Olive Oils Produced in Canakkale, *J Am Oil Chem Soc.* 85, 441–456.
- Papadimitriou, V., Sotiroudís, T.G., Xenakis, A., Sofikiti, N., Stavviannoudaki, V. and, Chaniotakis, N.A., 2006. Oxidative Stability and Radical Scavenging Activity of Extra Virgin Olive Oils: An Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy Study, *Analytica Chimica Acta* 573–574, 453–458.
- Servilli, M., Montedoro, G., 2002. Contribution of Phenolic Compounds to Virgin Olive Oil Quality, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 602-613p.
- Valavanidis, A., Nisiotou, C., Papageorgiou, Y., Kremlı, I., Satravelas, N., Zimeris, N., and Zygalaki, H., 2004. Comparison of the Radical Scavenging Potential of Polar and Lipidic Fractions of Olive Oil and Other Vegetable Oils Under Normal Conditions and After Thermal Treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2358-2365.
- Visioli, F., Poli, A., Gali, C., 2002. Antioxidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil, *Medicinal Research Reviews*, Vol. 22, No. 1, 65-75.
- Yılmaz, E., 2008. Oksidasyon, İnsan Sağlığı ve Gıda Antioksidanları, *Hasad Gıda*, 274, 20-25p.
- Yılmaz, E. ve Öğütçü, M., 2006. Naturel Zeytinyağlarının Antioksidan Maddeleri ve Antioksidan Kapasiteleri, *Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Sempozyumu ve Sergisi*, 15-17 Eylül 2006, 553-563p.

İLETİŞİM

Didar SEVİM
Zeytincilik Araştırma Enstitüsü,
Zeytinyağı Teknolojisi Bölümü 35100, Bornova- İZMİR
E-posta: dcengeler@hotmail.com