

Farklı Hasat Zamanlarında Toplanan Zeytinlerden Zeytin Yaprağı İlavesiyle Elde Edilen Ayvalık Zeytinyağının Kalite Kriterleri, Yağ Asidi Kompozisyonu ve Minör Bileşenlerindeki Değişimin Depolama Süresi Boyunca İncelenmesi*

Determination of Changes in Quality Criteria, Fatty Acid Composition and Minor Components During Storage Period of Ayvalık Olive Oil, Obtained from Olives collected at Various Harvest Times with Addition of Olive Leaf

Didar SEVİM¹, Özlem TUNCA²

¹T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bornova-İZMİR
² Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bornova-İZMİR

Geliş tarihi: 11.01.2013

Kabul tarihi: 22.01.2013

Özet

Bu çalışmada farklı hasat zamanlarında, farklı oranlarda (%0, %1 ve %3) zeytin yaprağı ilave edilerek elde edilen Ayvalık zeytinyağında serbest yağ asitliği miktarı, peroksit değeri, ultraviyole ışığında özgül soğurma (K_{232} ve K_{270}) değerleri, klorofil miktarı, toplam fenol miktarı, α - tokoferol miktarı, yağ asidi kompozisyonu depolama süresi boyunca (18 ay) incelenmiştir. Yaprak ilavesine göre elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitliği miktarı ($p<0,05$), K_{270} değeri ($p<0,001$), klorofil miktarı ($p<0,001$), toplam fenol miktarı ($p<0,001$), α - tokoferol miktarı ($p<0,001$) ve linoleik asit yüzdesi ($p<0,01$) istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Erken hasat zeytinlerden elde edilen yağın serbest yağ asitliği miktarı, toplam fenol miktarı, α - tokoferol miktarı ve linolenik asit yüzdesi daha yüksek, K_{270} değeri, klorofil miktarı, oleik ve linoleik asit yüzdesi daha düşük tespit edilmiştir. Yaprak oranı ve depolama süresi interaksyonunda, elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitliği miktarı ve K_{232} değerlerinin önemli oranda arttığı, klorofil, toplam fenol miktarlarının, linoleik ve linolenik asit yüzdesinin önemli oranda azaldığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Zeytinyağı, Toplam fenol, α - tokoferol, Klorofil, Zeytin yaprağı

Abstract

In this study free fatty acidity (FFA), peroxide value, absorbency in ultra-violet (K_{232} and K_{270}) values, chlorophyll content, total phenol content, α -tocopherol content, fatty acid composition of Ayvalık olive oil which was obtained at different harvest times with addition of different olive leaf ratio (0%, 1% and 3%) were investigated during storage period (18 months). The olive oils FFA ($p<0.05$), K_{270} value ($p<0,001$), chlorophyll content ($p<0,001$), total phenol content ($p<0,001$), α -tocopherol content ($p<0,001$), and percentage of linoleic acid ($p<0.01$) were determined statistically significant according to addition of olive leaf. The FFA, total phenol content, α -tocopherol content and linolenic acid percentage of olive oil obtained from early harvest olives were higher; while K_{270} value, chlorophyll content, and linoleic acid percentages were identified lower. The FFA and K_{232} value of olive oil increased; whereas chlorophyll content, total phenol content, the linoleic and linolenic acid percentages decreased significantly according to interaction between leaf ratio and the storage period.

Keywords: Olive Oil, Total phenol, α -tocopherol, Chlorophyll, Olive leaf

*Bu çalışma Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce 15.12.2011 tarihinde onaylanan doktora tezinin bir bölümüdür.

GİRİŞ

Zeytinyağı bileşimi zeytin çeşidinden, zeytinyağı üretim aşamalarından, hasat şekline, hasat sonrası depolama ve proses şartlarından etkilenmektedir. Zeytinyağı kalitesine etki eden bu parametrelerden hasat zamanı ve olgunluk basamağı %30, ekstraksiyon yöntemleri %30, çeşit %20, depolama koşulları %10, hasat yöntemleri %5 ve taşıma %5 düzeyinde etkilemektedir (Sevim, 2011). Zeytinyağı kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden olan hasat zamanı coğrafi konuma, çeşide, iklim koşullarına ve ürünün değerlendirilme şekline göre değişiklik göstermektedir. Olgunlaşma süreci boyunca zeytinde pek çok metabolik değişimler meydana gelmektedir (Matos ve ark., 2007). Zeytinde yağın maksimuma ulaştığı olgunlaşma dönemi, yağın genellikle en iyi kalite ve duyuşal özelliğe sahip olduğu dönem ile aynı zamana rastlamaz. Kaliteli natürel sızma zeytinyağı için meyve renginin yeşil, lezzetin yoğun meyve tadında, hafif acı ve yakıcı olması tercih edilir. Zeytinyağı kalitesi ve verimi zeytin çeşidi ve olgunluğuna bağlı olup Baccouri ve ark (2007) Tunus'ta yetiştirilmiş 7 farklı yabancı zeytin ile yaptıkları çalışmada H3, Z12, Z11, MAT22, MAT7, MAT10 ve SB12 için en uygun olgunluk indeksini 3'den büyük 4,5-5'den küçük olarak belirlemişlerdir. İspanya Tarımsal Araştırmalar Milli Enstitüsü Jean İstasyonu tarafından en iyi özellikte yağ elde etmek için optimum hasat zamanı, olgunluk indeksi 5 olarak ifade edilmiştir (UZK, 1991).

Zeytinyağının %98'lik kısmı major bileşenler olan gliseritler ve yağ asitlerinden, %2'lik kısmı ise minör bileşenlerden oluşmaktadır. Zeytinyağının yağ asitleri kompozisyonu, toplam fenol miktarı, tokoferol miktarı, sterol seviyeleri ve pigment içeriği olgunlaşma ile birlikte değişmektedir. Bu değişiklikler çeşide, iklime ve yetiştirme koşullarına da bağlı olup zeytinyağı kalitesini, duyuşal karakterizasyonu, oksidatif stabilite ve besinsel değerini etkilemektedir (Dag ve ark., 2011).

Zeytinde olduğu gibi zeytin yaprağında da çok sayıda fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik bileşik içeriği dolayısıyla zeytin yaprağı önemli bir potansiyel doğal antioksidan kaynağıdır. Tarihe baktığımızda zeytin yaprağı sıtma, ateş düşürme gibi pek çok hastalığa çare olmuştur. Antimikrobiyal, antioksidatif, antiatherojenik,

hipoglisemik (kan şekeri düşürücü), düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu ve pıhtı oluşumunu engelleyici, kan basıncı düzenleyici, antiviral (HIV virüsüne bile), enfeksiyon giderici olduğu bilinen oleuropein potansiyel antioksidan ve acılık veren bileşik olup zeytin yapraklarındaki temel bileşiktir (Benavente-Garcia ve ark., 2000). Zeytin yaprağı önemli miktarda, hatta bazı zeytin çeşitlerinden daha fazla oleuropein içermektedir (Ranalli ve ark., 2006). Fabbri ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin yaprak yaşı, dal tipi (zayıf, orta, güçlü) ve çeşide göre değiştiğini, Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında toplanan yapraklardaki bileşikler arasındaki en önemli farklılıkların çeşide ve toplama zamanına göre değiştiğini belirlemişlerdir (Sevim ve Tuncay, 2012). Yapılan araştırmalar ile zeytin yaprağı ekstraktının zeytinyağını oksidasyona karşı koruduğu saptanmış, 1 kg zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilmiş 50-320 litre rafine zeytinyağının stabilitesinin ham zeytinyağı ile aynı olduğu rapor edilmiştir (Bouaziz ve ark., 2008).

Bu çalışmada 2 farklı hasat zamanında toplanan Ayvalık zeytin çeşidine farklı oranlarda (%0, %1 ve %3) kendi zeytin yaprağı ilave edilerek elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitliği miktarının, peroksit değerinin, K232 ve K270 değerlerinin, klorofil miktarının, toplam fenol miktarının, α -tokoferol miktarının, yağ asidi kompozisyonunun 18 ay depolama süresi boyunca belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmada Bornova Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü bahçesinde yetiştirilmekte olan 20 yaşında, 6m x 6m dikim sıklığındaki, Ayvalık zeytin çeşitlerinin meyveleri ve yaprakları kullanılmıştır. Zeytinler 3.9 ve 5.1 olgunluk indeksinde hasat edilmiştir. Zeytin yaprakları da aynı gün aynı ağaçtan toplanmıştır.

Zeytinlerin olgunluk indekslerinin belirlenmesi

Olgunluk indeksinin belirlenmesi için İspanya Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Jaen İstasyonu tarafından önerilen 1 kg örnekten rastgele alınan 100 adet zeytine aşağıdaki formül kullanılarak yapılan hesaplama dayandırılmıştır (UZK, 1991).

$$\text{Olgunluk İndeksi} = \frac{a \times 0 + b \times 1 + c \times 2 + d \times 3 + e \times 4 + f \times 5 + g \times 6 + h \times 7}{100}$$

Burada a, b, c,.....h aşağıdaki 8 kategorinin her birine ait zeytin adedidir

a: Kabuk rengi koyu yeşil olan zeytinler; b: Kabuk rengi sarı veya sarımsı olan zeytinler; c: Kabuk rengi kırmızımsı lekeli sarımsı olan zeytinler; d: Kabuk rengi kırmızımsı veya açık menekşe olan zeytinler; e: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hala tamamıyla yeşil olan zeytinler; f: Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısına kadar menekşe olan zeytinler; g: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hemen hemen çekirdeğe kadar menekşe olan zeytinler; h: Kabuk rengi siyah ve meyve eti tamamıyla koyu renk olan zeytinler.

YÖNTEM

Zeytinyağı Örneklerinin Eldesi

Zeytinlerden yağ elde etmek için ABENCOR sistemi (laboratuvar tipi değirmen) kullanılmıştır. % 1 ve % 3 oranında zeytin yaprakları zeytin meyvelerine çekiçli kırıcıda kırılmadan önce ilave edilerek yaprak ilaveli ve yaprak ilavesiz (kontrol grubu, % 0 yaprak) yağlar elde edilmiştir. Elde edilen yağ örnekleri 0. (depolama başlangıcı), 6., 12. ve 18. aylarda analiz edilmek üzere karanlık ortamda, oda sıcaklığında ve kahverengi cam şişelerde saklanmıştır.

Kalite Kriterleri Analizleri

Serbest yağ asitliği (SYA) miktarı (% oleik asit cinsinden), peroksit değeri (meq O₂/kg yağ), ultraviyole ışığında özgül soğurma (K₂₃₂ ve K₂₇₀) tayini Türk Standartlarınınca verilen (TS 342) yöntemine göre yapılmıştır (Anonim, 1973).

Klorofil tayini

Toplam klorofil miktarı Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği'nin (AOCS-American Oil Chemists' Society) spektrofotometrik yöntemine göre 670 nm'de karbon-tetraklorür ile belirlenmiştir (AOCS, 1985).

Toplam fenolik madde miktarı tayini

Zeytinyağlarındaki toplam fenol miktarı Gutfinger (1981) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. 2,5 g zeytinyağı 5 ml hekzanda çözülmüş ve fenolik maddelerin ekstraksiyonu için 5 ml metanol/su (60:40 v/v) ilavesi ile 2 dakika çalkalanmış, hekzan ve metanol/su fazları birbirlerinden 3500 rpm 10 dakikada santrifüjleme ile ayrılmıştır (Hrnecirik ve Fritsche, 2004). Metanollü kısımda 725 nm dalga boyunda spektrofotometre ile toplam fenol analizi yapılmıştır (R²=0,99).

α-Tokoferol miktarı tayini

α-tokoferol analizi Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC 1100 series) kullanılarak Carpenter (1979),

Dabbou ve ark. (2008) ve IUPAC (1992) yöntemlerine göre gerçekleştirilmiştir. α-tokoferol miktarı standart (Tocopherol Set, Calbiochem, US) kalibrasyon eğrisinin pik alanına dayanılarak hesaplanmıştır (R²=0,99).

Çalışma Koşulları

Kolon: 10µm, 3,9 x 300 mm µ porasil kolon (Waters, Ireland); Dedektör: 292 nm UV dedektör; Akış hızı: 1 ml/dk; Mobil faz: Hekzan/2-propanol (99:1); Enjeksiyon miktarı 20 µl

Yağ asitleri kompozisyonu tayini

Zeytinyağlarının yağ asitleri kompozisyonunun tespitinde kapiler kolonlu gaz kromatografisi yöntemi (COI/T.20. Doc. no:17) kullanılmıştır (Anonymous, 1996). Zeytinyağı örneklerinin esterleştirilmesinde Uluslararası Zeytin Konseyi tarafından onaylanmış soğuk metilasyon yöntemi IUPAC Metod 2.301 uygulanmıştır (Anonymous, 1987).

Çalışma koşulları

Kolon: 30 m x 0,25 mm id, 0,250 µm kapiler kolon; Enjeksiyon miktarı: 1 µl; Dedektör ve sıcaklığı: FID-250 °C; Enjektör sıcaklığı: 250 °C; Taşıyıcı gaz: Helyum 0,5ml/dk; Hidrojen: 30 ml/dk; Hava: 300 ml/dk; Make up: Azot, 24,5 ml/dk; Kolon (fırın) sıcaklığı: 170-210 °C; Analizler 170 °C ve 210 °C arasında 2 °C/dk artışlı olacaktır.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmış, elde edilen veriler SPSS for Windows v 11 (SPSS Inc., USA) paket programında değerlendirilmiştir. Varyans analizinde farklı bulunan uygulamalarda ortalamalar arasındaki farklılıklar Asgari Önemli Farklılık (LSD_{0,05}) testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Olgunlaşma ile birlikte zeytin meyvesi enzim aktiviteleri ve yağın kimyasal kompozisyonu önemli ölçüde değişmektedir. Erken hasat zeytinlerden daha kaliteli zeytinyağı elde edilmekte, yağların serbest yağ asitliği miktarı, peroksit değeri ve UV özgül absorbans değerleri (K₂₃₂ ve K₂₇₀) daha düşük olmaktadır (Diraman ve Dibeklioglu, 2009). Çalışmamızda erken hasat zeytinlerden elde edilen yağların serbest yağ asitliği (SYA) miktarı geç hasat zeytinlerden elde edilen yağa göre daha yüksek, K₂₇₀ değeri ise daha düşük belirlenmiştir. Peroksit ve K₂₃₂ değerlerinde hasat zamanına göre önemli bir farklılık tespit edilmemiştir (Çizelge 1). Bu da geç hasat döneminden önce yağışların çok miktarda olmasına bağlı olarak ağaçlarda bulunan zeytin sineği

hasarlı ve bozuk meyvelerin dökülmesinden kaynaklanabilir. Çünkü zeytin sineği zararı sonucu meydana gelen mikroorganizma bulaşmaları zeytinyağında hidroliz ve oksidasyona neden olmakta (Parlati ve ark., 1990), zeytinyağının serbest yağ asitliği miktarını, peroksit değerini, özgül absorpsiyon değerleri ile kimyasal bileşenlerini olumsuz yönde etkilemektedir (Kyriakidis ve Dourou, 2002; Topuz, 2011). Farklı oranlarda zeytinlere yaprak ilavesi ile elde edilen yağların SYA miktarı ($p<0,05$) ve K270 değerinde ($p<0,001$) istatistiki olarak önemli bir fark belirlenmiştir (Çizelge 1). SYA miktarı en yüksek kontrol %0 ve %3 yaprak, ilavesi ile elde edilen yağda, K270 değeri en yüksek %3 yaprak ilavesi ile elde edilen yağda saptanmıştır. Peroksit ve K232 değerlerinde yaprak ilave oranına göre önemli bir fark tespit edilmemiştir. Elde edilen yağlar Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliğinde natürel sızma zeytinyağı limitleri içerisinde yer almıştır. Di Giovacchino ve ark. (1996), Di Giovacchino ve ark. (2002) ve Di Giovacchino ve Prezioso (2005) tarafından yapılan araştırmalarda farklı oranlarda zeytin yaprağı eklenerek elde edilen yağların SYA miktarlarının, peroksit değerinin, K232 ve K270 değerlerinin yaprak eklenme oranlarına göre değişmediği, Malheiro ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada da kalite kriterlerindeki yaprak ilavesi ile küçük bir yükselme olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca yağların SYA miktarı, peroksit değeri, K232 ve K270 değerleri istatistiki olarak önemli oranda arttığı tespit edilmiştir ($p<0,001$) (Çizelge 1). Mendez ve Falque (2007) tarafından 4 farklı natürel sızma zeytinyağında yapılan çalışmada 3 ve 6 ay depolama sonunda kalite kriterlerinde yükselme meydana geldiği belirlenmiştir. Gomez-Alonso ve ark. (2007) oda sıcaklığında ve karanlıkta depoladıkları 7 farklı zeytinyağının 21 ay boyunca peroksit değerinin, K232 ve K270 değerlerinin doğrusal olarak yükseldiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen yağların 18 ay depolanması sonunda SYA miktarının, peroksit değerinin, K232 ve K270 değerlerinin yağların oksidatif bozulmasına bağlı olarak arttığı tespit edilmiş olup yapılan çalışmalarla da uyum içerisinde. Yaprak oranı ve depolama süresi interaksiyonuna bakıldığında (Çizelge 1) yağların SYA miktarı ($p<0,05$) ve K232 değerinde ($p<0,001$) istatistiki olarak önemli bir fark olduğu görülmektedir. Depolama süresi boyunca SYA miktarı artmış fakat 18 ay sonunda yaprak oranlarına göre uygulamalar arasında bir farklılık belirlenmemiştir. Depolama süresi boyunca peroksit değerinde de bir artış tespit edilmiş fakat bu artış yaprak oranına göre önemli olarak tespit edilmemiştir. K232 değeri depolama süresi boyunca artmış 18 ay sonunda da en düşük değeri kontrol (%0) ve %3 yaprak ilavesi ile elde edilen yağda olduğu saptanmıştır.

Olgunlaşma sırasında meydana gelen bir seri belirgin dönüşümlerle zeytinlerin renginde değişim meydana gelmektedir. Natürel zeytinyağlarının rengi zeytinin çeşidine ve meyvenin olgunluk derecesine göre yeşil-sarıdan altın-sarıya değişir (Köseoğlu, 2006). Olgunlaşma ile meydana gelen klorofil içeriğindeki azalma meyvede major pigment olan klorofil *a*'nın olgunlaşmanın sonunda feofitin *a*'ya dönüşmesinden kaynaklanmaktadır (Ranalli ve ark., 2000). Klorofil, ışık varlığında yağın oksidasyonunu kolaylaştırıp prooksidan olarak görev yaparken, karanlıkta fenolik antioksidanlarla birlikte antioksidan aktivite gösterirler (Bozdoğan Konuşkan, 2008). Natürel sızma zeytinyağı fenolik bileşikler açısından çok zengindir. Fenolik bileşikler çoğunlukla yağ oksidasyonundan koruduğu için yağın tat ve lezzetine katkıda bulunurlar, ayrıca zeytinyağının acı-yakıcı tadından sorumludurlar (Oliveras-Lopez ve ark., 2007). 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). Yeşil olgunlaşma aşamasında toplanan zeytinler yüksek miktarda oleuropein içermekte (Visioli ve ark., 2002), olgunlaşma ile zeytinyağlarının toplam fenol içeriği azalmaktadır (Cinquanta ve ark., 1997). Zeytinyağındaki ana tokoferol, E vitamini eşdeğeri olan α -tokoferol olup α -tokoferol miktarı çeşide, meyvenin olgunluğuna, saklama koşulları ve depolama süresine bağlı olarak değişebilmektedir. Hasadın ilk dönemindeki yağlarda tokoferol miktarı fazla, geç hasat yağlarda ise daha az (Gimeno ve ark., 2002) olup genellikle yüksek rakımdan elde edilen yağlarının tokoferol içeriği daha yüksek çıkmaktadır (Aguilera ve ark., 2005). Çalışmamızda erken hasat zeytinlerden elde edilen yağların klorofil miktarı düşük ($p<0,001$), toplam fenol miktarı yüksek ($p<0,05$) ve α -tokoferol miktarı düşük ($p<0,001$) tespit edilmiştir (Çizelge 2). Zeytinlere yaprak ilave oranı arttıkça klorofil miktarı, toplam fenol miktarı ve α -tokoferol miktarı önemli oranda artmıştır ($p<0,001$) (Çizelge 2). Di Giovacchino ve ark. (1996) ve Di Giovacchino ve Prezioso (2005) tarafından yapılan çalışmada yaprak ilavesi ile klorofil miktarının arttığı, toplam fenol miktarında da çok az bir değişiklik meydana geldiği bunun da zeytin yaprağındaki fenolik bileşik konsantrasyonunun meyve etindeki konsantrasyonu ile hemen hemen aynı olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Malheiro ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada α -tokoferol miktarının %10 yaprak ilavesi ile önemli oranda arttığı tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca yağların klorofil, toplam fenol ve α -tokoferol miktarı istatistiki olarak önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,001$) (Çizelge 2). Kloro-

fil, fenoller, tokoferoller depolama sırasında yağı oksidatif bozunmadan koruyarak uzun raf ömrü sağlayan doğal antioksidanlar olup, miktarları depolama süresi boyunca azalmaktadır (Morello ve ark, 2004; Gomez-Alonso ve ark; Cinquanta ve ark., 1997) bu azalma depolama boyunca yükselen oksidasyondan kaynaklanmaktadır. Yaprak oranı ve depolama süresi interaksiyonuna bakıldığında (Çizelge 2) yağların kloro-

fil ve toplam fenol miktarlarında ($p<0,001$) istatistiki olarak önemli bir fark olduğu görülmektedir. Depolama süresi boyunca her iki değer de azalmış, 18 ay sonunda en yüksek klorofil miktarı 3,43 mg/kg ile %3 yaprak uygulamasında, en yüksek toplam fenol miktarı da 62,34 mg CAE/kg yağ ile %3 yaprak uygulamasında tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Hasat zamanına, yaprak oranına ve depolama süresine göre yağların serbest yağ asitliği miktarı (% oleik asit cinsinden), peroksit değeri, K232 ve K270 değerleri ile önemlilik dereceleri ve LSD değerleri

		YO (%)	Depolama Süresi (Ay)				Önemlilik Dereceleri	LSD		
			0	6	12	18				
Serbest Yağ Asitliği (% oleik asit cinsinden)	YOxDS	0	0,64 ^e	0,67 ^d	0,71 ^b	0,81 ^a	p<0,05	0,03		
		1	0,60 ^f	0,65 ^{de}	0,72 ^b	0,81 ^a				
		3	0,66 ^d	0,68 ^{cd}	0,70 ^{bc}	0,81 ^a				
	DS		0,64 ^D	0,66 ^C	0,71 ^B	0,81 ^A	p<0,001	0,02		
		YO	0	0,71 ^{ab}					p<0,05	0,01
			1	0,69 ^b						
	3		0,71 ^a							
	HZ	Erken	0,81 ^A				p<0,001	0,03		
		Geç	0,60 ^B							
Peroksit Değeri (meqO ₂ /kg yağ)	YOxDS	0	2,82	4,51	5,11	6,91	ö.d.			
		1	2,55	4,57	5,19	7,05				
		3	3,02	4,64	5,13	7,14				
	DS		2,80 ^D	4,58 ^C	5,14 ^B	7,03 ^A	p<0,001	0,21		
		YO	0	4,84					ö.d.	
			1	4,84						
	3		4,98							
	HZ	Erken	4,86				ö.d.			
		Geç	4,92							
K232 Değeri	YOxDS	0	1,515 ^f	1,646 ^{cd}	1,673 ^c	1,764 ^b	p<0,001	0,062		
		1	1,446 ^g	1,583 ^e	1,690 ^c	1,839 ^a				
		3	1,499 ^{fg}	1,561 ^{ef}	1,619 ^{de}	1,821 ^{ab}				
	DS		1,486 ^D	1,596 ^C	1,661 ^B	1,808 ^A	p<0,001	0,045		
		YO	0	1,649					ö.d.	
			1	1,639						
	3		1,625							
	HZ	Erken	1,633				ö.d.			
		Geç	1,643							
K270 Değeri	YOxDS	0	0,120	0,130	0,144	0,162	ö.d.			
		1	0,116	0,123	0,132	0,159				
		3	0,154	0,163	0,172	0,180				
	DS		0,130 ^C	0,139 ^C	0,149 ^B	0,167 ^A	p<0,001	0,011		
		YO	0	0,139 ^b					p<0,001	0,008
			1	0,132 ^b						
	3		0,167 ^a							
	HZ	Erken	0,142 ^b				p<0,05	0,007		
		Geç	0,151 ^a							

a,b, A, B; Örnekler arası farklılığı göstermektedir

Çizelge 2. Hasat zamanına, yaprak oranına ve depolama süresine göre yağların klorofil, toplam fenol ve α -tokoferol miktarları ile önemlilik dereceleri ve LSD değerleri

		YO (%)	Depolama Süresi (Ay)				Önemlilik Dereceleri	LSD		
			0	6	12	18				
Klorofil miktarı (mg/kg)	YOxDS	0	0,41 ⁱ	0,34 ^j	0,29 ^k	0,19 ^l	p<0,001	0,04		
		1	1,79 ^e	1,69 ^f	1,65 ^g	1,15 ^h				
		3	4,82 ^a	4,42 ^b	4,18 ^c	3,43 ^d				
	DS		2,34 ^A	2,15 ^B	2,04 ^C	1,59 ^D	p<0,001	0,02		
		YO	0	0,31 ^e					p<0,001	0,02
			1	1,57 ^b						
	3		4,21 ^a							
	HZ	Erken	1,89 ^B				p<0,001	0,02		
		Geç	2,17 ^A							
Toplam fenol miktarı (mg CAE/kg yağ)	YOxDS	0	129,06 ^e	122,01 ^e	104,62 ^f	47,68 ^h	p<0,001	9,04		
		1	167,03 ^{ab}	154,73 ^c	126,79 ^e	53,27 ^h				
		3	173,03 ^a	163,86 ^b	142,02 ^d	62,34 ^g				
	DS		156,37 ^A	146,87 ^B	124,47 ^C	54,43 ^D	p<0,001	6,51		
		YO	0	100,85 ^c					p<0,001	3,85
			1	125,45 ^b						
	3		135,31 ^a							
	HZ	Erken	122,34 ^A				p<0,05	3,50		
		Geç	118,74 ^B							
α -tokoferol miktarı (mg/kg)	YOxDS	0	166,97	123,56	92,45	62,04	ö.d.	-		
		1	178,18	133,73	101,19	70,66				
		3	181,93	143,47	112,81	80,80				
	DS		175,70 ^A	133,59 ^B	102,15 ^C	71,17 ^D	p<0,001	1,79		
		YO	0	111,26 ^c					p<0,001	1,73
			1	120,94 ^b						
	3		129,75 ^a							
	HZ	Erken	127,30 ^A				p<0,001	2,02		
		Geç	114,00 ^B							

a,b, A, B; Örnekler arası farklılığı göstermektedir

Natürel zeytinyağlarında yağ asidi kompozisyonu kalite parametresi ve özgünlük indikatörüdür. Aynı zamanda zeytinyağının raf ömrünün belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametre olup zeytin çeşidi ve olgunluğundan etkilenmektedir. Salvador ve ark. (2001) tarafından yapılan araştırmada 4 farklı sezonda elde edilen natürel zeytinyağlarının olgunlaşma ile birlikte stearik asit ve linoleik asit içeriğinin yükseldiği, oleik asit içeriğinin

düştüğü saptanmıştır. Dag ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, tekli doymamış yağ asitlerinden oleik asidin 0,23 olgunluk basamağında % 65 iken olgunlaşma ile birlikte düşüğü olgunluk indeksi 4'ün üzerinde iken % 61-62 arasında değiştiği saptanmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinden linoleik asidin hasat zamanı başında % 11,5 iken hasat sezonu sonunda (5,5 olgunluk indeksi) % 17,3'e yükseldiği tespit edilmiştir.

Baccouri ve ark. (2007) meyve olgunluğunun ve ürün veriminin zeytinyağının kimyasal özelliklerine etkisini araştırdıkları çalışmada, zeytinyağının önemli tekli doymamış yağ asitlerinden (TTDYA) oleik asidin meyve gelişim aşamasında yükseldiğini saptamışlardır. Çalışmamızda olgunlaşma ile birlikte Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen yağın oleik asit yüzdesinin arttığı ($p \leq 0,001$), linoleik asit yüzdesinin arttığı ($p < 0,01$) ve linolenik asit yüzdesinin de azaldığı ($p < 0,01$) belirlenmiştir (Çizelge 3). Zeytinlere yaprak ilave oranı arttıkça ile elde edilen yağların linoleik asit yüzdesi azalmış ($p < 0,01$), oleik ve linolenik asit yüzdesi değişmemiştir.

Depolama süresi boyunca (18 ay) oksidasyona bağlı olarak (Mendez ve Falque, 2007) oleik asit yüzdesi 72,02'den 70,56'ya, linoleik asit yüzdesi 10,61'den 10,21'e ve linolenik asit yüzdesi 0,69'dan 0,62'ye düşmüştür ($p < 0,001$). Yaprak oranı ve depolama süresi etkileşimlerine bakıldığında (Çizelge 3) yağların linoleik ve linolenik asit yüzdesinde ($p < 0,01$) istatistiksel anlamda önemli bir fark olduğu görülmektedir. Depolama süresi boyunca hem linoleik asit hem de linolenik asit yüzdesi azalmış, 18 ay sonunda uygulamaların linoleik asit ve linolenik asit yüzdesi benzer seviyelerde tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Hasat zamanına, yaprak oranına ve depolama süresine göre yağların oleik, linoleik ve linolenik asit yüzdesi ile önemlilik dereceleri ve LSD değerleri

		YO (%)	Depolama Süresi (Ay)				Önemlilik Dereceleri	LSD		
			0	6	12	18				
Oleik asit (%)	YOxDS	0	71,69	70,11	70,17	70,61	ö.d.	-		
		1	72,22	70,35	70,31	70,61				
		3	72,15	70,28	70,45	70,47				
	DS		72,02 ^A	70,25 ^C	70,31 ^{BC}	70,56 ^B	$p < 0,001$	0,23		
		YO	0	70,65					ö.d.	-
			1	70,87						
	HZ	3	70,84				$p \leq 0,001$	0,18		
		Erken	70,48 ^B							
		Geç	71,08 ^A							
Linoleik asit (%)	YOxDS	0	10,59 ^a	10,22 ^b	10,29 ^b	10,20 ^b	$p < 0,01$	0,14		
		1	10,68 ^a	10,12 ^d	10,30 ^b	10,22 ^b				
		3	10,55 ^a	10,20 ^b	9,99 ^d	10,20 ^{bc}				
	DS		10,61 ^A	10,18 ^B	10,19 ^B	10,21 ^B	$p < 0,001$	0,10		
		YO	0	10,33 ^a					$p < 0,01$	0,06
			1	10,33 ^a						
	HZ	3	10,23 ^b				$p < 0,01$	0,15		
		Erken	10,16 ^B							
		Geç	10,44 ^A							
Linolenik asit (%)	YOxDS	0	0,68 ^a	0,63 ^b	0,64 ^b	0,62 ^d	$p < 0,01$	0,02		
		1	0,69 ^a	0,62 ^c	0,64 ^b	0,62 ^{cd}				
		3	0,69 ^a	0,63 ^b	0,61 ^d	0,63 ^{bc}				
	DS		0,69 ^A	0,63 ^B	0,63 ^B	0,62 ^B	$p < 0,001$	0,01		
		YO	0	0,64					ö.d.	-
			1	0,64						
	HZ	3	0,64				$p < 0,01$	0,02		
		Erken	0,66 ^A							
		Geç	0,63 ^B							

a,b, A, B; Örnekler arası farklılığı göstermektedir

SONUÇ

Bu çalışmada erken ve geç hasat edilen Ayvalık zeytin çeşidine farklı oranlarda (%0, %1 ve %3) kendi zeytin yaprağı ilave edilerek elde edilen zeytinyağlarının kalite kriterleri, klorofil miktarı, toplam fenol miktarı, α -tokoferol miktarı, yağ asidi kompozisyonu 18 ay depolama süresi boyunca incelenmiştir. Araştırma sonunda hasat zamanına ve yaprak oranına göre elde edilen yağların kalite kriterlerinden SYA miktarları ve K270 değerleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca kalite kriterlerinin önemli oranda arttığı belirlenmiştir. Geç hasat zeytinlerden elde edilen yağlarda minör bileşenlerden klorofil miktarının arttığı, toplam fenol ve α -tokoferol miktarlarının ise azaldığı, yaprak ilave oranı arttıkça minör bileşenlerinin arttığı, depolama süresi boyunca da azaldığı saptanmıştır. Yaprak oranı ve depolama süresi interaksyonunda

18 ay süre boyunca klorofil ve toplam fenol miktarlarında azalma, 18 ay sonunda da en yüksek klorofil ve toplam fenol miktarının %3 yaprak uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Geç hasat zeytinlerden elde edilen yağların oleik ve linoleik asit yüzdesinin daha yüksek, linolenik asit yüzdesinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. En düşük linoleik asit yüzdesi %3 yaprak ilavesi ile elde edilen yağda saptanmış olup depolama süresi boyunca oleik, linoleik ve linolenik asit yüzdeleri azalmıştır. Yaprak oranı ve depolama süresi interaksyonunda yağların linoleik ve linolenik asit yüzdelerinde önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca hem linoleik asit hem de linolenik asit yüzdesi azalmış, depolama sonunda da uygulamaların linoleik asit ve linolenik asit yüzdeleri benzer seviyelerde tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- Aguilera, P., M., Beltrán, G., Ortega, D., Fernández, A., Jiménez, A., Uceda, M., 2005. Characterisation of Virgin Olive Oil of Italian Olive Cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', Grown in Andalusia, *Food Chemistry*, 89, 3, 387-391.
- Anonim, 1973. Yemeklik Zeytinyağı Muayene Metotları, TS 342 Türk Standartları, Ankara
- Anonymous, 1987. Standard Methods For Analysis Of Oils, Fats And Derivates, International Union Of Pure And Applied Chemistry, 7th edn., *Blackwell Scientific Publications*, IUPAC Method 2.301
- Anonymous, 1996. Determination of Trans Unsaturated Fatty Acids By Capillary Column Gas Chromatography. COI/T.20.Doc.no:17, 6 June 1996, Madrid.
- AOCS, 1985. Official method ch 13d-55. 1985. Official And Tentative Methods. *American Oil Chemists' Society*, Champaign Illinois (USA).
- Baccouri, B., Zarrouk, W., Krichene, D., Nouairi, I., Youssef, N., B., Daoud, D., Zarrouk, M., 2007. Influence of Fruit Ripening and Crop Yield on Chemical Properties of Virgin Olive Oils from Seven Selected Oleasters (*Olea europea L.*), *Journal of Agronomy*, 6, 3, 388-396.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J., A., 2000. Antioxidant Activity of Phenolics Extracted from *Olea europaea L.*, Leaves, *Food Chemistry*, 68, 457-462.
- Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., 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, 1, 253-262.
- Bozdoğan Konaşkan, D., 2008. Hatay'da Yetiştirilen Halhalı, Sarı Haşebi Ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Çözücü Ekstraksiyonuyla Elde Edilen Yağların Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi Ve Mekanik Yöntemle Elde Edilen Zeytinyağları İle Karşılaştırılması, ÇÜ FBE, Doktora Tezi.
- Carpenter, A., P., 1979. Determination of tocopherols in vegetable oils. *Journal Of American Oil Chemists Society*, 59, 668-671.
- Cinquanta, L., Esti, M., Notte, E., 1997. Evaluation of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil During Storage, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 10, 1259-1264.
- Dabbou, S., Isaoui, M., Servili, M., Taticchi, A., Sifi, S., Montedoro, F., G., Hammami, M., 2008. Characterisation of virgin olive oils from european olive cultivars introduced in Tunisia. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110.
- Dag, A., Kerem, Z., Yögev, N., Zipori, I., Lavee, S., Ben-David, E., 2011. Influence of Time of Harvest and Maturity Index on Olive Oil Yield And Quality, *Scientia Horticulturae*, 127, 358-366.
- Dıraman, H., Dibeklioğlu, H., 2009. Characterization of Turkish Virgin Olive Oils Produced from Early Harvest Olives, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 663-674.

- Di Giovacchino, L., Preziuso, S., 2005. Effects of Olive Processing Technologies on Yield and Virgin Olive Oil Quality, Olive Oil and Olive-Pomace Oil Symposium and Exhibition, 17-29.
- Di Giovacchino, L., Angerosa, F., Di Giacinto, L., 1996. Effect of Mixing Leaves with Olives on Organoleptic Quality of Oil Obtained by Centrifugation, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73 (3), 371-374.
- Di Giovacchino, L., Sestili, S., Di Vincenzo, D., 2002. Influence of Olive Processing on Virgin Olive Oil Quality, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 587-601.
- Fabbri, A., Galaverna, G., Ganino, T., 2008. Polyphenol Composition of Olive Leaves with Regard to Cultivar, Time of Collection and Shoot Type, Proceeding of the Fifth International Symposium on Olive Growing, *Acta Horticulturae*, 791, 459-464.
- Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventós, 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, α -Tocopherol, and β -Carotene) in Virgin Olive Oil, *Food Chemistry*, 78, 207-211.
- Gomez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M. D., Fregapane, G., 2007. Evolution of Major and Minor Components and Oxidation Indices of Virgin Olive Oil During 21 Months Storage at Room Temperature, *Food Chemistry* 100: 36-42.
- Gutfinger, T., 1981. Polyphenols In Olive Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 966-968.
- Hrcirik, K., Fritsche, 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.
- IUPAC, 1992. Standard method 2.432: Determination Of Tocopherols And Tocotrienols In Vegetable Oils And Fats By HPLC. Standard Methods For The Analysis Of Oils And Fats And Derivatives, 7th ed.; Dieffenbacher, A., Pocklington, W.D., Eds.; Blackwell: Oxford, U.K.
- Köseoğlu, O., 2006. Zeytinden Yağ Elde Etme Sistemlerinin Zeytinyağının Kalitesi İle Açıklığı Üzerine Etkileri, EÜ FBE Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Kyriakidis, N.B., Dourou, E., 2002. Effect of Storage and *Dacus* Infection of Olive Fruits on the Quality of the Produced Virgin Olive Oil, *Journal of Food Lipids*, 9: 47-55.
- Malheiro R., S., Casal, H., A., Teixeira Bento, and J., A., Pereira, 2011. Effect Of Olive Leaves Addition During The Extraction Process Of Overmature Fruits On Olive Oil Quality. *Food Bioprocess Tech.* Doi:10.1007/s11947-011-0719-z
- Matos, L., C., Cunha, S., C., Amaral, J., S., Pereira, J., A., P., B., Andrade, R., M., Seabra, Oliveira, B., P., P., 2007. Chemometric Characterization of Three Varietal Olive Oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) Extracted From Olives with Different Maturation Indices, *Food Chemistry*, 102, 406-414.
- Mendez, A.I., Falque, E., 2007. Effect of Storage Time And Container Type On The Quality of Extra-Virgin Olive Oil. *Food Control*:18, 521-529.
- 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.
- Oliveras-López, M., J., Innocenti, M., Giaccherini, C., Ieri, F., Romani, A., Mulinacci, N., 2007. Study of the Phenolic Composition of Spanish and Italian Monocultivar Extra Virgin Olive Oils: Distribution of Lignans, Secoiridoidic, Simple Phenols and Flavonoids., *Talanta*, 73, 726-732.
- Parlati, M.V., Petruccioli G., Pandolfi, S., 1990. Effects of the *Dacus* infestation on the oil quality, *Acta Horticulturae*, 286: 387-390.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., Di Fonzo, V., 2006. Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.), *J. Agric. Food Chem.*, 54, 434-440.
- Ranalli, A., Modesti, G., Patumi, M., Fontanazza, G., 2000. The Compositional Quality And Sensory Properties Of Virgin Olive Oil From A New Olive Cultivar-I-77, *Food Chemistry*, 69, 37-46.
- Salvador, M., D., Aranda, F., Fregapane, G., 2001. Influence of Fruit Ripening on 'Cornicabra' Virgin Olive Oil Quality a Study of four Successive Crop Seasons, *Food Chemistry*, 73, 45-53.
- Sevim, D., 2011. Zeytin yaprağı ilave edilerek elde edilen zeytinyağlarının bazı temel kalite kriterleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, FBE Doktora Tezi, İzmir.
- Sevim, D., Tuncay, Ö., 2012. Ayvalık Ve Memecik Zeytin Çeşitlerinin Yaprığı Ve Meyvelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı Ve Antioksidan Aktiviteleri, *Gıda Dergi*, 37 (4): 219-226.

- Topuz, H., 2011. İzmir ve Manisa İllerinde Bazı Zeytin Çeşitlerinde Farklı Hasat Zamanlarının Zeytin Sineği [*Bactrocera oleae* (Gmelin) (Dip.: Tephritidae)] Zararına, Zeytinyağı Verimine ve Kalitesine Etkileri Üzerine Araştırmalar, EÜ FBE, Doktora Tezi, İzmir.
- UZK, 1991. Zeytinyağı Kalitesinin İyileştirilmesi, Yağ Teknolojisi Deneme Enstitüsü, İtalya
- Visioli, F., Poli, A., Gali, C., 2002. Antioxidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil, Medicinal Research Reviews, 22, 1, 65-75.

İLETİŞİM

Dr. Didar SEVİM
Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü
Üniversite Caddesi No:43 Bornova- İZMİR
E-posta: dcengeler@yahoo.com