

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ZEYTİN, ZEYTİN ÇEKİRDEĞİ VE ZEYTİN YAPRAĞINDAKİ
OLEUROPEİN BİLEŞİĞİNİN İZOLASYONU VE MİKTARLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURCU MENDUH

BALIKESİR, OCAK - 2015

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**ZEYTİN, ZEYTİN ÇEKİRDEĞİ VE ZEYTİN YAPRAĞINDAKİ
OLEUROPEİN BİLEŞİĞİNİN İZOLASYONU VE MİKTARLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURCU MENDUH

BALIKESİR, OCAK - 2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Burcu MENDUH tarafından hazırlanan “ZEYTİN, ZEYTİN ÇEKİRDEĞİ VE ZEYTİN YAPRAĞINDAKİ OLEUROPEİN BİLEŞİĞİNİN İZOLASYONU VE MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 09.01.2015 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

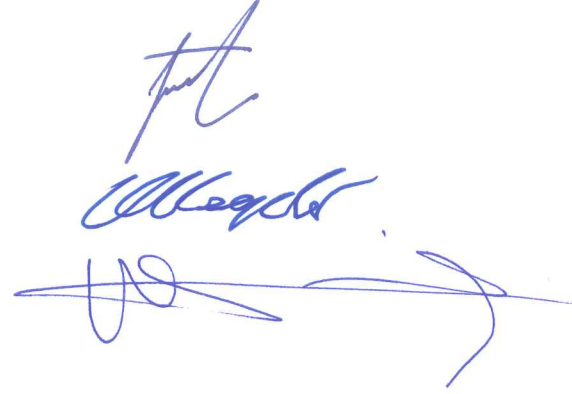
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Turgut KILIÇ

Üye
Doç. Dr. Sema BAĞDAT

Üye
Yrd. Doç. Dr. Sakin Vural VARLI



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Cihan ÖZGÜR

ÖZET

ZEYTİN, ZEYTİN ÇEKİRDEĞİ VE ZEYTİN YAPRAĞINDAKİ OLEUROPEİN BİLEŞİĞİNİN İZOLASYONU VE MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BURCU MENDUH
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)

BALIKESİR, OCAK - 2015

Bu çalışmada ayvalık cinsi zeytin, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprağındaki Oleuropein bileşiğinin miktarları karşılaştırılmıştır. Örnekler zeytinin olgunlaşmamış, yarı olgunlaşmış ve tam olgunlaşmış dönemlerinde toplanmış, her örnek yaş ve kuru olarak analiz edilmiştir. Çalışmada örneklere metanolla ekstraksiyon yöntemi uygulanmış, elde edilen ekstraktların HPLC ile Oleuropein konsantrasyonları tayin edilmiştir. Kromatogram sonuçlarında olgun dönemde toplanmış zeytin yaprağından elde edilen ekstraktın en yüksek seviyede oleuropein içerdiği görülmüştür. Çalışma, Oleuropein bileşiğinin zeytinin olgunluk derecesi ve nem içeriği ile ilişkili olduğunu, olgunluk ve nem arttıkça konsantrasyonunun azaldığını, zeytin yaprağında ise olgunluk arttıkça Oleuropein konsantrasyonunun da arttığını göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Zeytin, Zeytin yaprağı, Zeytin çekirdeği, Oleuropein, HPLC

ABSTRACT

ISOLATION OF OLEUROPEIN COMPOUND IN OLIVE, OLIVE SEED AND OLIVE LEAF AND COMPARE OF AMOUNT

**MSC THESIS
BURCU MENDUH
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY**

(SUPERVISOR: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)

BALIKESİR, JANUARY 2015

In this study, amount of Oleuropein compound in type of Ayvalık olive, olive seed and olive leaf is compared. Examples are collected at time of olive immature, semi-mature and mature, each sample is analyzed as wet and dry. In study, ethanol extraction method is applied to examples, Oleuropein concentration is obtained by HPLC and the highest Oleuropein level is detected in the collected mature olive leaf extract obtained by drying. Study is shown that concentration of Oleuropein compound is associated with moisture, content and maturity of the olives, if maturity and moisture increased concentration decreases, but in the olive leaf if maturity increased concentration of Oleuropein increases.

KEYWORDS: Olive, Olive leaf, Olive seed, Oleuropein, HPLC

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ÖNSÖZ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Oleuropeinin Biyolojik Aktiviteleri	11
1.1.1 Antioksidan Etki	12
1.1.2 Antimikrobiyal Etki	13
1.1.3 Antiviral Etki.....	16
1.1.4 Antitümör Etki.....	17
1.1.5 Anti-enflamatuvar Etki	18
2. MATERYAL VE METHOD.....	22
2.1 Materyal	22
2.2 Yöntem.....	22
2.2.1 Zeytin eti, Zeytin Çekirdeği ve Zeytin Yaprağından Ekstrakt Eldesi.....	22
2.2.2 Zeytin, Zeytin Çekirdeği ve Zeytin Yaprağındaki Oleuropein Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	24
3. BULGULAR.....	25
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
5. KAYNAKLAR.....	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Türkiye'nin Üretim Alanlarını Gösteren Harita.....	3
Şekil 1.2 : Ayvalık Cinsi Zeytin Olgunlaşma Periyodu.....	5
Şekil 1.3 : Zeytinde Bulunan Başlıca Fenolik Bileşikler.....	8
Şekil 1.4 : Oleuropeinin β -glikozidaz Enzimi ile Hidrolizi.....	10
Şekil 1.5 : İridoit ve Sekoiridotin Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 1.6 : Hidroksitriosolün Antioksidan Mekanizması.....	12
Şekil 1.7 : <i>Oleaceae</i> Familyasına Ait Bitkilerde Oleuropeinin Biyosentezi.....	15
Şekil 3.1 : 1. Derim Zeytin Eti yaş analiz kromatogramı.....	25
Şekil 3.2 : 1. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı.....	26
Şekil 3.3 : 1. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı.....	26
Şekil 3.4 : 1. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı.....	27
Şekil 3.5 : 2. Derim Zeytin Eti yaş analiz kromatogramı.....	27
Şekil 3.6 : 2. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı.....	28
Şekil 3.7 : 2. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı.....	28
Şekil 3.8 : 2. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı.....	29
Şekil 3.9 : 3. Derim Zeytin Eti yaş analiz kromatogramı.....	29
Şekil 3.10 : 3. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı.....	30
Şekil 3.11 : 3. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı.....	30
Şekil 3.12 : 3. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı.....	31
Şekil 3.13 : 3. Derim Zeytin Yaprağı yaş analiz kromatogramı.....	31
Şekil 3.14 : 3. Derim Zeytin Yaprağı kuru analiz kromatogramı.....	32
Şekil 3.15 : 4. Derim Zeytin Eti yaş analiz kromatogramı.....	32
Şekil 3.16 : 4. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı.....	33
Şekil 3.17 : 4. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı.....	33
Şekil 3.18 : 4. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı.....	34
Şekil 3.19 : 4. Derim Zeytin Yaprağı yaş analiz kromatogramı.....	34
Şekil 3.20 : 4. Derim Zeytin Yaprağı kuru analiz kromatogramı.....	35
Şekil 3.21 : Oleuropein standart kalibrasyon eğrisi.....	35

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: 1993-2013 Yılları Arası Bazı Ülkelerdeki Zeytin Yetiştirme Alanı.....	2
Tablo 1.2: Zeytinin Bazı Ülkelerdeki Üretim Miktarı.....	2
Tablo 1.3: Zeytin Tanesinin Ortalama Bileşimi.....	6
Tablo 3.1: Farklı derim zamanlarındaki Oleuropein miktarlarının ortalama değerleri.....	36

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, çalışmanın düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesinde katkılarıyla beni yönlendiren, bana yol gösteren ve destekleyen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Turgut Kılıç'a, deney çalışmalarında malzeme ve method ihtiyacı için tüm olanaklarını paylaşan Sayın Faruk Durukan ve Harun Durukan'a teşekkürlerimi sunarım.

İlgi, sabır ve maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen babam Salih Menduh, annem Gülsüm Menduh, kardeşim Burak Menduh'a teşekkürü borç bilirim.

1. GİRİŞ

Zeytin *Oleaceae* (Zeytingiller) familyasının bir üyesidir. Bu familyanın birçok cinsi vardır ve bazılarında yağ üretilir. Bunlar *Olea* cinsine bağlı olup genellikle subtropikal ve tropikal iklim gösteren bölgelerde, Dünya üzerinde orta kuşakta ve Akdeniz ikliminin hakim olduğu sahalarda yetişir. Zeytinin dünyada 27 tür, 600 civarında da varyetesi vardır. (Efe, ve ark., 2011). Zeytin ağacı (*Olea europaea* L.)'nin meyvesi ve *Oleaceae* familyasının bir üyesi olan zeytinin anavatanının Güneydoğu Anadolu Bölgesini de içine alan Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya olduğu bildirilmektedir (Owen ve ark., 2000). Dünya zeytin ağacının ve zeytin üretiminin yaklaşık % 97' si Akdeniz ülkelerine aittir. Akdeniz'in doğusunda Suriye, Ürdün, İsrail ve Filistin'de zeytin binlerce yıldır yetiştirilmektedir. (Efe, ve ark., 2011) Zeytin ağacının sosyal ve ekonomik öneme sahip olduğu Akdeniz ülkelerinde yaklaşık 8 milyon hektar alanda yetiştirilen zeytin, tarımsal aktivitelerin en önemlilerinden bir tanesidir (Guinda ve ark., 2004) Zeytinin yetiştiği ülkeler Türkiye, Kuzey ve Güney Kıbrıs, Yunanistan, Arnavutluk, Hırvatistan, Karadağ, Slovenya, İtalya, Malta, Fransa, İspanya, Portekiz, Kuzey Afrika'da Mısır, Fas, Tunus, Cezayir, Akdeniz'in doğusunda Suriye, Ürdün, Lübnan, Filistin, İsrail, Akdeniz havzası dışında Afganistan, Pakistan, Avustralya, Amerika Birleşik Devletleri (Kaliforniya), Arjantin, Peru ve Şili'dir.

Dünyada zeytin yetiştirilen alanlar 1983 yılında 6 milyon hektar alan kaplarken, 2013 yılında bu değer 10.24 milyona kadar çıkmıştır. 30 yıllık bu dönemde zeytinlikler %70 oranında genişlemiştir. İspanya 2.50 milyon hektar alan ile zeytin yetiştirilen alan bakımından dünyada ilk sırada, Tunus 1.80 milyon hektar ile ikinci sırada yer almaktadır. (FAO, 2013)

Tablo 1.1: 1993-2013 Yılları Arası Bazı Ülkelerdeki Zeytin Yetiştirme Alanı (hektar) (FAO, 2013)

	Yıl					
	1993	1998	2003	2008	2013	
Ülke	İspanya	2092000	2194000	2439582	2450471	2500000
	Tunus	1454850	1332000	1652400	1719800	1800000
	İtalya	1119210	1115100	1162713	1180500	1125000
	Yunanistan	719000	738582	765000	806600	930000
	Türkiye	544687	571761	614385	707600	825830

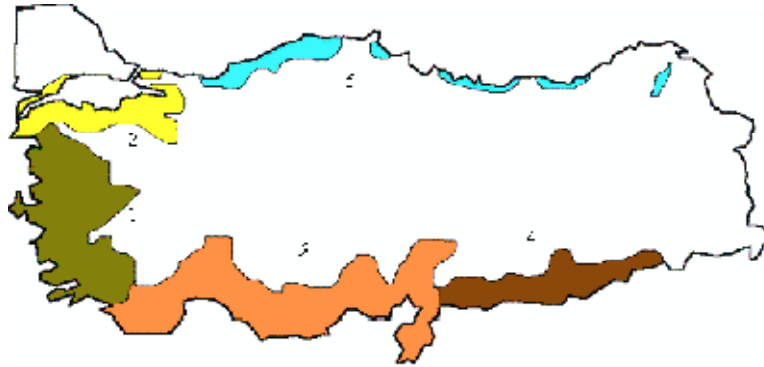
Önemli zeytin üretici ülkeler sırasıyla, İspanya, İtalya, Yunanistan, Tunus, Suriye ve Türkiye'dir (Zeytin ve Zeytinyağı Raporu, 2013). 2012 verilerine göre İspanya zeytin üretiminin 3.626.600 tonuna sahip olarak dünyadaki üretimin ilk sırasında yer almaktadır (FAO, 2013).

Tablo 1.2: Zeytinin Bazı Ülkelerdeki Üretim Miktarı (ton) (FAO, 2013)

Ülke	Üretim (ton)
İspanya	3.626.600
İtalya	2.992.330
Yunanistan	2.100.000
Türkiye	1.820.000
Tunus	963.000
Suriye	1.095.043
Dünya	16.584.857

Genel zeytincilik panoramasında, üretim bakımından Türkiye, Avrupa Birliği ve dünyadaki önemli zeytin üreticisi ülkelerin arasındadır. Türkiye, dünya sofralık zeytin üretiminde ikinci, zeytinyağı üretiminde ise dördüncü ülke konumundadır. Dünyadaki zeytin üretimi 20 milyon ton civarındadır. Zeytin üretiminde Türkiye % 16,7'lik bir paya sahiptir. Hatta Türkiye'nin zeytinyağı ve sofralık zeytin üretimi dışındaki parametrelerde (ağaç sayısı, alan varlığı, üretim) 4. sırada yer almaktadır (FAO, 2013).

Ülkemizde 2013 yılı itibariyle 167 milyon zeytin ağacının olduğu bilinmektedir (TUİK, 2013) Zeytin ağaçları ülkemizdeki tüm tarım alanlarının % 2'sini bağ-bahçe tarımına ayrılmış alanın ise % 22'sini oluşturmaktadır (Erbay ve İçier, 2008).



Şekil 1.1: Türkiye'nin Üretim Alanlarını Gösteren Harita

1.Ege, 2. Marmara, 3. Akdeniz, 4. Güneydoğu Anadolu, 5. Karadeniz (Numaralar bölgelerin ağaç sayısı ve üretim miktarlarına göre çoktan aza doğru verilmiştir.) (Taş, 2009)

Türkiye'de Gemlik, Domat, Memecik, Uslu, Ayvalık (Edremit), Edincik-Su, Kan, Halhalı, Tavşan Yüreği, Çelebi ve Yamalak Sarısı önemli zeytin çeşitleri iken; diğer zeytin üreticisi ülkelerde Manzanilla, Hojiblanca, Ascolana, Kalamata, Haldiki ve Chemlali önemli zeytin çeşitleridir. (Tokuşoğlu, 2010)

Gemlik: Marmara bölgesinin ve ülkemizin başta gelen siyah sofralık çeşididir. Meyvesi erken olgunlaşır, eti çekirdekten kolay ayrılır. Yüksek yağ oranı sebebiyle sofralığa uygun olmayan daneler yağa işlenmektedir. Soğuğa kısmen dayanıklı bir çeşittir. (Tarım kütüphanesi, 2013) Meyveleri orta büyüklükte ve yuvarlaktır. Çekirdekler orta irilikte, üzerleri pürüzlü ve oval şekildedir.

Domat: Menşei Akhisar olup meyveleri iri ve silindirik, soğuğa karşı duyarlıdır. Genellikle yeşil dolgulu sofralık zeytin şeklinde işlenir. Yağ oranı %22 civarındadır. Çekirdekleri orta büyüklükte ve etten kolayca ayrılır. (Efe ve ark., 2011)

Memecik: Ege Bölgesi'nde en yaygın zeytin çeşididir. Yağ oranı %24 civarında olup yağlık olarak değerlendirilir. Meyve orta büyüklükte, yuvarlağa yakın ve uç kısmında ufak bir çıkıntı vardır, Memecik adının verilme sebebi bu çıkıntıdır. Etten kolay ayrılan çekirdekleri ovaldir.

Edincik Su: Kökeni Bandırma olan Edincik çeşidi zeytinlerin iri ve yüksek miktarda su içeren meyveleri yumuşaktır ve yağ oranları düşüktür. Siyah sofralık zeytin olarak değerlendirilir.

Kan: Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Nizip menşeli bu çeşidin meyveleri iridir, olgunlaşınca pembe-kırmızı renk alır. Yeşil sofralık zeytin ve çizme-pembe zeytin olarak değerlendirilir.

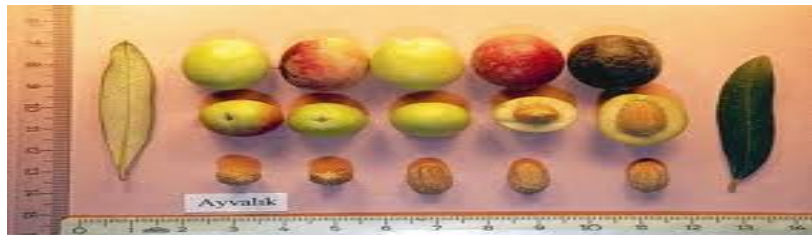
Tavşan Yüreği: Meyvesi yüreğe benzediği için bu ad verilen çeşidin orijini Fethiye'dir. Meyvesi çok iri ve oval yürek şeklindedir. Yağ oranı düşük olduğundan yeşil ve siyah sofralık zeytin olarak değerlendirilir.

Ayvalık: Ege Bölgesi'nin kuzeyinde Edremit Körfezi çevresindeki bütün zeytinlikler bu çeşitten oluşur. Meyvesi erken olgunlaşır ve soğuğa karşı kısmen dayanıklıdır. Ayvalık zeytini yağlık bir çeşit olup; Edremit adıyla da anılabilmektedir. Şekilsel bozukluklarına, iri ve pürüzlü bir çekirdeği olmasına karşın yağ oranının yüksek ve aromasının çok yoğun olması dolayısıyla yeşil, pembe ve siyah sofralık zeytin olarak da değerlendirilmektedir. Taneler yuvarlakça olup orta kısımda şişkin bir sırt bulunmaktadır. Ayvalık zeytin çeşidinin et-çekirdek oranı 4-5/1 arasında olup; yağ oranı %24-26 arasındadır. Bir kilogramdaki tane sayısı 260-300 adettir. (Türkiye 1. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Sempozyumu, Ekim 2003)

Ayvalık toprakları yaklaşık 2.500.000 zeytin ağacını barındırır. Türkiye genelindeki zeytin ağacı varlığının yüzde ikisini oluşturur. Meyve iriliği bakımından orta büyüklükte olup, meyve % 85 oranında et, % 25 oranında yağ içermektedir. Yapraklarının boyu 62-63 mm kadardır.

Zeytin ağacında döllenmesini tamamlayan çiçeklerde Haziran ayı başında meyve oluşumu başlar. Meyveler normal boyutlarına Ağustos ayı sonunda ulaşır. Eylül ayından itibaren meyvelerde yağ toplanmaya başlar. Meyve rengi ekim ayı içinde önce yeşilden sarıya, daha sonra da mor renge dönüşür. Kasım ayında yağ toplama maksimuma ulaşır ve Aralık ayında meyveler siyah renge dönüşür. Meyvenin yağ içeriği, olgunluk ilerledikçe artar ve ağaç üzerinde yeşil meyve kalmayınca en yüksek seviyeye ulaşır.

Zeytinin rengi hızla değişmesine rağmen olgunlaşması uzun zaman alır. Meyvenin Haziran başından Eylül sonuna kadar geçirdiği evreye yeşil olum safhası denir. Bu dönemde meyve boyut ve ağırlık olarak değişir. Çekirdeği de sertleşir. Kasım-Ocak arasındaki devreye ise siyah olum safhası denir.



Şekil 1.2: Ayvalık Cinsi Zeytin Olgunlaşma Periyodu

Zeytin meyvesinin büyüme periyodu süresince ağırlıkta meydana gelen artışla birlikte bazı değişiklikler oluşur. Kuru madde bazında meyvenin yağ içeriği artmaya devam eder; indirgen şeker içeriği kısa süreli bir artış sonrası olgunlaşmaya ulaşırken düşer; ham lif içeriği başlangıçta hızlı olarak azalırken sonradan dereceli olarak azalma gösterir; protein içeriği ve kül içeriği meyvenin gelişimi boyunca düşük değerlerde kalır. (Tokuşoğlu, 2010)

Zeytin besin içeriği bakımından oldukça değerli bir ürün olup, şekli ve rengi çeşide göre değişmektedir. Zeytinin kimyasal bileşiminin önemli bir kısmını su ve yağ oluştururken protein, selüloz, şeker, mineral maddeler, hidrokarbonlar, fenolik bileşikler ve tokoferoller de bileşiminde yer almaktadır. Olgunluk derecesi, yetiştirildiği bölge ve çeşit zeytin bileşimini etkileyen faktörler arasında yer alır (Vinha ve ark., 2005). Zeytin tanesinin ortalama bileşiminin yaklaşık %50' sini su, %22' sini yağ, %1,6' sını protein, %19,1' ini şeker, %5,8' ini selüloz ve %1,5' ini mineral maddeler oluşturmaktadır. Bunlar arasında zeytinde eser miktarda bulunduğu halde özellikle yağı oksidasyona karşı koruyarak antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler yağın rengi, lezzeti, oksidatif stabilitesi ve besin değeri açısından önemli rol oynamaktadır (Kiritsakis, 1998).

Tablo 1.3: Zeytin Tanesinin Ortalama Bileşimi (Kritsakis, 1998)

Bileşim Miktar (%)

Su	50 - 60
Yağ	18 - 25
Protein	1,5 - 2
Şeker	18
Selüloz	5
Mineral Madde (kül)	1,5
Hidrokarbonlar	08 - 1
Polifenoller	0,5 - 0,8
Tokoferoller	0,3 - 0,8

Zeytin ağacından ana ürün zeytin ve zeytinyağına ilaveten, zeytinyağı üretimi sırasında zeytin keki (prina), karasu, ince dallar ve yapraklar gibi yan ürünlerde büyük miktarlarda oluşmaktadır. Dolayısıyla, zeytin yaprağı zeytin ağacının bir yan ürünüdür ve zeytinin çırpılarak toplanması, zeytinin budanması ve yağa işlenmesi sırasında (toplam zeytin ağırlığın % 10' u kadar) oldukça yüksek miktarda ortaya çıkar.

Zeytin yaprakları fonksiyonel değere sahip olan biyoaktif bileşenlerin doğal bir kaynağıdır. Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşenlerin pek çoğunun antioksidan, antifungal, antibakteriyel özellikler gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Ferreira ve ark., 2007). Zeytin yaprakları yüksek bir biyolojik değer katan bir kaynak olarak kullanıldığında sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan kaynağıdır ve gıda ürünlerinin duyu ve besinsel özelliklerindeki kayıpları önleyerek raf ömrünü uzatma özelliğine sahiptir (Jemai ve ark., 2009; Boudhrioua ve ark., 2009; Bouaziz ve ark., 2010).

Fenolik bileşikler, hemen hemen tüm meyve ve sebzelerde az veya çok miktarda bulunan ikincil bitki metabolitleridir (Bianco ve Uccella, 2000). Fenolik bileşiklerin çoğu, bulunduğu bitkilere acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunu vermesinin yanında, sarı-kırmızı-mavi tonlarındaki renk özelliğini kazandırmaktadırlar (Taş, C., 2009).

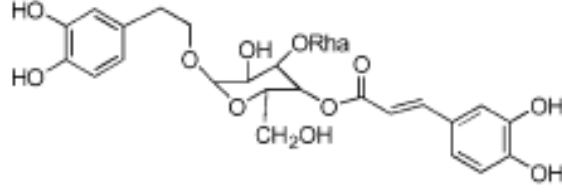
Zeytinde bulunan fenolik bileşikler;

- Bitkinin özelliklerini,
- Zeytin meyvesinin rengini,
- Besinsel değerini,
- Zeytinden elde edilen zeytinyağının stabilitesini,
- Mikroorganizmalara karşı dayanıklılığını etkilemektedir.

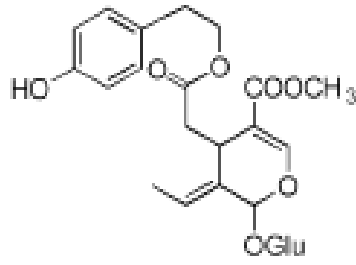
Fenolik bileşiklerin en önemli etkileri;

- Zeytine renk, sertlik, acı tat ve kendine has aroma verirler.
- Stabilizasyonu sağlarlar.
- Oksidasyonu önleyerek zeytinin kötü tat kazanmasına engel olurlar.

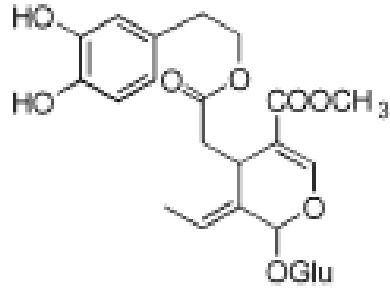
Zeytinde bulunan fenolik maddeler başlıca oleuropein, verbaskosit, ligrosit gibi fenolik glikozitler ile flavonoidler, flavonol glikozitleri, antosiyaninler ve glikozitleri, fenolik asitler ve diğer bileşenlerdir (Keçeli ve Gordon, 2002).



Ligrosit



Verbaskosit

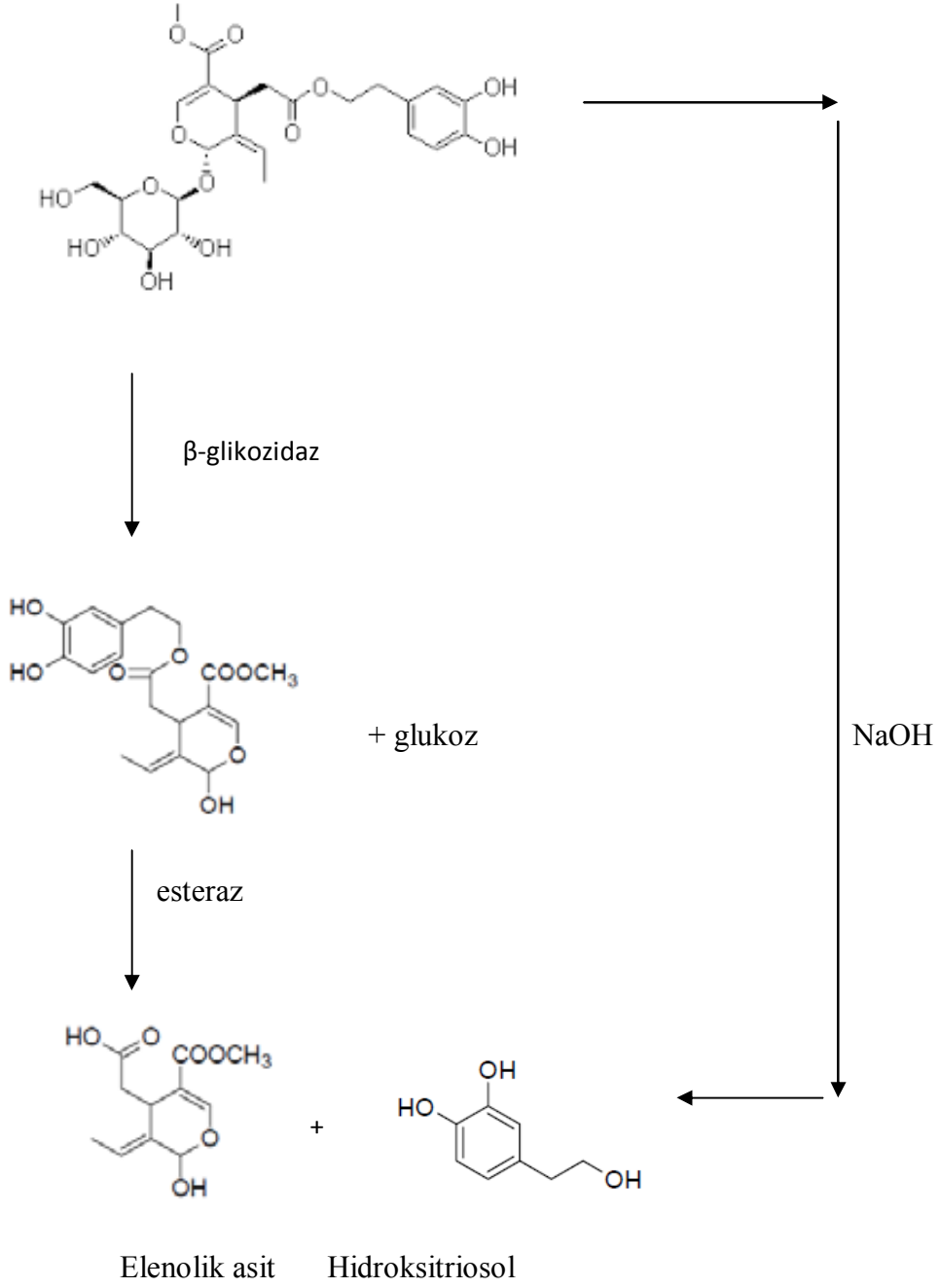


Oleuropein

Şekil 1.3: Zeytinde Bulunan Başlıca Fenolik Bileşikler

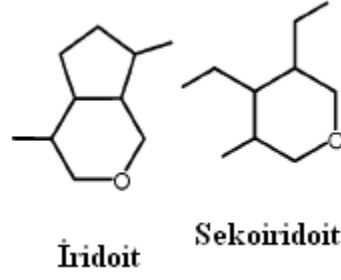
Zeytin ağacı önemli biyolojik özelliklere sahip fenolik maddelerce zengin olup, bu fenolik bileşenlerin başlıcası oleuropeindir (Malik ve Bradford, 2006; Japon-Lujan ve ark., 2006; Bouaziz ve ark., 2008). İlk kez 1908 yılında Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilen bu bileşiğin yapısı ancak 1960 yılında tanımlanabilmiştir (Panizzi ve ark., 1960). Buna göre oleuropein, elenolik asit ve hidroksitriosolün heterozidik esteridir. Zeytinin hasattan hemen sonra tüketilememesinin nedeni olan bu glikozit suda çözünebilme özelliğine sahiptir.

Klasik salamura yöntemi, alkali uygulaması, enzimatik yöntem ya da mikroorganizmalarla hidrolize edilerek zeytinden uzaklaştırılabilmektedir (Fleming ve ark., 1973; Brenes ve ark., 1995; Marsillo ve Lanza, 1998; Brenes ve DeCastro, 1998). Enzimatik hidroliz yönteminde oleuropein β -glikozidaz enzim aktivitesiyle glikoz ve oleuropein aglikona parçalanmakta, daha sonra esteraz enziminin etkisiyle hidroksitriosol ve elenolik asit oluşmaktadır (Marsillo ve Lanza, 1998).



Şekil 1.4: Oleuropeinin β -glukozidaz enzimi ile hidroliz

Oleuropein, *Oleaceae*, *Gentianaceae* ve *Cornaleae* familyalarında yüksek miktarda bulunan sekoiridoit grubu bir bileşiktir. Sekoiridoitler, siklopentanopiran halkasına sahip acı lezzetli monoterpen lakton olan iridoitlerin, siklopentan halkasının parçalanması ile oluşmaktadır (G. Yıldız, V. Uylaşer-2010).



Şekil 1.5: İridoit ve Sekoïridoit'in Kimyasal Yapısı

Oleaceae familyasındaki sekoïridoitler ekzosiklik 8,9-olefinik bağ tarafından karakterize edilen, elenolik asit ve glikoz kalıntısının kombinasyonu oleosid türevleridir. *Oleaceae* sekoïridoit glikozitlerine özgü oleosid iskeletine sahip olan oleuropein, üç yapısal alt birimden oluşmakta olup bunlar; hidroksitriosol diğer bir deyişle 4-(2-hidroksietil) benzen-1,2 diol olarak adlandırılan bir polifenol ile sekoïridoit elenolik asit ve glikoz molekülüdür (Soler-Rivas ve ark., 2000; Gikas ve ark., 2007).

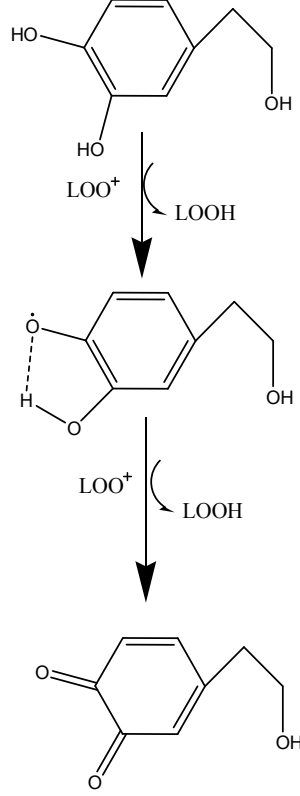
1.1 Oleuropeinin Biyolojik Aktiviteleri

Oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyal, 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).

Oleuropeinin iltihap giderici, damar sertliğini engelleyici ve kanser önleme özelliklerinin yanında, endojen peptidleri bağlama özelliği ile de güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Gikas ve ark., 2007).

1.1.1 Antioksidan Etki:

Oleuropein ve metaboliti hidrositrozol, antioksidan ve radikal temizleyici aktivite için fonksiyonel bir (katekol) gruba sahiptir. Bu gruplar sayesinde oksidasyonu engelleyerek serbest radikallerin oluşumunu durdurmaktadır.



Şekil 1.6: Hidrositriosolun Antioksidan Mekanizması

Zeytin yapraklarından elde edilen oleuropeinin oksidatif stres, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar üzerine etkileri alloksan ile indüklenmiş diyabetik tavşanlarda araştırılmış; çalışma sonuçları, oleuropeinin diyabet ile indüklenen hiperglisemi ve oksidatif stresi inhibe etme potansiyeli olduğunu ve oksidatif stresle ilişkili komplikasyonların önlenmesinde faydalı olabileceğini göstermiştir (Al-Azzawie HF, 2006). İşlenmiş zeytin, kabuk yağları ve hidrolizat özütleri ile zenginleştirmenin, yapraklar ve ekstrenin antioksidan içeriği nedeniyle oksidatif bozulmaya karşı belirgin direnç oluşumuna yol açtığını rapor edilmiştir (Bouaziz ve ark., 2008).

1.1.2 Antimikrobiyal Etki

Zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanında geniş spektrumlu bakteri gelişimini engelleyici antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Aziz ve ark., 1998). Oleuropeinin molekül yapısında bulunan eleonik asidin anti-viral etkisi bulgulanmıştır (Reniş,H ., 1975).

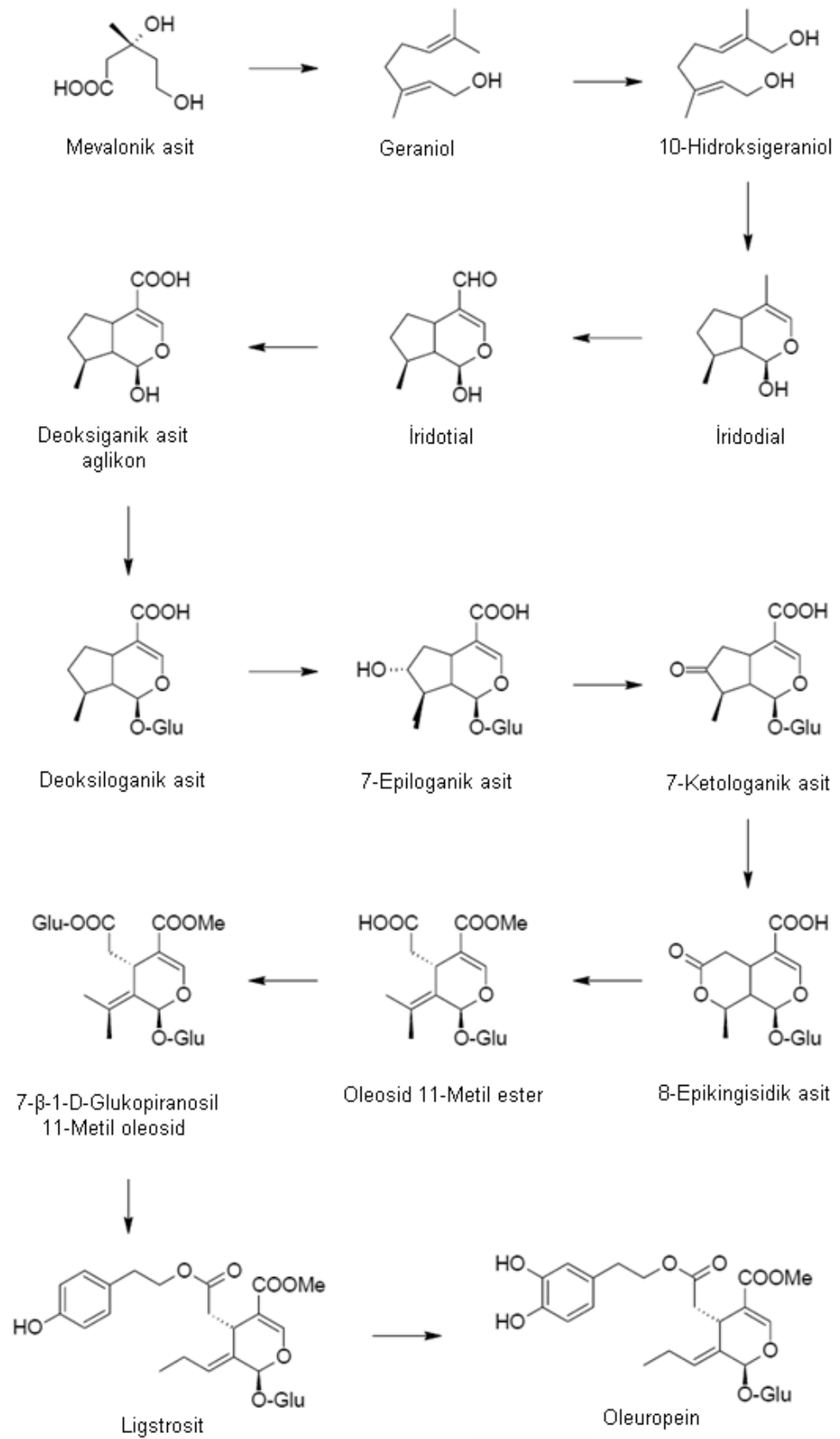
Markin ve ark. cilt hastalığına sebep olan mantarların % 1.25'lik (ağırlık/hacim) zeytin yaprağı ekstrakt ile 3 gün maruz kalma süresi sonunda inaktive olduğu, % 1'lik ekstraktın *Candida albicans* üzerinde 24 saatte etkili olduğu, % 0.6'lık ekstraktın ise *E. Coli* hücrelerinin tamamını 3 saatlik sürede yok ettiğini belirlemişlerdir. Bu bulgulara göre zeytin yaprağının antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğu belirtilmiştir.

Oleuropeinin, mikroorganizmaların gelişme hızını geciktirdiği ve inhibe ettiği bildirilmektedir (Sousa ve ark., 2006; Sanchez ve ark., 2007; Sudjana ve ark., 2009; Lee ve Lee, 2010). Oleuropein ve parçalanma ürünlerinin *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus plantarum*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas fragi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus carnosus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus* ve küfler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ifade edilmektedir (Juven ve Heniz, 1970; Tassou ve Nychas, 1995; Aziz ve ark. 1998; Bisignano ve ark., 1999; Furneri ve ark., 2002). Oleuropeinin bu etkisinin, yapısında bulunan *ortodifenol* grubundan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Furneri ve ark., 2002).

Etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla beraber fenolik bileşiklerin, proteinleri denatüre etme yeteneğine sahip olduğu ve hücre zarı geçirgenliğini olumsuz etkilediği belirtilmektedir. Genel olarak yüzey aktif ajanlar olarak sınıflandırılan bu bileşikler antimikrobiyal aktivitelerini, hücre membranlarına zarar vererek ya da hücre peptidoglikanlarını parçalayarak; protein, inorganik fosfat, glutamat veya potasyum gibi sitoplazma bileşenlerinin sızmasına neden olarak gerçekleştirmektedirler (Juven ve ark.,1972; Furneri ve ark., 2002; Sousa ve ark., 2006).

Araştırcılar *Mycoplasma pneumoniae*, *M. pirum*, *M. hominis* ve *M. fermentans*'a karşı oleuropeinin etkisini *in-vitro* olarak incelemiş ve oleuropeinin bu mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Oleuropeinin bu etkisinin, yapısında bulunan *ortodifenol* grubundan kaynaklanabileceği ileri sür÷lmektedir (Furneri ve ark., 2002).

Winkelhausen ve arkadaşları (2005) zeytin meyvesinin ezilmesi ve preslenmesi sonucu kalan artığın etanol ekstresinden elde edilen fenolik bileşiklerin % 0.1 ve % 0.2 oranlarında kullanıldığında *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* ve *Fusarium culmorum* küflerinin gelişmesinin inhibe edildiğini belirtmişlerdir.



Şekil 1.7: *Oleaceae* Familyasına Ait Bitkilerde Oleuropeinin Biyosentezi.

Yapılan başka bir çalışmada toz haline getirilmiş zeytin yapraklarının sulu ekstraktında bulunan fenolik bileşikler, HPLC/DAD kullanarak analiz edilmiş ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Elde edilen ekstraktın farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisi sırasıyla *Bacillus cereus* ~ *Candida albicans* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus* > *Cryptococcus neoformans* ~ *Klebsiella pneumoniae* ~ *Pseudomonas aeruginosa* > *Bacillus subtilis* olarak bulunduğu rapor edilmektedir (Pereira ve ark., 2007).

1.1.3 Antiviral Etki

ABD’de oleuropeinin mononükleoz herpes, hepatit virüslerine, rotavirüslere, bovin virüslerine, köpeklerde parvovirüslere ve kedilerde lösemi virüslerine karşı antiviral aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (Fredrickson, 2000). Ayrıca yapılan çalışmalarda, zeytin yaprağının sulu ekstraktından elde edilen fenolik bileşiklerin Anti-HIV özellik gösterdiği bildirilmiş olup, oleuropein ve parçalanma ürünü hidroksitriosolun ayrı ayrı ve birlikte kullanımı ile hücre içinde ve hücre dışında virüsün hücreye girişi ve hücreye entegrasyonunun engellendiği tespit edilmiştir (Lee-Huang ve ark., 2003; Bao ve ark. 2007; Lee-Huang ve ark., 2007a; Lee-Huang ve ark., 2007b)

1.1.4 Antitümör Etki

ABD’de yapılan bir araştırmada Oleuropeinin, kanserli hücreleri geri değiştirilemez şekilde kesinlikle yuvarlak içine alarak çevrelediği, kanserli hücrenin kendini çoğaltmasını, yayılmasını ve hareketliliğini engellediği belirtilmiştir. Farelere ağız yoluyla Oleuropein uygulandığı zamanda, Oleuropein 9-12 gün içinde kendiliğinden geliştirilen tümörleri tamamen geriletteği ifade edilmiştir. Bu son gözlemler ile tümörlü hücrelere olan doğrudan etkilerin Oleuropeini toksik madde içermeyen antioksidan derecesinden güçlü bir anti tümör ajanı derecesine yükseltteği ileri sürölmektedir. Oleuropein tümörlü hücrelerin büyümesi, hareketlilik ve istila yeteneğini engellediği ifade edilmektedir. (Hamdi K. Hamdi , Raquel Castellon,2005)

Menendez ve arkadaşları Oleuropein aglikon meme kanseri hücre canlılığı azaltılması için en güçlü fenolik bileşik olduğunu ortaya koymuştur. (Menendez JA, Vazquez-Martin A, Colomer R, Brunet J, Carrasco-Pancorbo A, Garcia-Villalba R, Fernandez-Gutierrez A, Segura-Carretero A.-2007)

Han ve arkadaşları Oleuropeinin (200 gr / mL) son derece MCF-7 hücre canlılığını azalttığını ve hücre çoğalmasını ve indükleyici hücre apoptozu inhibe oranı ile MCF-7 hücreleri sayısını azalttığı bildirmiştir. (Han J, Talorete TP, Yamada P, Isoda H.-2009)

Goulas ve arkadaşları içinde baskın oranda Oleuropein bulunan fitokimyasal maddelerin extarktlarının insan göğüs kanseri hücre çoğalmasını (MCF-7), insan mesane kanseri hücre çoğalmasını (T-24) durdurduğunu göstermiştir. (Goulas ve ark., 2009)

1.1.5 Anti-enflamatuar Etki

Visioli ve arkadaşları çalışmalarında Nitrik oksit sentaz enziminin indüklenabilir formunun lipopolisakkarit ile uyarılmış makrofajlarda nitrik asit üretimini arttırdığını gözlemiş, bu nedenle Oleuropeinin bağışıklık hücrelerinin fonksiyonel aktivitesini artırdığı göstermiştir. (Visioli F, Bellosta S, Galli C.-1998) Oleuropein lipoksigenaz aktivitesini ve B4 lökotrien üretimini inhibe etmesi ile anti-enflamatuar etkiyi ortaya koyduğu bildirilmiştir (De la Puerta R, Guttierrez VR, Hoult JRS.-1999).

Oleuropein, BHT ve E vitamininin indirgeyemediği süperoksit anyonlarını indirgeyebilmekte ve bu nedenle tıp, ilaç ve kozmetikte ilgili alanlar yanında, gıda ürünlerinde de kullanılabilir doğal bir katkı olma potansiyeli taşımaktadır (Ranalli ve ark., 2006).

Oleuropeinin kendisi insan vücudunda doğrudan emilemez. Oleuropein, hidroksitirozol, elenolik asit, oleuropein aglikon ve glikoza hidrolize olmaktadır (Mourtzinou ve ark., 2007; Chiou ve ark., 2007). Böylece sindirim sisteminde parçalandıktan sonra emilebilmektedir. İnsan vücuduna alınan oleuropeinin vücutta tamamen hidroksitirozole ve diğer alt ürünlere metabolize olduğu, insan plazmasında ve dışkıında bulunmadığı bilinmektedir. Hidroksitirozolun insan vücudunda hızlı emildiği, aynı zamanda da hızla vücuttan atıldığı ve doğal bileşen olarak bulunduğu gıdaların alımı ile biyoyararlılığının daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Bai ve ark., 1998; Tuck ve ark., 2001; Visioli ve ark., 2003; Christian ve ark., 2004).

Zeytin yaprağı Oleuropeinin doğada bilinen en önemli kaynağıdır. Oleuropeinden hidrokstirozol eldesi için öncelikle oleuropeinin zeytin yaprağından ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, çözgen olarak metanol-su karışımı ve hegzan kullanılarak zeytin yaprağından fenolik maddelerin ekstraksiyonu yapılmıştır (Savournin ve ark., 2001; Guinda ve ark., 2002). Ancak zeytin yaprağı ekstraktlarının kullanım alanları düşünülünce, metanol ve hegzan gibi toksik maddelerle ekstraksiyon ciddi sorun yaratmakta, işlem süresinin uzunluğu ise hem fenolik maddelerde kimyasal dönüşümlere neden olmakta hem de endüstriyel üretim düşünülünce yüksek maliyetlere sebep olmaktadır. Bu nedenle ilk olarak, etanol-su karışımını çözgen olarak kullanmış, dinamik ultrason kullanılarak ekstrakt elde edilmiş ve daha sonra yine etanol-su karışımı kullanılmış mikrodalga desteğiyle ekstrakt elde edilmiş ve son olarak da etanol-su karışımı ve süper kritik sıvı ekstraksiyonuyla zeytin yaprağından ekstrakt elde edilmiştir (Japon-Lujan ve ark., 2006a).

Basit fenoller, asitler ve diğer bileşikler

Hidroksitirozol ve Glikozitler

Tirosol ve Glikozitler

Benzoik asitler:

Gallik, vanilik, sirinik, salisilik,
hidroksibenzoik, protokateşik, vanilin

Sinamik asitler:

Sinamik, kafeik, kumarik,
ferulik, klorojenik asitler
Homovanilik asit

Diğer bileşikler 1

Elenolik asit ve türevleri
Verbaskozit

Sekoiridoidler

Dimetiloleuropein

3,4-DHPEA-EDA(3,4
dihidroksifeniletıl4-formil-3-
formiletıl4-hekzonat)

Oleosid

Oleuropein

Oleuropein Aglikon

Oleurosit

Ligrosit

Ligrosit aglikon

Flavonoidler

Apigenin
Apigenin 7-O-glukozit
Apigenin 4-O-rutinozit
Apigenin 7-O-rutinozit
Hesperidin
Luteolin
Luteolin 4'-O-glukozit
Luteolin 7-O-glikozit
Luteolin 7-O-rutinozit
Kuersetin, Kuersitrin
Rutin

Diğer biyoaktif bileşikler

Amyrin
 β -karoten
Eritrodiol
Maslinik asit
Oleanolik asit
 β -sitosterol
Sgualen
Stigmasterol
Tokoferol
Ursolik asit
Uvaol

Mourtzinios ve arkadaşları (2007), oleuropeince zengin zeytin yaprağı ekstraktını β -siklodekstrin ile enkapsüle etmiştir. Bu amaçla sulu ortamda bileşenler karıştırılmış ve sonrasında dondurularak kurutulmuştur. Elde edilen üründe oleuropeinin sıcaklığa ve oksidasyona direncinin arttırıldığı ve sudaki çözünürlüğünün oldukça iyi olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, enkapsüle ürünün kolaylıkla gıda katkısı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Somova ve arkadaşları (2003), farklı ülkelerde yetiştirilen zeytin yapraklarında yaptıkları çalışmada zeytin yapraklarının triterpenoidlerce zengin olduğunu belirlemişlerdir. Yunan zeytin yapraklarının % 0.71, Cape Town zeytin yapraklarının ise % 2.47 oranında olenolik asit içerdiğini bulmuşlardır. Zeytinin yetiştirildiği farklı bölgelerden elde edilen yaprak ekstraktlarının bileşim ve içerik açısından farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

Sato ve arkadaşları (2007), zeytin yaprağında bulunan olenolik asit gibi bazı bileşenlerin kan şekeri seviyesine olan etkisini araştırmışlardır. Oleanolik asit, yüksek yağ içeren bir diyetle beslenen farelerin serum glikozunu ve insülin seviyesini düşürmüş ve glikoz toleransını arttırmıştır. Buna göre araştırmacılar, zeytin yapraklarında bulunan hem oleuropein hem de oleonolik asidin kan şekeri üzerinde etkili olduğunu ve metabolik bozuklukları düzenlemede potansiyel etkinin arttığını bulmuşlardır.

Ekstraksiyon öncesinde zeytin yapraklarının nemini ve suyun prosesteki olumsuz etkilerini azaltmak için kurutulması gerekmektedir (Boudhirioua ve ark., 2009). Yaprakların hasat sonrası derhal kurutulması, kalite kayıplarının ve mikrobiyolojik veya biyokimyasal reaksiyonlar nedeniyle muhtemel parçalanma reaksiyonlarını önlemek açısından çok önemlidir (Bahloul ve ark., 2009). Bahloul ve arkadaşları (2009), terapatik ve antioksidan özellikleri ile bilinen zeytin yapraklarının kuruma zamanı, renk, toplam fenol ve serbest radikal tutma kapasitesi gibi kalite parametreleri üzerine kuruma koşullarının (40, 50 ve 60 °C sıcaklık, 1.62-3.3 m³ hava akımı) etkisini incelemişlerdir. Zeytin yapraklarını toplam fenol içeriğinin kuruma koşullarından etkilendiğini ve kuruma zamanına bağlı olarak bu miktarın düşme eğilimi gösterdiği bulunmuştur.

Boudhirioua ve arkadaşları (2009), 4 farklı taze zeytin yaprağının (Chemlali, Chemchali, Zarrazi, Chetoui) renk, toplam fenol bileşenleri ve kimyasal bileşimlerini (nem, protein , yağ, karbonhidrat, ve kül) belirlemişlerdir. Taze yaprakları daha sonra farklı sıcaklıklarda infrared kurutmaya tabii tutmuşlardır ve aynı parametreleri kuru örneklerde de belirlemişlerdir. Araştırmacılar zeytin yaprağının gıda ve kozmetik endüstrisinde kullanılmadan önce rengini koruması ve yüksek biyolojik değerini muhafaza edebilmesi için infrared kurutmanın etkili bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir.

2. MATERİYAL VE METHOD

2.1 MATERİYAL

Araştırmada materyal olarak; Edremit'te yetiştirilmekte olan Ayvalık cinsine ait zeytin, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprakları kullanılmıştır. Araştırmada Oleuropein standardı olarak Sigma Aldirch marka % 99,8 saflıktaki Oleuropein kullanılmıştır. Çözücü olarak kullanılan %78'lik Metanol ve su ile beraber mobil faz olarak kullanılan Asetonitril Merck firmasından tedarik edilmiştir.

2.2 YÖNTEM

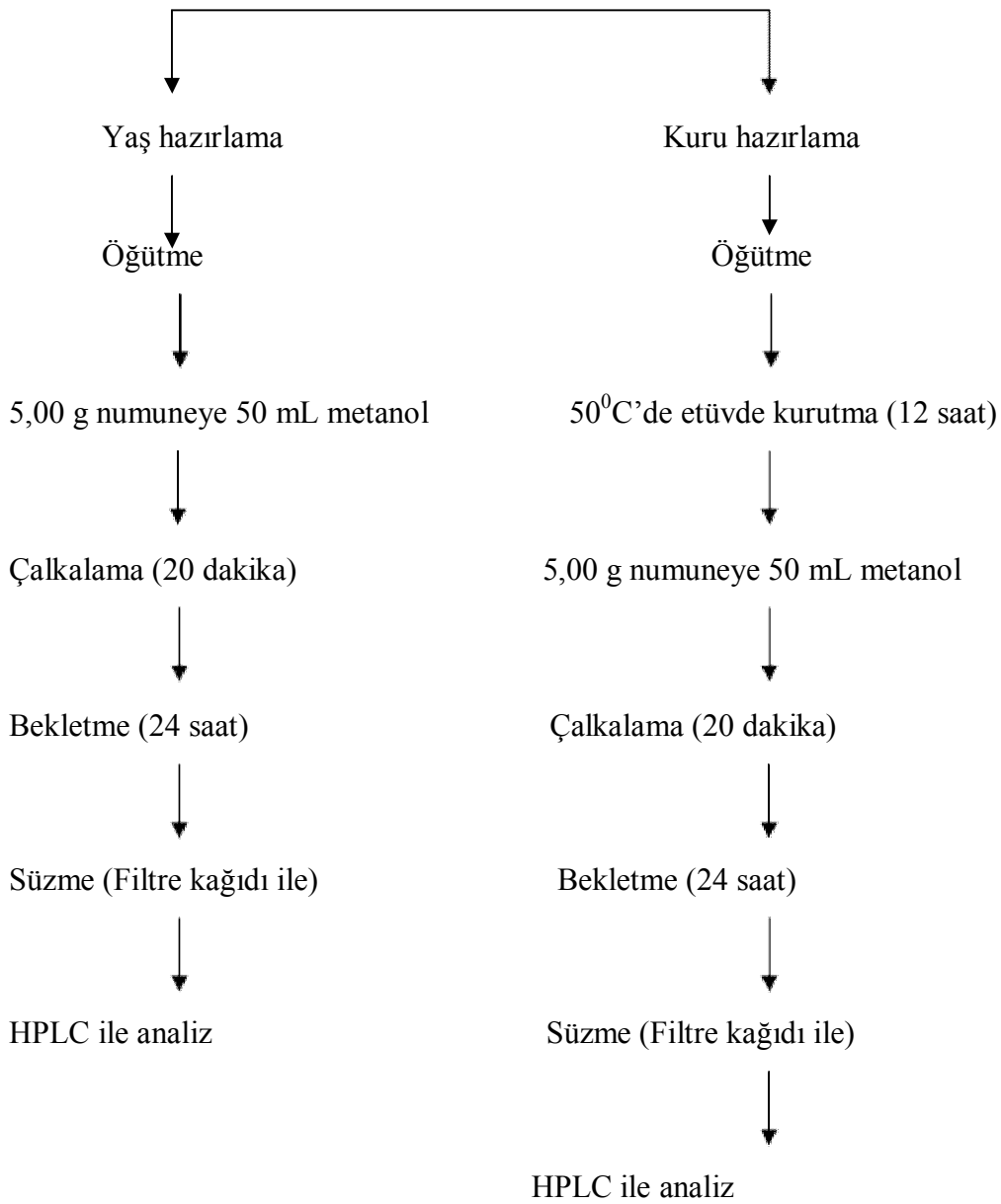
Zeytin ve zeytin yaprakları, Ayvalık cinsi zeytin çeşitlerinden Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında 4 derim olarak toplanmıştır. Ağacın her tarafından olacak şekilde elle toplanan örnekler, zeytin, zeytin eti, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprakları olarak ayrılmıştır. Tüm örnekler yaş ve kuru olarak alınan dört paralel numune halinde ekstrakte edilip her dönem için ayrı analiz edilmiştir.

2.2.1 Zeytin eti, Zeytin Çekirdeği ve Zeytin Yaprığından Ekstrakt Eldesi

Zeytin, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprağından fenolik ekstraktların eldesi metanol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen zeytinden et ve çekirdek kısımları ayrılarak et ve çekirdek örnekleri ile toplanan zeytin yaprakları zaman kaybetmeden yaş olarak öğütücüde öğütülmüş, her örnekten 5,00 g alınmıştır. 5,00 g numune (50 mL 10:1 v/v olacak şekilde) % 78'lik metil alkol ile karıştırılmış, karışım 20 dakika boyunca dairesel çalkalayıcıda çalkalanıp ağzı kapalı şekilde 24 saat bekletildikten sonra kaba filtre kağıdı ile süzümüştür.

Her hasat döneminde toplanan numuneler yaş olarak hazırlanmasının yanında kuru olarak da hazırlanmıştır. Hasat edilen zeytinlerin et ve çekirdek kısımları ayrılarak zaman kaybetmeden 50⁰C'lik etüve yerleştirilmiş ve 12 saat boyunca kurutulmuştur. Tamamen kurutulmuş örnekler kısa süre sonra öğütücüden geçirildikten sonra toz halindeki kuru numunelerden 5,00 g alınıp 50 mL metanol eklenmiş, karışım 20 dakika dairesel çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Her karışım ağzı kapalı şekilde 24 saat bekletildikten sonra kaba filtre kağıdı ile süzölmüştür.

Zeytin örneklerinin toplanması



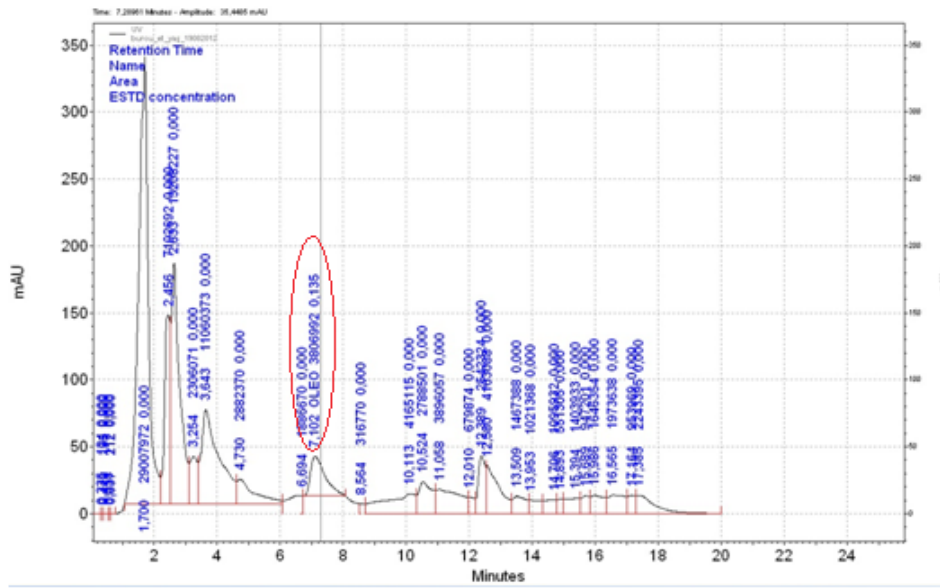
2.2.2 Zeytin, Zeytin Çekirdeği ve Zeytin Yapradıındaki Oleuropein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Zeytin, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprağı ekstraktlarının Oleuropein bileşiminin konsantrasyonları HPLC cihazı kullanılarak kromatografik yöntemle belirlenmiştir. Zeytin, zeytin çekirdeği ve zeytin yaprağının yaş ve kuru olarak hazırlandığı ekstraktlarındaki Oleuropein konsantrasyonları Agilent Technologies EZChrom Elite Version 3.2.1 marka HPLC cihazı ile C-18 silikajel kolon kullanılarak UV dedektör ile 240 nm'de gerçekleştirilmiştir. Deneyde mobil faz olarak asetonitril ve su kullanılmıştır. Sonuçlar mg/mL olarak ifade edilmiştir.

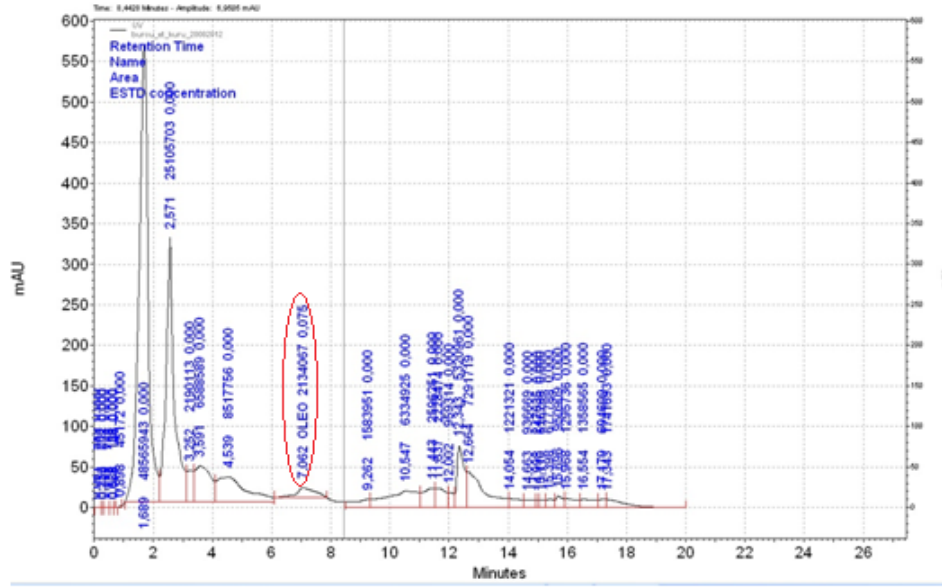
Zeytin eti, Zeytin çekirdeği ve Zeytin yaprağının 4 farklı derim zamanında her örnek için 4'er kez tekrarlanan deneylerde ortaya çıkan Oleuropein miktarlarının ortalama değerleri Tablo 2.1'de verilmiştir. 1. Derim Eylül ayında toplanan ürünü, 2. Derim Ekim ayında toplanan ürünü, 3. Derim Kasım ayında toplanan ürünü, 4. Derim Aralık ayında toplanan ürünü ifade etmektedir. Çalışmalara Eylül ayındaki ham zeytin ile başlanmış Aralık ayında olgun siyah zeytin dönemi ile sonlandırılmıştır.

3. BULGULAR

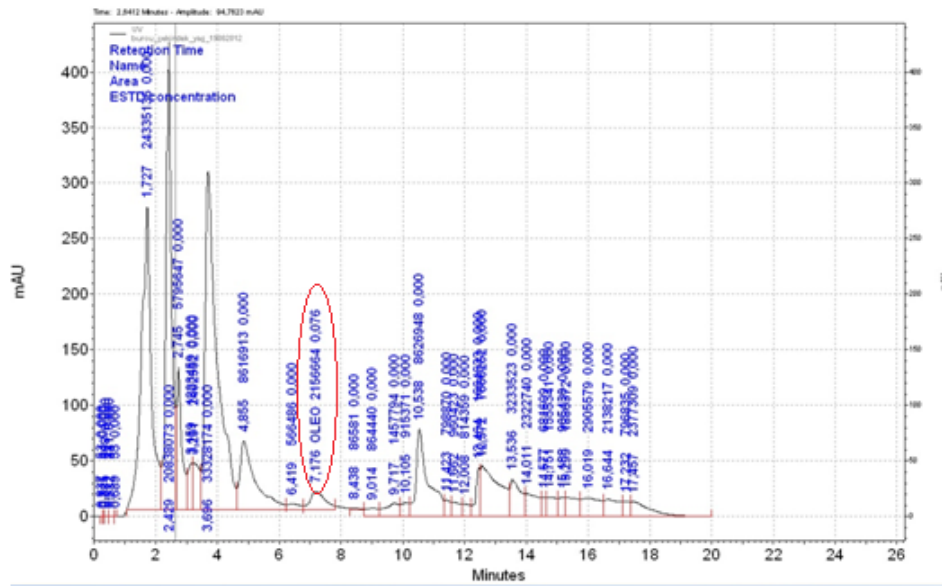
Yapılan çalışmada, farklı derim zamanlarında Ayvalık cinsi zeytin ağacından toplanan zeytinlerin eti, çekirdeği ve yaprakları alınarak elde edilen ekstraktların Oleuropein konsantrasyonları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar numuneler arasında ve benzer türler arasında derim zamanlarına göre karşılaştırılmıştır.



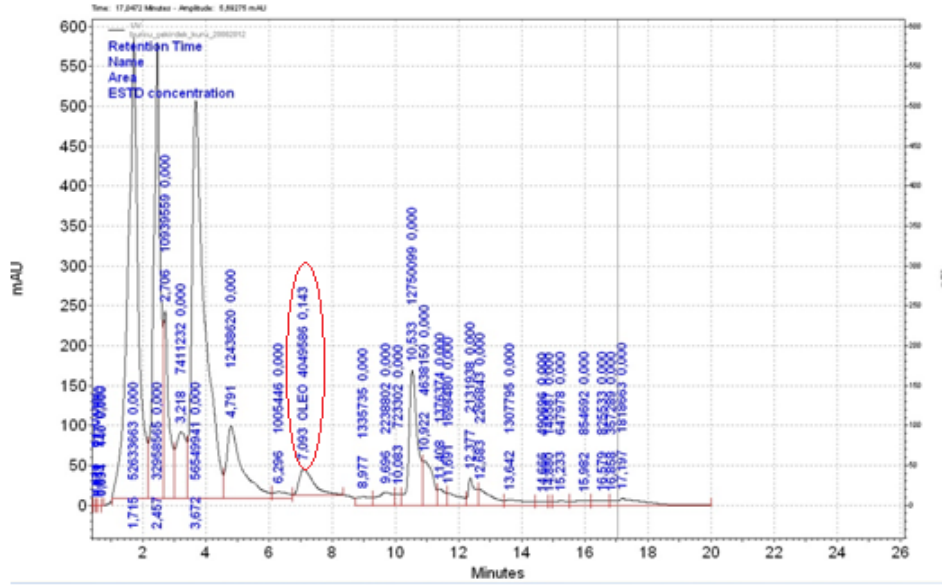
Şekil 3.1: 1. Derim Zeytin Eti yağ analiz kromatogramı



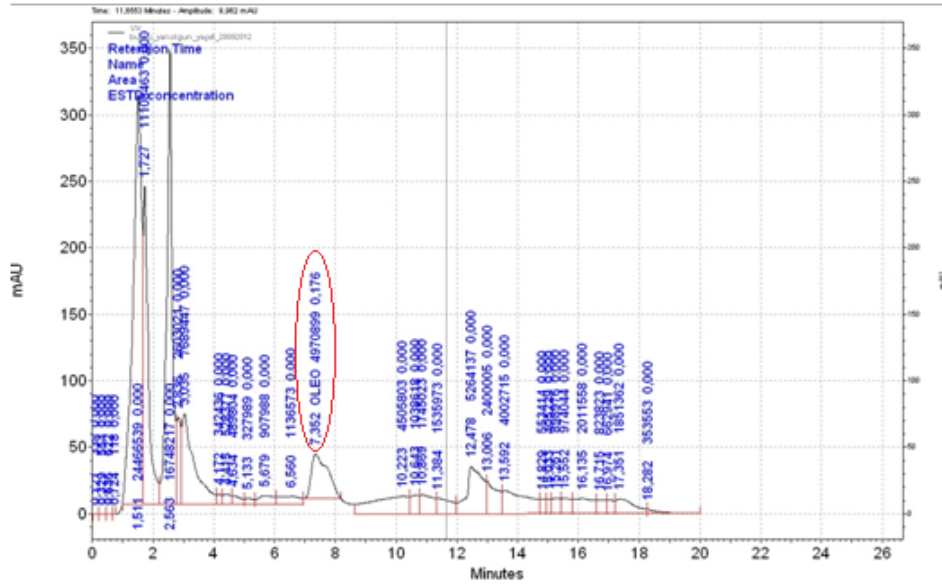
Şekil 3.2: 1. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı



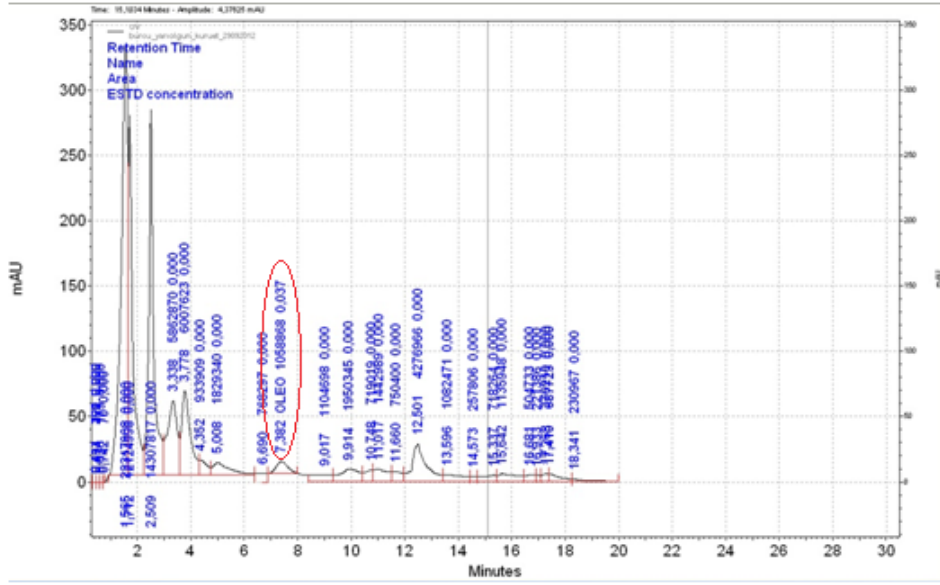
Şekil 3.3: 1. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı



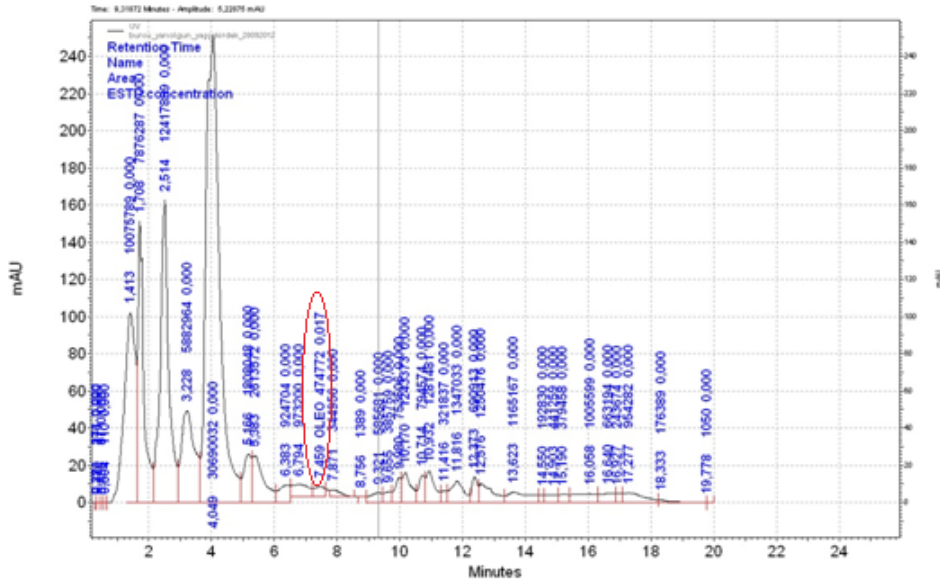
Şekil 3.4: 1. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı



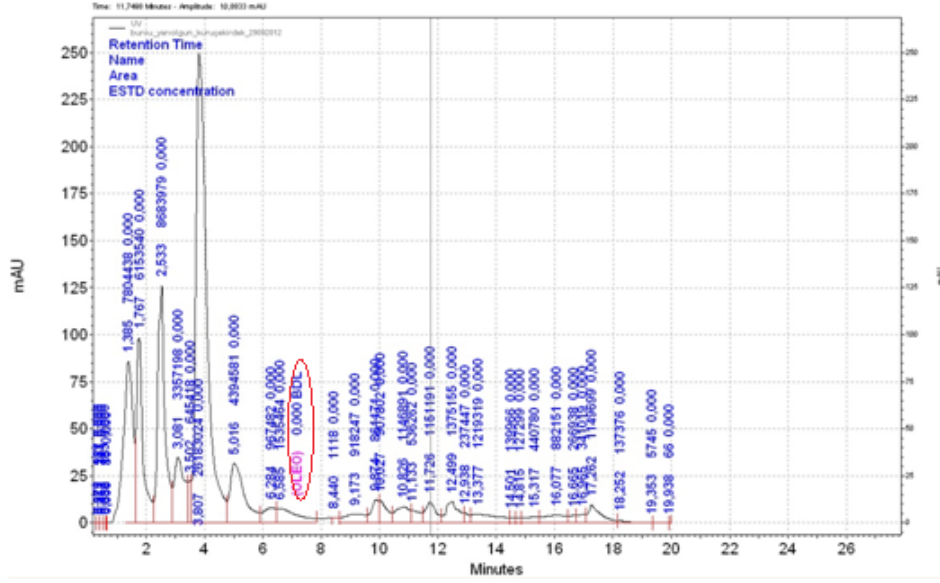
Şekil 3.5: 2. Derim Zeytin Eti yağ analiz kromatogramı



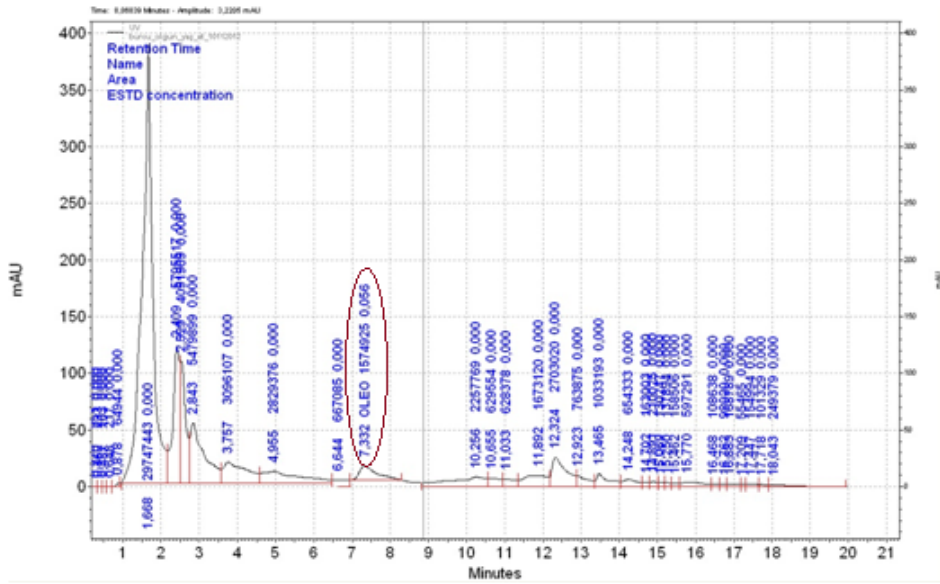
Şekil 3.6: 2. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı



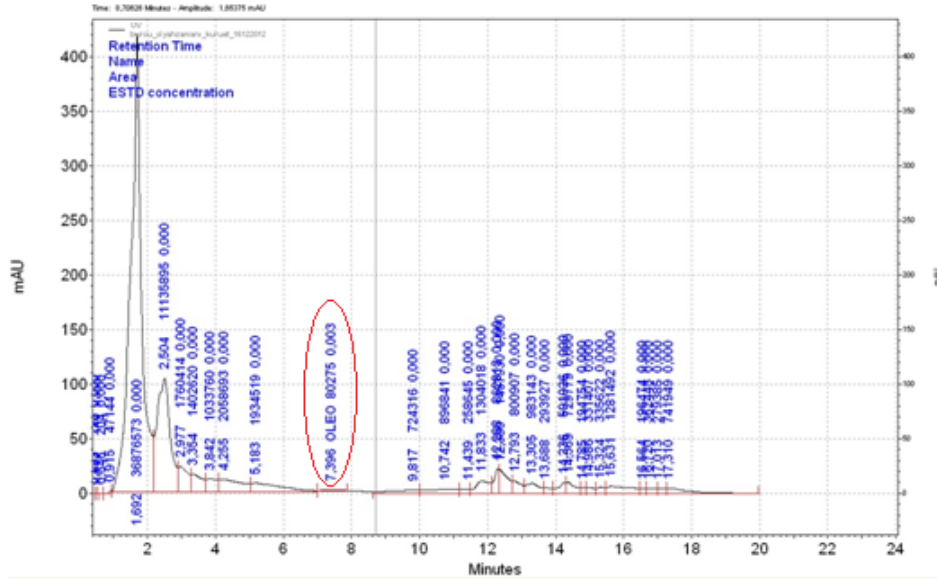
Şekil 3.7: 2. Derim Zeytin Çekirdeği yaş analiz kromatogramı



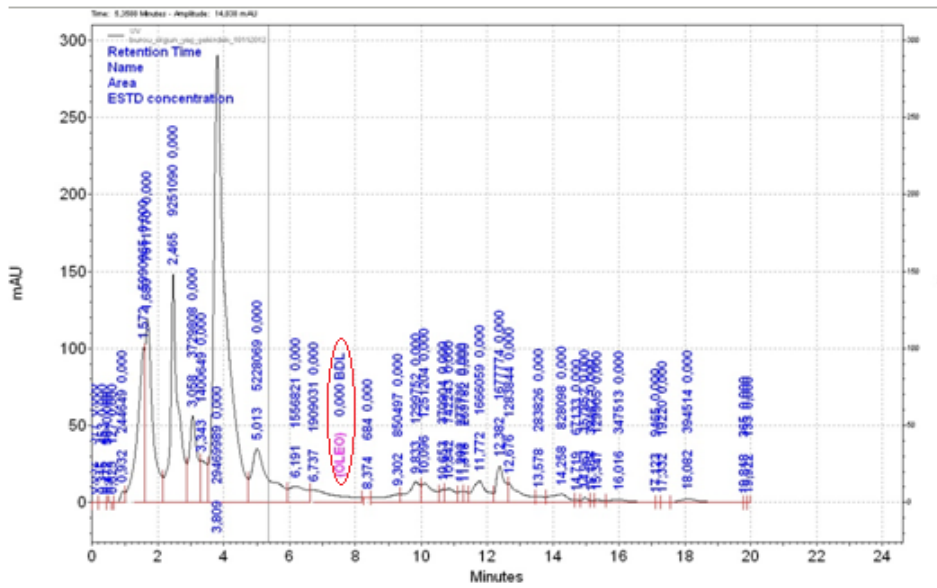
Şekil 3.8: 2. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı



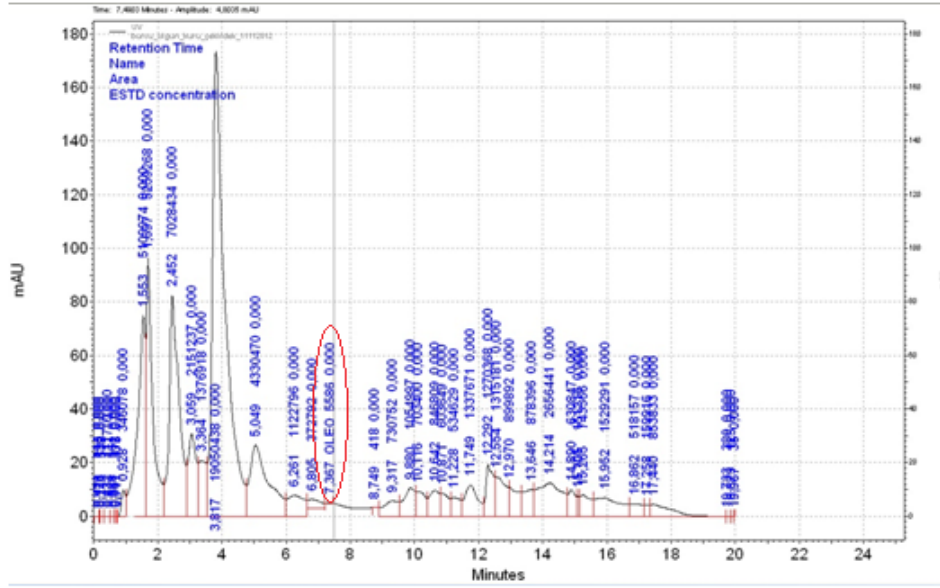
Şekil 3.9: 3. Derim Zeytin Eti yağ analiz kromatogramı



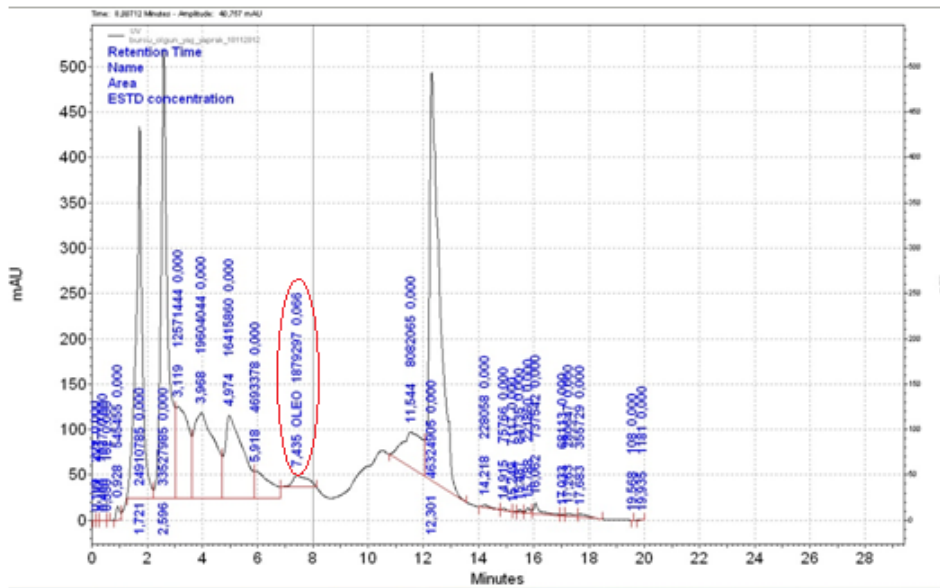
Şekil 3.10: 3. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı



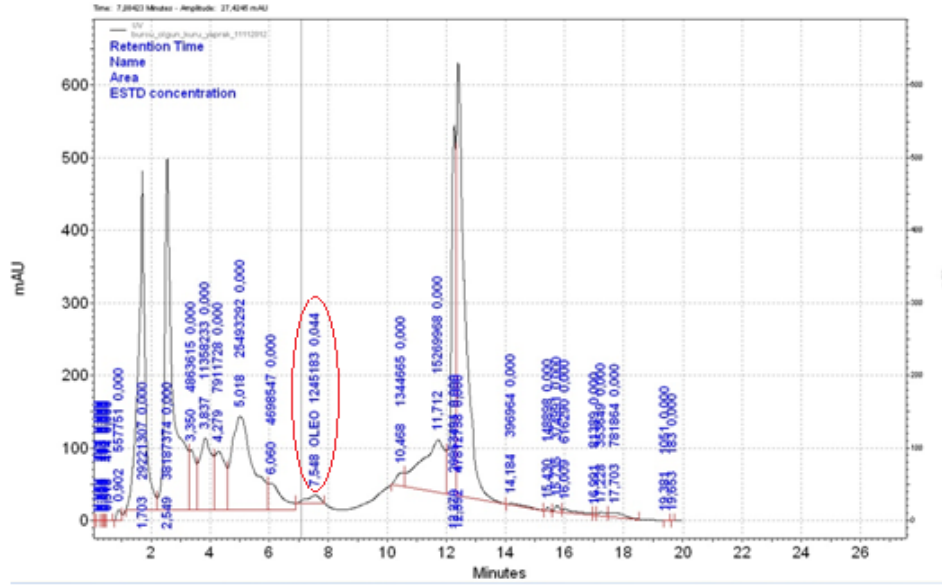
Şekil 3.11: 3. Derim Zeytin Çekirdeği yağ analiz kromatogramı



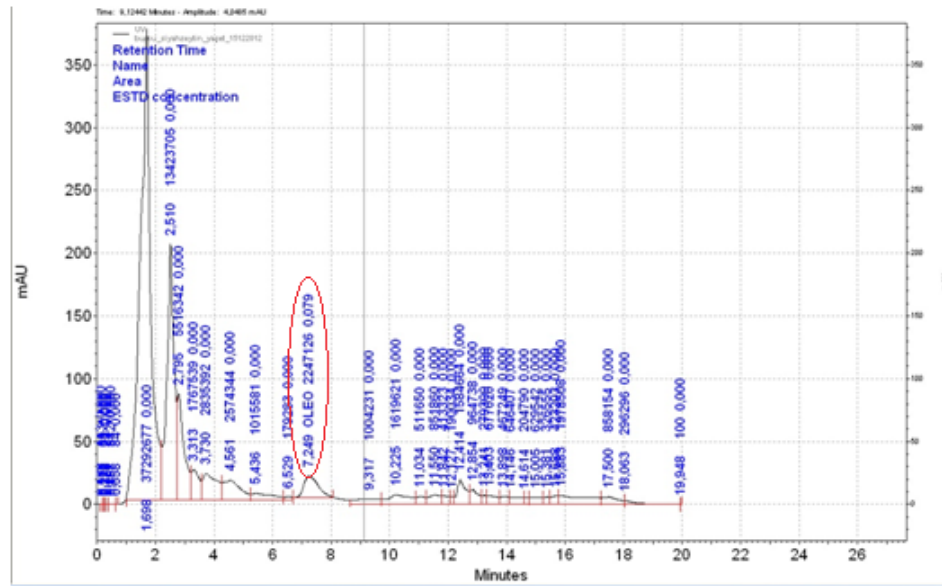
Şekil 3.12: 3. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı



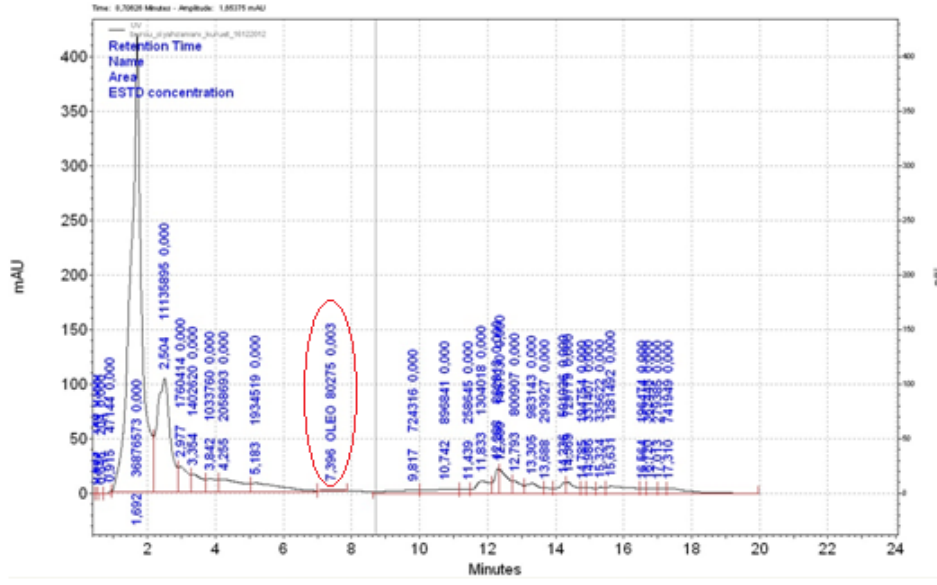
Şekil 3.13: 3. Derim Zeytin Yaprığı yaş analiz kromatogramı



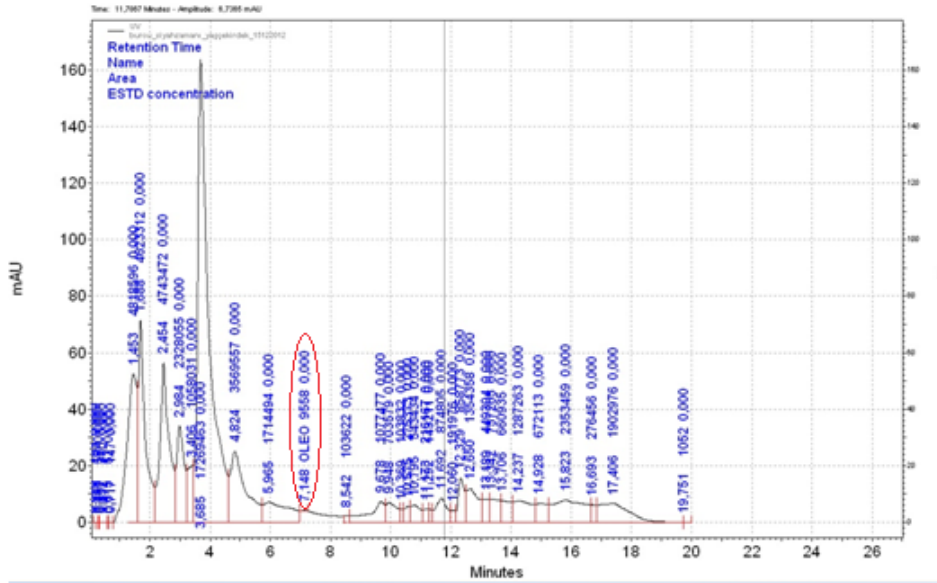
Şekil 3.14: 3. Derim Zeytin Yaprağı kuru analiz kromatogramı



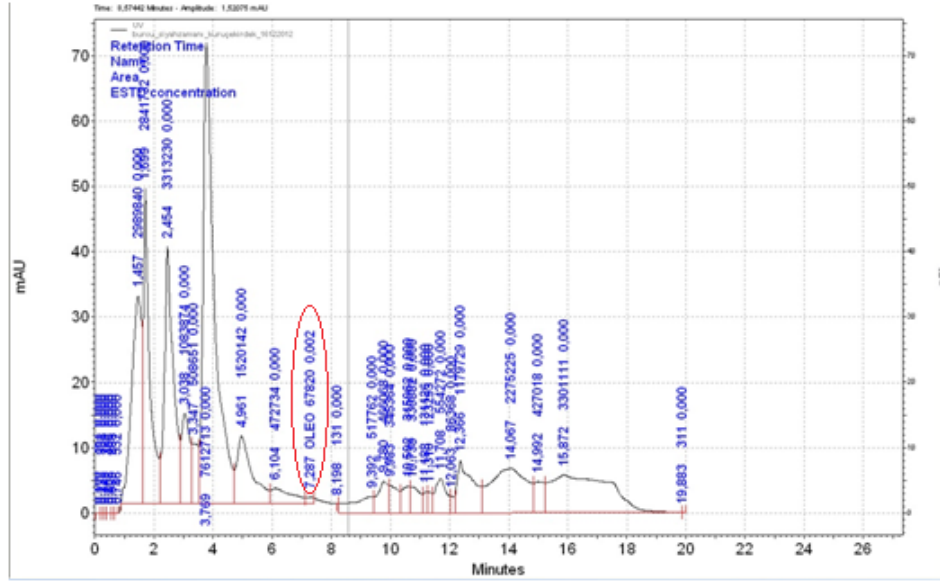
Şekil 3.15: 4. Derim Zeytin Eti yağ analiz kromatogramı



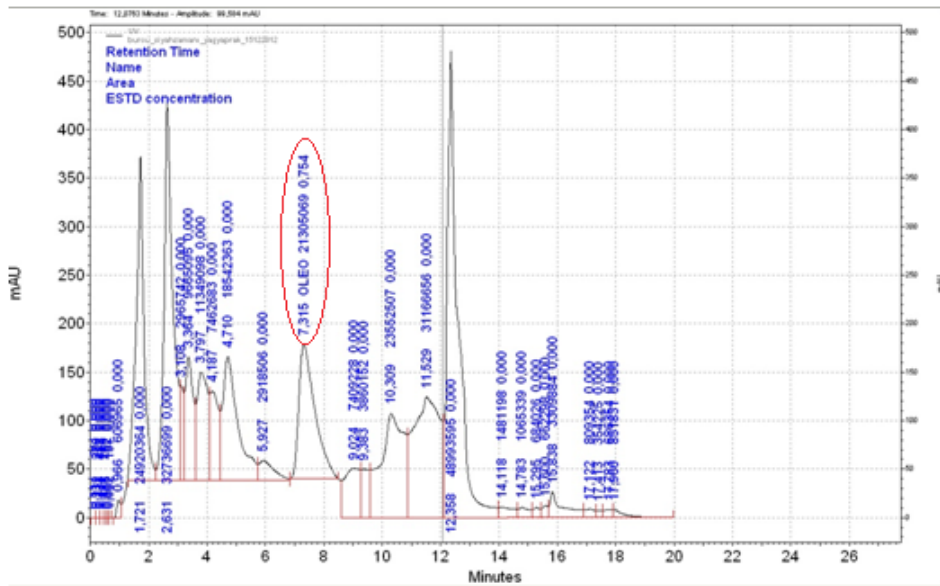
Şekil 3.16: 4. Derim Zeytin Eti kuru analiz kromatogramı



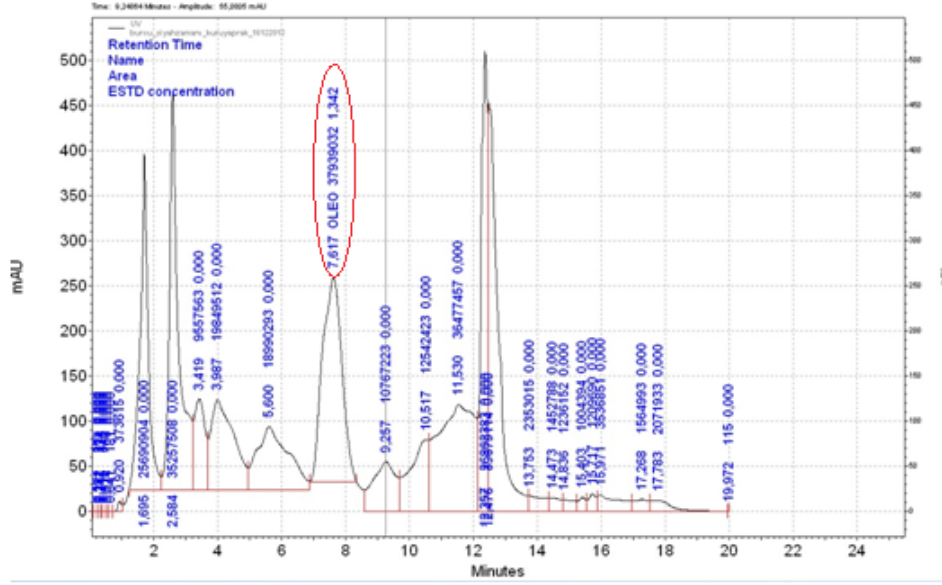
Şekil 3.17: 4. Derim Zeytin Çekirdeği yaşı analiz kromatogramı



Şekil 3.18: 4. Derim Zeytin Çekirdeği kuru analiz kromatogramı

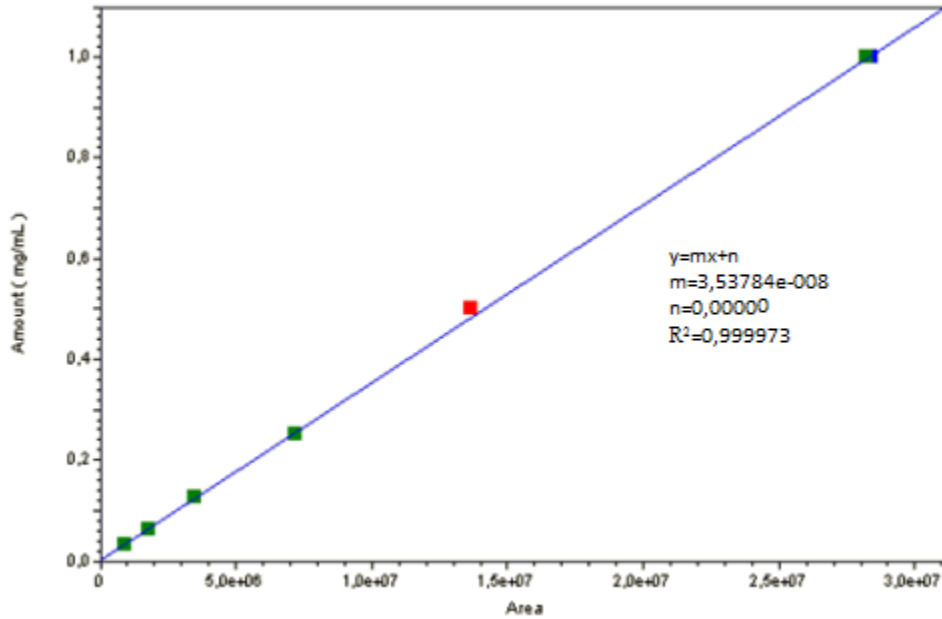


Şekil 3.19: 4. Derim Zeytin Yaprığı yaş analiz kromatogramı



Şekil 3.20: 4. Derim Zeytin Yaprağı kuru analiz kromatogramı

Oleuropein standart çözeltileri 0,03125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,250 mg/mL, 0,500 mg/mL, 1.00 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanmış, standart çözeltilerden 5 µL alınıp HPLC ile ölçümler gerçekleştirilerek standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.



Şekil 3.21: Oleuropein standart kalibrasyon eğrisi

Tablo 3.1: Farklı derim zamanlarındaki Oleuropein miktarlarının standart sapmaları ile beraber ortalama değerleri

Ortalama Oleuropein Miktarları (mg/mL)				
	1. Derim	2. Derim	3. Derim	4. Derim
<u>Zeytin Eti</u>				
Yaş	0,203±0,116	0,131±0,056	0,057±0,001	0,080±0,005
Kuru	0,122±0,104	0,038±0,007	0,030±0,030	0,003±0,000
<u>Zeytin Çekirdeği</u>				
Yaş	0,075±0,015	0,010±0,008	0,000±0,000	0,001±0,002
Kuru	0,143±0,001	0,000±0,000	0,000±0,000	0,003±0,002
<u>Zeytin Yaprağı</u>				
Yaş			0,063±0,017	0,745±0,031
Kuru			0,043±0,007	1,365±0,066

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Derim sezonunda toplanmış ham yeşil zeytin örneklerinin et kısımlarında yapılan yağ analiz sonuçlarından elde edilen Oleuropein miktarının kuru analize göre yükseliş gösterdiği gözlenirken, aynı dönemdeki zeytin çekirdeği analizlerinde yağ analiz sonucu ortaya çıkan Oleuropein miktarı kuru analizde çıkan sonuçtan daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

2. Derim sezonunda zeytin eti ve zeytin çekirdeğinin kuru örneklerinde Oleuropein miktarında yağ örneklerine göre düşüş gözlenmesinin yanında zeytin çekirdeği kuru numunesinde Oleuropein tespit edilmemiştir.

3. Derim döneminde zeytin eti ve zeytin yapraklarının kuru örneklerindeki Oleuropein miktarlarının yağ hazırlanan örneklerle göre daha yüksek olduğu gözlenirken, zeytin çekirdeklerinde Oleuropein tespit edilmemiştir.

Kuru örneklerin analiz sonuçlarındaki Oleuropein miktarının yağ örnek sonuçlarına göre yüksek olmasının sebebinin kurutma işlemi ile üründeki su miktarı azaldığından madde miktarının değişmesiyle derişimin artması olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Zeytin eti ve çekirdeğinde olgunluk arttıkça yağlanma oranı da arttığından Oleuropein miktarında düşüş gözleendiği düşünülmektedir.

4. Derim sezonunda toplanan zeytin yapraklarının kuru analiz sonuçlarının deneyler sırasında tespit edilen en yüksek konsantrasyona sahip olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlara göre Oleuropein bileşğinden en yüksek konsantrasyonun, zeytin yapraklarının Aralık ayında, zeytin siyah döneme geçiş yaptığıında toplanması ve saklanması açısından kurutulmasının gerekli olabileceği neticesine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

Al-Azzawie H.F., Alhamdani M.S., (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci*, 78(12), 1371-7.

Aziz N.H., Farag S.E., Mousa L.A., Abo-Zaid M.A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios* 93, 43-54.

Bahloul, N., Nourhene, B., Kouhila, M., Kechau, N. (2009). Effect of Convective Solar Drying On Colour, Total Phenols and Radical Scavenging Activity of Olive Leaves (*Olea Europaea L.*). *International Journal of Food Science and Techonology*, 44, 2561-2567.

Bai, C., Yan, X., Takenkay, M., Sekiya, S., Nagata, T. (1998). Determination of Synthetic Hydroxytyrosol in Rat Plasma by GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3998-4001.

Bao, J., D.W. Zhang, J.Z., Zhang, P.L. Huang and S. Lee-Huang. (2007). Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *F.E.B.S. Lett.*, 581, 2737–2742.

Bianco, A., Uccella, N. (2000). Biophenoic Components of Olives. *Food Research International*, 33, 475-485.

Bisignano, G., Tomaino, A., R. Lo Cascio, G. Crisafi, N. Uccella, and A. Saija. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J. Pharm. Pharmacol*, 51, 971-974.

Bouaziz, M., Feki, I., Ayadi, M., Jemai, H., Sayadi, S. (2008). Effect of Storage on Refined and Husk Olive Oils Composition: Stabilization by Addition of Natural Antioxdants from Chemlali Olive Leaves. *Food Chemistry*, 108, 253-262.

Bouaziz, M., Feki, I., Ayadi, M., Jemai, H., Sayadi, S. (2010). Stability of Refined Olive Oil and Olive-Pomace Oil Added by Phenolic Compounds From Olive Leaves. *Eur.J.Lipid Sci. Technol*, 112, 894-905.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, B.I., Kechaou, N. (2009). Comparison on The Total Phenol Contents and The Color of Fresh and Infrared Dried Olive Leaves. *Industrial Crops and Products*, 29, 412-419.

Brenes, M. and A. DeCastro. (1998). Transformation of Oleuropein and Its Hydrolysis Products During Spanish-style Green Olive Processing. *J. Sci. Food Agric.*, 77:353–358.

Brenes, M., L. Rejano, P. Garcia, A.H. Sánchez and A. Garrido. (1995). Biochemical changes in phenolic compounds during Spanish-style green olive processing. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2702–2706

Carluccio, M.A., Siculella, L., Ancora, M.A., Massaro, M., Scoditti, E., Storelli, C., et al. (2003). Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 622–629.

Chiou,A., Salta, F.N., Kalegeropoulos, N., Mylona, A., Ntalla, I., Andrikopoulos, N.K. (2007). Retention and Distrubution of Polyphenols After Pan-Frying of French Fries in Oils Enriched with Olive Leaf Extract. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 72, 574-584.

Christian, M., Sharper, V., Hoberman, A., Seng, J., Fu, L., Covell, D., et al. (2004). The Toxicity Profile of Hydrolyzed Aqueous Olive Pulp Extract. *Drug and Chemical Toxicology*, 27, 309-330.

De la Puerta, R., Gutierrez, V.R., Hoult, J.R.S. (1999). Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil - a possible mechanism for regulation of lipoxygenase activity. *Biochemical Pharmacology*, 57(4), 445-9.

Efe, R., Soykan, A., Cüberal, İ. ve Sönmez, S. (2011). *Dünyada, Türkiye’de, Edremit Körfezi Çevresinde Zeytin ve Zeytinyağı*. Balıkesir: Edremit Belediyesi Kültür Yayınları

Erbay, Z., İçier, F. (2008). Zeytin Ağacından Faydalanmanın Yeni Bir Yolu Olarak Zeytin Yaprağı ve Gıda Endüstrisindeki Potansiyel Uygulama Alanları. *Akademik Gıda*, 6(3), 27-36.

FAO. (2013). Compare Data Production [online]. (14 Ocak 2014), <http://faostat3.fao.org/compare/E>

Ferreire, I.C.F.R., Barros, L., Soares, M.E., Bastos, M.L., Pereira, J.A. (2007). Antioxidant Activity and Phenolic Contents of *Olea europaea* L. Leaves Sprayed with Different Copper Formulations. *Food Chemistry*, 103, 188-195.

Fleming, H.P., W.M.J.R. Walter and Etchells J.L. (1973). Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives. *Appl. Micro.*, 26(5), 777–782.

Fredrickson, W.R. (2000). Method and composition for antiviral threrapy with olive leaves. *U.S. patent.*, 6(117), 844.

Furneri, P.M., A. Marino, A. Saija, N. Uccella and G. Bisignano. (2002). In vitro antimycoplasmal activity of Oleuropein. *Int. J. Antimicrob. Age.*, 20, 293-296.

Gikas, E., F.N. Bazoti and A. Tsarbopoulos. (2007). Conformation of Oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europea*. *J. Mol. Struct. Theochem.*, 821, 125-132.

Gikas, E., Fotini, N., Bazoti, F.N., Tsarbopoulos, A. (2007). Conformation of Oleuropein, the Major Bioactive Compund of *Olea Europaea*. *Journal of Molecular Structure*, 821, 125-132.

Goulas, V., Exarchou, V., Troganis, AN., Psomiadou, E., Fotsis T., et al. (2009). Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Mol Nutr Food Res*, 53(5), 600-8.

Guinda, A., Lanzon, A., Rios, J.J., Albi, T. (2002). The Isolation and Quantification of The Components from Olive Leaf: Hexane Extract. *Grasas y Acetias*, 53, 419-422.

Guinda, T.A., Camino, C.P, Lanzon, A. (2004). Supplementation of Oils With Oleanolic Acid From The Olive Leaf (*Olea Europaea*). *European Journal of Lipid Science Technology*, 106, 22-26.

Hamdi, K., Castellon, R. (2005). Oleuropein, a Non-toxic Olive Irodoide, is an Anti-tumor Agent and Cytoskeleton Disruptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 334, 769-778.

Han, J., Talorete, TP., Yamada, P., Isoda, H. (2009). Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology*, 59(1), 45-53.

Japon-Lujan, R., Luque-Rodriguez, J.M., Luque De Castro, M.D. (2006). Dynamic Ultrasound-Assisted Extraction of Oleuropein and Related Biophenols from Olive Leaves. *Journal of Chromatography A*, 1108, 76-82.

Jemai, H., EL Feki, A., Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and Antioxidant Effect of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8798-8804.

Juven, B. and Y. Henis. (1970). Studies on antimicrobial activity of olive phenolic compounds. *J. Appl. Bact.*, 33, 721-32.

Juven, B., Y. Henis, and B. Jacoby. (1972). Studies of the antimicrobial action of Oleuropein. *J. Appl. Bact*, 35, 559-567.

Keçeli, T., ve Gordon, M. H. (2002). Ferric ions Reduce the Antioxidant Activity of the Phenolic Fraction of Virgin Olive Oil. *J. Food Sci.*, 67(3), 943-947.

Kristakis, A. K. (1998).. Olive Oil. From Tree to the Table. 2nd Edition. *Food & Nutrition Pres., Inc.*, 347.

Lee, O.H. and B.Y. Lee. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresour. Technol.*, 101(10), 3751-3754.

Lee-Huang, S., L. Zhang, P.L. Huang, Y.T. Chang and P.L. Huang. (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 307(4), 1029-1037.

Lee-Huang, S., P.L. Huang, D. Zhang, J.W. Lee, J. Bao, Y. Sun. Et al. (2007a). Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol: Part I. fusion [corrected] inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 354(4), 872-878.

Lee-Huang, S., P.L. Huang, D. Zhang, J.W. Lee, J. Bao, Y. Sun. Et al. (2007b). Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol. Part II. Integrase inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 354, 879–884.

Malik, N.S.A., Bradford, J.M. (2006). Changes in Oleuropein Levels During Differentiation and Development of Floral Buds in ‘Arbequina’ Olives. *Scientia Horticultureae*, 110, 274-278.

Markin, D., Duek, L., Berdicevsky, I. (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses.*, 46(3-4), 132-6.

Marsillo, V. and B. Lanza. (1998). Characterisation of an Oleuropein degrading strain of *Lactobacillus plantarum*. Combined effects of compounds present in olive fermenting brines (phenols, glucose and NaCl) on bacterial activity. *J. Sci. Food Agric.*, 76, 520-524.

Menendez JA, Vazquez-Martin A, Colomer R, Brunet J, Carrasco-Pancorbo A, Garcia-Villalba R, Fernandez-Gutierrez A, Segura-Carretero A. (2007). Olive oil's bitter principle reverses acquired autoresistance to trastuzumab (Herceptin) in HER2-overexpressing breast cancer cells. *BMC Cancer*, 9, 7-80.

Micol, 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 rhabdovirus (VHSV). *Antivir. Res.*, 66:129–136.

Mourtzinou, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A., Karathanos, V.T. (2007). Encapsulation of Olive Leaf Extract in β -Cyclodextrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 8088-8094.

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.

Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2000). Phenolic Compounds and Squalene in Olive Oils: The Concentration and Antioxidant Potential of Total Phenols, Simple Phenols, Secoiridoids, Lignans and Squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38(2000), 647–659.

Öksüz, E. (1998). Ülkemizde Zeytin Hasat Mekanizasyon Düzeyi, Hasat Edilebilirlik Kriterleri ve Maliyetinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tarım Makineleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Panizzi, L., M.L. Scarpati and G. Oriente. (1960). Chemical structure of oleuropein, bitter glucoside of olive with hypotensive activity. *Gazz. Chim. Ital.*, 90, 1449-1485.

Pereira, A.P., I.C.R.F. Ferreira, F. Marcelino, F. Valentao, P.B. Andrade, R. Et al. (2007). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecule*, 12(5), 1153-1162.

Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Febo, M.D., Marchegiani, D., Fonzo V.D. (2006). Factors Affecting The Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.). *J.Agric. Food Chem.*, 54:434-440.

Renis, H. (1975). Inactivation of myxoviruses by calcium elenolate. *Antimicrob. Agent and Chemother Aug.*, 8(2), 194-199.

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.

Sato, H., Genet, C, Strehle, A. (2007). Anti-Hyperglycemic Activity of a TGR5 Agonist Isolated from *Olea europaea*. *Biochemical and Biophysical*.

Savournin, C., Baghdikian, B., Elias, R., Dargourh-Kesraoui, F., Boukef, K., Balansard, G. (2001). Rapid High- Performance Liquid Chromatography Analysis for The Quantitative Determination of Oleuropein in *Olea europaea* Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 618-621.

Soler-Rivas, C., J.C. Espin and H.J. Wichers. (2000). Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1013-1023.

Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A. (2003). Antihypertensive, Antiatherosclerotic and Antioxidant Activity of Triterpenoids Isolated from *Olea europaea*, Subspecies *Africana* Leaves. *Journal of Ethenopharmacology*, 84, 299-305.

Sousa, A., I.C. Ferreira, R., Calhelha, P.B. Andrade, P. Valentao, R. Seabra, L. Et al. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 8533-8538.

Sudjana, A.N., C. D'Orazio, V. Ryan, N. Rasool, J. Ng, Islam, N. et al. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int. J. Antimic. Age.*, 33(5), 461-463.

Tarım Kütüphanesi [online]. (10 Ağustos 2014), http://www.tarimkutuphanesi.com/ZEYTIN_YETISTIRICILIGI_00466.html

Tassou, C.C. and G.J. Nychas. (1995). Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system. *Lett. Appl. Microbiol.*, 20, 120-124.

Taş, C. (2009) Domat Zeytini Polifenol Oksidaz Enziminin Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.

Tokuşoğlu, Ö. (2010). *Özel Meyve Zeytin: Kimyası, Kalite ve Teknolojisi*. Yayın No: 006-1B, İzmir: Seher Matbaacılık.

Tripoli, E., M. Giammanco, G. Tabacchi, D. Di Majo, S. Giammanco and M. La Guardia. (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., Freeman, M.P., Hayball, P.J., Strehl, G.L., Stupans, I. (2001). The in vivo Fate of Hydroxytyrosol and Tyrosol, Antioxidant Phenolic Constituents of Olive Oil, After Intravenous and Oral Dosing of Labeled Compounds to Rats. *Journal of Nutrition*, 131, 1993-1996

TÜİK. (2013). Zeytin üretimi, Türkiye İstatistik Kurumu [online]. (2 Ağustos 2014), www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.

Türkiye 1. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Sempozyumu (2003). *Türkiye I. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Sempozyumu Bildirileri*. İzmir: Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü ve Ege İhracatçı Birlikleri.

Vinha, A.F., Ferreres, F., Silva, B.M., Vantelao, P., Gonçalves, A., Pereira, J.A. et al. (2005). Phenolic Profiles of Portuguese Olive Fruits (*olea europaea* L.): Influences of Cultivar and Geographical Origin. *Food Chem.*, 89(4), 561–568.

Visioli, F., A. Poli and C. Galli. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.*, 22, 65–75.

Visioli, F., Galli, C. (1998). Olive Oil Phenols and Their Potential Effects on Human Health. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 4292-4296.

Visioli, F., Galli, C., Grande, S., Colonelli, K., Patelli, C., Galli et al. (2003). Hydroxytyrosol Excretion Differs Between Rats and Humans Depends on the Vehicle of Administration, *Journal of Nutrition*, 133, 2612-2615.

Visioli, F., S. Bellosta, and C. Galli. (1998). Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci.*, 62, 541–546.

Yıldız, G., Uylaşer, V. (2010). Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2011, 25(1), 131-142.