

Gemlik Tipi Zeytinlerin Olgunlaşma Dönemindeki Fenolik, Flavonoid ve Antioksidan Kapasitesindeki Değişiklikler

Merve KÖSE¹, Duygu SEMİZOĞLU¹, Cemal KASNAK*¹, Recep PALAMUTOĞLU¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye

*Sorumlu Yazar: cksnak@gmail.com

Geliş Tarihi: 09.05.2018

Kabul Tarihi: 25.07.2018

Öz

Bu çalışmada, Muğla Fethiye ilçesinde farklı olgunlaşma dönemlerinde toplanan Gemlik tipi zeytinlerin fenolik bileşenleri ve antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Zeytin 2 haftalık periyotlarda 4 kez toplandı. Toplanan zeytinlerde DPPH, ABTS, fenolik bileşik ve flavonoid içerik değişiklikleri tespit edildi. En yüksek fenolik bileşik, flavonoid ve ABTS miktarı, 3. periyotta toplanan zeytinlerde tespit edildi (sırasıyla; 657.02 mg / 100 g kateşin eşdeğeri, 397.03 mg / 100 g kateşin eşdeğeri, 527.44 mg / 100 g Trolox eşdeğeri). Birinci periyotta toplanan zeytinlerde DPPH'nin en yüksek miktarı 20,41 mg / 100 g Trolox eşdeğeri olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Fenolik bileşik, Flavonoid, Zeytin, ABTS, DPPH.

Changes in Amount of Phenolic, Flavonoid and Antioxidant in Ripening Period of Gemlik Type Olive

Abstract

Phenolic compounds in the olive are very important because they affect the oxidative stability and sensory properties of the table olive. In this study, phenolic component and antioxidant capacities of Gemlik type olives collected from Fethiye district of Muğla in different ripening periods were investigated. Olive was collected during 4 times in 2-week periods. DPPH, ABTS, phenolic compound and flavonoid content changes were detected in the collected olives. The highest phenolic compound, flavonoid and ABTS amount were detected in olives collected during the 3rd period. (Respectively: 657.02 mg / 100 g catechin equivalent, 397.03 mg / 100 g catechin equivalent, 527.44 mg / 100 g Trolox equivalent). The highest amount of DPPH was found as 20,41 mg / 100 g Trolox equivalent in olives collected in the 1st period.

Keywords: Antioxidant, Phenolic compound, Flavonoid, Olive, ABTS, DPPH.

1. Giriş

Zeytin yetiştiriciliği ülkemizde Ege, Akdeniz, Marmara ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır. Zeytin *Olea europa* olarak bilinen bir ağacın meyvesidir. Zeytinin bileşimi %40 su, %20-35 yağdan oluşmaktadır. Zeytin meyvesinin %1-2'lik kısmı meyve kabuğu, %63-86'lık kısmı meyve eti %10-30'luk kısmı ise meyve çekirdeğinden oluşmaktadır. Zeytinde bulunan yağın büyük bir bölümü meyve eti olarak bilinen kısımda bulunmaktadır (Yemişçioğlu ve ark. 2001). Zeytinin kimyasal ve fiziksel özellikleri türü, yetiştiği toprak ve coğrafi alanına bağlıdır. Zeytinin yaşı, karakteristik türü, yetiştirildiği yer, genel coğrafi alan ve toprakta bulunan organik ve inorganik bileşikler zeytin ve zeytinyağının kalitesinde etkindirler. Ayrıca zeytinin olgunlaşma dereceleri de zeytinin kimyasal bileşiminde bir etkiye sahiptir (Demir 2013).

Zeytin meyvesinin olgunlaşma süresi aylarca devam edebilir ve zeytinin gelişim yetiştirme bölgesine, zeytinin çeşidine, sıcaklığa ve tarım uygulamalarına göre farklılık gösterir. Olgunlaşmanın ilk aşamasından yeşil olgunluktaki meyvelerin boyutunun son haline ulaşmasına kadar olan sürece yeşil olum zamanı denir. Bu süreçten sonra meyvenin olgunlaşması boyunca zeytinin yüzeyinde bulunan klorofil pigmentlerinin yerini antosiyaninler alır. Bu da zeytinin yüzey rengine göre 'benekli', 'mor' ve 'siyah' olum zamanları olarak tanımlanmasını sağlar.

Zeytin polifenollerin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır. Sağlığımız için oldukça önemli ve organizmayı koruyucu etkili olan antioksidanların bir dizisini içermektedir (Tokuşoğlu,2008). Fenolik bileşikler, yüksek antioksidan etkileri ile birlikte, zeytine önemli yapısal ve duyuşal özellikler katmaktadır (Kadalkal, 2009).

Bu çalışmada, Muğla'nın Fethiye ilçesinden farklı olgunlaşma dönemlerinde toplanan Gemlik tipi zeytinlerin fenolik bileşenleri ve antioksidan kapasiteleri incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Muğla'nın Fethiye ilçesinden Ekim-Kasım 2017 tarihlerinde ikişer haftalık periyotlar halinde 4 defa toplanan Gemlik tipi zeytinlerde analizler gerçekleştirildi. Örnekler Uceda ve Frías'ın (1975) çalışmasında bulunan olgunluk indeksine ekleme yapılarak hazırladığımız indekse göre (Modifiye olgunluk indeksi: kabuk renginin öznel değerlendirilmesi, 0-2 yeşil, 2-3 alacalı, 3-5 tavşanyüreği ve 5-7 siyah) 4 aşamada toplandı. Her olgunlaşma aşamanın arasında geçen süre 2 haftadır.

2.2. Metot

Metanolik ekstrakt

Zeytinler toplandıktan sonra Karadeniz ve ark., (2005)'nin yöntemiyle metanolik ekstereleri çıkarılarak – 18 °C'de analizler yapılana kadar depolanmıştır.

Toplam Fenolik Madde Tayini

Zeytinlerden elde edilen metanolik ekstrakt, folin ciocalteu reaktifi ve su sırasıyla 1, 1, 14 oranında karıştırılıp 3 dakika bekledikten sonra 2 ml % 20'li Na₂CO₃ eklendi ve yeniden karıştırıldı. Karışım 25 °C'de 1 saat su banyosunda bekletildikten sonra 720 nm'de spektrofotometrede çözücüye karşı okundu. Sonuçlar kateşin cinsinden belirlendi (Karadeniz ve ark., 2005).

Toplam Flavanoid Tayini

Flavanoid madde miktarı Karadeniz ve ark., (2005) kullandığı yöntemle belirlenmiştir. Hazırlanan karışım 510 nm'de spektrofotometrede okundu. Sonuçlar kateşin cinsinden belirlendi.

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Analizi

Brand-Williams ve ark., (1995) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak belirlendi. 4 M hazırlanan DPPH çözeltisinden 0.4 ml alınıp üzerine 1.6 ml örnek eklenerek 30 dakika karanlıkta bekletildi. 517 nm dalga boyunda kör alkol DPPH karışımına karşı okundu ve trolox eğrisine karşılık konsantrasyonu bulundu.

DPPH süpürme etkisi % $\equiv (1 - (A_{\text{örnek}}/A_{\text{blank}})) * 100$

ABTS 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) Analizi

Re ve ark. (1999) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak belirlendi. 10 ml 0.63 Mm potasyum persülfat, 10 ml 1.8 mM ABTS çözeltisi karıştırılarak karanlıkta 16-24 saat bekletildi. Solüsyonun 732 nm'de spektrofotometredeki absorbası (0.700±0.030) olana kadar metanol ilave edildi. 20 µl örnek 1.980 ml solüsyon ile karıştırılarak köre karşı 732 nm'de okundu ve trolox eğrisine karşılık konsantrasyonu bulundu.

3. Bulgular ve Tartışma

Gemlik zeytinlerinin ağaçta olgunlaşma periyotlarına göre toplam fenolik madde miktarları, flavonoid miktarları ve antioksidan kapasiteleri çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi ABTS değerleri en düşük yeşil zeytinde görülürken, en yüksek değer 3. olgunlaşma döneminde gözlemlendi. DPPH değerlerinde en yüksek miktar yeşil zeytinde görülürken olgunlaşma periyodu ilerledikçe düşüş gözlemlendi, en düşük değer siyah zeytinde görüldü. Toplam Fenolik madde miktarı ve flavonoid miktarı en düşük yeşil zeytinde bulundu. Her iki sonuç ta 3. olgunlaşma periyoduna kadar yükseliş gösterdi ve 4. olgunlaşma periyodunda düşüş

görüldü. Bu düşüşün nedeninin büyük molekülü fenolik bileşiklerin hidrolizasyonu sonucu olduğunu düşünülmektedir. Büyük molekülü fenolik bileşikler olgunlaşmanın sonlarına doğru parçalanarak tirozol, hidroksitirozol ve elenolik asit glikozitleri gibi bileşikler ortaya çıkar (Amiot ve ark., 1989).

Çizelge 1. Zeytinlerin olgunlaşma periyotlarına göre abts, dpph, toplam fenolik madde ve flavonoid değişimi

Gemlik Zeytin			N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma	Varyans
Olgunlaşma Periyodu								
Zeytin1 (Yeşil Zeyin)	ABTS		2	403.10	502.77	452.93	70.47	4966.56
	DPPH		2	20.35	20.46	20.41	0.08	0.01
	TFM		2	312.98	313.77	313.37	0.56	0.32
	Flavonoid		2	130.63	143.13	136.88	8.83	78.13
Zeytin2 (Alacalı)	ABTS		2	524.05	524.20	524.12	0.11	0.01
	DPPH		2	19.97	20.01	19.99	0.03	0.001
	TFM		2	525.28	526.87	526.07	1.12	1.26
	Flavonoid		2	265.00	286.09	275.55	14.92	222.48
Zeytin3 (Tavşanyüreği)	ABTS		2	526.80	528.08	527.44	0.90	0.81
	DPPH		2	19.28	19.63	19.46	0.24	0.06
	TFM		2	655.83	658.21	657.02	1.68	2.83
	Flavonoid		2	390.00	404.06	397.03	9.94	98.88
Zeytin4 (Siyah)	ABTS		2	526.34	526.95	526.65	0.43	0.19
	DPPH		2	15.02	16.04	15.53	0.73	0.53
	TFM		2	499.09	526.87	512.98	19.64	385.80
	Flavonoid		2	308.75	318.13	313.44	6.63	43.94

TFM: Toplam Fenolik Madde

Aynı zamanda olgunlaşmayla birlikte antosiyanin miktarı artarak yeşil zeytine rengini veren klorofile baskınlık sağlar ve zeytinde pembe-mor renk oluşumuna neden olur. Fenolik bileşiklerin parçalanması antioksidan kapasiteyi azaltırken antosiyanin oluşumu bunu kısmen dengeler. Keçeli ve Büyükaslan (2008)'da bize sonuçlara benze olarak Gemlik tipi zeytinlerin olgunlaşmayla beraber toplam fenolik madde içeriklerinin % 25,9 azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da 3. aşamadaki Gemlik zeytinlerinin toplam fenolik madde içeriği 4. aşamada % 28 oranında düşüş gösterdi.

Yeşil zeytindeki ABTS miktarının standart sapması ve varyansı diğer olgunlaşma periyotlardaki zeytinlere göre yüksektir. İlerleyen olgunlaşma periyotlarında ABTS miktarlarının standart sapma değerleri 1 altına düşmüştür. Bu durum yapılan analizlerin güvenilirliğindeki artışın göstergesidir. Varyans değerleri de, yeşil zeytin hariç, örnekler arasındaki ABTS miktarlarının dağılımının dengeli olduğunu göstermektedir. DPPH miktarlarındaki standart sapma ve varyans

değerleri tüm olgunlaşma periyotlarında dengeli bulundu. Toplam fenolik madde miktarlarının standart sapma ve varyans değerleri ilk üç olgunlaşma periyodunda dengeli iken 4. olgunlaşma periyodunda 19.64'e çıktı. Bu durum her örnek için yapılan iki tekrarın arasındaki farkın bir miktar arttığını gösterir. Flavonoid miktarlarındaki standart sapma ve varyans değerlerinde önce bir artış ve daha sonra düşüş görüldü.

Çizelge 2.'de Gemlik zeytinlerinin olgunlaşma periyotlarındaki antioksidan aktivite, toplam Fenolik ve flavonoid içeriklerinin değişimleri görülmektedir.

Çizelge 2. Gemlik zeytinlerinin olgunlaşma periyotlarındaki antioksidan aktivite, toplam Fenolik ve flavonoid içeriklerinin değişimleri

	Zeytin1 (Yeşil Zeyin)	Zeytin2 (Alacalı)	Zeytin3 (Tavşan Yüreği)	Zeytin4 (Siyah)
DPPH	20.41a	19.99a	19.46a	15.53b
ABTS	452.93a	524.12a	527.44a	526.65a
TFM	313.37a	526.07b	657.02c	512.98b
Flavonoid	136.88a	275.55b	397.03d	313.44c

Çizelge 2'de görüldüğü gibi DPPH düzeylerinde ilk üç olgunlaşma döneminde belirgin bir değişiklik olmazken 4. olgunlaşma periyodunda düşüş yönünde değişiklik izlendi. Tüm olgunlaşma periyotlarında ABTS düzeyinde belirgin bir değişiklik görülmedi. Zeyinin olgunlaşma periyodunda toplam fenolik madde ve flavonoid miktarlarında 2. olgunlaşma döneminde değişiklikler görülürken, 3. olgunlaşma döneminde ise 1. olgunlaşma periyoduna göre belirgin değişiklikler izlendi.

Fernandez-Orozco vd. (2011)'nin yaptığı çalışmada organik zeytinlerdeki toplam fenolik madde miktarları 25675.3 ila 108833.9 mg tyrosol eşdeğeri / kg kuru ağırlık, geleneksel üretim zeytinlerde 30269.7 ila 93707.77 mg tyrosol eşdeğeri/kg kru ağırlık olarak verilmiştir. Aynı çalışmada DPPH EC50 değerleri (DPPH'nin% 50 azaltılması için substrat konsantrasyonu), organik ve geleneksel zeytin çeşitleri için sırasıyla 265.1 - 1007.3 ve 309.6 - 993.8 g kuru meyve / g DPPH arasındadır.

Pirgün ve Keçeli (2008)'nin yaptığı çalışmada Gemlik ve Halhalı zeytinlerinin toplam fenol içeriğinin olgunluk aşaması ve çeşide bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği bulunmuştur. Keçeli ve Büyükaslan (2008)'in yaptığı çalışmada toplam fenol içeriği bakımından en iyi olan ilk derim Halhalı çeşidinin antioksidan etkinlik bakımından BHT ve Gemlik çeşidine göre daha etkili olduğunu bildirmektedir. Ayrıca halhalı çeşidinin olgunluk sonunda antioksidan aktivitesinin önemli derecede düştüğünü ve toplam fenol içeriği ile antioksidan aktivite arasında sıkı bir ilişki

olduğunu bildirmektedir. Kaya ve Mutlu (2010) Gemlik zeytinlerinden olgunlaşma süresince elde edilen fenolik ekstraktların antioksidan etkisinin BHT ve BHA'dan daha iyi ve/veya etkilerinin karşılaştırılabilir düzeyde olduğu bildirmiştir ($p < 0.01$).

4. Sonuçlar ve Öneriler

Olgunlaşmanın 3. evresinde hasat edilen zeytinlerin fenolik ve flavonoid madde miktarları diğer olgunlaşma evrelerine göre daha yüksek çıkmıştır. Gemlik tipi zeytinlerin 3. olgunlaşma evresine kadar olan süreçte fenolik ve flavonoid madde miktarları artarak ilerlemiş, zeytinin tam olgunlaşmasıyla beraber 4. olgunlaşma döneminde azalma meydana gelmiştir. Ancak azalma meydana gelmiş olsa da 1. ve 2. olgunlaşma evresindeki zeytinlere göre oran daha fazladır. DPPH değerleri ise zeytinin olgunlaşmaya başlamasıyla giderek azalmıştır. En az antioksidan değeri 4. olgunlaşma evresindeki zeytinde saptanmıştır. ABTS değeri en düşük olan zeytin yeşil zeytindir. 2. Olgunlaşma döneminde yeşil zeytine göre artış görülmüş, 3. ve 4. Olgunlaşma döneminde belirgin değişiklik olmamıştır. Gemlik tipi zeytinlerin olgunlaşma periyodunda fenolik ve flavonoid madde miktarında artış gösterdiği, ancak olgunlaşarak tamamen siyah-mor renk almasıyla birlikte toplam fenolik madde ve flavonoid miktarlarının düştüğü görüldü. Antioksidan kapasite bakımından zeytinin olgunlaşmasıyla beraber DPPH miktarında azalma ($p < 0.05$), ABTS miktarında artış ($p > 0.05$) görüldü. Sonuç olarak tamamen siyah-mor renk alarak olgunlaşan zeytinlerin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarlarının düştüğü, buna bağlı olarak antioksidan kapasitesinin azaldığı belirlendi.

Kaynaklar

- Amiot, M.J., Fleuriet, A., Macheix, J.J., (1986). Importance and Evolution of Phenolic Compounds in Olive During Growth and Maturation. *J. Agric. Food Chemistry*, 34 (5) : 823- 826.
- Brand, W., Cuvelier, MC., Berset, C.,(1995). Use of the free radical method to assess antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28, 25-30.
- Demir, D.,(2013). Zeytinde Polifenol Oksidaz Enzimi, *ZZ Review*, Isparta, 29,68-73.
- Fernandez-Orozco R, Roca M, Gandul-Rojas B, GallardoGuerrero L.,(2011). DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *J Food Compos Anal.* 24,858-864.
- Kadakal, E.,(2009). *Gemlik Yöntemi İle İşlenmiş Gemlik Tipi Sofralık Zeytinleri Antioksidan Özellikleri Ve Fenolik Profilleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H., Koca, N., Soyer, Y.,(2005). Selected Grown Fruits and vegetables Antioxidant Activity in Turkey, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29,297-303.
- Kaya, Ü. ve Mutlu, T.K.,(2010). İznik'te Yetiştirilen Gemlik Zeytininin ve Yağının Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. *CU Institute of Science and Technology*,22-1.
- Keçeli, T. ve Büyükaslan, Y., (2008). Hatay'da Yetiştirilen Bazı Zeytinlerin Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*. Turkey, Mayıs 21-23, Erzurum.
- Pirgün, Y. ve Keçeli, T.,(2008). Hatay'da Yetiştirilen Gemlik ve Halhalı Zeytinlerinin Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi. *CU Institute of Science*, 18-1.

- R Re, N., Pellegrini, A., Proteggente, A., Pannala, M., Yang, C.,(1999). Antioxidant activity of applying a colorimetric assay of an improved ABTS radical cation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26,1231-1237.
- Tokuşoğlu, Ö.,(2008). Sofralık Zeytinlerde, Zeytiyağında, Zeytin Ürünlerinde Ve Zeytin Karasuyunda Antioksidan Etkili Polifenoller Ve Biyoaktif Bileşiklerin Eldesinde Nanoteknoloji Uygulamaları, *I. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, Edremit-Balıkesir.
- Uceda, M. ve Frías, L. (1975). Harvest dates: Evolution of the fruits oil content, oil composition and oil quality. *Proceedings II. Seminario Oleícola Internacional* (pp. 125–128). COI: Córdoba.
- Yemişçioğlu, F., Gümüşkesen, A.S., Otađ, R.M.,(2001). Zeytinyağı üretiminde kullanılan sürekli sistemler ve bu sistemlerin klasik presleme yöntemi ile karşılaştırılması. *TMMOB Gıda Mühendisliđi Dergisi*, 9, 26–31.