

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



**GAMA İŞİNİ UYGULANAN KURU ZEYTİN  
YAPRAKLARINDAKİ FENOLİK MADDE İÇERİĞİNİN VE  
ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERKER KOCATÜRK**

**BALIKESİR, HAZİRAN - 2014**

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



**GAMA İŞİNİ UYGULANAN KURU ZEYTİN  
YAPRAKLARINDAKİ FENOLİK MADDE İÇERİĞİNİN VE  
ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN BELİRLENMESİ**

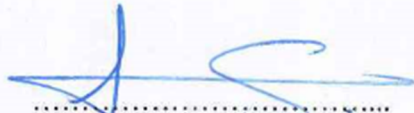
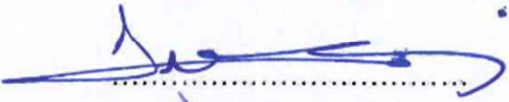

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERKER KOCATÜRK**

**BALIKESİR, HAZİRAN - 2014**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Berker KOCATÜRK** tarafından hazırlanan “**GAMA İŞİNİ UYGULANAN KURU ZEYTİN YAPRAKLARINDAKİ FENOLİK MADDE İÇERİĞİNİN VE ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN BELİRLENMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 04.06.2014 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Danışman Prof. Dr. Serap DOĞAN	
Üye Prof. Dr. Fatih SATIL	
Üye Doç. Dr. Hasan TUNER	

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

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Cihan ÖZGÜR

.....

**Bu tez çalışması BAP tarafından 13/101 nolu proje ile desteklenmiştir.**

## ÖZET

**GAMA IŞINI UYGULANAN KURU ZEYTİN YAPRAKLARINDAKİ  
FENOLİK MADDE İÇERİĞİNİN VE ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN  
BELİRLENMESİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BERKER KOCATÜRK  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERAP DOĞAN)  
BALIKESİR, HAZİRAN - 2014**

Bu çalışmada, gama ışını uygulanmış kuru zeytin yapraklarının fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. Farklı şekillerde kurutulan (mikrodalga, infrared, konveksiyonel ısıtıcı ve normal atmosferik şartlar altında) Ayvalık ve Gemlik çeşidine ait zeytin yaprakları deney materyali olarak kullanılmıştır. Gama ışını oda sıcaklığında üç farklı dozda (3, 5, 10 kGy) uygulanmıştır. Kuru örneklerin antioksidan aktivite tayini ve toplam fenolik madde miktarı için sırasıyla 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Fenolik maddeler (oleuropein, luteolin 7-glukozid, tirozol, kafeik asit, rutin hidrat, vanilik asit ve gallik asit) HPLC ile analiz edilmiştir. Sonuçlarımıza göre en yüksek antioksidan kapasite %95,56 5 kGy Gemlik mikrodalga, en düşük antioksidan aktivite ise %93,68 5 kGy Gemlik konveksiyonel ısıtma bulunmuştur. En fazla toplam fenolik madde içerik 23,73 mg/g 10 kGy Gemlik normal şartlar, ve en düşük 12,16 mg/g 10 kGy Gemlik mikrodalga tespit edilmiştir. Bütün örneklerdeki ana bileşenin oleuropein, örneklerin genelinde en zayıf bileşenin ise gallik asit olduğu belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Gama ışını, zeytin yaprağı, antioksidan kapasite, fenolik içerik.

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF PHENOLIC MATTER CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF GAMMA IRRADIATED DRIED OLIVE LEAVES**

**MSC THESIS**

**BERKER KOCATÜRK**

**BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE**

**BIOLOGY**

**(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOĞAN )**

**BALIKESİR, JUNE 2014**

In this study, gamma irradiation (radiation) effects on fenolic components and antioxidant capacity of dried olive leaves were investigated. Dried Ayvalık and Gemlik olive leaves in different ways (such as microwave, infrared, convection heaters and under normal atmospheric conditions) were used. Gamma rays were applied to olive leaves in three different doses (3, 5, 10 kGy) at room temperature. DPPH and Folin-Ciocalteu methods were used to determine the antioxidant capacity and total phenolic contents of dried samples, respectively. Their phenolic compounds (oleuropein, luteolin 7-glucoside, tyrosol, caffeic acid, rutin hydrate, vanillic acid and gallic acid) were analysed by HPLC. It is found that while the microwave dried Gemlik irradiated with 5 kGy have the highest antioxidant capacity, the convection heater dried Gemlik irradiated with 5 kGy have the lowest value as % 95,56 and % 93,68, respectively; under normal conditions dried irradiated with 10 kGy have the hidhest total phenolic content, the microwave dried Gemlik irradiated with 10 kGy have the lowest value as 23,73 mg/g and 12,16 mg/g, respectively. All samples main the component oleuropein, the weakest component in the samples of the gallic acid has been found.

**KEYWORDS:** Gamma rays, Olive leaves, antioxidant capacity, phenolic content.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Sterilizasyon ve Gama Işını.....	2
1.2 Serbest Radikaller .....	3
1.3 Antioksidan Aktivite.....	5
1.4 Fenolik Bileşikler .....	6
1.4.1 Zeytin Yaprağı ve Zeytin Yaprağındaki Fenolik Bileşikler .....	8
1.4.1.1 Oleuropein .....	11
1.4.1.2 Kafeik Asit .....	12
1.4.1.3 Tirozol.....	13
1.4.1.4 Rutin Hidrat.....	13
1.4.1.5 Vanilik Asit .....	14
1.4.1.6 Gallik Asit .....	15
1.4.1.7 Luteolin 7-glukozid.....	15
1.5 Literatür Özeti .....	16
1.6 Amaç ve Kapsam.....	18
<b>2. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>19</b>
2.1 Materyal .....	19
2.2 Metot.....	20
2.2.1 Kurutulmuş Örneklerle Radyasyon Uygulanması ve Ekstrakt Eldesi .....	20
2.2.2 Folin – Ciocalteu Fenol Reaktif Çözeltilsinin Hazırlanması .....	20
2.2.3 Gallik Asit Stok Çözeltilsinin Hazırlanması.....	20

2.2.4	Kuersetin Stok Çözeltisinin Hazırlanması.....	21
2.2.5	Sodyum Karbonat Çözeltisinin Hazırlanması.....	21
2.2.6	2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) Reaktifinin Hazırlanması ...	21
2.3	Toplam Antioksidan Aktivite Tayini.....	21
2.4	Toplam Flavonoid Madde Analizi.....	22
2.5	Toplam Fenolik Madde Analizi.....	23
2.6	HPLC ile Fenolik Madde Dağılımı Analizi .....	23
2.7	İstatistiksel Analiz .....	24
<b>3.</b>	<b>BULGULAR.....</b>	<b>25</b>
3.1	Toplam Antioksidan Aktivite Analizine İlişkin Bulgular.....	25
3.2	Toplam Flavonoid Madde Analizine İlişkin Bulgular.....	26
3.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğine İlişkin Bulgular .....	28
3.4	Fenolik Madde Dağılımına İlişkin Bulgular .....	30
<b>4.</b>	<b>SONUÇ TARTIŞMA.....</b>	<b>41</b>
4.1	Antioksidan Aktivite.....	41
4.2	Fenolik Madde Dağılımı .....	47
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>54</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>55</b>
<b>7.</b>	<b>EKLER .....</b>	<b>64</b>
7.1	Fenolik Madde Dağılımına Ait HPLC Grafikleri.....	64
7.1.1	Kafeik Asit .....	64
7.1.2	Gallik Asit .....	65
7.1.3	Tirozol .....	67
7.1.4	Rutin Hidrat .....	68
7.1.5	Oleuropein-Luteolin 7-glukozid.....	69



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: Basit fenol yapısı .....	6
Şekil 1.2: Zeytin yaprağı.....	8
Şekil 1.3: Zeytin yaprağında en çok bulunan fenolik maddeler .....	10
Şekil 1.4: Oleuropeinin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 1.5: Kafeik asitin kimyasal yapısı .....	12
Şekil 1.6:Tirozolün kimyasal yapısı.....	13
Şekil 1.7: Rutin hidratın kimyasal yapısı.....	14
Şekil 1.8: Vanilik asitin kimyasal yapısı .....	14
Şekil 1.9: Gallik asitin kimyasal yapısı .....	15
Şekil 1.10: Luteolinin kümyasal yapısı .....	16
Şekil 2.1: Bir antioksidan tarafından DPPH' in giderilmesi.....	22
Şekil 3.1: 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler .....	25
Şekil 3.2: 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler.....	25
Şekil 3.3: 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler .....	26
Şekil 3.4: 3 kGy doz ugulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları	26
Şekil 3.5: 5 kGy doz ugulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları	27
Şekil 3.6: 10 kGy doz ugulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları .....	27
Şekil 3.7: Toplam flavonoid madde içeriği hesaplanırken kullanılan kuarsetin standart eğrisi. ....	28
Şekil 3.8: 3 kGy doz ugulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları ...	29
Şekil 3.9: 5kGy doz ugulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları ....	29
Şekil 3.10: 10 kGy doz ugulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları	29
Şekil 3.11: Toplam fenolik madde içeriği hesaplanırken kullanılan gallik asit standart eğrisi. ....	30
Şekil 3.12: Oleuropeinin standart HPLC piki (3.30 dk.).....	38
Şekil 3.13: Luteolin-7 glikozidin standart HPLC piki (3.81 dk.).....	39
Şekil 3.14: Tirozolün standart HPLC piki (3.32).....	39
Şekil 3.15: Kafeik asitin standart HPLC piki (2.32 dk.).....	39
Şekil 3.16: Vanilik asidin standart HPLC piki (4.78 dk).....	40

<b>Şekil 3.17:</b> Rutin hidratın standart HPLC piki (4.08 dk).....	40
<b>Şekil 4.1:</b> Örneklerin % antioksidan aktiviteleri. ....	42
<b>Şekil 4.2:</b> Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı mg/g.....	44
<b>Şekil 4.3:</b> Örneklerin toplam fenolik madde miktarı mg/g.....	46
<b>Şekil 4.4:</b> Oleuropein miktarı mg/g.....	48
<b>Şekil 4.5:</b> Kafeik Asit miktarı mg/g.....	49
<b>Şekil 4.6:</b> Tirozol miktarı mg/g.....	49
<b>Şekil 4.7:</b> Rutin hidrat miktarı mg/g.....	50
<b>Şekil 4.8:</b> Vanilik asit miktarı mg/g.....	50
<b>Şekil 4.9:</b> Gallik asit miktarı mg/g.....	51
<b>Şekil 4.10:</b> Luteolin 7-glukozid miktarı mg/g.....	52
<b>Şekil 4.11:</b> Kontrol örneklerinin fenolik madde dağılımı mg/g.....	52
<b>Şekil 4.12:</b> Kontrol grubu örneklerin Oleuropein miktarı mg/g.....	52

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.1:</b> Canlı organizmadaki önemli ROT çeşitleri. ....	4
<b>Tablo 1.2:</b> Bazı serbest radikal kaynakları. ....	5
<b>Tablo 1.3:</b> Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması ....	7
<b>Tablo 2.1:</b> Örneklere ait kodlar.....	19
<b>Tablo 2.2:</b> HPLC şartları .....	23
<b>Tablo 3.1:</b> Oleuropein miktarı. ....	31
<b>Tablo 3.2:</b> Kafeik asit miktarı.....	32
<b>Tablo 3.3:</b> Tirozol miktarı. ....	33
<b>Tablo 3.4:</b> Rutin hidrat miktarı. ....	34
<b>Tablo 3.5:</b> Vanilik asit miktarı.....	35
<b>Tablo 3.6:</b> Gallik asit miktarı.....	36
<b>Tablo 3.7:</b> Luteolin 7-glukozid miktarı.....	37
<b>Tablo 3.8:</b> Kontrol grubu (gama ışını uygulanmamış) fenolik madde dağılımı	38
<b>Tablo 4.1:</b> Literatürdeki bazı bitkilerin antioksidan kapasiteleri.....	42
<b>Tablo 4.2:</b> Literatürdeki bazı bitkilerin toplam flavonoid madde içerikleri.....	45
<b>Tablo 4.3:</b> Literatürdeki bazı bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri.....	46

## SEMBOL LİSTESİ

Co <sup>60</sup>	Kobalt-60
DPPH	Difenil-1-pikrilhidrazil
DNA	Deoksiribonükleik asit
Cs <sup>137</sup>	Sezyum-137
HPLC	Yüksek performans sıvı kromatografisi
IR	İnfrared
Gy	Grey
UV	Ultraviyole
β	Beta
MeV	Milyon elektro volt
γ	Gama
AI	İnfrared ısıtıcı ile kurutulan Ayvalık çeşiti zeytin yaprağı
AN	Normal şartlar altında kurutulan Ayvalık çeşiti zeytin yaprağı
AM	Mikrodalga ile kurutulan Ayvalık çeşiti zeytin yaprağı
AK	Konveksiyonel ısıtıcı ile kurutulan Ayvalık çeşiti zeytin yaprağı
GI	İnfrared ısıtıcı ile kurutulan Gemlik çeşiti zeytin yaprağı
GN	Normal şartlar altında kurutulan Gemlik çeşiti zeytin yaprağı
GM	Mikrodalga ile kurutulan Gemlik çeşiti zeytin yaprağı
GK	Konveksiyonel ısıtıcı ile kurutulan Gemlik çeşiti zeytin yaprağı

## ÖNSÖZ

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Serap DOĞAN hocama, çalışmam sırasında her konuda yardımlarını aldığım Uzman Mehmet Emin DİKEN, Dr. Ümran ALAN ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Örneklerime gama ışını uygulanması sırasında benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Hasan TUNER ve tezimi 13/101 nolu proje ile destekleyen Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Ayrıca benim bugünlere gelmemi sağlayan ve çalışmam boyunca beni destekleyen canım ailem; annem Selma KOCATÜRK, babam Turgut KOCATÜRK ve biricik kardeşim Nida Nur KOCATÜRK' e sonsuz teşekkürler.

BALIKESİR, 2014

Berker KOCATÜRK

## 1. GİRİŞ

Günümüzde, zeytin ağacı (*Olea europea* L.) yaprakları Akdeniz ülkelerinde ve Avrupa’ da geleneksel tedavilerde oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadır. Zeytin ağacının, meyvesinden sonra besin değeri en zengin kısmı olan zeytin yaprağı, antioksidan madde özelliği gösteren birçok fenolik bileşiği bünyesinde bulundurmaktadır. Zeytin yaprağından, diyabette, hipertansiyonda, kardiyovasküler rahatsızlıklarda, gripte, üriner sistem rahatsızlıklarında, kronik halsizlikte, hastaların nekahat döneminde, kolesterolün düşürülmesinde, dejeneratif eklem rahatsızlıklarında, bursit (eklem bölgelerinde ağrılı şişlikler), sinüzit ve vücudun doğal bağışıklık sisteminin desteklenmesinde faydalanılmaktadır. Zeytin yaprağı ekstraktı sekeroidler, flavonoidler, basit fenoller, fenolik asitler ve terpenoidleri içermektedir. Antioksidan özelliği nedeniyle zeytin yaprağı ekstraktı direkt ya da besin takviyesi olarak kullanıldığında ticari öneme sahiptir [1].

Günümüzde bitkisel ve hayvansal yağların oksidasyon direncini arttırmak için BHT (Butillendirilmiş hidroksitoluen) , BHA (Butillendirilmiş hidroksianisol) ve TBHQ (Tri bütüllendirilmiş hidroksikinon) gibi sentetik antioksidanlar gıda katkısı olarak kullanılmaktadır. Ancak yakın zamanda yapılan araştırmalar bazı sentetik antioksidanların toksik, kanser ve kanserojenik etki gibi pek çok sağlık riskine sahip olduğu bildirilmektedir. Güçlü bir antioksidan olan TBHQ’ nun Japonya, Kanada, Avrupa’ da ve ülkemizde gıda katkısı olarak kullanımına izin verilmemektedir. Benzer şekilde BHA’ da güvenli bileşikler listesinden (GRAS) çıkarılmıştır [2]. Böylelikle doğal bir antioksidan kaynağı olan zeytin yaprağı özütü konsantre sıvı, toz, kapsül ya da kuru yaprak çayı olarak insan diyetinde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak zeytin yaprakları toplandıktan sonra yüksek oranda nem içermeleri nedeniyle bozulmaya, kullanılabilirlik vasıfları yitirmeye son derece açıktır. Bu nedenle yaprakların toplandıktan kısa bir süre sonra kurutulması ve sterilizasyon işlemi son derece önemlidir.

Gama ışınlama yöntemiyle sterilizasyon, güvenilir, kullanışlı ve giderek yaygınlaşan alternatif sterilizasyon yöntemlerinden birisidir. Gama ışınları, birçok

gıda, bitki materyalini sterilize methotu ve ticaretteki teknik problemleri çözmek için çevre dostu etkili bir teknoloji olarak bilinmektedir.

Gama ışınları iyonlayıcı ışın türündedir. İyonlayıcı ışınlar madde ile etkileşim yaptığında atomlardan elektron koparabilirler. Bu işleme iyonizasyon denilmektedir. Serbest elektronlar kimyasal reaksiyonlara katılabilir veya canlı organizmalardan DNA moleküllerini koparabilirler. Bu işlem bakteri, parazit, küf, maya, mantar gibi (mikro) organizmaları ışınlama ile öldürmenin temelini oluşturmaktadır [3].

Bu çalışmada gama ışını (radyasyon) uygulanan farklı şekillerde kurutulmuş zeytin yapraklarındaki fenolik madde içeriğinin ve antioksidan kapasitenin nasıl değiştiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **1.1 Sterilizasyon ve Gama Işını**

Sterilizasyon en genel anlamda ortamda yaşayan bütün mikroorganizmalar ile mikroorganizma sporlarının inaktive edilmesi ya da ortamda mikroorganizma bulunma olasılığının milyonda bir olmasıdır (Bu oran  $10^{-6}$  şeklinde de ifade edilebilir.). Ürünün bu özelliği kazanması için yapılan işlemlere de *Sterilizasyon* denilmektedir. Günümüzde sterilizasyon amacıyla uygulanan yöntemler şu şekilde sıralanmaktadır:

- Kuru Hava Sterilizasyonu
- Buharla sterilizasyon ya da otoklavlama
- Etilen Oksit Sterilizasyonu
- Aseptik Filtrasyon
- Radyasyonla sterilizasyon

Yukarda belirtilen sterilizasyon tekniklerinin her birinin uygulama şartlarının neden olduğu avantaj ve dezavantajları vardır. Herbiri uygulama alanlarına, maliyetlerine, sterilizasyon sonrası yapılması gereken işlemlere göre farklılıklar göstermektedirler. Bu farklar baz alındığında gama radyasyonla sterilizasyon diğer yöntemlere alternatif olarak geliştirilmiş ve oldukça sık kullanılan bir teknik olarak sterilizasyon yöntemleri içinde anılmaktadır.

Gıda ışınlanması fiziksel bir uygulama olup; geniş bir bakış açısıyla Kobalt-60 ( $Co^{60}$ ) veya Sezyum- 137 ( $Cs^{137}$ ) gibi radyonüklid kaynaklardan elde edilen gama ( $\gamma$ ) ışınları ile gerçekleştirilebilmektedir. Işınlanan madde tarafından absorbe edilen enerji miktarı “doz” olup, yeni sisteme göre birimi Gray(Gy)’ dir ve  $100 \text{ rad} = 1 \text{ Gray}$  veya  $1 \text{ Megarad} = 10 \text{ kGy}$  olarak verilmiştir. Gıdalarda ışınlama 3 şekilde uygulanmaktadır;

**-Radappertizasyon:** İyonize radyasyonun yüksek dozda (10 kGy ve üzeri) uygulamalarına radapertizasyon denilmekte ve ticari sterilizasyon olarak kullanılmaktadır.

**-Radisidasyon:** Spor oluşturmeyen patojen mikroorganizma yükünün azaltılmasında  $\leq 10 \text{ kGy}$  gibi daha düşük dozda ışınlama uygulamaları kullanılır ve buna da radisidasyon denilmektedir.

**-Radurizasyon:** Gıdaların kalitesini korumak, raf ömrünü uzatmak için uygulanan ve spesifik mikroorganizma popülasyonunu azaltmak amacı ile ( $\leq 1 \text{ kGy}$ ) dozda ışınlama uygulaması olarak tanımlanmaktadır [4].

Gama ışınları, canlı dokuda yoğun olarak bulunan su molekülleriyle etkileşerek serbest radikal oluşmasına neden olur.

## 1.2 Serbest Radikaller

Organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çevresel ajanlar (pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, toksinler, çözücüler vb.), stres, radyasyon gibi çeşitli dış faktörler etkisiyle serbest radikaller meydana gelmektedir. Serbest radikaller dış orbitallerinde çiftlenmemiş elektron bulunduran, kısa ömürlü, reaktif moleküllerdir [5]. Reaktif moleküller kararlı hale geçebilmek için elektron arar ve diğer moleküllerden elektron kopararak kararlı hale geçerler. Ancak elektron kaybeden moleküller kararsız hale geçerek, serbest radikallere dönüşmektedir [6]. Başka moleküller ile çok kolay elektron alışverişine giren bu moleküller “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen türevleri (ROT)” de denilmektedir [7]. Artmış ROT nedeniyle oluşan biyomoleküler de hasar, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonu ya da kırılması, enzim aktivasyonu ya da inaktivasyonu, protein oksidasyonu ya da kırılmasıyla sonuçlanır [8]. Ayrıca serbest radikallerin yaşlanma,



kalp-damar rahatsızlıkları, katarakt, sepsis (kana mikroorganizma ve toksin karışması), kanser, diyabetik retinopati (diyabet hastalarında rastlanan iltihapsiz retina hastalığı), gastrointestinal organlarda kronik iltihaplar, solunum yolu rahatsızlıkları, damar yararlanmalarına bağlı olarak ortaya çıkan iskemi (belli bir bölgenin geçici bir süre kansız kalması) gibi birçok rahatsızlığın etkenleri arasında olduğu belirtilmektedir [6]. Antioksidanlar ise radikal oluşumunun sınırlandırılması, radikal reaksiyonlarının sonlandırılması, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasında etkili olan moleküllerdir [5]. Hücrelerin bu moleküller tarafından korunduğu bu sisteme antioksidan savunma adı verilmektedir [7]. Özellikle meyve ve sebzeler, hem yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaları hem de iyi bir antioksidan karışımı ve kombinasyonunu temsil etmeleri açısından çok önemli doğal antioksidan kaynakları arasında sayılmaktadır. Meyve ve sebzeler E vitamini, C vitamini ve karotenoid bileşiklere ilaveten güçlü antioksidan aktiviteye sahip flavon, izoflavon, antosiyanin, kateşin ve izokateşinler gibi fenolik bileşikler de içermektedir [8]. Normal metabolizma sırasında ROT ve antioksidanlar arasında bulunan denge güneş ışınları, ilaçlar, yiyecek katkı maddeleri, kozmetikler, kirletici kimyasalları içeren birçok çevresel prooksidan tarafından ROT yönünde kaydırılabilmektedir. Günümüzde bu prooksidanlarla karşılaşma oranı giderek artış göstermektedir [9]. Canlı organizmadaki bazı ROT çeşitleri Tablo 1.1'de [7], ve bazı serbest radikal kaynakları ise Tablo 1.2'de [7] verilmiştir.

**Tablo 1.1:** Canlı organizmadaki önemli ROT çeşitleri.

Serbest radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil radikal	OH	Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Süperoksit radikal	O <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Singlet oksijen	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
Nitrik oksit radikal	NO	Hipoklorik asit	HOCl
Lipidperoksil radikal	LOO	Ozon	O <sub>3</sub>

**Tablo 1.2:** Bazı serbest radikal kaynakları.

<b>Organizma İçi Kaynaklar</b>	<b>Organizma Dışı Kaynaklar</b>
Mitokondri	Sigara dumanı
Fagositler	Çevresel kirleticiler
Ksantinoksidaz	Radyasyon
Demir ve diğer geçiş maddelerini içeren reaksiyonlar	Ultraviyole ışık
Arakidonat yolları	Bazı ilaçlar
Peroksizomlar	Böcek ilaçları
Egzersiz	Anestezi
İltihap	Endüstriyel çözücüler
İskemi / reperfüzyon	Ozon

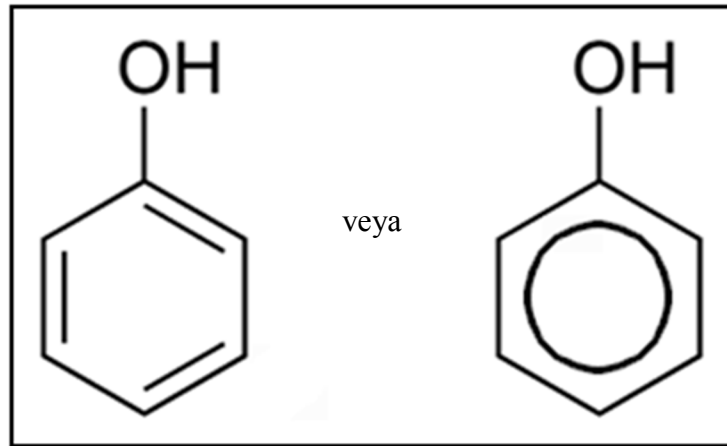
### **1.3 Antioksidan Aktivite**

Serbest radikalleri nötralize etme yetenekleri iyi bilinen, özellikle reaktif oksijen ve azot türlerinin insan vücudunda oluşturduğu hasarı azaltan antioksidan bileşikler, yaşlanma belirtilerini ve hücre degradasyonunu azaltarak birçok dejeneratif hastalığı önleyebilir [10]. Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir [11]. İnsanlar, diğer aerobik organizmalar ile birlikte serbest radikallerin potansiyel zararlı etkilerinden korunabilmek için bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişleridir. Bu antioksidan savunma sistemi antioksidan enzimleri içerir. Bu enzimler de enzimatik nonenzimatik olmak üzere ikiye ayrılır [12]. Bitkilerde de farklı antioksidan bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir. Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları başta olmak üzere bütün dokularında meydana gelebilmektedir. Doğal antioksidanların başlıcaları karetenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutasyon ve endojen metabolitlerdir [5]. Antioksidanların, lipid peroksidasyonu, proteinlerin çapraz bağlanması ve DNA mutasyonunu engellediği bilinmektedir. Antioksidanlar, dört farklı yolla oksidanları etkisiz hale getirirler: **1) Temizleme**

**(Scavenging) etkisi:** Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde meydana gelmektedir. **2) Baskılama (Quencher) etkisi:** Bu etki, oksidan maddelere bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olmaktadır ve çoğunlukla flavonoidler tarafından yapılmaktadır. **3) Onarma etkisi:** Oksidanların oluşturduğu hasarları ortadan kaldırma şeklinde etki göstermektedir. **4) Zincir koparma etkisi:** Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin ve E vitamini tarafından yapılır [13].

#### 1.4 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitkilerde doğal olarak bulunan maddelerdir. Bir veya daha fazla aromatik halkaya ve bu halkaya bağlı olmak üzere en az bir hidroksil grubu içeren organik bileşikler olarak tanımlanabilirler. Fenolik bileşikler bitkiler için karakteristik özellik gösterir, genellikle serbest halde olmayıp ester yada glikozit formda bulunurlar. Birden fazla OH grubu içeren fenolik bileşikler hidrofilik özellik gösterirler ve su gibi çözücülerde kolayca çözünebilirler [14]. Molekül formüllerinde en az 6 karbon atomu ve en az bir OH grubu içermektedirler. Fenolik bileşikler kolayca okside olabilme özelliği dolayısıyla antioksidan aktiviteye sahiptirler [15].



Şekil 1.1: Basit fenol yapısı

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik

bileşimin yapısı tanımlanmıştır [16]. Fenolik bileşikler içerdikleri karbon sayısına göre sınıflandırılmaktadır . (Tablo 1.3)

**Tablo 1.3:** Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Yapı	Sınıf
C6	Basit Fenolikler
C6-C1	Fenolik asitler ve benzer bileşikler
C6-C2	Asetofenonlar ve fenilasetik asitler
C6-C3	Sinnamik asitler, sinnamil aldehitler, sinnamil alkoller, kumarinler, izokumarinler ve kromonlar
C15	Kalkonlar, avronlar, dihidrokalkonlar, flavanlar, flavonlar, flavononlar, flavonoller, antosiyaninler, antosiyanidinler
C30	Biflavoniller
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzofenonlar, ksantonlar, stilbenler
C6-C10-C14	Kinonlar
C18	Betasiyaninler
Lignanlar, Neolignanlar	Dimerler ve oligomerler
Lignin	Polimerler
Taninler	Oligomerler ve polimerler
Flobafenler	Polimerler

#### 1.4.1 Zeytin Yaprağı ve Zeytin Yaprağındaki Fenolik Bileşikler

*Oleaceae* familyası dünyada geniş yayılış gösteren 29 cins ve yaklaşık 600 tür içeren bir familyadır. *Olea* cinsi yaklaşık 32 alt takson ile dünyanın tropik ve sıcak bölgelerinde yayılış gösterir. *O. europaea* (Zeytin) yaklaşık 10 metre boyunda, geniş taçlı ağaç veya yoğun dallanmış, 2 metre boylanmış çalı formunda bir Akdeniz bitkisidir [17]. Bir zeytin ağacının ortalama ömrü 300-400 yıldır, ancak 3 bin yaşında zeytin ağaçlarına da rastlanmıştır.



**Şekil 1.2:** Zeytin yaprağı

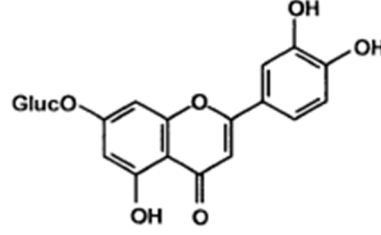
Geçmişten günümüze kadar zeytin yaprağı Akdeniz bölgesinin sembolü olmuş ve tarih boyunca zeytin yaprağı ateş ve sıtma gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [18]. Günümüzde ise zeytin yaprağının sağlık için yararları bilinmekte ve çeşitli yerlerde ilaç olarak kullanılmaktadır. Doğal zeytin yaprağı ve zeytin yaprağı özütü anti-aging, bağışıklık sistem güçlendirici, antifungal ve antibiyotik olarak pazarlanmaktadır [19]. Zeytin yaprağı yüksek oranda vitaminler, flavonoidler ve polifenoller gibi biyoaktif bileşikler içerir [20]. Ayrıca zeytin yaprağı flavonoidler, sekoiridoitler ve triterpenler olmak üzere farklı etki grubuna ait bileşikleri ve ketonları içermektedir. Terpenlerin miktarı % 3-4 kadar olup, yaprakta en çok bulunanları oleonik, krataegolik asitler, homoolestranol ile bunların glikozitleridir [21]. Zeytin yaprakları yüksek miktarda antioksidan içeriğe sahiptir.

Fenolik maddelerin 5 grubu olan oleuropeositler (oleuropein ve verbascoside); flavonlar (luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid, diosmetin-7-glukozid, luteolin ve diosmetin); flavoneller (rutin); flavon-3-oller (kateşin) ve substitue fenoller (tirozol, hidroksitirozol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit) zeytin yaprağı ekstresinde mevcuttur. En fazla miktarda bulunan oleuropeini hidroksitirozol, luteolin, apigenin ve verbascoside takip etmektedir [22].

Zeytin yapraklarının kimyasal bileşimi, zeytin ağacının türü, yetiştiği bölge, iklim, dalların ağaca oranı, zeytin yaprağının yapısal karbonhidrat ve azot içeriği gibi çeşitli şartlara bağlı olarak değişir. Ayrıca, hasat zamanı, uygulanan kültürel tedbirler, saklama şartları, nem içeriği, toprak ve yağlar ile kontaminasyonun derecesi gibi faktörlerden de etkilenir [23].

Fenolik Madde	Kimyasal Formülü
Oleuropein	
Hidroksitirozol	
Verbascoside	
Apigenin-7-glukozit	

Luteolin-7-glukozit



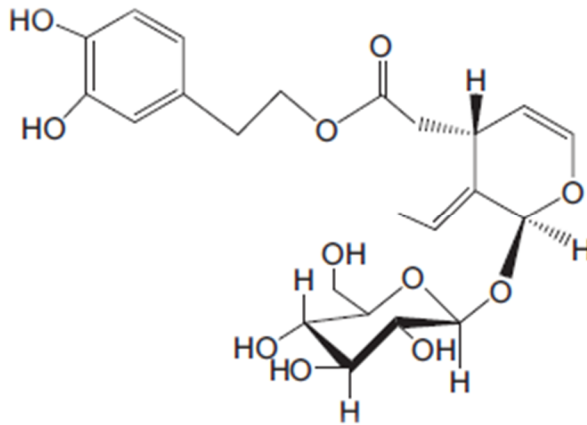
**Şekil 1.3:** Zeytin yaprağında en çok bulunan fenolik maddeler

Zeytin yaprakları yüksek bir biyolojik değer katan bir kaynak olarak kullanıldığında sağlıklı, güvenli, ucuz, etkili ve alternatif bir antioksidan kaynağıdır ve gıda ürünlerinin duyuşsal ve besinsel özelliklerindeki kayıpları önleyerek raf ömrünü uzatma özelliğine sahiptir [1]. Akdeniz bölgesinde 1996 yılında *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada, zeytin yaprağının metanol ekstresinin güçlü antikomplementer etkiye sahip olduğu ve antienflamatuar aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu etkinin, sahip olduğu flavonoidlerden kaynaklandığı belirtilmiştir [17]. Tarihsel olarak, zeytin yaprağı ateş ve sıtma gibi diğer hastalıklara karşı mücadele için halk ilacı olarak kullanılmıştır [20]. Bir başka çalışmada zeytin ve zeytinyağındaki fenolik bileşiklerin günlük diyetlerle yeterince alınmasının koroner kalp hastalığı ve gastrointestinal gibi serbest oksijen köklerine oluşturulan hastalıklara karşı risk azaltıcı etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Evre-1 hipertansiyonu olan hastalarda günde iki kez (500mg) zeytin yaprağı ekstresinin, sistolik ve diyastolik kan basıncı üzerinde, günde iki etkin doz (12,5-25 mg) kaptopril tedavisinde benzer tansiyon düşürücü etkisinin olduğu gösterilmiştir. Öte yandan ekstrenin lipid profili üzerinde de (trigliserid, total ve LDL kolesterolü düşürücü) faydalı etkilerinin olduğu belirtilmiştir [23]. Sıçanlara oral yolla verilen zeytin yaprağı preparatının böbrek ve karaciğer doku hasarlarını önleyici etki gösterdiği tespit edilmiştir [24]. Güney Afrika'da yabani zeytin Sotho, Xhosa ve Zulu kabileleri tarafından en çok kullanılan bitkilerden biridir. Zeytin yaprağının son zamanlarda 120 bitki türünden geleneksel tıpta en çok kullanılan bitki olduğu bildirilmiştir [25]. Zeytin yaprağı ekstraktının deney hayvanlarında kan basıncını düşürdüğü, koroner arterlerinde kan akışını hızlandırdığı, aritmiyi engellediği, bağırsak kasları spazmlarını önlediği gözlemlenmiştir [18]. Aynı zamanda, zeytin

yaprağı ekstraktının akciğer epitelyum hücrelerinde meydana gelen iltihabi (inflamatuvar süreç) hastalıklar sonucu oluşan serbest radikalleri önleyici etkisi tespit edilmiş ve tedavide kullanımı önerilmiştir. Zeytin yaprağının bir diğer önemli özelliği ise kan dolaşımını rahatlattığından dolayı kalp krizlerini ve kalp rahatsızlıklarını önlemesidir [26]. Zeytin yaprağının faydalı olduğu bilinmekle beraber özellikle gıda sektöründe kullanılabilmesi için biyoyararlılık açısından da incelenmesi gerekmektedir. Bugüne kadar bu alanda yapılmış çalışmalar hidoksitirozole odaklanmıştır. Hidoksitirozolün insan vücudunda hızla emildiği, aynı zamanda da hızla vücuttan atıldığı bulunmuştur [27]. Zeytin yaprağının geçmişten günümüze dünya da bu kadar yaygın kullanılmasının sebebi içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır.

#### 1.4.1.1 Oleuropein

Oleuropein, zeytin yaprağında en fazla miktarda bulunan çok önemli bir fenolik bileşiktir [28]. Bourquelot ve Vintilesco tarafından ilk kez 1908 yılında keşfedilmiştir ve yapısı ancak 1960'lı yıllarda tanımlanabilmiştir. Oleuropein, elenoik asit ve hidoksitirozolün heterozidik esteridir (şekil 1.4).



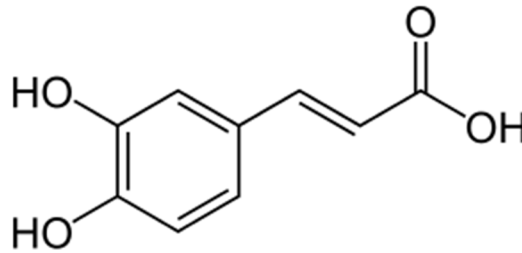
Şekil 1.4: Oleuropeinin kimyasal yapısı



Zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde daha fazla miktarda bulunan oleuropein, meyvenin olgunlaşmasıyla birlikte metabolize olarak miktarı azalmakta ve meyveye acılık vermektedir [29]. Zeytin ağacının tamamında bulunan oleuropein ayrıca zeytinde, posasında, yağında ve zeytinyağı imalatı sırasında ortaya çıkan atıklarda da bulunmaktadır. Fakat bu bileşiğin doğadaki en önemli kaynağı zeytin yaprağıdır. (60-90 mg/g kuru ağırlık) Oleuropein miktarı zeytin yağında %0,005-%2 arasında; zeytin yaprağında ise %1-14 arasında olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [30]. Oleuropein antioksidan aktivitesinin yanında birçok biyolojik etkiye de sahiptir. Örneğin; oleuropein zeytin ağacını patajonlerin ve böceklerin saldırılarına karşı savunur [31]. Ayrıca vücutta çeşitli rahatsızlara yol açan serbest radikalleri de etkisiz hale getirdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir [30]. Oleuropein antioksidan, anti-enflamatuar, anti-kanser, antiviral, anti-mikrobik ve antiaterojenik dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir [32]. Bunun yanında oleuropeinin Alzheimer hastalığının etyolojik faktörü olan A- $\beta$  amiloid peptidine non-kovalent kompleks oluşturduğu ileri sürülmektedir [29-30].

#### 1.4.1.2 Kafeik Asit

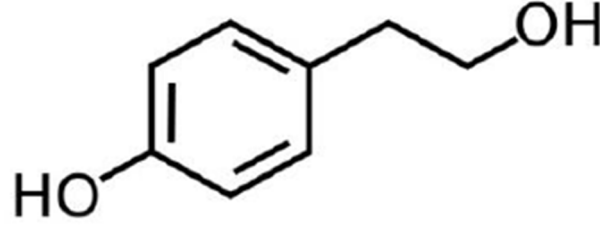
Kafeik asit, birçok bitki ve besinlerde bulunan ve insan diyetindeki birincil kaynağı kahve olan hidroksisinnamik asittir [33]. Fakat kafeik asit elma, enginar, çilek ve armut gibi diğer gıda kaynakları bulunabilir [30]. Kafeik asitin immüno modülatör, sitostatik, antibakteriyel, antifungal, antiproliferatif, antiviral, antiinflamatuvar, antioksidan ve serbest radikallerin oluşumunu engelleyici özellikleri vardır [34]. Kafeik asidin, düşük yoğunluklu lipoproteindeki  $\alpha$ -tokoferölü koruduğu düşünülmektedir. Kafeik asit ve türevleri polifenol oksidazlar için iyi birer substrattırlar ve uygun koşullar altında bitki dokularında oksitlenebilirler [33].



Şekil 1.5: Kafeik asitin kimyasal yapısı

### 1.4.1.3 Tirozol

Tirozol [2-(4-hidroksifenil) etil-alkol], maya fermantasyonu sırasında tirozinden meydana gelen yağda çözünen ve karboksil olmayan mono-fenol bileşiktir [35]. Diğer fenol bileşiklerde olduğu gibi, yapısındaki hidroksil grubundan bir hidrojeni, serbest radikallere vererek onları etkisiz hale getirmekte ve bunun sonucunda da kendisinin okside olduğu belirlenmiştir [30].

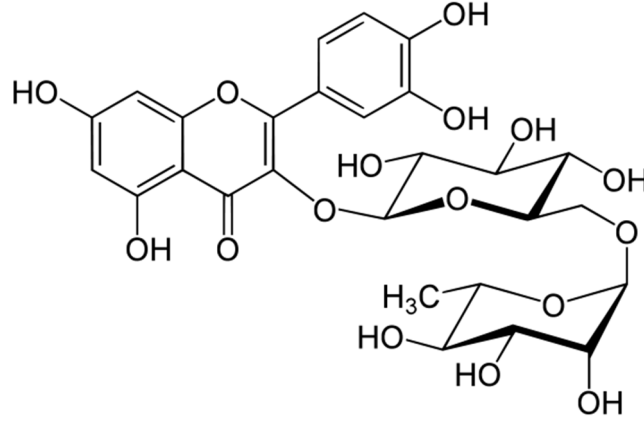


Şekil 1.6: Tirozolün kimyasal yapısı

Yapılan birçok çalışma tyrosolun LDL oksidasyonunu önleyici, serbest nitrojen ve oksijen radikallerini temizleme gibi özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca kalp koruyucu özelliği de bulunmaktadır [36].

### 1.4.1.4 Rutin Hidrat

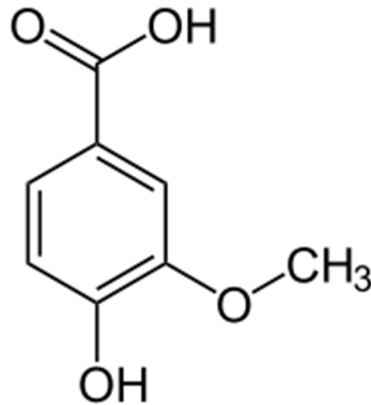
Rutin hidrat, zeytin yaprağında bulunan en güçlü antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiktir [20]. C vitaminini aktive edici özelliği vardır [37]. Rutin, anti-iltihabik, antitümör, anti-bakteriyel, antioksidatif, antihipertensif ve antihemorajik aktivite, kan ve kılcal damarların güçlendirilmesi, kılcal geçirgenliğin düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik etkiye sahiptir [37-38].



Şekil 1.7: Rutin hidratın kimyasal yapısı

#### 1.4.1.5 Vanilik Asit

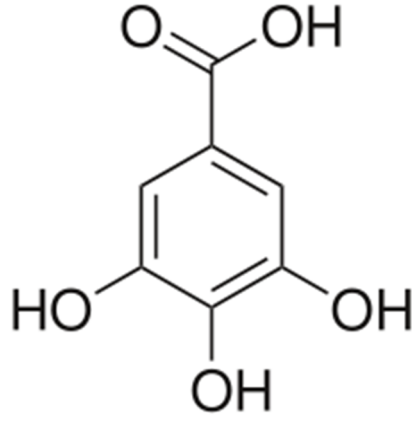
Vanilik asit, zeytin yaprağında bulunan oleuropeinden daha az, tirozolden daha fazla antioksidan kapasiteye sahip fenolik bileşendir [20-30]. Yeşil çay, çikolata ya da kahve tüketiminden sonra insan idrarında tespit edilen vanilik asit, antimikrobiyal ve antimalarial aktivitesi bulunan kafeik asitin bir metabolik ürünüdür. Vanilik asitin, karaciğer hasarında meydana gelen inflamasyonu baskılayarak karaciğeri koruyucu etki gösterdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir [39]. Yılan zehiri aktivitesinin inhibe edilmesi, karsinogenesis, apoptozis ve inflamasyon gibi çeşitli farmakolojik aktivitelerle vanilik asitin biyolojik aktivitesi ilişkilendirilebilir [40].



Şekil 1.8: Vanilik asitin kimyasal yapısı

#### 1.4.1.6 Gallik Asit

Gallik asit, (3, 4, 5- trihidroksibenzoik Asit) bitkilerde doğal olarak üretilen bir polifenoldür. İnsan diyetinde bol miktarda bulunan bitki fenolik maddesidir.[41] Genellikle gıda, ilaç ve kozmetik sanayiinde kullanılır. En önemli uygulama alanlarından biri, farmasotik sanayinde sülfonamidlerle beraber kullanılan antibakteriyel bir ajan olan trimetoprim üretiminde kullanılmakta olmasıdır. Bunun yanında antioksidan bir ajan olarak kullanılan propil gallat gibi gallik asit esterlerinin üretiminde, deri, kozmetik ve fotoğraf boyalarında kullanılan pirogallol bileşiklerinin oluşturulmasında kullanılmaktadır.



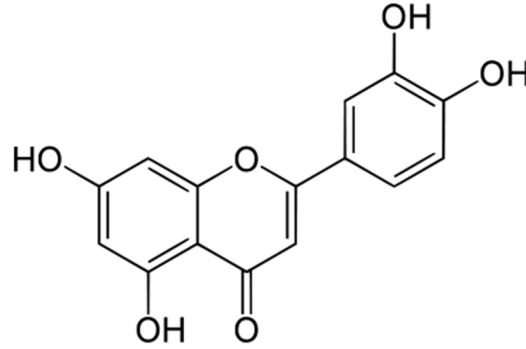
Şekil 1.9: Gallik asitin kimyasal yapısı

Gallik asit, çoğunlukla yeşil çay, çay, patlıcan, üzüm, kuşkonmaz ve meyvelerin yapısında bol miktarda bulunur. Ayrıca gallik asitin antikarsinojenik, antioksidatif, antimutajenik, antialerjik ve antiinflamatuvar etkileri de vardır [42].

#### 1.4.1.7 Luteolin 7-glukozid

Bitkisel kökenli bir polifenolik bileşik olan luteolin [2-(3,4-dihidroksifenil)-5,7- dihidroksi-4-kromenon; C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>], flavonoidlerin flavon alt sınıfına aittir ve genellikle kereviz, yeşilbiber, perilla (biftekotu) yaprağı ve papatya çayında

glikozillenmiş formda bulunur ve besinlerle günlük ortalama 2 mg kadar alınmaktadır [43-44]



**Şekil 1.10:** Luteolinin kümyasal yapısı

Flavonoidlerin önemli üyelerinden bir olan luteolinin kuvvetli bir serbest radikal süpürücü olduğu, antiinflamatuvar ve anti alerjik etkileri de içeren geniş farmakolojik özellikler gösterdiği belirtilmektedir [43]. Antimutajenik, tümör oluşumunu engelleyici, pıhtılaşmayı önleyici ve antioksidan özelliklerinin yanında antibakteriyel etkilere de sahiptir [44].

### 1.5 Literatür Özeti

F. Aouidi ve arkadaşlarının 2011’ de yaptığı çalışmada zeytin yapraklarına farklı dozlarda (15.64 Gy ve 18.2 Gy ) gama ışını (radyasyon) uygulamasından sonra fenolik madde miktarı, antioksidan içerik ve mikrobiyal yükü incelenmiştir. Çalışma sonucunda gama ışınlarının zeytin yapraklarındaki antioksidan aktivite ve fenolik içeriği anlamlı bir şekilde değiştirmedği tespit edilmiştir [3].

2012 yılında *Aloe vera* türüne gama ışını uygulanması sonucunda örneklerdeki antioksidan kapasitenin nasıl değiştiği belirlenmeye çalışılmıştır. Gama ışınması sonucunda örneklerdeki antioksidan seviyesi % 92.8 olarak belirlenmiştir. Gama ışını uygulanmayan örnekler de ise bu oran % 52.9 olarak belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar *Aloe vera* türünün çeşitli sektörlerde, özellikle kozmetik, ilaç ve tıp sanayinde kullanımını yaygın hale getirmiştir [45].

Başka bir çalışmada; taze zeytin yapraklarının yeşil renkte, yüksek nem içeriğinde olduğu ve yaprak çeşidine göre değişen oranda toplam fenol içerdiği belirlenmiştir. IR ile kurutmada yapraklardan önemli oranda (% 85'ten fazla) nem uzaklaştığı ve kurumanın kısa sürede gerçekleştiği görülmüştür. Yaprak çeşidi ne olursa olsun IR kurutmanın yaprağın toplam fenol içeriğini ve yaprak rengini önemli oranda etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, taze zeytin yaprakları ile karşılaştırıldığında kuru zeytin yapraklarındaki toplam fenol içeriğinin arttığı belirlenmiştir. [46].

E. Mi Lee ve arkadaşlarının 2012 yılında *Aleo vera* bitkisiyle yaptığı çalışmada gama ışını kullanımının antioksidan aktiviteyi arttırdığı belirtilmiştir [45]

E. Mi Lee ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada da 20 kGy kadar gama ışını uygulamasının *Beta vulgaris* L.' deki antioksidan aktiviteyi arttırdığı görülmektedir. K., F. Khattak ve arkadaşlarının 2008 yılında çörek otu (*Nigella sativa*) ile yaptığı çalışmada 16 kGy doza kadar uygulanan gama ışınının hem antioksidan aktiviteyi hem de fenolik madde içeriğini arttırdığı saptanmıştır [47].

K., F. Khattak ve arkadaşları *Nigella sativa*' nın farklı ekstraksiyon çözümlerinde gama ışınının etkisini değerlendirmeye çalışmışlardır. Metanollü ekstraktlara uygulanan gama ışınının antioksidan aktiviteyi artırmasının bazı yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerin degradasyonundan ve bu bileşenlerin çözücülerde çözünemez formdan çözünebilir forma değişmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir [47].

Perez 2007 yılında *Rosmarinus officinalis* türü ile yaptığı çalışmada kuru örneklerle 30 kGy dozda gama ışını uygulamış ve çalışma sonucunda gama ışınının etanol ve su ile hazırlanmış örneklerdeki antioksidan kapasitenin % 22, fenolik madde miktarını ise su ile hazırlanmış örneklerde % 35 arttığı fakat metanol ve etanol ile hazırlanmış ekstraktlardaki fenolik madde miktarının değiştirmedini tespit etmiştir [48].

## 1.6 Amaç ve Kapsam

Zeytin yaprağı ekstresinin bünyesinde bulundurduğu fenolik ve flavonoid maddeler nedeniyle günümüzde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Yapısında en fazla miktarda bulunan oleuropeinin doğal antibiyotik, antioksidan bir molekül olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu konuda 69 kitap, 1800' den fazla makale, dergi ve çeşitli yayınlar yapılmıştır. Amerikan Kanseri Araştırma Enstitüsü, zeytin yaprağının, 21. yüzyılın en önemli doğal antioksidan, antimikrobiyal, antiviral bir bitkisel kaynak olduğunu belirtmiştir.

Ülkemizde, başta baharat olmak üzere, kurutulmuş sebzeler, bazı kuru yemişler (badem, hurma, çam fıstığı, kuş üzümü), balık, tavuk eti, karides, ışınlama yöntemi ile sterilize edilmektedir. Günümüzde de pek çok ülkede baharatların 10 kGy doz absorblayacak şekilde ışınlanmasına izin verilmektedir. Yapılan çalışmalarda yoğun mikroorganizma içeren baharatın 10 kGy dozunda ışınlanması ile kalitesinde bir kayıp olmadan mikroorganizmaların elimine edildiği ve küflerin elimine edilmesi için 5 kGy dozun yeterli olduğu saptanmıştır [4]. Zeytin yaprakları günümüz endüstrinde çay, ekstrakt olarak kullanıldığından gama ışınlarının (radyasyon) yapraklardaki fenolik madde içeriğini ve antioksidan kapasiteyi nasıl etkilediği çok önemlidir. Ayrıca bu çalışma, zeytin yaprağının, ilerleyen zamanlarda tıp ve kozmetik sanayinde daha yaygın kullanımına destek olacaktır. Sonuç olarak yapılacak olan bu çalışma zeytinin yetiştirildiği bu bölge ekonomisine ekstra katkı sağlayacaktır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

Bu çalışmada materyal olarak iki farklı zeytin çeşidine (Ayvalık ve Gemlik) ait dört farklı yöntem ile (mikrodalga, infrared, konveksiyonel ısıtıcı ve normal şartlarda) kurutulan zeytin yaprakları kullanılmıştır. Kurutulan zeytin yapraklarına üç farklı dozda (3, 5, 10 kGy) gama ışını uygulanmıştır. Örneklere ait kodlar Tablo 2.1’ de belirtilmiştir.

**Tablo 2.1:** Örneklere ait kodlar

Yaprağın Toplandığı Çeşit	Kurutma Şekli	Uygulanan Doz		
		3 kGy	5 kGy	10 kGy
Ayvalık	Normal Oda Şartları	3AN	5AN	10AN
	Konveksiyonel	3AK	5AK	10AK
	İnfrared	3AI	5AI	10AI
	Mikrodalga	3AM	5AM	10AM
Gemlik	Normal Oda Şartları	3GN	5GN	10GN
	Konveksiyonel	3GK	5GK	10GK
	İnfrared	3GI	5GI	10GI
	Mikrodalga	3GM	5GM	10GM



## **2.2 Metot**

### **2.2.1 Kurutulmuş Örnekler Radyasyon Uygulanması ve Ekstrakt Eldesi**

Kurutulan örnekler radyasyon uygulaması gama ışınları kullanılarak Tekirdağ'da bulunan Gamma-Pak Sterilizasyon San. ve Ticaret A.Ş.'de, Co-60 kaynağı ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler uygulanan radyasyon miktarı 3, 5, 10 kGy'dir.

Kurutulan ve gama ışını uygulanan örneklerin tümü üzerlerine sıvı azot döküldükten sonra kahve öğütücüsü ile toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örneklerin her birinden 0,5'er g alınmıştır (Denver Instruments SI-234). Her 0,5 g örneğe %80'lik 5 mL metanol eklenmiş ve +4 °C'de bir gece bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 4500 rpm'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatant alınmıştır. Pellet üzerine sırasıyla %80'lik 5 mL ve 2 mL (toplam hacim 12 mL olacak şekilde) metanol eklenmiş santrifüj işlemi tekrarlanmış ve süpernatantlar birleştirilmiştir. Ekstraktlar analize kadar -20 °C'de saklanmıştır [49].

### **2.2.2 Folin – Ciocalteu Fenol Reaktif Çözeltisinin Hazırlanması**

100 mL'lik balon jöjeye 10 mL Fenol reaktif eklenir ve saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu fenol çözeltisinin kullanımında en önemli faktör günlük taze olarak hazırlanıp kullanılmasıdır [50].

### **2.2.3 Gallik Asit Stok Çözeltisinin Hazırlanması**

0,5 g gallik asit 100 mL'lik balon jöjeye konularak standart olan çözeltiden (metanol) 10 mL ilave edilerek çözdürülür ve üzeri saf su ile 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır. Bu çözelti buzdolabında saklanmıştır [50].

#### **2.2.4 Kuersetin Stok Çözeltisinin Hazırlanması**

0,5 g kuersetin 100 asit 100 mL' lik balon jöjeye konularak standartı olan çözeltiden (metanol) 10 mL ilave edilerek çözdürülmüş ve üzeri saf su ile 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır.

#### **2.2.5 Sodyum Karbonat Çözeltisinin Hazırlanması**

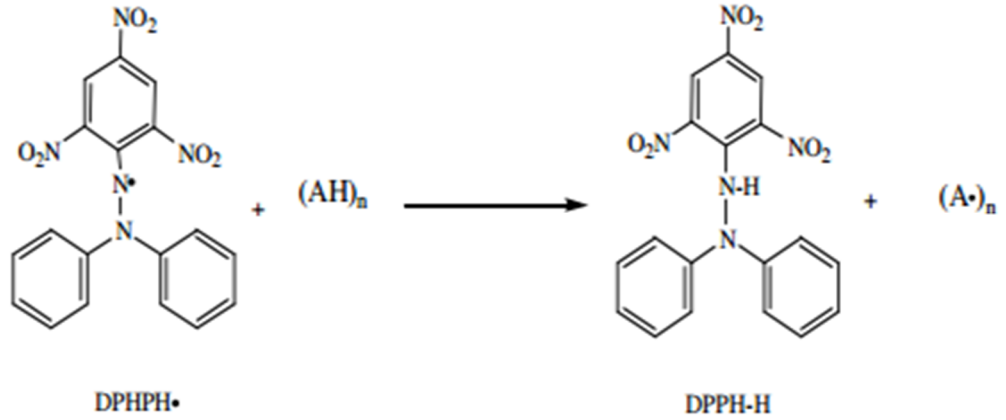
100 mL'lik balon jöjeye 7,5 g sodyum karbonat eklenerek bir miktar saf su içerisinde çözdürülmüş ve daha sonra saf su ile 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır [50].

#### **2.2.6 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) Reaktifinin Hazırlanması**

2,2-difenil-1- pikril hidrazil (DPPH) reaktifinden 0,0024 g tartılarak 100 mL balon jöje içerisinde bir miktar metanol ile çözüldükten sonra toplam hacim 100 mL olacak şekilde metanol ilave edilmiştir. DPPH reaktifi günlük taze olarak hazırlanmış ve analiz işlemine kadar karanlıkta saklanmıştır [50].

### **2.3 Toplam Antioksidan Aktivite Tayini**

Örneklerinin antioksidan kapasitesi güçlü bir serbest radikal olan DPPH (2,2-difenil-1- pikril hidrazil) nötrleştirilmesi işleminin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptanmıştır. Zeytin yaprağında DPPH radikal süpürücü aktivitesi tayini için daha önce hazırlanmış olan ekstrakt kullanılmıştır (bkz 2.2.1) [51].



**Şekil 2.1:** Bir antioksidan tarafından DPPH' in giderilmesi

Spektrofotometrik ölçümler için örneklerden üçer, kontrol çözeltilerinden ikişer adet paralel çözeltiler hazırlanmıştır. 250 µL ekstrakta %100'lük 2500 mL metanol ile 2500 mL DPPH çözeltisi eklendikten sonra karanlıkta 1 saat bekletilmiş ve 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Kontrol çözeltisinde ise sadece methanol ve DPPH kullanılmıştır [49]. Ölçülen absorbanslar aşağıdaki formül ile örneklerin DPPH radikali yakalama aktiviteleri yani antioksidan aktiviteleri hesaplanmıştır [20-52].

$$\text{Antioksidan Aktivite (\%)} = [1 - (\text{örnek absorbansı} / \text{kontrol absorbansı})] \times 100$$

#### 2.4 Toplam Flavonoid Madde Analizi

Toplam flavonoid madde analizinde Ramful ve ark. (2011)'a ait yöntem kullanılmıştır. 150 µL % 5 sulu NaNO<sub>2</sub>, 2,5 mL ekstrakt üzerine eklenerek vortekslenmiştir. Kör deneme örneğinde ise ekstrakt yerine %80'lik metanol kullanılmıştır. Yaklaşık 5 dakika bekledikten sonra 150 µL %10'luk AlCl<sub>3</sub> ilave edilmiştir. İlaveden 1 dakika sonra 1M NaOH'den 1 mL karıştırılarak absorbanslar 510 nm kör deneme örneğine karşı okunmuştur. Toplam flavonoid miktarı µg kuersetin/örnek olarak belirlenmiştir [49].

## 2.5 Toplam Fenolik Madde Analizi

Zeytin yaprağı ekstraktlarına ait toplam fenolik madde analizi için modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Örneklerden 0,25 mL alınarak üzerlerine 3,5 mL saf su ilave edilmiştir. Daha sonra 0,25 Folin reaktifi eklenmiştir. Kör deneme örneğinde ise ekstrakt yerine 0,25 mL %80'lik metanol kullanılmıştır. 3 dk bekledikten sonra 1 mL %20'lik sodyum karbonat ilave edilerek tüpler vortekslenerek 40 dakika boyunca 40 °C' de bekletilmiştir. 40 dakika sonra oluşan mavi renk absorbansı UV spektrofotometre cihazı kullanılarak 685 nm'de kör örneğe karşı ölçülmüştür. Toplam fenolik bileşikler gallik asit kalibrasyon eğrisine göre belirlenmiş ve sonuçlar µg gallik asit/örnek olarak hesaplanmıştır [49]

## 2.6 HPLC ile Fenolik Madde Dağılımı Analizi

Fenolik madde dağılımı analizi için Doğan ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemden yararlanılmıştır. Analizlerde Perkin Elmer 200 series Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihazı, kromatografik ayırım için ise Macherey-Nagel EC 250/4.6 Nucleosil 100-5 C-18 kolon kullanılmıştır [53].

**Tablo 2.2:** HPLC şartları

Standartlar	Dalga boyu	Saf Su (% 0.1 <i>o</i> -fosforik asit)	Asetonitril
Oleuropein	280	% 50	% 50
Kafeik asit	280	% 50	% 50
Vanilik asit	280	% 70	% 30
Gallik Asit	212	% 80	% 20
Rutin hidrat	280	% 70	% 30
Luteolin 7-glikozid	350	% 65	% 35
Tirozol	280	% 30	% 70

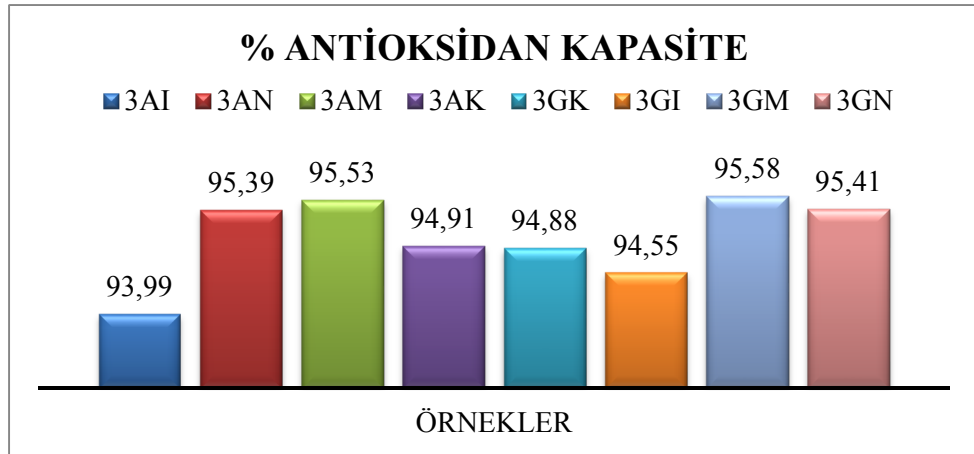
## 2.7 İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistiksel yönden değerlendirilmesinde IBM S.P.S.S statistic 19 programı kullanılmıştır. Farklı yöntemlerle kurutulmuş zeytin yaprakları üzerine gama ışınlarının etkisi üç farklı dozda gama ışını uygulaması yapılarak araştırılmıştır. Gama ışını yapılamamış zeytin yaprakları (kontrol) ile üç farklı dozda gama ışını uygulaması yapılan zeytin yapraklarına ait toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik içerik ve fenolik madde dağılımları kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde Independent samples t (Student t) testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [54]. Elde edilen sonuçlar 0,05 anlam seviyesi göz önünde bulundurularak yorumlanmıştır

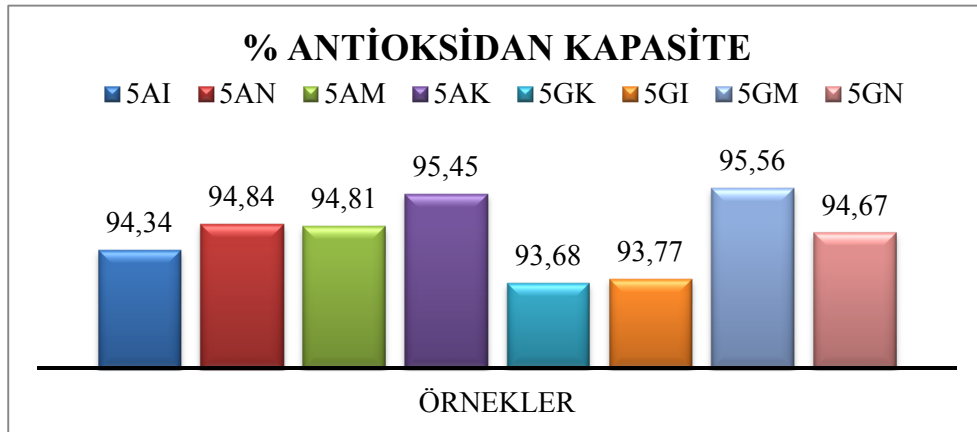
### 3. BULGULAR

#### 3.1 Toplam Antioksidan Aktivite Analizine İlişkin Bulgular

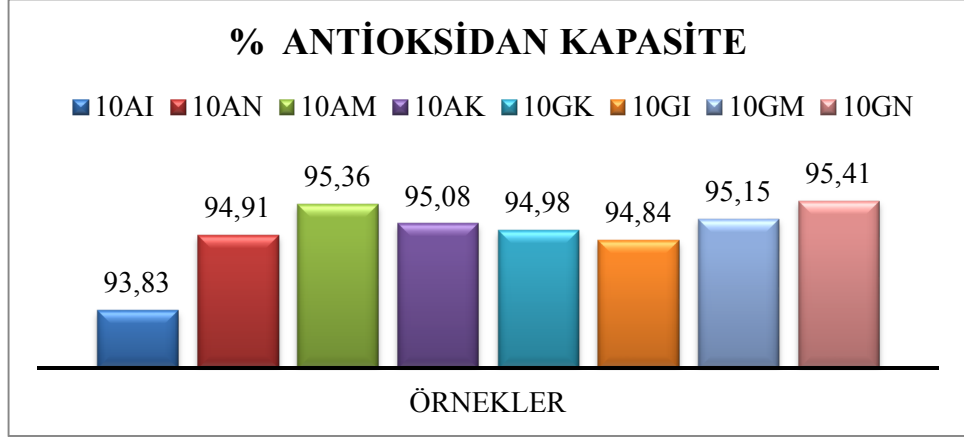
Farklı şekillerde kurutulan ve farklı dozda gama ışını uygulanan zeytin yapraklarına ilişkin toplam antioksidan aktivite analizine ilişkin bulgular Şekil 3.1-Şekil 3.3’ de verilmiştir. Çalışmada gama ışını uygulanmayan zeytin yapraklarına ait toplam antioksidan aktivite ile gama ışını uygulanmış örneklerin toplam antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon incelendiğinde  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1: 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler



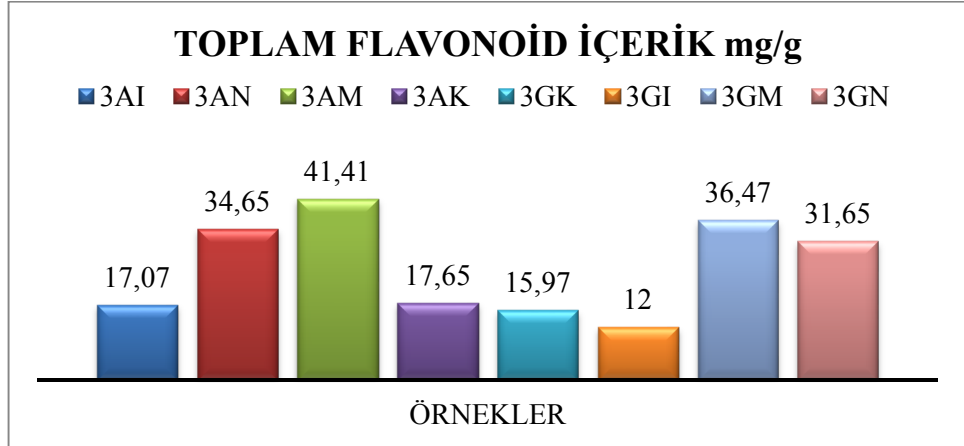
Şekil 3.2: 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler



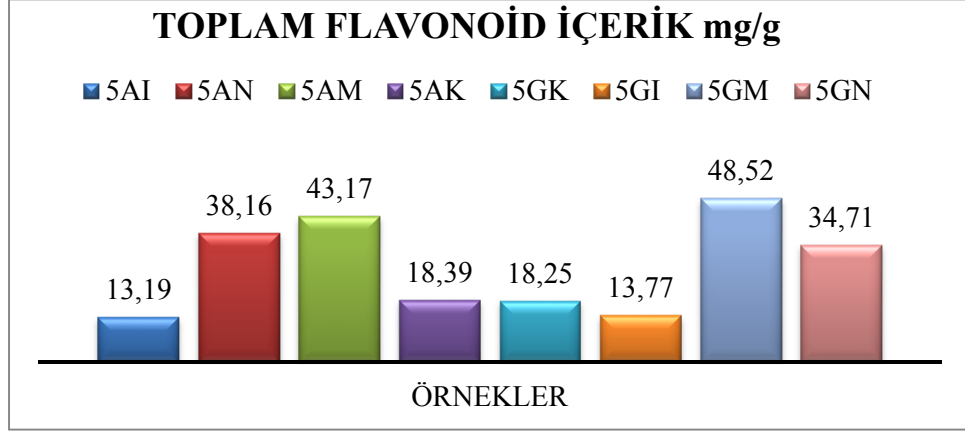
**Şekil 3.3:** 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örnekler

### 3.2 Toplam Flavonoid Madde Analizine İlişkin Bulgular

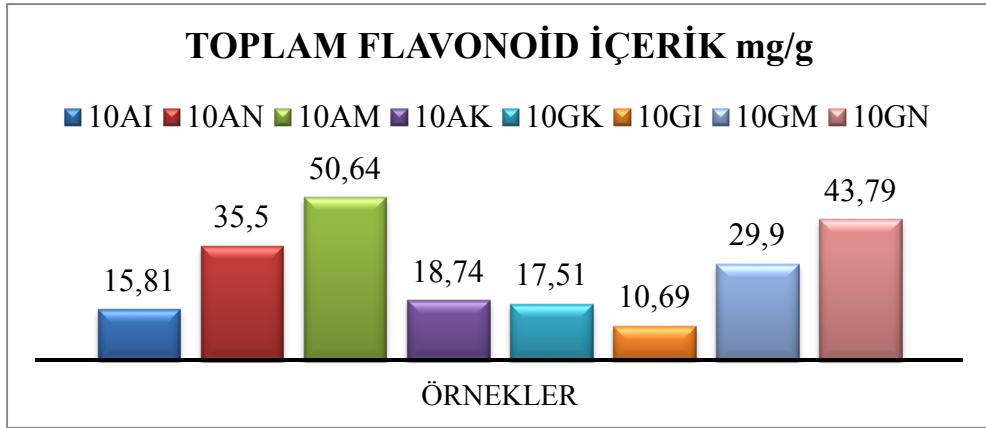
Farklı yöntemlerle kurutulmuş ve farklı dozlarda gama ışını uygulanan Ayvalık ve Gemlik çeşitlerine ait zeytin yapraklarının toplam flavonoid madde analizlerine ilişkin sonuçlar Şekil 3.4 - Şekil 3.6'da verilmiştir.



**Şekil 3.4:** 3 kGy doz uygulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları



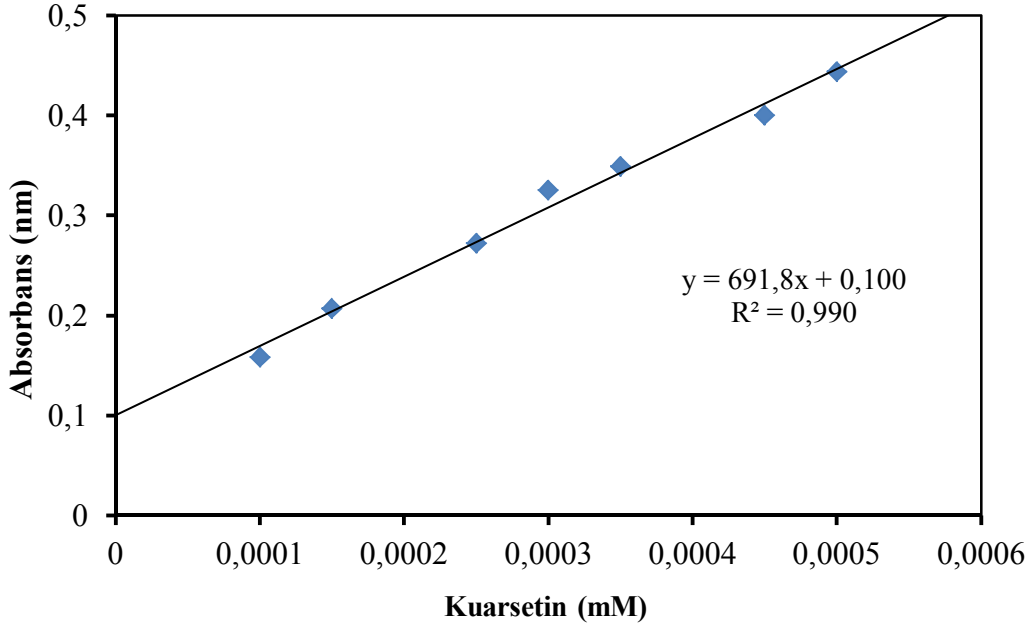
**Şekil 3.5:** 5 kGy doz ugulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları



**Şekil 3.6:** 10 kGy doz ugulanan örneklerin toplam flavonoid madde miktarları

Zeytin yapraklarının toplam flavonoid madde içerikleri kuersetin eşdeğeri cinsinden hesaplanmış ve kuersetinin standart olarak kullanıldığı eğri Şekil 3.7' de gösterilmiştir.

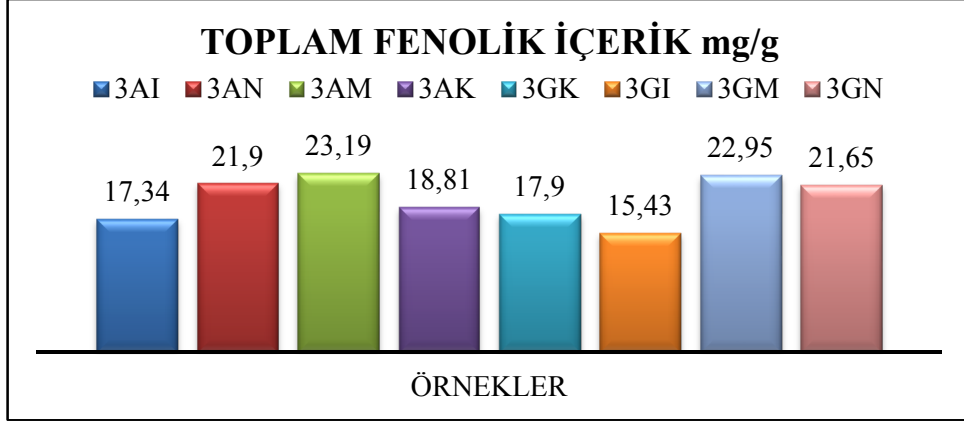




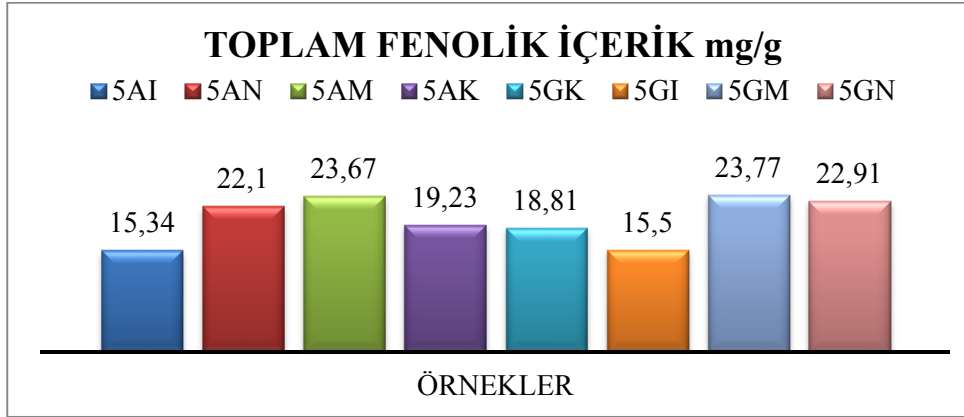
**Şekil 3.7:** Toplam flavonoid madde içeriği hesaplanırken kullanılan kuarsetin standart eğrisi.

### 3.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğine İlişkin Bulgular

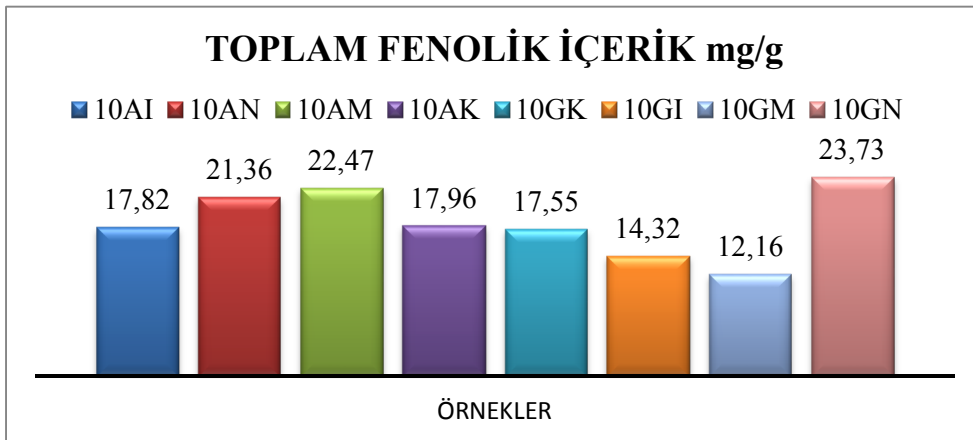
Farklı yöntemlerle kurutulmuş ve farklı dozlarda gama ışını uygulanan Ayvalık ve Gemlik çeşitlerine ait zeytin yapraklarının toplam fenolik madde analizlerine ilişkin sonuçlar Şekil 3.8-Şekil 3.10'da verilmiştir. Araştırmamızda gama ışını uygulanmayan zeytin yapraklarına ait toplam fenolik madde miktarı ile gama ışını uygulanmış örneklerin toplam fenolik madde miktarları arasındaki korelasyon incelendiğinde  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ) olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.8: 3 kGy doz uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları

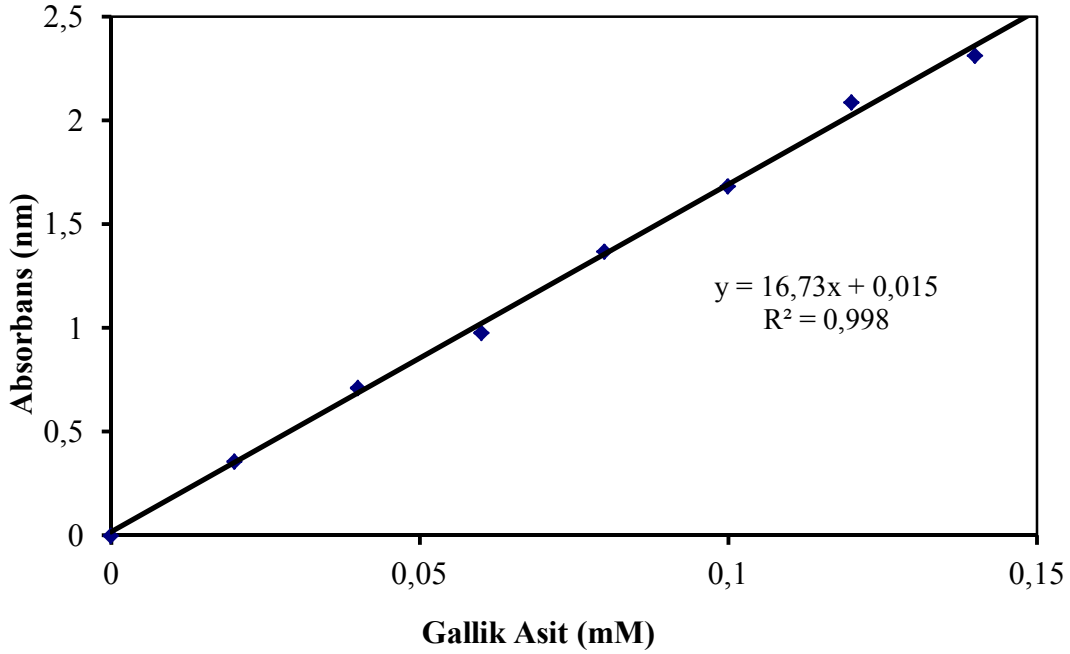


Şekil 3.9: 5kGy doz uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları



Şekil 3.10: 10 kGy doz uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarları

Zeytin yapraklarının toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmış ve gallik asitin standart olarak kullanıldığı eğri Şekil 3.11’ de gösterilmiştir.



**Şekil 3.11:** Toplam fenolik madde içeriği hesaplanırken kullanılan gallik asit standart eğrisi.

### 3.4 Fenolik Madde Dağılımına İlişkin Bulgular

Çalışmamızda farklı yöntemlerle kurutulmuş zeytin yaprakları üzerine gama ışınlarının etkisi üç farklı dozda gama ışını uygulaması ile araştırılmıştır. Buna göre gama ışını uygulaması yapılmayan örnekler için fenolik madde dağılımı ile gama ışını uygulaması yapılmış örneklerin fenolik madde dağılımı kıyaslandığında lüteolin  $p < 0,05$ , kafeik asit  $p > 0,05$ , oleuropein  $p < 0,05$ , tirsol  $p > 0,05$ , gallik asit  $p > 0,05$  olduğu tespit edilmiştir. Farklı yöntemlerle kurutulmuş ve üç farklı dozda gama ışını uygulanan zeytin yapraklarının fenolik madde dağılımı analizlerine ilişkin sonuçlar Tablo 3.1-Tablo 3.7’ de verilmiştir. Kontrol örneklerinin (gama ışını uygulanmamış örneklerin) fenolik madde dağılımları ise Tablo 3.8’ de verilmiştir.

**Tablo 3.1:** Oleuropein miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Oleuropein (mg/g)</b>
3AI	194,68
3AN	423,23
3AM	495,76
3AK	242,71
3GI	-
3GN	431,4
3GM	-
3GK	154,51
5AI	244,9
5AN	459,18
5AM	649,9
5AK	180,18
5GI	155,34
5GN	419,09
5GM	510,27
5GK	181,75
10AI	167,61
10AN	378,18
10AM	546,21
10AK	188,68
10GI	181,83
10GN	369,76
10GM	469,27
10GK	168,15

**Tablo 3.2:** Kafeik asit miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Kafeik Asit (mg/g)</b>
3AI	1,65
3AN	3
3AM	3
3AK	2,4
3GI	1,2
3GN	2,7
3GM	1,8
3GK	1,8
5AI	2,85
5AN	1,8
5AM	4,05
5AK	1,95
5GI	1,65
5GN	2,4
5GM	2,7
5GK	1,95
10AI	2,7
10AN	2,7
10AM	4,35
10AK	3,
10GI	3,15
10GN	3,15
10GM	3,15
10GK	3

**Tablo 3.3:** Tirozol miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Tirozol (mg/g)</b>
3AI	4,56
3AN	5,52
3AM	8,4
3AK	5,64
3GI	3,72
3GN	5,4
3GM	6,12
3GK	4,08
5AI	3,72
5AN	6,24
5AM	4,68
5AK	5,04
5GI	3,84
5GN	6,84
5GM	8,64
5GK	4,56
10AI	6,96
10AN	6,24
10AM	11,04
10AK	6,96
10GI	5,16
10GN	6,36
10GM	3,96
10GK	4,8

**Tablo 3.4:** Rutin hidrat miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Rutin Hidrat (mg/g)</b>
3AI	8,1
3AN	11,55
3AM	9,15
3AK	8,85
3GI	4,95
3GN	17,1
3GM	11,25
3GK	10,05
5AI	13,5
5AN	11,55
5AM	16,95
5AK	6,75
5GI	4,65
5GN	9,6
5GM	-
5GK	10,05
10AI	25,2
10AN	13,8
10AM	16,95
10AK	16,5
10GI	9,9
10GN	18
10GM	9,6
10GK	19,5

**Tablo 3.5:** Vanilik asit miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Vanilik Asit (mg/g)</b>
3AI	-
3AN	4,8
3AM	4,8
3AK	6,
3GI	5,
3GN	5,1
3GM	5,7
3GK	6
5AI	2,83
5AN	6,45
5AM	2,85
5AK	2,1
5GI	4,8
5GN	2,4
5GM	1,5
5GK	2,55
10AI	-
10AN	-
10AM	-
10AK	-
10GI	-
10GN	-
10GM	-
10GK	-



**Tablo 3.6:** Gallik asit miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Gallik Asit (mg/g)</b>
3AI	0,3
3AN	0,3
3AM	0,375
3AK	0,15
3GI	0,3
3GN	0,3
3GM	0,525
3GK	0,225
5AI	0,375
5AN	0,225
5AM	0,375
5AK	0,225
5GI	0,3
5GN	0,3
5GM	0,375
5GK	0,225
10AI	0,3
10AN	0,225
10AM	0,3
10AK	0,225
10GI	0,3
10GN	0,225
10GM	0,375
10GK	0,225

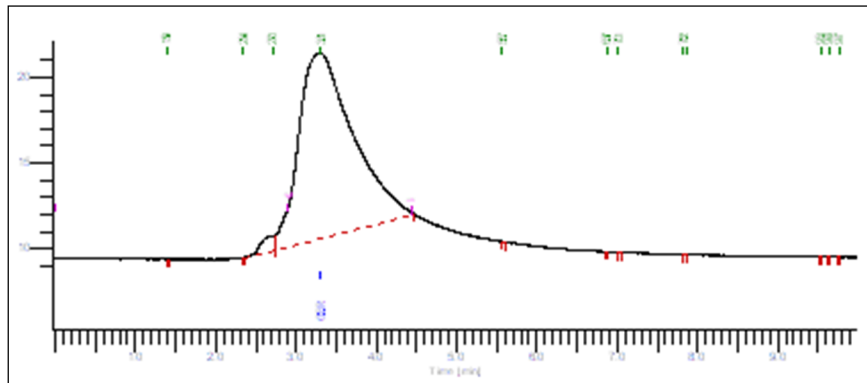
**Tablo 3.7:** Luteolin 7-glukozid miktarı.

<b>Örnekler</b>	<b>Luteolin 7-glukozid (mg/g)</b>
3AI	26,59
3AN	39,15
3AM	41,42
3AK	34
3GI	17,48
3GN	42,53
3GM	-
3GK	20,15
5AI	49,24
5AN	37,65
5AM	57
5AK	27,72
5GI	32,08
5GN	40,91
5GM	49,73
5GK	29,45
10AI	33,87
10AN	33,41
10AM	45,18
10AK	34,74
10GI	31,78
10GN	34,49
10GM	36,25
10GK	27,16

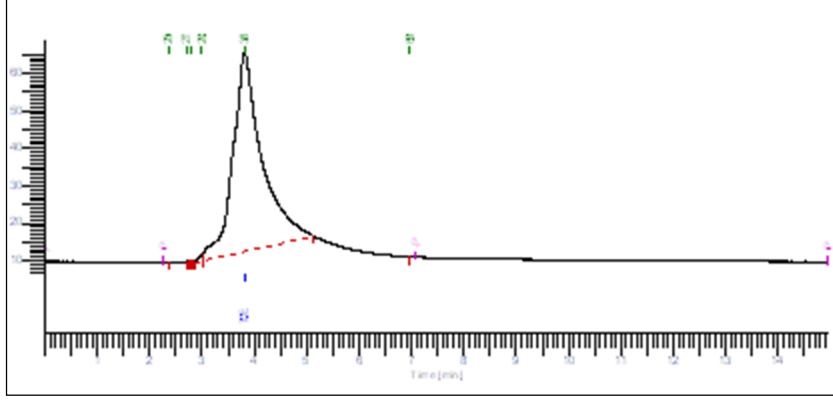
**Tablo 3.8:** Kontrol grubu (gama ışını uygulanmamış) fenolik madde dağılımı

	<b>Oleuropein</b> mg/g	<b>Kafeik</b> Asit mg/g	<b>Tirozol</b> mg/g	<b>Rutin</b> Hidrat mg/g	<b>Gallik</b> Asit mg/g	<b>Luteolin</b> 7-glukozid mg/g
<b>AI</b>	552,6	3,72	5,88	5,4	0,3	4,08
<b>AN</b>	564,12	5,16	8,88	7,08	0,3	11,88
<b>AM</b>	544,4	5,4	9,12	4,44	0,4	16,56
<b>AK</b>	453	3,48	6,72	5,4	0,4	11,4
<b>GI</b>	223,32	4,32	5,4	6,12	0,3	2,76
<b>GN</b>	312,48	4,2	5,88	7,92	0,3	12
<b>GM</b>	338,16	4,92	8,76	7,08	0,5	10,02
<b>GK</b>	347,28	3,84	5,52	6,84	0,3	2,04

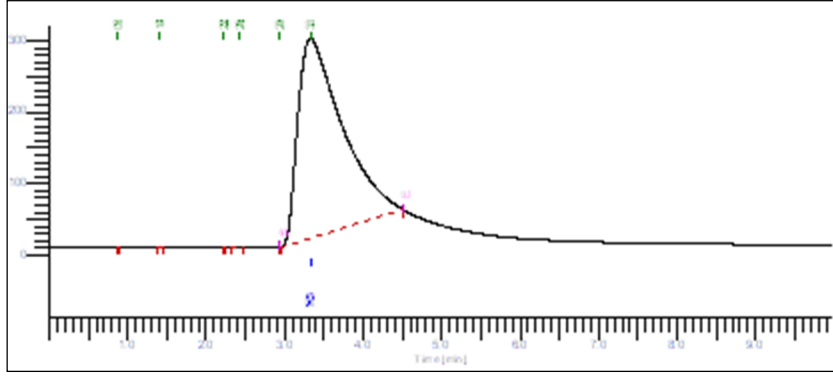
Fenolik standart maddelerine ilişkin HPLC pikleri sırasıyla Şekil 3.12 - Şekil 3.18' da verilmiştir.



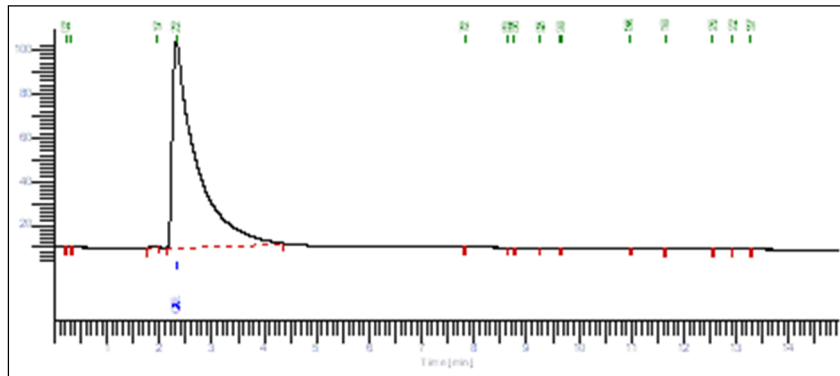
**Şekil 3.12:** Oleuropeinin standart HPLC piki (3.30 dk.).



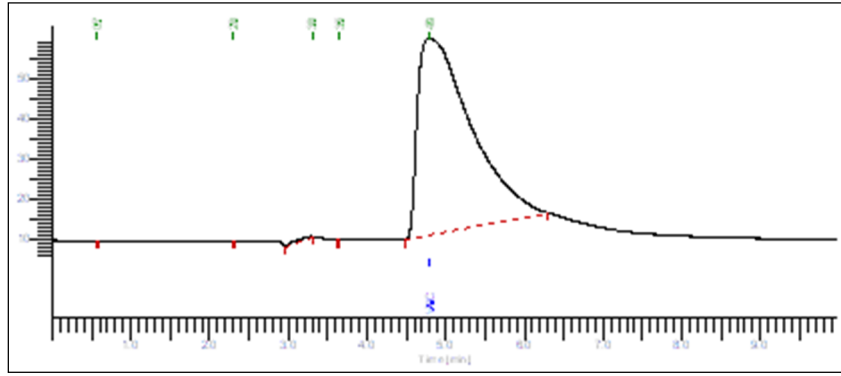
Şekil 3.13: Luteolin-7 glikozidin standart HPLC piki (3.81 dk.).



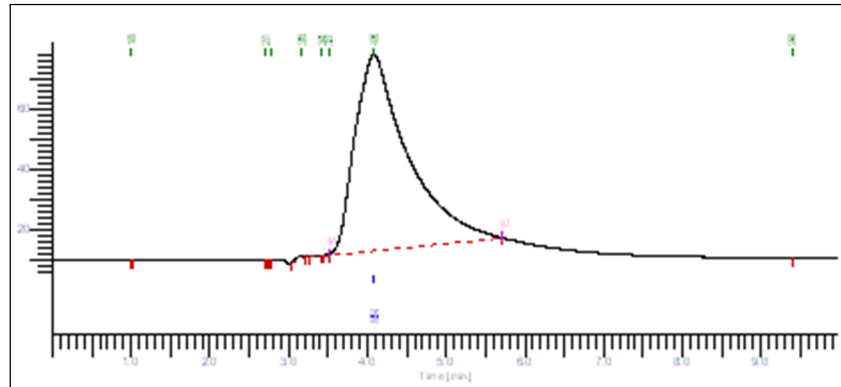
Şekil 3.14: Tirozolün standart HPLC piki (3.32).



Şekil 3.15: Kafeik asitin standart HPLC piki (2.32 dk.).



Şekil 3.16: Vanilik asidin standart HPLC piki (4.78 dk).



Şekil 3.17: Rutin hidratın standart HPLC piki (4.08 dk).

## 4. SONUÇ TARTIŞMA

Çalışmamızda Ayvalık ve Gemlik çeşidine ait zeytin ağaçlarından toplanan, farklı şekillerde kurutulan ve üç farklı dozda gama ışını uygulanan yaprakların içerdiği fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitenin nasıl değiştiğini belirlemek amaçlanmıştır. Analizler sonucu ortaya çıkan veriler karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve birbirleri ile kıyaslanmıştır.

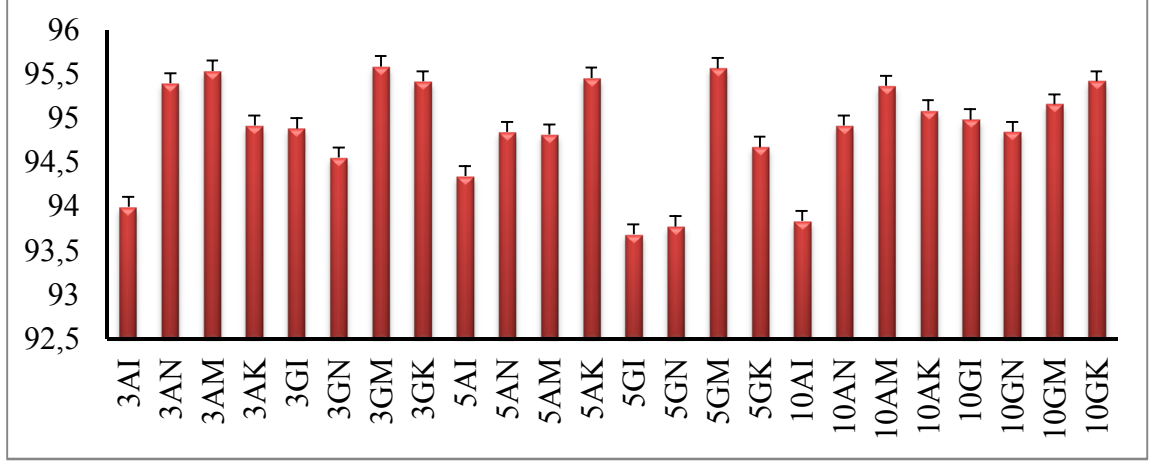
Antioksidan kapasitenin ve fenolik bileşiklerin tayini için zeytin yapraklarının ekstraksiyonu oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmada yapılacak olan ekstraksiyon yöntemi iyi belirlenmelidir. Yapılan literatür taramasında metanollü çözeltilerin etanollü çözeltilere göre çözücü olarak daha iyi sonuç verdiği tespit edildiğinden çalışmamızda da saf su/metanol (20/80) tercih edilmiştir.

Çalışmada kullanılan örneklerin ekstraktlarında analiz edilmiş antioksidan kapasite, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, oleuropein, kafeik asit, rutin hidrat, tirozol, vanilik asit, luteolin 7-glukozid ve gallik asit miktarları için elde edilmiş sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

### 4.1 Antioksidan Aktivite

Çalışmada gama ışını uygulanmayan zeytin yapraklarına ait toplam antioksidan aktivite ile gama ışını uygulanmış örneklerin toplam antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon incelendiğinde  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ) olarak tespit edilmiştir. Gama uygulaması yapılmış örneklerin antioksidan kapasitene ait bulgular Şekil 4.1' de verilmiştir. Bu verilere göre 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek antioksidan aktivitenin Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu belirlenmiştir. 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde ise en yüksek antioksidan aktivite konveksiyonel ısıtıcı yöntemi ile kurutulan Ayvalık çeşidinde, Gemlik çeşidinde ise mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. Son olarak 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek antioksidan aktivite mikrodalga yöntemi ile

kurutulan Ayvalık çeşidinde, Gemlik çeşidinde ise normal şartlarda kurutulan örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.1’deki verilere bakılarak genellikle en yüksek antioksidan aktivitenin her iki çeşitte de mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1: Örneklerin % antioksidan aktiviteleri.

Tablo 4.1: Literatürdeki bazı bitkilerin antioksidan kapasiteleri.

Örnek	Antioksidan Kapasite (%)	Referans
Taze Zeytin Yaprağı	49.94 - 55.5	[55]
Farklı Yollarla Kurutulmuş Zeytin Yaprağı	82.76 - 93.42	[20]
Zeytin Yağı	69.66	[56]
Dondurulmuş Zeytin Yaprağı	76.3	[57]
Dondurulmuş Zeytin Yaprağı	53.86 - 91.38	[18]
Gama Işını Uygulanmış Kuru Zeytin Yaprakları	93.83 - 95.56	Çalışmamız

Tablo 4.1’de literatürde ve çalışmamızda gözlenen antioksidan kapasite değerleri verilmiştir. Brahmi ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları çalışmalarında taze zeytin yaprağının antioksidan kapasitesini % 49.94 - % 55.5 olarak belirlemişlerdir [55]. Kara çalışmasında farklı yollarla kurutulmuş olan Ayvalık ve

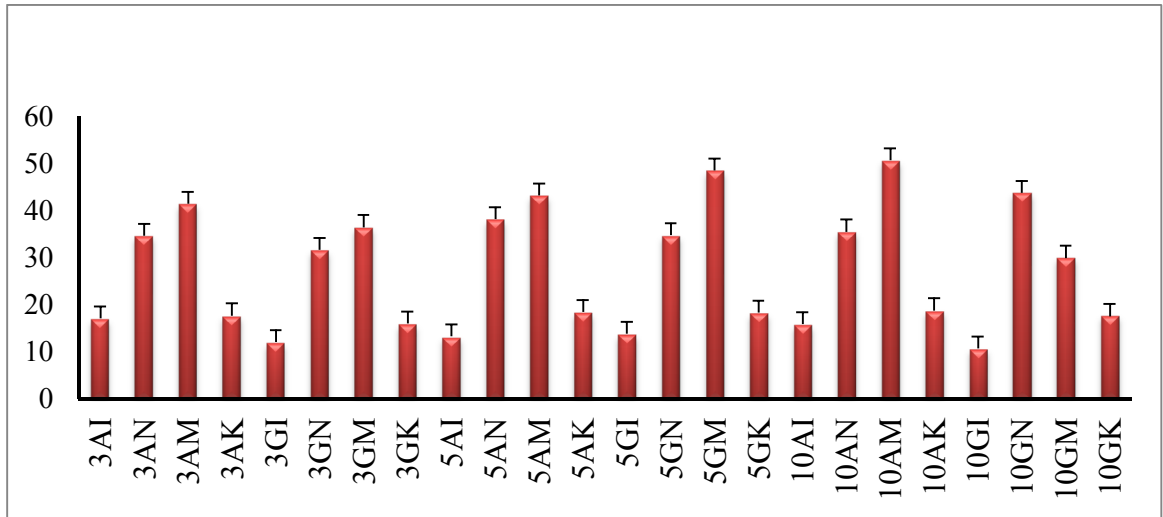
Gemlik çeşitlerine ait kuru zeytin yapraklarında antioksidan kapasiteyi % 82.76-% 93.42 olarak tespit etmiştir [20]. Bubonja-Sonje ve arkadaşları zeytinyağının antioksidan kapasitesinin belirledikleri çalışmalarında antioksidan kapasiteyi %69.66 olarak hesaplamışlardır [56]. Malheiro ve arkadaşları araştırmalarında dondurulmuş zeytin yaprağının antioksidan kapasitesini % 76.3 olarak bulmuşlardır [57]. Saygın ise 2009 yılında yaptığı çalışmada dondurulmuş zeytin yaprağının antioksidan kapasitesini % 73.86 - % 91.38 olarak belirlemiştir [18] Çalışmamızda gama ışını uygulanan kuru zeytin yapraklarındaki antioksidan kapasitenin ise % 93.83 - % 95.56 aralığında olduğu görülmektedir. Yukarıdaki literatür verilerine bakıldığında gama ışını uygulanan örneklerdeki antioksidan aktivitenin yüksek olduğu göze çarpmaktadır. E. Mi Lee ve arkadaşlarının 2012 yılında *Aleo vera* bitkisiyle yaptığı çalışmada gama ışını kullanımının antioksidan aktiviteyi arttırdığı belirtilmiştir [45]. E. Mi Lee ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada da 20 kGy kadar gama ışını uygulamasının *Beta vulgaris*' deki antioksidan aktiviteyi arttırdığı görülmektedir. K., F. Khattak ve arkadaşlarının 2008 yılında çörek otu (*Nigella sativa*) ile yaptığı çalışmada 16 kGy doza kadar uygulanan gama ışınının hem antioksidan aktiviteyi hem de fenolik madde içeriğini arttırdığı saptanmıştır [47]. Bu sonuçlarla kıyasladığımızda çalışmamızın sonuçları yukarıdaki literatürler ile uygunluk göstermektedir. K., F. Khattak ve arkadaşları *Nigella sativa*' nın farklı ekstraksiyon çözeltileride gama ışınının etkisini değerlendirmeye çalışmışlardır. Metanollü ekstraktlara uygulanan gama ışınının antioksidan aktiviteyi arttırmasının bazı yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerin degradasyonundan ve bu bileşenlerin çözücülerde çözünemez formdan çözünebilir forma değişmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir [47]. Genellikle, gama ışını uygulamasından sonraki radikal yakalama kapasitesinin artışı yeni bileşiklerin oluşumuyla ilişkilidir [45]

Fenolik bileşikler, bitkilerde geniş dağılım gösteren, sebze ve meyvelerde renk ve tat oluşumuna katkıda bulunan bileşiklerdir. Bu bileşikler bitkide turuncu, kırmızı ve mavi renklerin oluşumunda görevlidirler. Ayrıca hücre duvarının yapısallaşmasında rol oynadıkları gibi (örneğin ligninleşme) biyotik ve abiyotik durumlarında, yüksek ışık zararı, UV radyasyon, patojen hücumu, besin eksikliği, düşük sıcaklık, mekaniksel zararlarda bitkilerde savunma görevini de üstlenirler [58]. Flavonoid ve fenolik maddeler genel olarak oldukça yüksek antioksidan etki gösterirler. Bu yüzden bir bitkide bulunan toplam flavonoid ve fenolik madde içeriği



hakkında elde edilen bilgiler çok önemlidir. Çünkü elde edilen bu bilgilerle bitkinin sahip olduğu antioksidan kapasite hakkında bir varsayımda bulunulabilir.

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi toplam flavonoid içeriğin kurutma yöntemine ve uygulanan gama ışını miktarına göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. 3, 5 ve 10 kGy dozda gama ışını uygulanan Ayvalık çeşidinde toplam flavonoid içerik en fazla mikrodalga yöntemiyle kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. Gemlik çeşidinde ise 3, 5 kGy dozda en fazla flavonoid içerik mikrodalaga, 10 kGy de ise normal şartlar altında kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. Şekil 4.2’ ye bakıldığında, antioksidan aktivitede olduğu gibi toplam flavonoid madde içeriğinin de mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2: Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı mg/g.

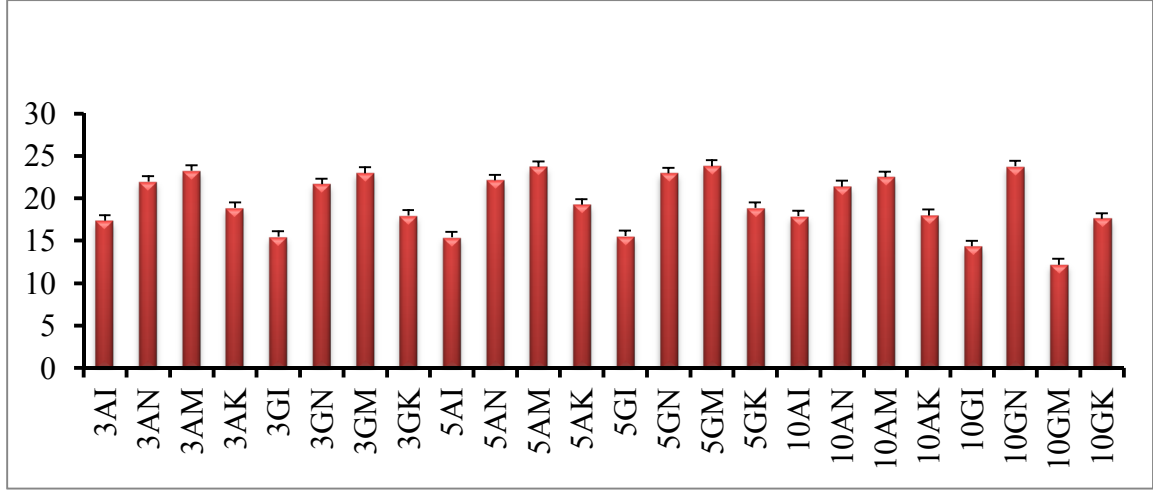
**Tablo 4.2:** Literatürdeki bazı bitkilerin toplam flavonoid madde içerikleri.

Örnek	Toplam Flavonoid (mg/g)	Referans
Gemlik Çeşiti Zeytin Özütü	14,19 - 22,16	[59]
Zeytin Yağı	11,2	[60]
Kuru Zeytin Yaprağı	19	[61]
Gama Işını Uygulanmış Zeytin Yaprağı	18.65 - 18.68	[3]
Gama Işını Uygulanmış Kuru Zeytin Yaprağı	12 – 50,64	Çalışmamız

Tablo 4.2’ de verilen sonuçlar kıyaslandığında birbirinden farklı sonuçlar görülmektedir. Gökce 2009 yılında gemlik çeşiti zeytin özütü ile yaptığı çalışmada toplam flavonoid madde içeriğini 14,19 - 22,16 mg/g bulmuştur [59]. Bu çalışmada değerler arasındaki farkın çalışma da kullanılan farklı çözücülerden kaynaklandığı düşünülmektedir. 2014 yılında Bazylko ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise toplam flavonoid içerik 11,2 mg/g tespit edilmiştir [60] Lee ve arkadaşları 2009’da kuru zeytin yapraklarındaki toplam flavonoid içeriği 19 mg/g olarak belirlemişlerdir [60]. Aouidi ve arkadaşlarının 2011’de gama ışını uyguladıkları zeytin yaprağındaki toplam flavonoid içeriği 18.65 mg/g - 18.68 mg/g olarak tespit etmişleridir [3] Çalışmamızda gama ışını uygulanan kuru zeytin yapraklarındaki flavonoid madde miktarı ise 12 mg/g – 50,64 mg/g aralığında olduğu görülmektedir.

Araştırmamızda gama ışını uygulanmayan zeytin yapraklarına ait toplam fenolik madde miktarı ile gama ışını uygulanmış örneklerin toplam fenolik madde miktarları arasındaki korelasyon incelendiğinde  $p < 0,05$  ( $p = 0,00$ ) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada toplam fenolik madde içeriğine ait bulgular ise Şekil 4.3’ de verilmiştir. Aynı toplam flavonoid madde içeriğinde olduğu gibi toplam fenolik madde içeriği de kurutma yöntemi ve uygulanan gama ışını miktarına göre farklılık göstermektedir. 3, 5 ve 10 kGy dozda gama ışını uygulanan Ayvalık çeşidinde

toplam fenolik içerik en fazla mikrodalga yöntemiyle kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. Gemlik çeşitinde ise 3, 5 kGy dozda fenolik içerik en fazla mikrodalga, 10 kGy de ise konveksiyonel ısıtıcı altında kurutulan örneklerde tespit edilmiştir.



Şekil 4.3: Örneklerin toplam fenolik madde miktarı mg/g.

Tablo 4.3: Literatürdeki bazı bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri.

Örnek	Toplam Fenolik (mg/g)	Referans
Zeytin Yaprağı Ekstreli Yoğurt	0,85 – 1,14	[62]
Gama Işını Uygulanmış Zeytin Yaprağı	50,11	[3]
Zeytin Yaprağı	21,6 - 43,4	[63]
Farklı Yollarla Kurutulmuş Zeytin Yaprağı	1,65 – 4,06	[20]
Gama Işını Uygulanmış Kuru Zeytin Yaprağı	12,16 – 23,73	Çalışmamız

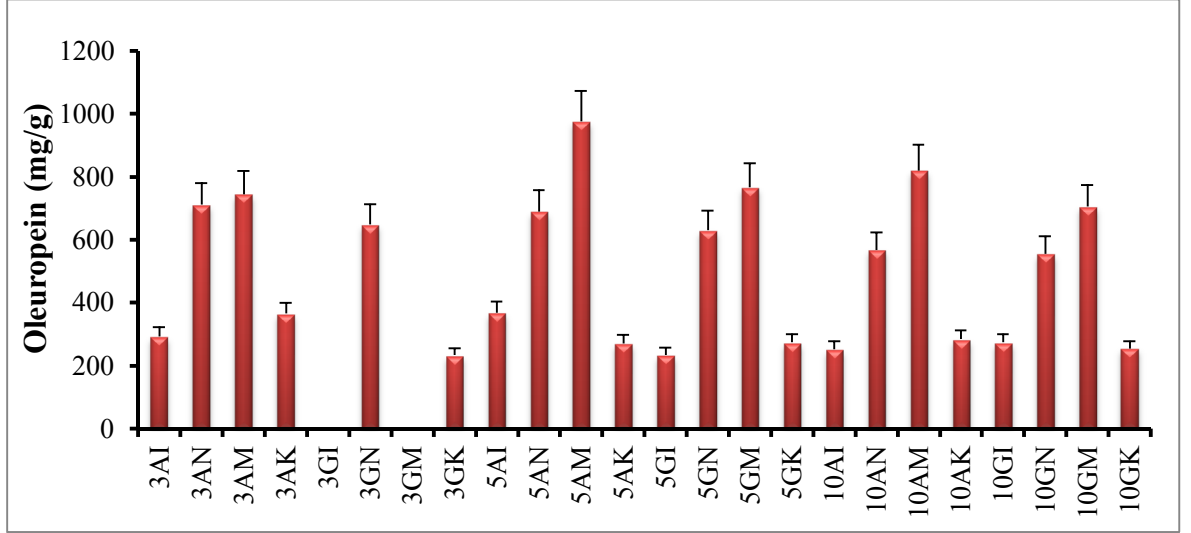
Tablo 4.3’ de çalışmamızda elde edilen toplam fenolik madde içerikleri ile literatürdeki bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlar verilmiştir. Peker 2012’de yaptığı çalışmada zeytin yaprağı eksteri kullanarak hazırladığı meyveli yoğurtta toplam fenolik madde içeriğini 0,85 - 1,14 mg/g olarak tespit etmiştir. Aouidi ve arkadaşlarının 2011’de gama ışını uyguladıkları zeytin yapraklarındaki fenolik

madde içeriğini 50,11 mg/g olarak belirlemişlerdir. 2013’de Serrana cinsi zeytin yaprakları üzerinde çalışma yapan Qasem ve arkadaşları toplam fenolik madde içeriğini 21,6–43,4 mg/g arasında olduğunu, Kara ise kuru zeytin yapraklarındaki fenolik madde içeriğini 1,65 - 4,06 mg/g olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda ise fenolik madde içeriğini 12,16 - 23,73 mg/g olarak belirledik. Özellikle Kara’ nın 2013’ de yaptığı çalışma ile sonuçlarımız kıyaslandığında gama ışınının toplam fenolik madde içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir. Fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasite arasında ki ilişki düşünüldüğünde, fenolik madde içeriğinin yüksek olması antioksidan kapasitenin de yüksek olmasını sağladığı açıkça görülmektedir.

#### **4.2 Fenolik Madde Dağılımı**

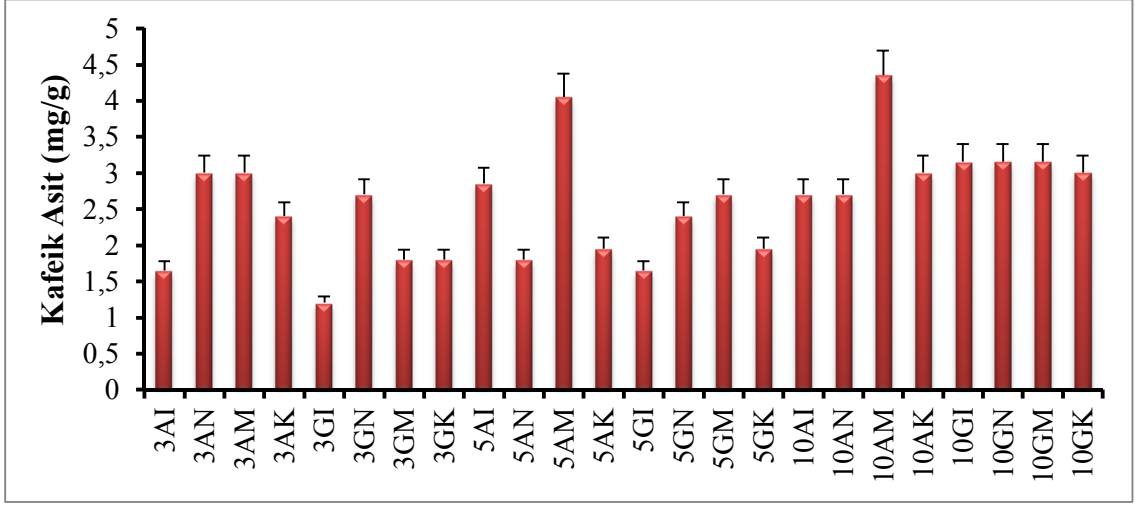
HPLC ile fenolik bileşim analizlerine bakıldığında birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Her bir fenolik bileşik aynı ekstraksiyon yöntemi sonrası HPLC’ye enjekte edilmiştir. Her bir standart fenolik bileşik için farklı kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Böylece ekstraktlardaki net miktara yakın bir değer elde edebilebileceği düşünülmüştür. Aşağıda fenolik madde dağılımları ve literatürle karşılaştırmaları verilmiştir.

Analizler sonucu elde edilen verilere göre oleuropein miktarı Şekil 4.4’ de verilmiştir. Bu verilere göre 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek oleuropein miktarı mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu belirlenmiştir. 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde ise en yüksek oleuropein miktarı Ayvalık ve Gemlik çeşidinde mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. Son olarak 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek oleuropein miktarı ise yine Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde mikrodalga yöntemi ile olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.4’ teki verilere bakılarak en yüksek oleuropein her iki çeşitte de mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu görülmektedir. Ayrıca genel olarak fenolik maddelere bakıldığında, yaprakta en fazla bulunan fenolik maddenin oleuropein olduğu tespit edilmiştir. Literatürde (Tablo 4.4) elde edilen verilere bakıldığında yine yaprakta en fazla bulunan maddenin oleuropein olduğu görülmüştür.



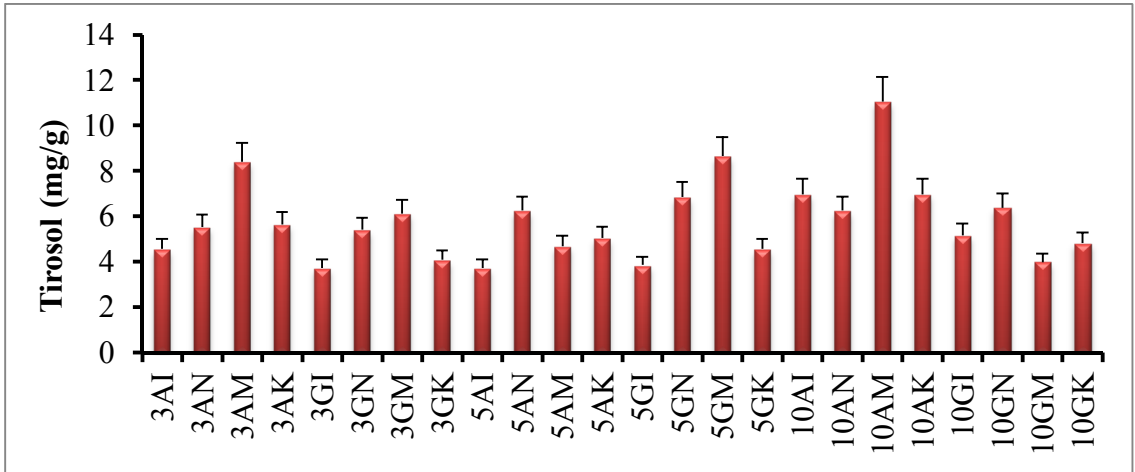
**Şekil 4.4:** Oleuropein miktarı mg/g.

Kafeik asit miktarlarına bakıldığında 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek kafeik asit miktarı Ayvalık çeşitinde mikrodalga ve normal şartlar, Gemlik çeşitinde ise mikrodalga ve konveksiyonel ısıtıcı yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu belirlenmiştir. 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde ise en yüksek kafeik asit miktarı Ayvalık ve Gemlik çeşidinde mikrodalga yöntemi ile kurutulan kurutulan örneklerde tespit edilmiştir. 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek kafeik asit miktarı ise yine Ayvalık çeşitinde mikrodalga, Gemlik çeşitinde ise infrared, mikrodalga ve konveksiyonel ısıtıcı yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu belirlenmiştir. Genel olarak bakıldığında en yüksek kafeik asit miktarı her iki çeşitte de mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.5:** Kafeik Asit miktarı mg/g.

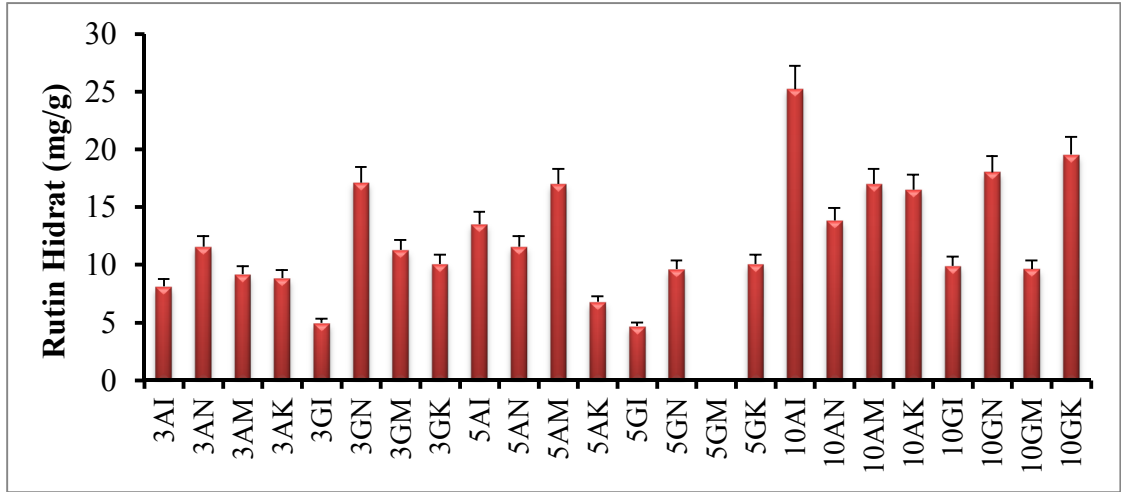
Şekil 4.6’ da verilen tirozol miktarlarına bakıldığında 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek tirozol miktarı Ayvalık ve Gemlik çeşitinde mikrodalga, 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek tirozol miktarı Ayvalık çeşitinde normal şartlar Gemlik çeşitinde mikrodalga, 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek tirozol miktarının Ayvalık çeşitinde mikrodalga Gemlik çeşitinde normal şartlar altında kurutulan örneklerde olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.6:** Tirozol miktarı mg/g.

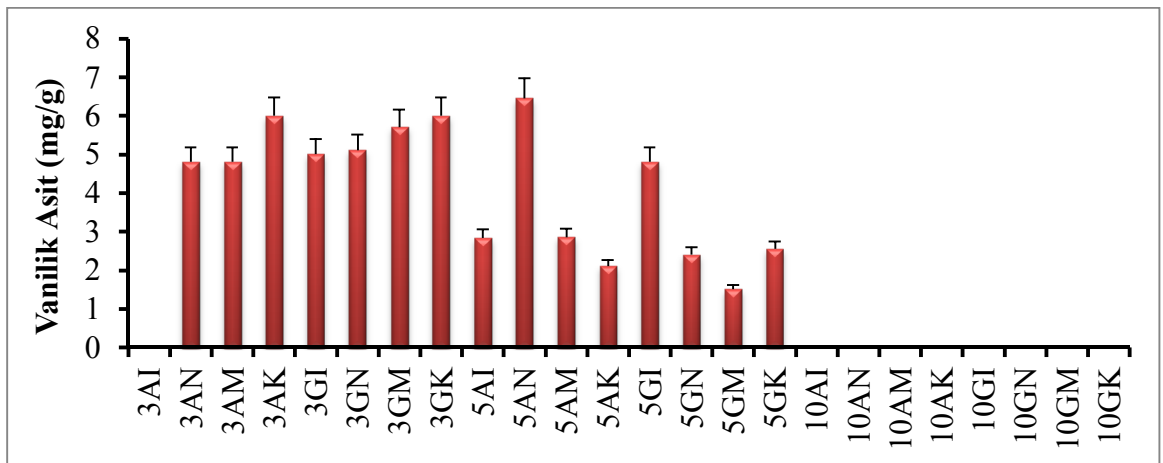
Rutin hidrat miktarına ait bulgular Şekil 4.7’ de verilmiştir. Analiz sonucu 3 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek rutin hidrat miktarı Ayvalık ve Gemlik çeşitinde normal şartlar, 5 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en

yüksek rutin hidrat miktarı Ayvalık çeşitinde mikrodalga Gemlik çeşitinde normal şartlar ve konveksiyonel ısıtma, 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde en yüksek rutin hidrat miktarı Ayvalık çeşitinde infrared Gemlik çeşitinde ise konveksiyonel ısıtma yöntemiyle kurutulan örnekler olduğu tespit edilmiştir.



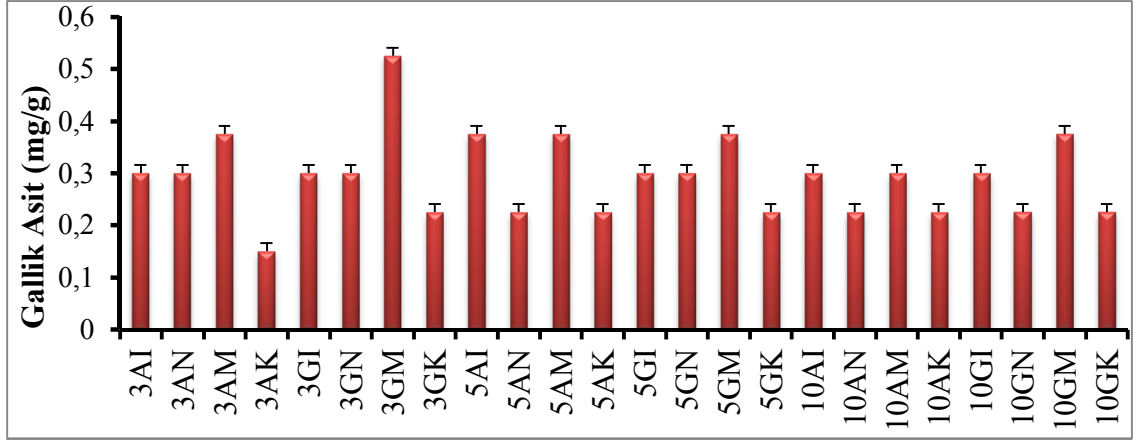
Şekil 4.7: Rutin hidrat miktarı mg/g.

Şekil 4.8' e göre en fazla vanilik asit miktarı konveksiyonel ısıtıcı ile kurutulan ve 3 kGy dozda gama ışını uygulanan Ayvalık ve Gemlik çeşitinde, normal şartlar altında kurutulan ve 5 kGy dozda gama ışını uygulanan Ayvalık, infrared kurutucu ile kurutulan Gemlik çeşitinde tespit edilmiştir. 10 kGy dozda gama ışını uygulanan örneklerde vanilik asit miktarı ölçülemediği görülmüştür.



Şekil 4.8: Vanilik asit miktarı mg/g.

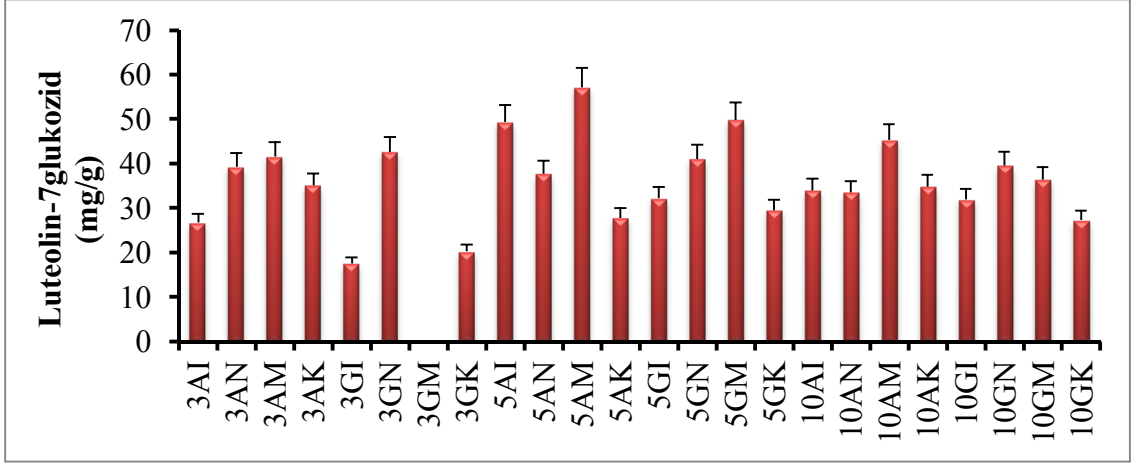
Gallik asit miktarına bakıldığında 3 farklı doz uygulanan her iki çeşitte de en yüksek gallik asit miktarı mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm sonuçlar göz önüne alındığında zeytin yaprağında en az miktarda bulunan bileşiğin gallik asit olduğu tespit edilmiştir.



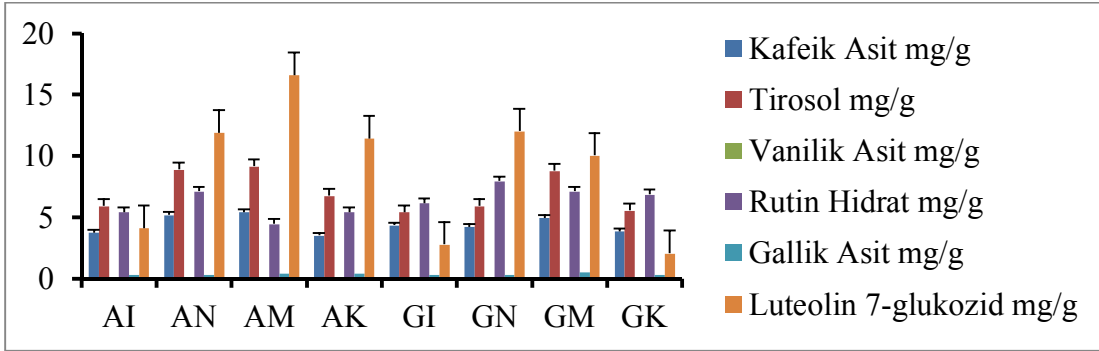
Şekil 4.9: Gallik asit miktarı mg/g.

Son olarak Luteolin 7-glukozid miktarına bakıldığında (Şekil 4.10), aynı gallik asitte olduğu gibi 3 farklı doz uygulanan her iki çeşitte de en yüksek Luteolin 7-glukozid miktarı mikrodalga yöntemi ile kurutulan örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm sonuçlar ele alındığında zeytin yaprağında oleuropeinden sonra en fazla miktarda bulunan bileşiğin Luteolin 7-glukozid olduğu tespit edilmiştir. Literatürde (Tablo 4.4) elde edilen verilere bakıldığında yine yaprakta oleuropeinden sonra en fazla miktarda bulunan bileşiğin Luteolin 7-glukozid olduğu görülmüştür ki bu da çalışmamızla olan paralellliğini göstermektedir.

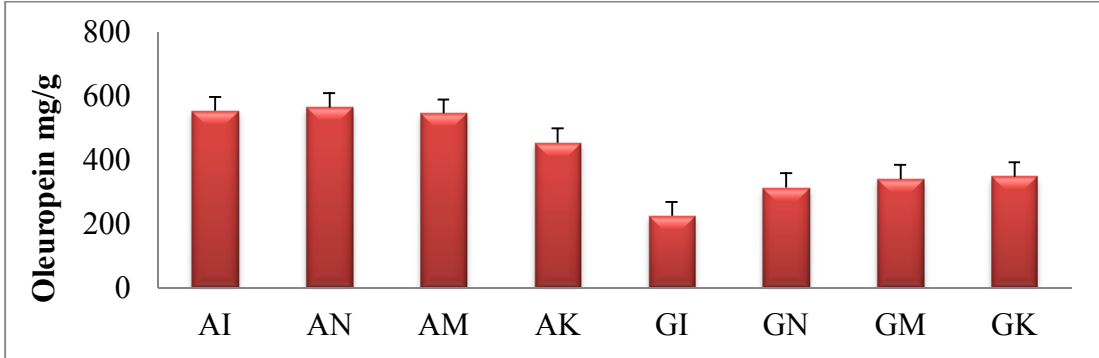




Şekil 4.10: Luteolin 7-glukozid miktarı mg/g.



Şekil 4.11: Kontrol örneklerinin fenolik madde dağılımı mg/g



Şekil 4.12: Kontrol grubu örneklerin Oleuropein miktarı mg/g

Fenolik madde içeriklerinin miktarları (oleuropein, kafeik asit, tirozol, vanilik asit, rutin hidrat, gallik asit, luteolin 7-glukozid) kontrol grubunda (gama ışını uygulanmamış örnekler) ve gama ışını uygulanmış örneklerde tespit edilmeye çalışılmıştır. Fenolik madde dağılımı ile ilgili literatürler tarandığında çalışmamızda da zeytin yaprağı ekstraktında en fazla bulunan fenolik bileşiğin oleuropein olduğu,

miktarının 154,51 mg/g - 649,9 mg/g aralığında değiştiği belirlenmiştir. Stamatopoulos ve arkadaşlarının 2012 yılında taze zeytin yaprakları ile yapılan çalışmalarında oleuropein miktarını 8,28 g/kg - 29,79 mg/kg olarak belirtmişlerdir [64]. 2006 yılında yapılan bir başka çalışmada ise Lujan ve arkadaşları 40°C' de kuruttukları zeytin yaprağındaki oleuropein miktarını 27,96 mg/g - 30,68 mg/kg olarak rapor etmişlerdir [65]. Kontrol örneklerimizde ise oleuropein miktarı 223,32 mg/g- 544,4 aralığında belirlenmiştir. Çalışmamız sonucunda elde edilen oleuropein miktarı yapılan diğer çalışmalarla kıyaslandığında gama ışının oleuropein miktarını anlamlı bir şekilde arttırdığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Çalışmada miktarı belirlenen diğer bir fenolik molekül olan kafeik asitin 1,65 mg/g – 4,35 mg/g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneklerinde kafeik asit miktarı 3,48 mg/g- 5,4 mg/g aralığında tespit edilmiştir. Elde edilen veriler kıyaslandığında gama ışınının kafeik asit miktarına herhangi bir etkisi olmamıştır ( $p>0,05$ ) Oleuropeinden sonra en fazla bulunan bileşik luteolin 7-glukozid miktarının 26,22 mg/g - 74,6 mg/g aralığında değiştiği görölmektedir. Lujan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada luteolin 7-glukozid miktarının 10,42 g/kg – 10,63 g/kg, kontrol ise 2,04mg/g -16,56 mg/g arasında olduğu belirtilmiştir. Kontrol örneklerinde luteolin 7 glukozid miktarı 2,04 mg/g- 16,56 mg/g aralığında tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar çalışmamızla kıyaslandığında gama ışınının luteolin 7-glukozid miktarını arttırdığı sonucuna varılmıştır ( $p<0,05$ ). Tirozol ile ilgili literatür tarandığında 2014 yılında Flemming ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tirozol miktarını 0,42  $\mu$ M/100 gr olarak hesaplamışlardır [66]. Kontrol örneklerinde ise tirozol miktarı 5,4 mg/g- 9,12 mg/g arasında bulunmuştur. Kontrol örnekleri ile gama ışını uygulanan örnekler kıyaslandığında kafeik asitte olduğu gibi gama ışının tirozol miktarına etki etmediği tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ) Kontrol örneklerinde rutin hidrat miktarı 4,44 mg/g – 7,92 mg/g aralığında tespit edilmiştir. Gama ışını uygulanan örneklerle kıyaslığında gama ışını rutin hidrat miktarını arttırdığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Son olarak gallik asit miktarına bakıldığında kontrol örneklerinde 0,3 mg/g- 0,5 mg/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir ki bu da gama ışını uygulanan örneklerle kıyaslandığında gama ışınının gallik asit miktarına etki etmediği bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel veriler ışığında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmektedir:

- Zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan kapasitesi, fenolik ve flavonoid madde miktarının uygulanan gama ışını dozuna ve kurutma şekline göre değişiklik gösterdiği,
- Yapılan istatistiksel çalışmalara göre gama ışınının antioksidan kapasiteyi ve fenolik madde içeriğini arttırdığı,
- En yüksek antioksidan içeriğin 3kGy doz uygulanan ve mikrodalga yöntemiyle kurutulan Gemlik çeşitinde,
- En yüksek flavonoid madde içeriğinin 3kGy doz uygulanan ve mikrodalga yöntemiyle kurutulan Ayvalık çeşitinde,
- En yüksek fenolik madde içeriğinin 3kGy doz uygulanan ve normal şartlar altında kurutulan Gemlik çeşitinde,
- Ekstrakta en fazla miktarda bulunan fenolik bileşiğin oleuropein, en az miktarda bulunan fenolik bileşiğin gallik asit olduğu tespit edilmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

[1] Harp, F., “Gemlik, Domat, Adana Topağı ve Adana Yerli Zeytin Yapraklarının Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana, (2011).

[2] Bouaziz, M. and Fki, I., “Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves”, *Food Chemistry*, 108, 253-262, (2008).

[3] Aouidi, F. and Ayari, S., “Gamma irradiation of air-dried olive leaves: Effective decontamination and impact on the antioxidative properties and on phenolic compounds”, *Food Chemistry*, 127, 1005-1113, (2011).

[4] Bağdatlıoğlu, N., Orman, S., “The effect of irradiation on antioxidant activities of sage, oregano and basil”, *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 2438–2440, (2013).

[5] Arıduru, R. ve Arabacı, G., “Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi”, *SAÜ. Fen Bil. Der.*, 17 (2), 241-246, (2013).

[6] Ekici, L. ve Sağdıç, O., "Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu", *Gıda*, 33 (5): 251-260, (2008).

[7] Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T., “Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma”, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95, (1997).

[8] Karaca, Ş. ve Güder, H., “Dermatolojide antioksidan sistem”, *Türk Dermatoloji Dergisi*, 3, 32-39, (2009).

[9] Koca, N. ve Karadeniz, F., “Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler”, *Gıda*, 30, 229-236, (2005).

- [10] Gür, E. ve Altuğ, T., “Antioksidanlar”, (ed: Altuğ, T.), Gıda Katkı Maddeleri, İzmir: Sidas, 17-39, (2009).
- [11] Ardağ, A. "Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Aydın, (2008).
- [12] Franzke, C., “AlgemeinesLehrbuch der Lebensmittelchemie”, Hamburg: Behr’sVerlag, (1998).
- [13] Meral, N., Doğan, İ.S. ve Kanberoğlu Saydan, G.,“Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar”, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.*, 2(2), 45-50, ( 2012).
- [14] İçyer, N.C., "Nar kabuğu fenolik bileşiklerinin su ile ekstraksiyonu ve ekstraktların mikroenkapsülasyonu", Yüksek LisansTezi, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Kayseri, (2012).
- [15] Çam, M., Hışıl, Y., “Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods”, *Food Chemistry*, 112, 721–726, (2009).
- [16] Nizamoğlu, M. N., Nas, S.“Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 20–35,(2010).
- [17] Hürkul, M. M. ve Güvenç, A. "Çeşitli İllerimizde Aktarlarda Satılan Zeytin Yaprığı (Olive Leaf) Üzerinde Morfolojik ve Anotomik Çalışmalar", *Mersin Üniv. Sağlık Bilim Derg.* 3(3); (2010).
- [18] Saygın, B. “Zeytin Yaprığındaki Başlıca Fenolik Bileşikler ve Bunların Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir (2009).

- [19] Korkmaz, Ş., “MDA-MB-231 ve MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Soylarında Zeytin Yaprağı Ekstresinin Anti-Kanser İlaçlarla Kombinasyonunun Araştırılması”, Uzmanlık Tezi, *Uludağ Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı*, Bursa, (2012).
- [20] Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A. and Del Rio, J.A., “Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. Leaves”, *Food Chemistry*, 68:457-462, (2000).
- [21] Ağgül, A.G., "Diyabetli Ratlarda Zeytin Yaprağı Ekstresinin Etkilerinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık-Biyokimya Anabilim Dalı*, Erzurum, (2012).
- [22] Martin-Garcia AI and Molina-Alcaide E. “Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* L. var. *europaea*) leaves for ruminants”. *Anim Feed Sci Technol.*, 142(3-4), 317-29, (2008).
- [23] Armutcu, F., Akyol, S., Hasgul, R. ve Yiğitoğlu, M.R., "Zeytin Yaprağının Biyolojik Etkileri ve Tıpta Kullanımı", *Spatula DD.*,1(3), 159-165, (2011).
- [24] Önderoğlu, S., Sözer, S. Erbil, K.M., Ortaç, R. ve Lemioğlu, F. "The evaluation of long-term effect of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats", *J. Pharm Pharmacol*, 51, 1305-12, (1999).
- [25] Somova, L., Shode, F.O., Ramnanan P. and Nadar, A." Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europea*, subspecies *africana* leaves", *J. Ethnopharmacol*, 84, 299-305, (2003).
- [26] Singh, I., Mok, M., Christensen, A.M., Turner, A.H. and Hawley, J.A. “The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function, Nutrition”, *Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 18, 127-132, (2008).
- [27] Erbay, Z., Icier., F., " Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology", *Journal of Food Engineering*, 91, 533–541, (2009).

- [28] Xie, P. and Huang, L., “Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasound assistance”, *Food and Bioprocess Processing*, (2013)
- [29] Yıldız, G. ve Uylaşer, V., “Doğal Bir Antibakteriyel: Oleuropein”, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25, 1, 131-142, (2011).
- [30] Kara, S., “Farklı Kurutma Yöntemlerinin Zeytin Yaprağındaki Fenolik Madde Dağılımına ve Antioksidan Kapasitesine Etkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2013).
- [31] Aouidi, F. and Dupuy, N., “Rapid quantitative determination of oleuropein in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses”, *Industrial Crops and Products*, 37: 292-297, (2012)
- [32] Rimawi, F., “Development and validation of a simple reversed phase HPLC-UV method for determination of oleuropein in olive leaves”, *Journal of Food and Drug Analysis* (2013)
- [33] Yavaşer, R., “Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Aydın, (2011).
- [34] Torun, Ş. Ve Toy, H., “Ratlarda Mekanik Ventilasyona Bağlı Akciğer Hasarının Önlenmesinde Kafeik Asidin Etkisi”, *Solunum*, 14(2), 99–104, (2012).
- [35] Alşan, A., “Durultma Maddelerinin Beyaz Şarabın Tyrosol İçeriği Üzerindeki Etkileri ve Farklı Beyaz Şaraplar ile Charmat Metoduyla Üretilen Köpüklü Şaraplarda Tyrosol Miktarının Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, (2013).

- [36] Solakoğlu, D., “ Fermantasyon Sırasında *Saccharomyces cerevisiae* Mayası Tarafından Tyrosol’ün Oluşum Metabolizması ve Tyrosol Oluşumunu Etkileyen Uygulamalar Üzerinde Bir Araştırma” , Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, (2013).
- [37] Hızal, D., “Adsorption of Olive Leaf Antioxidants on Silk Fibroin”, Yüksek Lisans Tezi, *İzmir Teknoloji Enstitüsü*, Kimya Mühendisliği, İzmir, (2006).
- [38] Ziaee, A., Nassiri-Asl, M. and Abbasi, E., “Effects of Rutin on Lipid Profile in Hypercholesterolaemic Rats Farzaneh Zamansoltani”, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 104, 3, 253–258, (2009).
- [39] Su-Jin Kim, Min-Cheol Kim, Jae-Young Um and Seung-Heon Hong, “The Beneficial Effect of Vanillic Acid on Ulcerative Colitis”, *Molecules*, 15, 7208-7217, (2010).
- [40] Gitzinger, M., Kemmer, C., Fluri, D.A., El-Baba, M.D., Weber, W. and Fussenegger, M., “The food additive vanillic acid controls transgene expression in mammalian cells and mice”, *Nucleic Acids Research*, 40, 5, (2012).
- [41] Özmen, A., “Karaciğer İskemi Reperfüzyonu Sırasında Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Karşı Gallik Asitin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, (2011).
- [42] Bayramoğlu, G., “ Sıçanlarda Hepatik İskemi/ Reperfüzyon Kaynaklı Oksidatif Stres Hasarına Karşı Gallik Asitin Olası Koruyucu Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, (2010).
- [43] Yavaşer, R., “Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Aydın, (2011).
- [44] Doğan, E., “Bazı Flavonoidlerin *Drosophila Melanogaster*’de Antigenotoksik Aktivitesi ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması”, Doktora Tezi, *İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya, (2008).



- [45] Lee, E., Bai, H., “Gamma irradiation improves the antioxidant activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts”, *Radiation Physics and Chemistry*, 81, 1029-1032, (2012).
- [46] Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B. and Kechaou, N., “Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves, *Industrial Crops and Products*, 29, 412-419, (2009).
- [47] Kahattak, K. and Simpson, T., “Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed”, *Food Chemistry*, 110, 967-972, (2008).
- [48] Perez, M. and Calderon, N., “Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)” *Food Chemistry*, 104, 585–592, (2007).
- [49] Ramful, D. and Tarnus, E., “Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps”, *Food Research International*, 44, 2088-2099, (2011).
- [50] Karakulak, Ş. “Zeytin yapraklarından Antioksidan Eldesinde Mikrodalga ve Etüv ile Kurutmanın Çözücü, Sıcaklık ve Zaman Parametreleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, (2009).
- [51] Sevim, D., “Zeytin Yaprağı İlave Edilerek Elde Edilen Zeytinyağlarının Bazı Temel Kalite Kriterleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir, (2011).
- [52] Erbay, Z. and Icier, F. “Optimization of hot air drying of olive leave using response surface methodology”, *Journal of Food Engineering*, 91, 533-541, (2009).
- [53] Dogan, S., Diken, M. E. and Dogan, M. “Antioxidant, phenolic and protein contents of some medicinal plants”, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2566-2573, (2010).

[54] Dogan, S., Alan, U., Dogan, M. “The effect of sodium tetraborate on antioxidant enzymes under in vitro conditions”, *Fresenius Environmental Bulletin*, Accepted.

[55] Brahmi, F. and Mechri, B., “The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations”, *Industrial Crops and Products*, 38, 146-152, (2012).

[56] Sonje, M. and Abram, M., “Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols”, *Food Chemistry*, 127, 1821-1827, (2011).

[57] Malheiro, R. and Rogrigues, N., “The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidants against the oxidation of soybean oil under microwave heating”, *Industrial Crops and Products*, 44, 37-43, (2013).

[58] Doğan, S., Salman, Ü. “Partial characterization of lettuce (*Lactuca sativa* L.) polyphenol oxidase”. *European Food Research and Technology*. 226 (1-2), 93-103, 2007.

[59]Gökce, M., “Muğla Yöresinde Yetiştirilen Bazı Zeytin Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması ve Sızma Zeytin Yağlarının Aromasının Kimyasal Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Muğla, (2009).

[60]Bazylko, A. and Parzonko, A., “Inhibition of ROS production, photoprotection, and total phenolic, flavonoids and ascorbic acid content of fresh herb juice and extracts from the leaves and flowers of *Tropaeolum majus*”, *Industrial Crops and Products*, 55, 19-24, (2014).

[61] Lee, O. and Lee, B., “Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities”, *Bioresource Technology*, 100, 6107-6113, (2009).

[62] Peker, H., “Keçiboynuzu Gamı Kullanılarak Az Yağlı Yoğurt ve Zeytin Yaprağı Ekstraktı Kullanılarak Fonksiyonel Meyveli Yoğurt Üretimlerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, (2012).

[63] Qasem, M. and Cavonas, J., “Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 120-129, (2013).

[64] Stamatopoulos, K. and Katsoyannos, E., “Improvement of oleuropein extractability by optimising steam blanching process as pre-treatment of olive leaf extraction via response surface methodology”, *Food Chemistry*, 133, 344-351, (2012).

[65] Lujan, R. and Castro, M., D., “Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves”, *Journal of Chromatography*, 1136, 185–191, (2006).

[66] Flemming, J. and Rusch, D., “Components of a standardised olive leaf dry extract (Ph. Eur.) promote hypothyroidism production by lactoperoxidase”, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 549, 17-25, (2014).

# **EKLER**

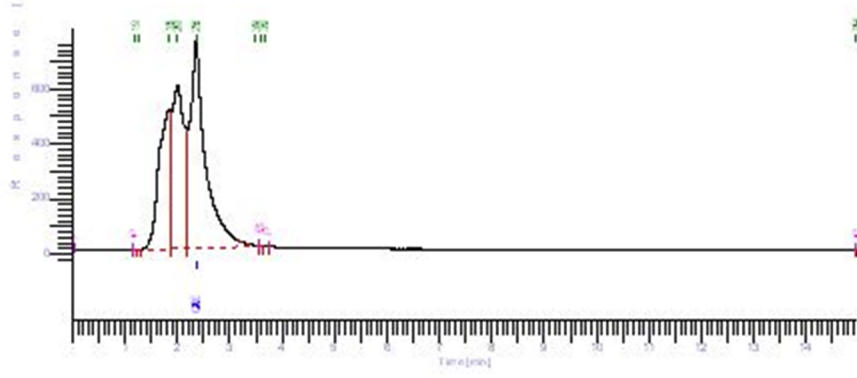
## 7. EKLER

### 7.1 Fenolik Madde Dağılımına Ait HPLC Grafikleri

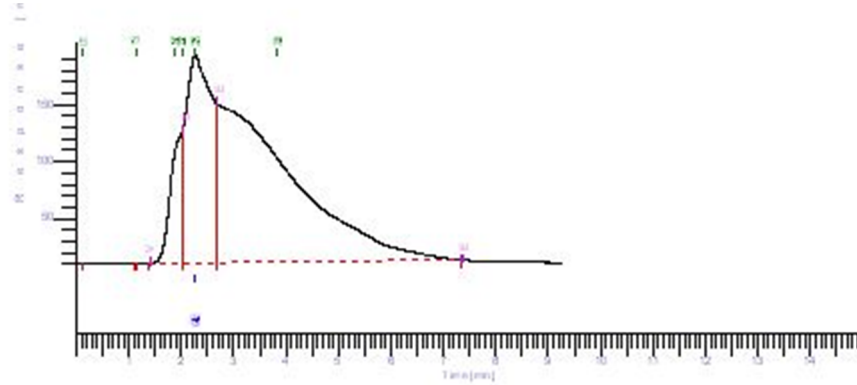
(HPLC’ de Gözlenen En Yüksek Miktarların Grafikleri Verilmiştir)

#### 7.1.1 Kafeik Asit

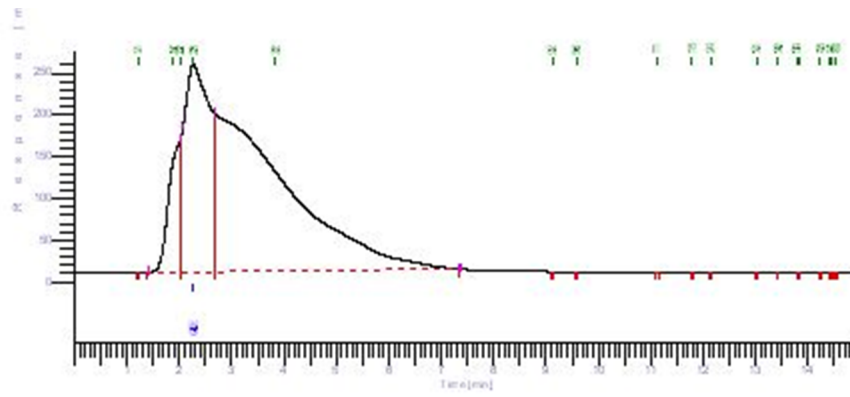
3AN



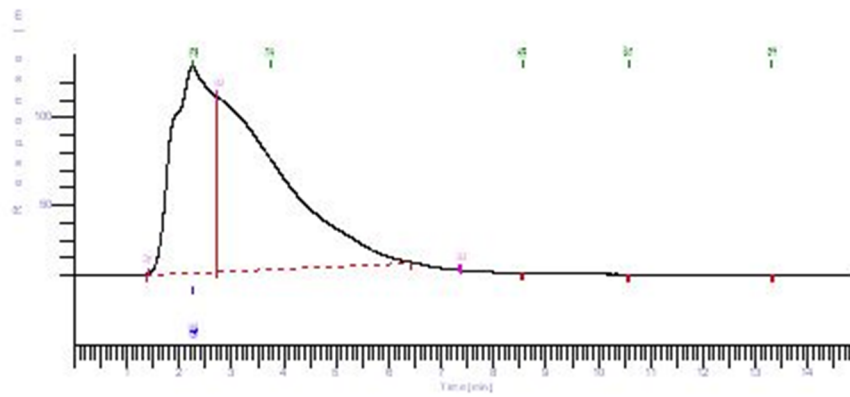
3AM



5AM

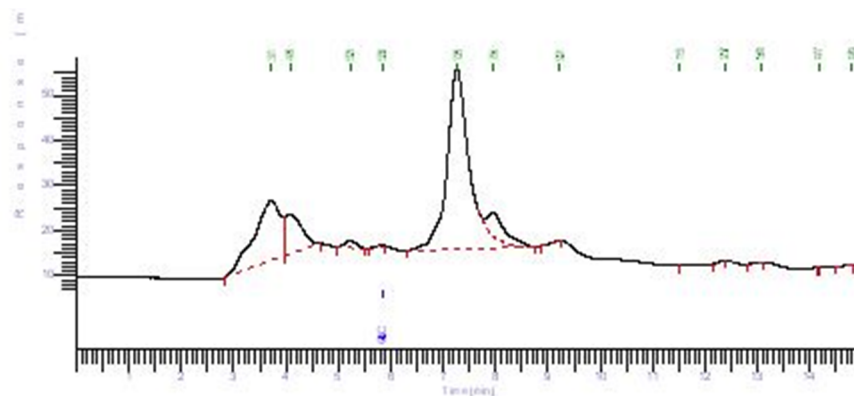


10AM

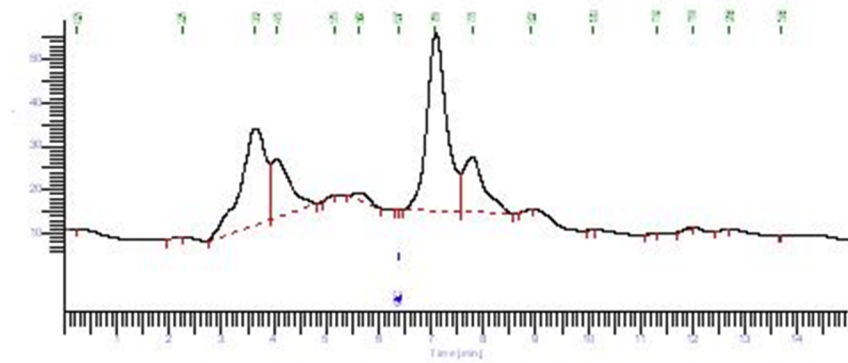


### 7.1.2 Gallik Asit

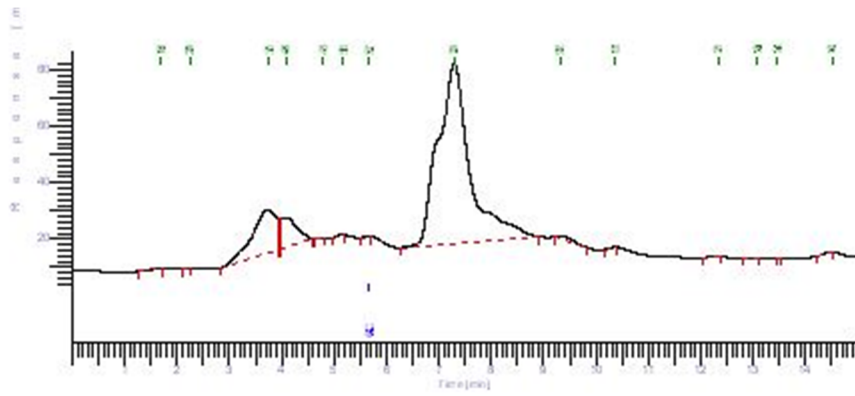
3GM



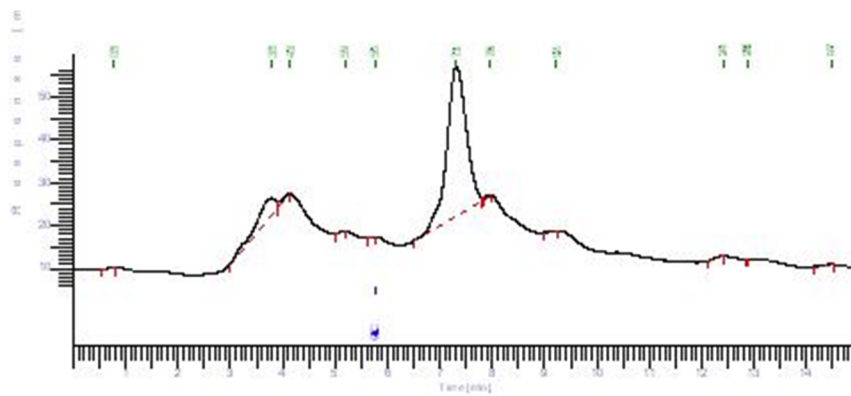
5AM



5GM

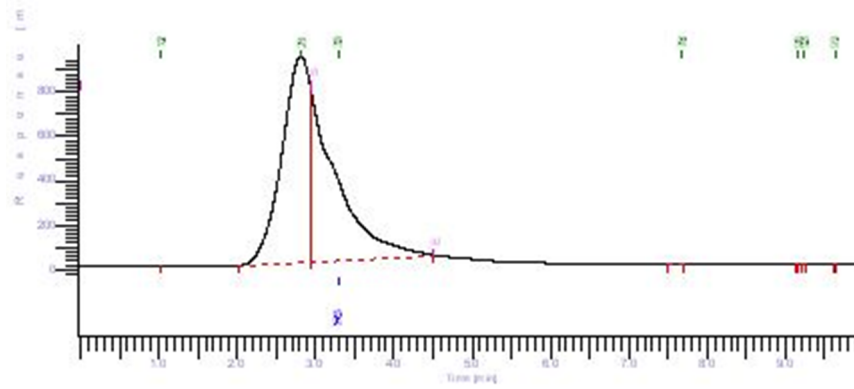


10GM

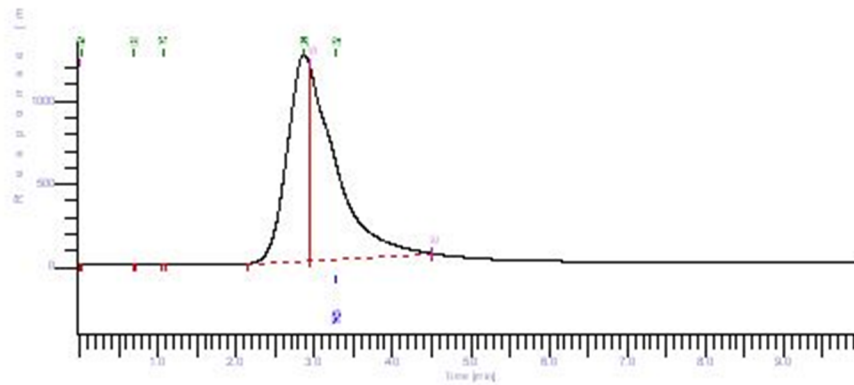


### 7.1.3 Tirozol

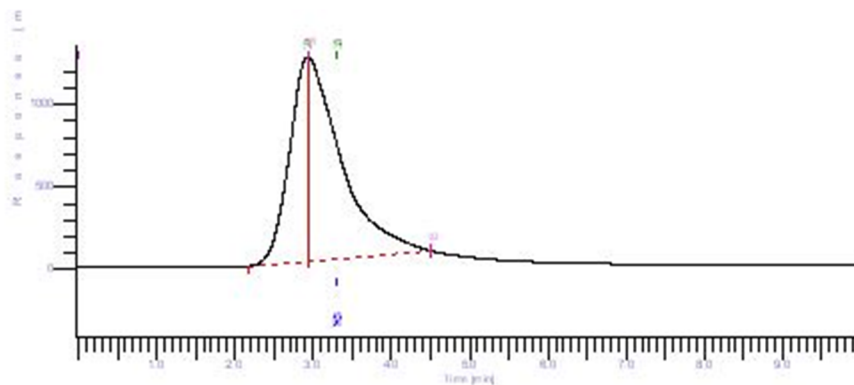
3AM



5GM



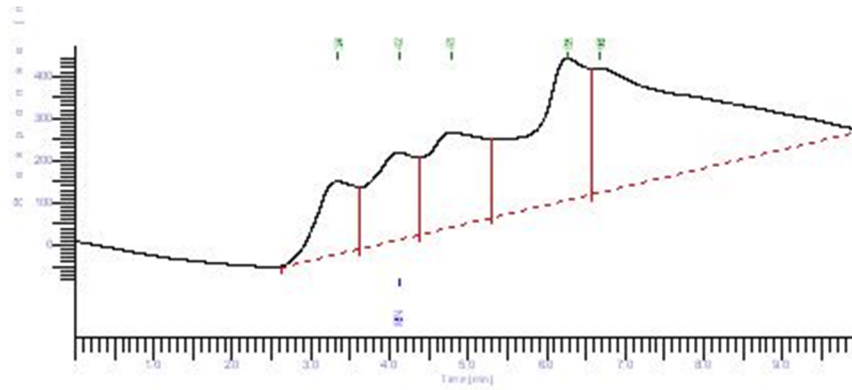
10AM



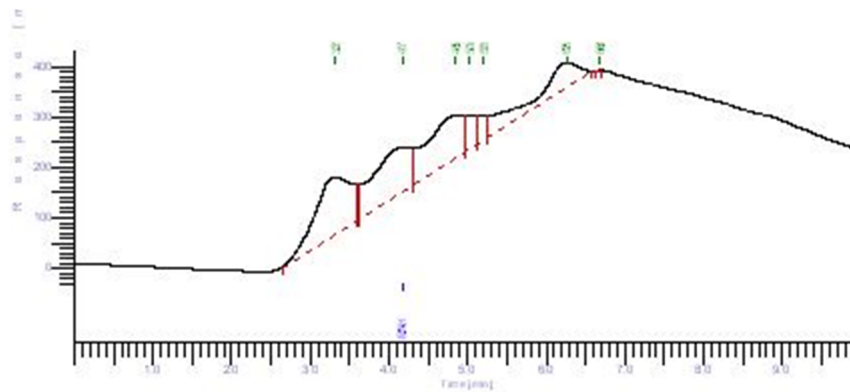


### 7.1.4 Rutin Hidrat

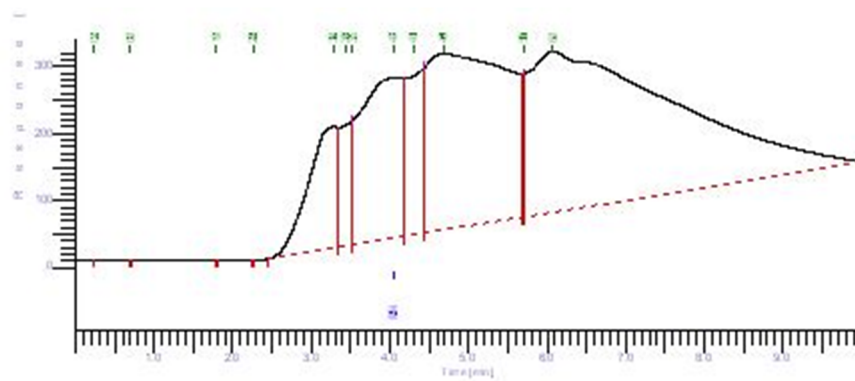
3GN



5AM

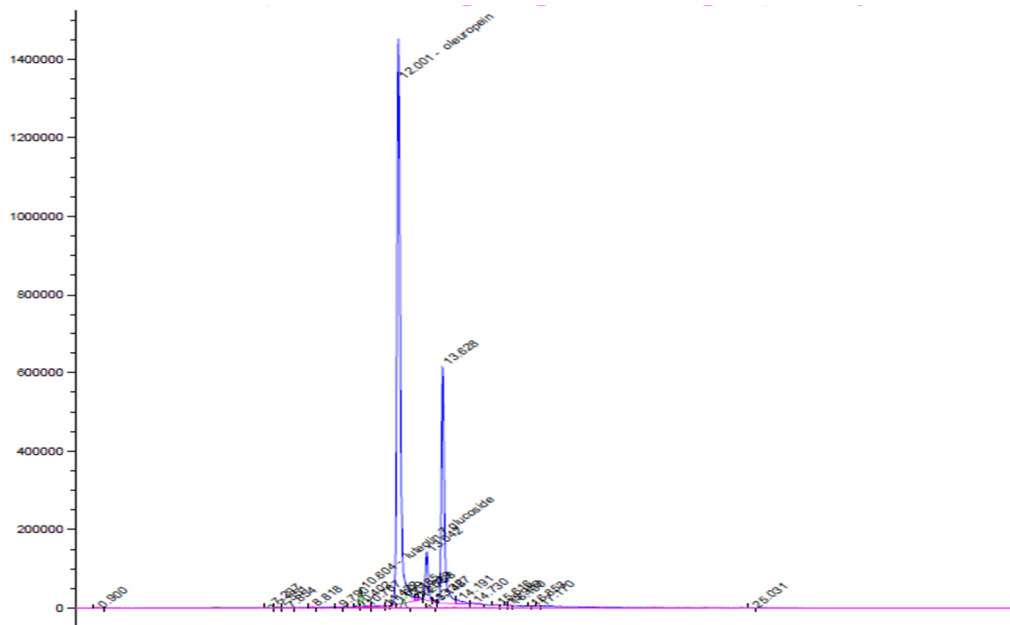


10AI

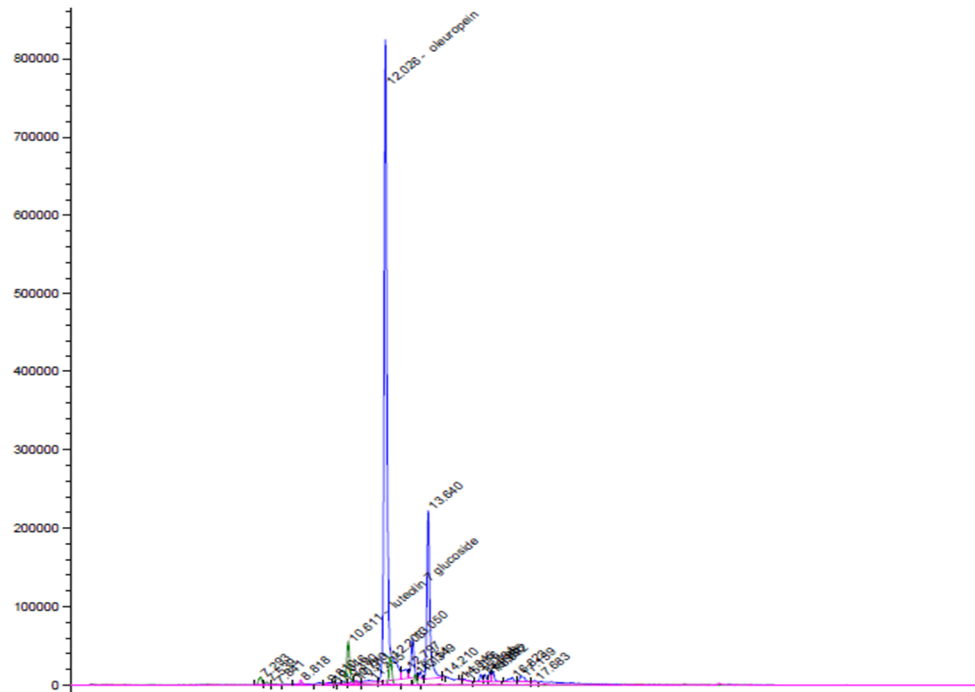


### 7.1.5 Oleuropein-Luteolin 7-glukozid

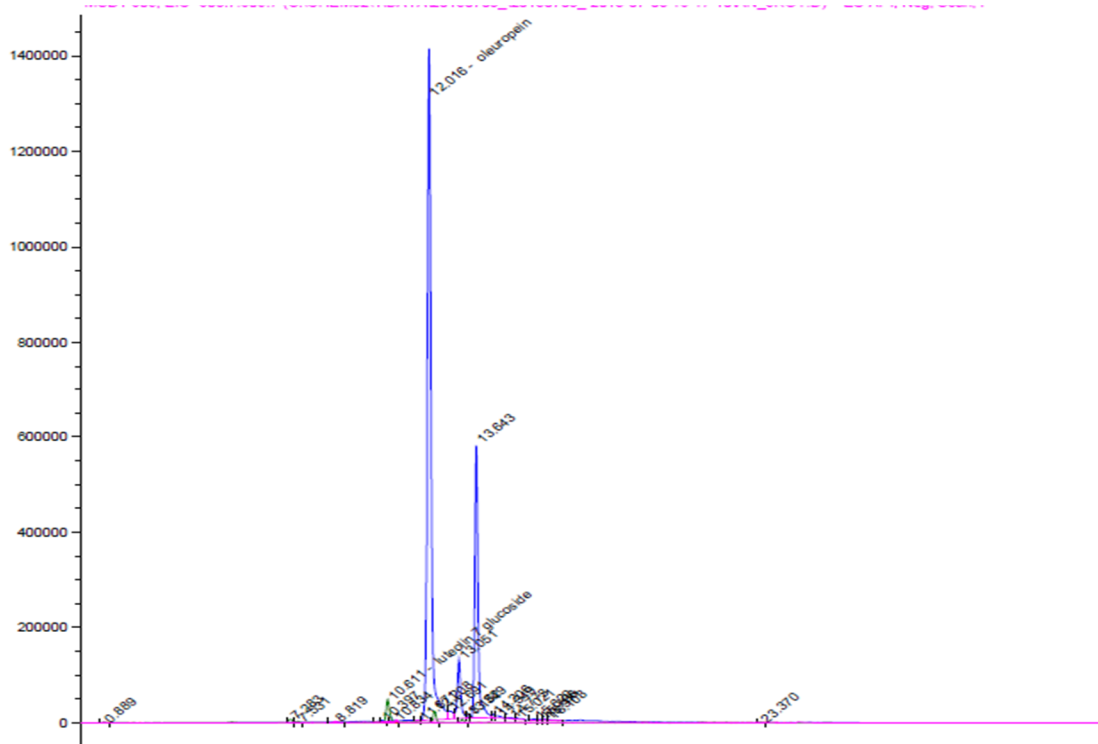
3AM (Oleuropein)



3GN (Luteolin 7- glukozid)



5AM



10AM

