

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



**EDREMİT KÖRFEZİ ZEYTİN YAPRAKLARININ ANTiOKSİDAN  
ÖZELLİKLERİ İLE FENOLİK VE MİNERAL BİLEŞİMLERİ ÜZERİNE  
MEVSİM VE YÜKSELTİ FAKTÖRLERİNİN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HANDAN KURTULMUŞ**

**BALIKESİR, AĞUSTOS - 2016**

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



**EDREMİT KÖRFEZİ ZEYTİN YAPRAKLARININ ANTIOKSİDAN  
ÖZELLİKLERİ İLE FENOLİK VE MİNERAL BİLEŞİMLERİ ÜZERİNE  
MEVSİM VE YÜKSELTİ FAKTÖRLERİNİN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HANDAN KURTULMUŞ**

**Jüri Üyeleri : Yrd. Doç. Dr. Ayhan DAĞDELEN (Tez Danışmanı)**

**Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN**

**Prof. Dr. Tülin AŞKUN**

**Yrd. Doç. Dr. Rasim Alper ORAL**

**BALIKESİR, AĞUSTOS-2016**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Handan KURTULMUŞ** tarafından hazırlanan “**EDREMİT KÖRFEZİ ZEYTİN YAPRAKLARININ ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE FENOLİK VE MİNERAL BİLEŞİMLERİ ÜZERİNE MEVSİM VE YÜKSELTİ FAKTÖRLERİNİN ETKİLERİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 09.08.2016 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  
Yrd. Doç. Dr. Ayhan DAĞDELEN

.....

Üye  
Prof. Dr. Gülendam TÜMEN

.....

Üye  
Prof. Dr. Tülin AŞKUN

.....

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Rasim Alper ORAL

.....

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

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2014-103 nolu proje ile desteklenmiştir.**

## ÖZET

### EDREMİT KÖRFEZİ ZEYTİN YAPRAKLARININ ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ İLE FENOLİK VE MİNERAL BİLEŞİMLERİ ÜZERİNE MEVSİM VE YÜKSELTİ FAKTÖRLERİNİN ETKİLERİ YÜKSEK LİSANS TEZİ

HANDAN KURTULMUŞ  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: YRD. DOÇ. DR. AYHAN DAĞDELEN)

BALIKESİR, AĞUSTOS - 2016

İnsanların tükettikleri gıdaların sağlıklarına olumlu katkılar yapmalarını istemeleri nedeniyle bitkisel ürünlere olan rağbet artmaktadır. Zeytin yaprakları da bu ürünlerden birisi olup, sahip olduğu yüksek fenolik madde içeriği ile dikkati çekmektedir. Özellikle oleuropeinin antioksidan ve antibiyotik özelliği gibi olumlu sağlık katkıları da zeytin yapraklarının önemini artırmaktadır. Bu çalışmada Ayvalık zeytin çeşidine ait zeytin ağaçlarından dört farklı yükseltiden ve dört farklı mevsimde toplanan zeytin yapraklarının antioksidan özellikleri ile fenolik ve mineral bileşimleri belirlenmiştir. Zeytin yapraklarının nem oranı %36,22 ile %45,32 arasında, kül oranı ise %4,57 ile %7,75 arasında saptanmıştır. 8,94 ile 41,80 mg GAE/g yaprak arasında tespit edilen örneklerin toplam fenolik madde miktarı istatistiksel olarak yükselti arası farklılığa ilişkin önemli bir değişim saptanmazken, mevsimler arası farklılık  $p < 0,001$  önem seviyesinde bulunmuştur. Yaprakların DPHH radikallerini indirgeme özelliği % 93,80 ile % 95,43 arasındadır. Major olarak tespit edilen Kalsiyum ve Demir en fazla Şubat ayı 0 m yükselti örneklerinde bulunmuşken, Magnezyum ise en yüksek değerine Ağustos ayı 360 m yükselti örneğinde ulaşmıştır. Yaprak örneklerinde majör fenolikler oleuropein, luteolin ve çikoric asit olup bu bileşenlerin miktarlarının farklı mevsim ve yükselti örneklerinde değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Zeytin yaprağı, antioksidan aktivite, fenolik bileşim, mineral.

## **ABSTRACT**

### **SEASON AND ALTITUDE FACTORS ON ANTIOXIDANT PROPERTIES, PHENOLICS COMPOSITION AND MINERAL COMPOSITION OF EDREMIT REGION OLIVE LEAVES**

**MSC THESIS  
HANDAN KURTULMUŞ  
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
BIOLOGY**

**(SUPERVISOR: ASSIST. PROF. DR. AYHAN DAĞDELEN )**

**BALIKESİR, AUGUST 2016**

Olive tree (*Olea europaea* L.), is an economically important plant which table olive and olive oil is produced from its olive fruits and by-products during or at the end of the processing. Olive leaf is one of these products and take attention with its high phenolic content. Positive health effects such as antioxidant and antibiotic properties of oleuropein increases the importance of olive leaves. In this study antioxidant properties, phenolics composition and mineral composition of olive leaves belong to Ayvalık olive cultivar have been determined. Collected in four different altitudes in four different seasons. Moisture content of olive leaves was detected between 36.22-45.32% and ash content was found to be between 4.57-7.75%. Total phenolic content (TPC) of the samples was between 8.94 and 41.80 mg GAE/g olive leaf. Altitude did not affect TPC statistically while different harvest seasons affected the TPC statistically ( $p < 0.001$ ). Antioxidative properties of the samples was evaluated between 93.80-95.43% inhibition value of DPPH radical. The highest Ca and Fe content was found in February and 0 m altitude sample while Mg was found in August season and 360 m altitude sample. Major phenolics of olive leaves were found to be oleuropein, luteolin and chicoric acid and a variability in terms of these contents was determined among the samples.

**KEYWORDS:** Olive leaf, antioxidant activity, phenolic composition, mineral.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

|  |            |
|--|------------|
| <b>ÖZET.....</b>   | <b>i</b>   |
| <b>ABSTRACT .....</b>  | <b>ii</b>  |
| <b>İÇİNDEKİLER .....</b>   | <b>iii</b> |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ.....</b>  | <b>iv</b>  |
| <b>TABLO LİSTESİ .....</b>   | <b>v</b>   |
| <b>SEMBOL LİSTESİ.....</b>   | <b>vi</b>  |
| <b>ÖNSÖZ.....</b>  | <b>vii</b> |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>   | <b>1</b>   |
| <b>2. LİTERATÜR ÖZETİ.....</b>                                       | <b>7</b>   |
| <b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>                                    | <b>14</b>  |
| 3.1 Materyal.....  | 14         |
| 3.2 Yöntem .....   | 14         |
| 3.2.1 Nem Tayini .....   | 14         |
| 3.2.2 Kül Tayini .....   | 14         |
| 3.2.3 Zeytin Yapraklarından Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu ..... | 15         |
| 3.2.4 Zeytin Yapraklarının Antioksidan Aktivite Tayini.....          | 15         |
| 3.2.4.1 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi .....           | 15         |
| 3.2.4.2 DPPH Yöntemi ( Serbest Radikal Süpürücü Etkisi).....         | 16         |
| 3.2.5 Fenolik Bileşimin Belirlenmesi .....                           | 16         |
| 3.2.5.1 HPLC Analizi (High Performance Liquid Chromatography) .      | 16         |
| 3.3 Mineral Madde Tayini .....                                       | 18         |
| 3.4 İstatistik Analizler .....                                       | 20         |
| <b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>                                 | <b>21</b>  |
| 4.1 Nem İçeriği.....   | 23         |
| 4.2 Kül İçeriği.....   | 26         |
| 4.3 Antioksidan Aktivite .....                                       | 27         |
| 4.3.1 Toplam Fenolik Madde.....                                      | 27         |
| 4.3.2 DPPH Radikalini Tutma Aktivitesi .....                         | 31         |
| 4.4 Mineral Madde Tayini (ICP).....                                  | 32         |
| 4.5 HPLC Analizi (High Performance Liquid Chromatography) .....      | 37         |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>                                    | <b>42</b>  |
| <b>6. KAYNAKLAR.....</b>   | <b>44</b>  |
| <b>7. EKLER.....</b>   | <b>57</b>  |

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

|  |    |
|--|----|
| <b>Şekil 2.1:</b> Zeytin ağacı dağılım haritası. ....  | 8  |
| <b>Şekil 2.2:</b> Ayvalık çeşidine ait meyvelerinin, yapraklarının ve çekirdeklerinin olgunlaşma sürecindeki fiziksel görünüşleri [23]. .... | 9  |
| <b>Şekil 2.3:</b> Oleuropeinin kimyasal yapı formülü. ....   | 11 |
| <b>Şekil 3.1:</b> HPLC elüsyon programı. ....  | 18 |
| <b>Şekil 4.1:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının nem yüzdesi. ....                                | 23 |
| <b>Şekil 4.2:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının kül yüzdesi. ....                 | 26 |
| <b>Şekil 4.3:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının toplam fenol miktarı. ....        | 28 |
| <b>Şekil 4.4:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının DPPH değerleri. ....                             | 31 |
| <b>Şekil 4.5:</b> Yaprakta Mg içeriğinin mevsim ve yükseltilere göre değişimi. ....  | 35 |
| <b>Şekil 4.6:</b> Yaprakta Fe içeriğinin mevsim ve yükseltilere göre değişimi. ....  | 36 |
| <b>Şekil 4.7:</b> Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki oleuropein miktarı. ....                             | 37 |
| <b>Şekil 4.8:</b> Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki luteolin miktarı. ....                               | 40 |
| <b>Şekil 4.9:</b> Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki çikorik asit miktarı. ....                           | 41 |



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo 1.1:</b> <i>Olea europaea</i> L. sistematigi [8].  | 2  |
| <b>Tablo 3.1:</b> Mikrodalga bozundurma programı  | 18 |
| <b>Tablo 4.1:</b> Yaprak örneklere ait kodlar.  | 21 |
| <b>Tablo 4.2:</b> Edremit İlçesine ait 2013-2014 yılları meteorolojik verileri.   | 22 |
| <b>Tablo 4.3:</b> Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının fenolik bileşik içeriği bakımından mevsimsel ve yükseltiiler arası farklılığa ilişkin varyans analiz sonuçları. | 24 |
| <b>Tablo 4.4:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltiilerden toplanan zeytin yapraklarının nem ve kül içerikleri (A1-B4).   | 25 |
| <b>Tablo 4.5:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltiilerden toplanan zeytin yapraklarının nem ve kül içerikleri (C1-D4).   | 25 |
| <b>Tablo 4.6:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltiilerden toplanan zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde içerikleri (A1-B4).     | 30 |
| <b>Tablo 4.7:</b> Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltiilerden toplanan zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde içerikleri (C1-D4).     | 30 |
| <b>Tablo 4.8:</b> Mineral Madde Bileşimi.   | 34 |
| <b>Tablo 4.9:</b> Zeytin yaprak örneklerinde fenolik içerikler (A1-B4).   | 38 |
| <b>Tablo 4.10:</b> Zeytin yaprak örneklerinde fenolik içerikler (C1-D4).  | 39 |

## SEMBOL LİSTESİ

|         |   |
|---------|---|
| HPLC    | Hight Performance Liquid Chromatography                 |
| DPPH    | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                            |
| GAE     | Gallik Asit Eşdeğeri                                    |
| CTE     | Kateşin Eşdeğeri  |
| ICP-OES | Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy |
| ABTS    | 2,2'-azinobis (3- etilbenziyoazolin-6-sülfonik asit)    |
| BHA     | Bütil Hidroksi Anisol                                   |
| BHT     | Butil Hidroksi Toluen                                   |

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ayhan DAĞDELEN'e, üniversite hayatım boyunca hep yanımda olan, desteklerini esirgemeyen manevi annem Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN'e ve her zaman manevi desteğinden ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Fatih SATIL hocama çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımdaya laboratuvarlarını kullandığım sevgili hocam Prof. Dr. Tülin AŞKUN'a ve Prof. Dr. Serap DOĞAN ve öğrencilerine teşekkür ederim.

Yüksek Lisans hayatım boyunca yardımlarını ve manevi desteğini esirgemeyen başta arkadaşlarım Gökhan DURAK, Fatih DAYI, Şeyma Nur ERGÜVEN, Pınar ÇELİKBOYUN ve tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Tezimi hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen, bugünlere gelmemde en büyük emeği olan canım annem Fatma KURTULMUŞ ve babam Necati KURTULMUŞ'a, her zaman yanımda olan kardeşlerim Ali KURTULMUŞ ve Şamilcan KURTULMUŞ'a armağan ediyorum.

## 1. GİRİŞ

Bilinen en eski meyve ağacı olan zeytin insanoğlunun meyvesini ve diğer ürünlerini hem beslenme hem de sağlık etkilerinden yararlanmak amacıyla tükettiği özel bir bitkidir. Bitkinin Latince adı *Olea europaea* L. olarak kaydedilmiştir [1]. Sofralık zeytin ve zeytinyağı gibi ana ürünlerin yanı sıra aslında çok uzun zamandır kullanılan fakat son zamanlarda popüler hale gelip ticari ürün şeklinde üretilmeye başlanan zeytin yaprakları üzerinde günümüzde birçok araştırma yapılmaktadır. Genellikle ticari ürün bitki çayı şeklinde üretilmektedir. Fakat yaprakların tek kullanım şekli bu değildir. Bazı hastalıklara neden olan mikroorganizmaları inhibe edici özelliği de vardır [2,3]. Özellikle zeytin yaprağının ana fenolik bileşeni olarak bilinen ve üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde antikanserojen olduğu belirlenen oleuropein, olumlu sağlık etkileri nedeniyle oldukça popüler hale gelen bir fenolik bileşendir [4]. Bu bileşenin ekstraksiyonu sonucunda da zeytin yaprağı özütü/ekstraktı elde edilmektedir. Zeytin yaprakları oleuropeinin de dahil olduğu beş grup fenolik bileşikten oluşmaktadır; oleuropeositler (oleuropein ve verbaskozit), flavonoller (rutin), flavonlar (apigenin-7-glukozit, luteolin-7-glukozit, diosmetin-7-glukozit, diosmetin ve luteolin), flavan-3-oller (kateşin) ve substitue fenoller (vanilin, tirozol, , vanilik asit hidroksitirozol ve kafeik asit) [5].

Zeytin ağacı büyüklüğü, taç kısmının hacmi, dal kalınlık ve uzunluğu bakımından zayıf, orta ve kuvvetli olarak sınıflandırılmaktadır. Ağacın taç kısmı sarkık, yayvan veya dik olmasının yanından yaprak yoğunluğu sık, orta sıklıkta ve seyrek olabilmektedir. Zeytin ağacı yaprakları eliptik, uzun eliptik ve mızrak şeklinde olup uzunluğu ortalama 5-7 cm ve 1-1,5 cm genişliğe sahiptirler. Zeytin çiçeği sayıları çeşitli çevresel ve genetik faktörlere göre genellikle 18-25, uzunluğu ise 25-35 mm arasında değişmektedir. Zeytin ağacı meyvesi olan taneleri ağırlıklarına göre küçük, orta, iri ve çok iri olarak kategorize edilmektedir. Şekilleri ise ağacın türüne göre yuvarlak, oval ve uzun şekillidirler. Zeytin meyvesinin çekirdeği ise genellikle 0,30-0,70 g iken şekli yuvarlak, oval, eliptik ve uzun olabilmektedir [6].

**Tablo 1.1:** *Olea europaea* L. sistematigi [8].

|               |                         |
|---------------|-------------------------|
| Alem          | Yeşil bitkiler          |
| Alt alem      | Tracheobionta           |
| Superdivision | Spermatophyta           |
| Division      | Magnoliophyta           |
| Sınıf         | Magnoliopsida           |
| Alt sınıf     | Asteridae               |
| Ordo          | Lamiales                |
| Aile          | Oleaceae                |
| Cins          | Olea                    |
| Tür           | <i>Olea europaea</i> L. |

Dünyada geniş bir yayılış gösteren Oleaceae familyasının 29 cinsi ve 600 civarında türü vardır [8]. *Olea europaea* L.'nin sistematikteki yeri Tablo 1.1'de verilmiştir. Dünyada en çok zeytin yetiştiriciliği İspanya'da yapılmaktadır ve bunu sırasıyla İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Tunus izlemektedir. Ülkemiz zeytin yetiştiriciliği bakımından dünyada dördüncülüğü Tunus ile paylaşmaktadır. Özellikle son yıllarda bir yıl Türkiye diğer yıl ise Tunus daha fazla üretim gerçekleştirmektedir [9]. Bunun nedeni olarak ülkelerin zeytin yetiştiriciliği politikaları ile zeytin ağacının gösterdiği periyodisite gösterilebilir. Ülkemizde 88 yerli çeşitten oluşan Yerli Zeytin Çeşitleri Koleksiyonu ve 28 yabancı zeytin türünden oluşan Yabancı Zeytin Çeşitleri Koleksiyonu yapılmıştır. Kemalpaşa Üretim ve Araştırma Sahasında yerli ve yabancı zeytin türlerinden oluşan Zeytin Gen Bankası bulunmaktadır. Özellikle Ege Bölgesinde Ayvalık, Memecik, Domat, Erkence, Uslu, Çakır ve Çilli yaygın çeşitleridir [6]. Zeytin ağacından sofralık zeytin, zeytinyağı, pirina ve yaprak ürünleri elde edilmektedir. Zeytinyağı ağacın en önemli ürünlerinden biri olup, içeriğindeki zengin doymamış yağ asitleri özelliği ile damar sertliğini azaltırken kalp krizi riskini düşürmekte ayrıca gastrit veya ülserle karşı koruyucu özelliğindedir [10].

Zeytinyağı, zeytin meyvesinden çeşitli yöntemlerle elde edilen kendine özgü aroması bulunan yağdır. Türk Gıda Kodeksine göre zeytinyağı natürel, rafine ve riviera olmak üzere 3 çeşitten oluşmaktadır [11]. Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden 100 g'da 0,8 g'dan az olan yağa Natürel; 0,3 g'dan az olan yağa Rafine; 1,0 g'dan az olan yağlara da Riviera zeytinyağı denir [12]. Zeytinyağının özellikle kalitesinde meyve olgunluk derecesi, hasat zamanı, genetik faktörler ve çevresel faktörler etkilemektedir [13]. Sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı Akdeniz Diyetinde natürel zeytinyağı tercih edilmektedir. Duyusal özellikleri, temel besin kaynağı olması ve diğer özellikleri bakımından uluslararası ticarete önemli bir yere sahiptir [14].

Zeytinyağı ile birlikte diğer önemli ürün sofralık zeytindir. Temel olarak yeşil ve siyah zeytin olarak sınıflandırılabilen sofralık zeytinler farklı işleme yöntemlerine göre salamura, sele, kalamata, dolgulu, teneke tipi vb. şekillerde üretilmektedir. Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan en önemli sofralık zeytin çeşitleri Gemlik, Ayvalık, Domat, Memecik, Erkence, Uslu, Eşek Zeytini, Yamalak Sarısı ve Edincik Su çeşitleridir [15].

Zeytinyağı ekstraksiyon işleminden sonra kalan artık çekirdek, kabuk ve posadan elde edilen pirina bir diğer zeytin ürünüdür. Ham, yağı alınmış ve çekirdeği ayıklanmış pirina gibi çeşitleri bulunan pirinada yüksek oranda selüloz, tanen ve fenolik bileşik bulunmaktadır [16]. Besleyici değerlerinin de yüksek olmasından dolayı hayvan beslenmesinde kullanılmakta, ayrıca yüksek kalori değerinden dolayı yakacak olarak da kullanılmaktadır [17].

Zeytinyağı ekstraksiyon işleminde açığa çıkan sıvı atığa zeytin atık suyu (karasu) adı verilmektedir. Sulu sistemde 100 kg zeytinin zeytinyağına işlenmesi sonucunda yaklaşık 65-70 kg karasu açığa çıkarken, kontinü sistemde 60-65 kg. ve kuru sistemde ise 45-50 kg. karasu oluşmaktadır [18]. Zeytin karasuyunun olumsuz özelliklerinin yanında karasuyun toprak düzenleyicisi olarak büyük öneme sahip olan organik maddece zengin olduğu bildirilmiştir [19].

Zeytin yaprakları önceleri budama işleminden sonra bahçede artık ürün olarak bırakılmaktaydı. Bu yaprakların genel değerlendirme yöntemleri yakacak olarak ya da hayvan yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaları şeklindeydi.

Yapılan araştırmalar zeytin yapraklarının yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduklarını, özellikle antioksidan kapasitelerinin ve fenolik bileşik içeriklerinin yüksek düzeyde olduklarını göstermiştir. Budama mevsiminde elde edilen yaprak miktarlarına ilave olarak zeytinyağı üretiminde temizlik aşamasından sonra elde edilen yaprakların toplam zeytin ağırlığının % 5'i kadar olduğu göz önüne alındığında zeytin yapraklarının ekonomik önemi de ortaya çıkmaktadır [20]. Özellikle budama veya zeytin hasadı sırasında kalan zeytin yaprakları fenolik bileşikler bakımından zengin ürünlerdir. Toplam zeytinin % 10'u kadar zeytin yaprağı elde edildiği rapor edilmiştir [21]. Fenolik bileşiklerin miktarını zeytin çeşidi, hasat şekli, depolama şekli etkilemektedir. Bunun yanında bazı çalışmalarda zeytin yapraklarının yaşı, dal tipi ve zeytin çeşidinin de fenolik bileşikler üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir [22].

Ayvalık tipi zeytin ağacı Edremit yağlık, Ada zeytini, şakran ve Midilli olarak da adlandırılır. Soğuğa dayanıklıdır ve şiddetli peryodisite göstermez. Ayvalık tip zeytin ağacı kuvvetli, dik talı, seyrek dallı; uzun eliptik şekilli, orta genişlik ve uzunluğu sahiptir. Meyvesinin ağırlığı 4.20g civarında, yuvarlak şekilli ve koyu vişne rengine sahiptir. ekirdeği ise oval şekilli ve orta ağırlığu sahiptir. Zeytin ortalama % 88,50 et oranı, % 11,50 çekirdek oranına ve % 24,7 yağ oranına sahiptir. İnce, uzun eliptik ve genellikle eliptik yaprak şekilli, ortalama 4.50 mm uzunluğuunda ve gri-yeşil saplı, ortalama 62.54 mm boy ve 11.84 mm ene sahiptir. Orta damar belirgin, yan damarlar ise belirsizdir. Yaprağın alt yüzeyi hafif tüylü, üst kısmı ise pussuz, tüysüz ve rengi koyu yeşildir [6,23]. Zeytin meyvesi; cinsinden, yetiştiği yerden, iklim şartlarından, olgunlaşma ve depolama şartlarından etkilenmektedir [24].

Zeytin yapraklarının budanması genellikle zeytin hasadını takiben yapılmaktadır. Bununla birlikte zeytinyağı üretim esnasında zeytinler arasındaki yapraklar da iyi bir kaynaktır. Zeytin hasadı titizlikle ve belirli kurallara dikkat edilerek gerçekleştirilmeli, özellikle hasat esnasında ağaca zarar verilmemelidir. Zeytin yapraklarının fenolik maddelerinin ekstraksiyonu öncesinde yapraklar farklı yöntemlere kurutulmaktadırlar [25]. Kurutma işlemi su aktivitesini düşüreceğinden ürünün bozulması engellenmiş olur ve depolanma işlemleri daha verimli gerçekleştirilmektedir. Kurutma yöntemi fenolik bileşenlerini etkileyeceğinden önemli bir faktördür [26]. Kurutma ve ekstraksiyon için az sayıda yöntem vardır.

Ekstraksiyon yöntemi olarak metanol/su karışımı ve hekzan gibi farklı çözümlerin kullanıldığı yöntemlerinin yanı sıra super-ısıtılmış sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga veya ultrasonla ekstraksiyon gibi farklı teknolojilerin uygulandığı yöntemler bulunmaktadır. Bu teknolojiler arasında ekstraksiyon zamanı, ekstrakt hacmi ve kullanılan ekstraksiyon çözümleri bakımından farklılıklar olabilmektedir [27]. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinde özellikle fenolik bileşikler bakımından farklı içerikte ekstraktlar elde edilmektedir. Bu ekstraktların biyolojik aktivitelerinin de farklı oldukları belirtilmiştir [28].

Zeytin yaprakları fenolik bileşikler açısından zengindir. Bu fenoliklerin başında buruk ve acı duyusal özelliği oluşturan oleuropein yer almaktadır. Zeytin yaprağında oleuropeinden sonra hidroksitirozol, luteolin, apigenin-7-glikozitler ve verbaskosin bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada zeytin yapraklarının her 100 gr'da 2058 mg GAE polifenol, 858 mg CTE flavonoid içerdiği saptanmıştır. Bu yüksek içerik, yaprakları sağlık ve ilaç sektöründe tercih edilen bir hammadde haline getirmiştir. Üretilen fenolik ekstraktlar vücut direncinin artırılmasında ve özellikle şeker hastalığı tedavisinde tercih edilen ürün haline gelmiştir [29]. Özellikle oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyal, antiaterojenik, hipoglisemik ve pıhtı oluşumu engelleyici, kan basıncı düzenleyici, enfeksiyon giderici antibiyotik, antiviral etkileri gibi olumlu sağlık katkıları olduğu bilinmektedir. Bunun yanında zeytin yaprakları birçok madde bakımından da zengindir. Yaprakta bulunan vitaminler, yağlar ve çok sayıdaki element yaprağın biyolojik etkilerinde önemli rol oynamaktadır [30].

Zeytin yaprağı fenolik bileşikler açısından zengindir. Bu yüzden yaprakların antioksidan kapasiteleri de oldukça yüksektir. Bitkisel çayların DPPH radikalini yakalama kapasitelerinin ölçüldüğü bir çalışmada zeytin yaprağı çayının adaçayı ve böğürtlen çayından daha yüksek miktarda antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çalışmada ayrıca zeytin yaprağı çayının toplam fenolik madde miktarı 70 mg/L olarak belirlenmiştir [31]. Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerine ilave olarak antimikrobiyal aktivite göstermeleri de yaprak ekstraktlarının antimikrobiyal özellik göstermelerini sağlamaktadır. Bu bileşenlerin patojen bakterileri inhibe edici veya gelişimini engelleyici etki göstermelerinin yanı sıra çeşitli funguslara da etkilerinin olduğu bildirilmiştir [32].



*Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* ve *Vibrio parahaemolyticu*'na karşı etkili olduğu saptanmıştır [33].

Zeytin yaprağındaki oleuropeinin antiviral etkisi araştırıldığında Herpes virüslerine karşı (uçuk gibi) öldürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalıklara karşı kullanılan kuvvetli ilaçların geçici tesirli fakat oleuropeinin virüslerin dışındaki protein kılıfın yapısını bozması sonucu kalıcı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [34]. Ayrıca yaprak özü ayak ve tırnaktaki mantarlara karşı etki göstermektedir [35].

Zeytin yaprağında oleuropein ve diğer fenolik bileşiklerle beraber yüksek antioksidan etki gösterirken, vitamin E ve C ile 2,5 kat yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır [36]. Ayrıca kalp ve kardiyovasküler sistemde etkilidir. Kolesterol düşürücü etkisi, kalp yetmezliği ve damar tıkanıklığını önleyici özelliği rapor edilmiştir [37]. Yine kan şekeri üzerinde oleuropeinin hipoglisemik etkisi çalışmalarla kanıtlanmıştır [38]. Zeytin yaprağı dizanteri, özütü bronşit, cilt hastalıkları, kulak enfeksiyonları, romatizmal hastalıklar ve ülser hastalıklarına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir [33].

Bu çalışmada doğrudan gıda olarak veya biyoaktif bileşen eldesin de kullanılan önemli bir kaynak olan zeytin yapraklarının fenolik bileşenleri, antioksidan aktivite ve mineral madde kompozisyonu gibi özellikleri tespit edilmesi planlanmıştır. Bu amaçla Ayvalık zeytin çeşidine ait zeytin ağaçlarından dört farklı yükseltiden (0, 92, 235 ve 360 m) ve dört farklı hasat zamanında (2013 yılı Mayıs, Ağustos, Kasım ve 2014 yılı Şubat) zeytin yaprakları toplanmıştır. Fenolik bileşim HPLC cihazı ile antioksidan aktivite DPPH radikalini temizleme aktivitesinin ölçüldüğü spektrofotometrik yöntemle, mineral madde kompozisyonu ise ICP-OES cihazı ile belirlenmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi amacıyla SPSS 21.0 istatistik programı kullanıldı ve sonuçlar varyans analizi ile yorumlandı. Çalışma sonucunda zeytin yapraklarının fenolik bileşim, antioksidan aktivite ile mineral madde içerikleri gibi özelliklerinin farklı yükselti ve farklı hasat mevsimi faktörlerine bağlı olarak değişimleri ortaya konuldu. Ayrıca bu çalışma ile Edremit Körfezi'nde yetişen Ayvalık çeşidi zeytin ağacı yapraklarının bahsedilen özellikleri üzerine yükselti ve mevsim faktörlerinin etkileri ilk defa ortaya konuldu.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

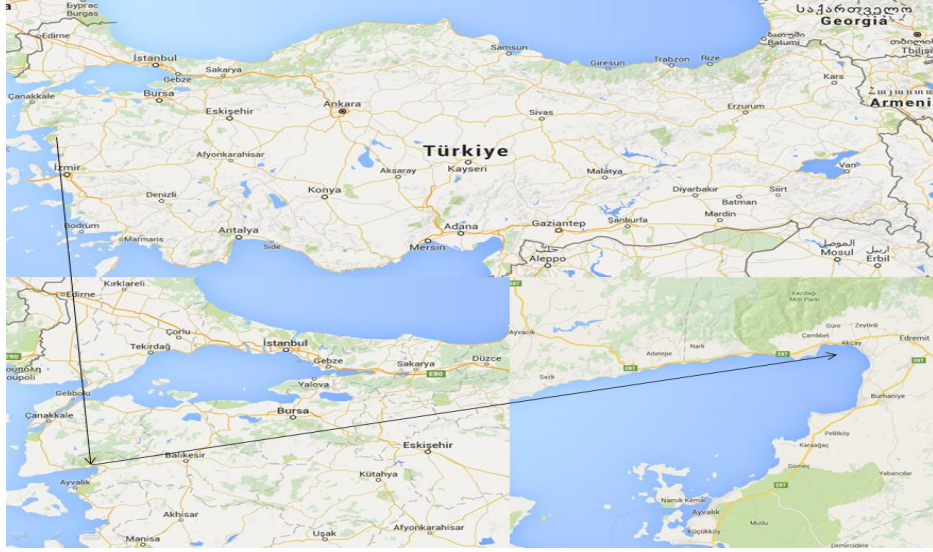
Uluslararası Zeytinyağı Konseyi 2015 verilerine göre dünyada zeytinyağı üretimi 1.433.000 ton ile en çok Avrupa Birliği ülkelerinde gerçekleşmektedir. Bu ülkeler arasında zeytinyağı üretiminde başta İspanya 841.200 ton ile ilk sırada yer alırken 300.000 tonla Yunanistan 2. Sırada, 222.000 tonla İtalya 3.sırada yer almaktadır. Avrupa Birliği ülkeleri dışında ise 340.000 ton üretim Tunus'ta, 170.000 ton Türkiye'de yapıldığı tespit edilmiştir. Tunus böylece dünya ülkeleri arasında 2. sırada yer almaktadır. Önceki yıllara oranla Tunus'un üretimin artması, Türkiye'deki üretimin ise azalması özellikle devlet politikaları ve peryodisite neden olarak gösterilmektedir [39].

Türkiye İstatistik Kurumu güncel verilerine göre toplam 171.992.000 bin zeytin ağacı bulunmakta bunların 144.760.000'si meyve vermektedir. Zeytin üretimi ise 1.700.000 tondur. Üretilen zeytinin 400.000 tonu sofralık, 1.300.000 tonu yağlık olarak kullanıldığı tespit edilmiştir [40].

Sofralık zeytin üretiminde yine Avrupa Birliği Ülkeleri toplam 841.500 ton ilk sıradayken ikinci sırada 410.000 ton ile Türkiye yer almakta ve 400.000 ton üretimle Mısır Türkiye'yi takip etmektedir. Tunus ise 25.000 ton sofralık zeytin üretimiyle alt sıralarda yer almaktadır. Avrupa ülkeleri arasında 547.000 ton üretimin İspanya'da, 231.000 ton Yunanistan'da ve 42.000 ton İtalya'da sofralık zeytin üretimi gerçekleştirildiği tespit edilmiştir. Sofralık zeytin ihracatında 225.000 ton ile İspanya başta yer alırken, ithalat en fazla 39.200 tonla Fransa tarafından gerçekleştirilmektedir. Zeytin tüketimi sağlık üzerine olumlu etkilerinden ve besleyici olmasından dolayı dünyada en fazla tüketim 350.000 ton ile Mısır'da, 330.000 tonla Türkiye'de ve 231.000 ton ile Cezayir'de önemli bir tüketime sahiptir. Avrupa Birliği ülkeleri arasında ise 185.300 ton tüketim İspanya'da ve 116.800 ton İtalya'da yapılmaktadır [39].

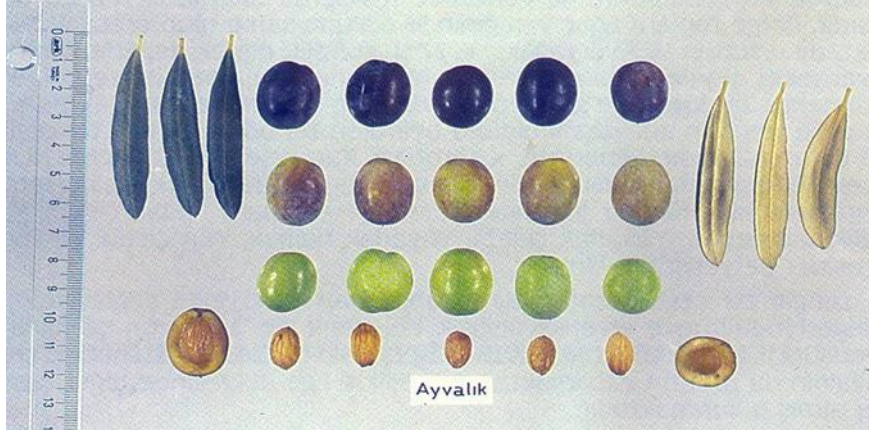
Türkiye'de Ege bölgesi toplam zeytin ağacı sayısı ve zeytin üretiminde en büyük paya sahiptir. Bölgede en çok zeytin ağacı Edremit Körfezi kıyılarında ve Milas çevresinde görülmektedir.

Yapılan incelemeler sonucunda en kaliteli zeytin ve zeytinyağı burada üretildiği tespit edilmiştir [41]. Türkiye’de ana merkez durumunda olan Edremit Körfezinde özellikle Edremit, Havran ve Burhaniye’de zeytin ağaçları yoğun olarak bulunmaktadır [42]. Ülkemizde zeytin ağaç ve bahçelerinin desteklenmesi sonucunda zeytin ağaçlarının ve dikilen zeytin fidanlarının sayısı 150 milyonu aşmıştır [43].



**Şekil 2.1:** Zeytin ağacı dağılım haritası.

Edremit Körfezinde en yaygın bulunan ve tüketilen *Olea europaea* L. türü zeytin çeşididir. Genellikle koku, aroma ve renk bakımından uygun olduğundan yağlık olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca çizme zeytin ve sele tipi zeytin olarak da kullanılmaktadır. *Olea europaea* L. kuvvetli, dik ve yayvan taçlı ve seyrek ve dağınık yaprak yoğunluğuna sahip bir ağaç türüdür. Yüksek periyodisite göstermektedir. Eliptik şekilli, orta uzunluk ve genişlikte yapraklara sahip olup; yuvarlak, simetrik, sap kısmı olmayan, az ve küçük lentiselli, koyu vişne renkli meyveye sahiptir. Ayvalık çeşidi zeytin meyvesi erken olgunlaşır ve soğuğa tam dayanıklı değildir. Çekirdeğinin şekli oval, yüzeyi pürüzlü, orta seviyede büyüklüktedir. Ayvalık çeşidine ait meyvelerin ve yaprakların olgunlaşma sürecindeki fiziksel görünüşleri Şekil: 2.2’de verilmiştir [23]. Elde edilen yağın kalitesi ise yüksektir [6,12].



**Şekil 2.2:** Ayvalık çeşidine ait meyvelerinin, yapraklarının ve çekirdeklerinin olgunlaşma sürecindeki fiziksel görünüşleri [23].

Yapılan araştırmalarla zeytin yapraklarının yüksek antioksidan kapasitesine ve zengin fenolik bileşime sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Bu çalışmalar sonucunda zeytin yaprakları gıda ve kozmetik endüstrisinde hammadde olarak kullanılmaya başlanmıştır. Yaprak yapısının bozulmaması ve içerisindeki fenolik maddelerin korunması içinde en kısa sürede ve en az hasarla hammadde haline getirilmelidir. Bu süreçte yaprakların nem oranı hem muhafaza hem de iyi bir ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesini sağlamak için en kısa zamanda azaltılmalıdır [44]. Aynı zamanda biyokimyasal ve mikrobiyolojik aktivite oluşmasını önlemek için hasat işlemi tamamlandıktan sonra hemen kurutma işlemine geçilmeli ve bu şekilde ürün kalitesi artırılmalıdır [45].

Genellikle zeytin yapraklarının antioksidan kapasitesini belirlemek için yapraktaki antioksidan maddeler ile serbest radikaller arasındaki ilişkiye göre saptanan serbest radikal tutma analizi yapılmaktadır. Antioksidanlar serbest radikalleri tutar ve bu tutma kapasitesine göre testler yapılır. Bu analizlerde çok hızlı reaksiyona giren ABTS ve DPPH antioksidan maddeleri kullanılmakta olup sonuçlar en çok spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir [46]. Yapılan analizler sonucu genç yeşil yapraklardaki antioksidan aktivitenin yaşlı yapraklara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca oleuropeinin antiradikal kapasitesinin Troloks, BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlardan daha yüksek kapasiteye sahip olduğu saptanmıştır [47].

Zeytin türlerinde yapılan çalışmalarda fenollerin serbest radikal süpürücü etkisi açısından saf flavonoidlerle kendi içerisinde ve BHT ile kıyaslanmıştır. En yüksek antioksidan aktivite BHT'e göre hidroksitirosol de olduğu onu kafeik asit ve kursetinin takip ettiği ayrıca oleuropein'in de oksidasyonuna karşı Vitamin E ve BHT'den daha fazla miktarda olduğu saptanmıştır [48,49]. Yapılan araştırmalarda hidroksil (-OH) grubu fazla ise antioksidan etkinin de fazla olduğu belirtilmiş ve tek hidroksil grubu bulunduran tirosol gibi bileşiklerinde düşük, iki hidroksil grubu bulunduran hidroksitirosol gibi bileşiklerde ise yüksek antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır [50,51]. Zeytin yaprağı ekstraktı içindeki flavanoidler incelendiğinde en çok rutinde aktivite olduğu kateşin, oleuropein ve kafeik asit onu takip ettiği en az ise vanilinde antioksidan aktivite bulunduğu tespit edilmiştir [30].

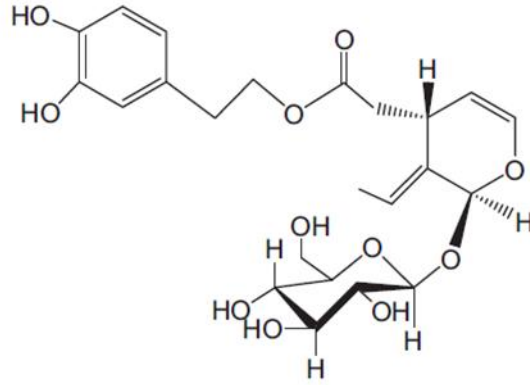
Zeytinyağında DPPH radikali tutma kapasitesi içerisinde farklı miktarlarda zeytin yaprağı katılarak ölçülmüştür. Zeytin yaprağı katılan yağlarda DPPH tutma kapasitesinin daha fazla olduğu ve bu miktarın 7 kata kadar fazla aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Oleuropeinin bu ölçümlerde önemli olduğu tespit edilmiştir [52].

Zeytinin yaprağı ve karasuyunda yapılan toplam fenol madde içeriği analiz sonuçlarında hasat dönemi ve zeytinin türü başta olmak üzere yetiştiği bahçedeki toprak özelliği, bulunduğu iklim ve depolanma durumuna göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir [47]. Zeytinin işlenmesi sırasında Oleuropen'in miktarında azalma olduğu buna karşın Hidrositrosol miktarında artma olduğu tespit edilmiştir [53]. Zeytinde yapılan araştırmalarda yaprak ekstraktındaki toplam fenol madde miktarı ile antioksidan aktivite arasında kuvvetli bir bağlantı olduğunu göstermektedir [54,55].

Zeytin yaprağında yapılan mineral madde tayinlerinde zeytin yapraklarında N ve P elementlerinin miktarları mevsime bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu değişime meyvenin gelişme durumu ve çiçeklenmesinin sebep olduğu saptanmıştır [56]. Türkiye'de ki zeytin çeşitlerinde yapılan çalışmalarda K düzeyi en az % 0,72 en fazla % 1,46 olduğu saptanmıştır [57]. Başka bir çalışmada Gemlik türü zeytinin yapraklarındaki mineral maddelerden N, P, Mg ve Ca mineralleri düzeyi yeterli olmadığı fakat K minerali yetersiz olduğu bulunmuştur [58]. Özellikle Balıkesir'de bulunan önemli zeytin çeşitlerinden Ayvalık, Memecik ve Domat çeşitlerinde N, P, Ca, Mg ve K mineral maddelerinin arasında bağlantı olduğu tespit edilmiştir [59].

Ayvalık zeytin çeşidinde yaprak örnekleri incelenmiş başta azot, fosfat, kalsiyum ve magnezyum, bakır seviyeleri genellikle yeterli olduğu ancak potasyum, bor ve çinko seviyelerinin yetersiz düzeyde olduğu tespit edilmiştir [60].

Zeytin yaprağında birçok fenolik bulunmakta olup en önemlisi de oleuropeindir. Yapılan yaprak ekstraktlarında oleuropein ve hidrokstitirosolün antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir [30,48]. Çalışmalar da zeytin yaprağı ekstraktının zeytinyağı oksidasyonuna karşı koruduğu saptanmıştır [61]. Zeytin yaprağındaki fenollerin büyük çoğunluğu antibakteriyel etkisinin yanında antifungal ve antioksidan aktiviteye de sahip olduğu tespit edilmiştir [21, 44, 62]. Ayrıca zeytin yaprağında bu özelliklerin yanında antiviral özellik de tespit edilmiştir [63, 64]. Oleuropeinin kimyasal yapı formülü Şekil 2.3'te verilmiştir [65].



**Şekil 2.3:** Oleuropeinin kimyasal yapı formülü.

Zeytin yaprak ekstraktlarındaki oleuropeinin mikroorganizmalara karşı yapılan çalışmalarda *Esheria coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella typhi*, *Moraxella catarrhalis*, *Bacillus cereus* ve *Vibrio parahaemolyticus*'na gibi canlıların yanında küflere de karşı tepki verdiği tespit edilmiştir [33,66]. Zeytin yaprağı ekstraktları üzerine Mısır'da yapılan çalışmalarda da antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir [67].

Yapılan araştırmalarda zeytindeki fenolik bileşikler, zeytinin besin değerini, meyve rengini ve mikroorganizmalara karşı gösterdiği dayanıklılığı etkilediği belirtilmiştir.

Fenolikler kardiyovasküler ve kan hastalıklarına karşı etkili olduğu saptanmıştır. Zeytindeki başlıca fenolikler; tyrosol (p-hydroxy-phenyl ethanol) başta olmak üzere hydroxytyrosol (HT) (2, (3, 4-dihydroxyphenyl)-ethanol) ve oleuropein ve elenolik asit bulunmaktadır. Zeytin meyvesinin içerisinde bulunan fenolik madde miktarı; zeytin meyvesinin çeşidine, yetiştiği bölgeye ayrıca iklim koşullarına ve depolanma şartlarına bağlı olarak değişmektedir [24].

Zeytin ağacı dünyanın en sağlam ve dayanıklı ağacı olmasının yanında tedavi edici özelliği de bulunmaktadır. Zeytin ağacı toplumda meyvesi, yaprağı ve diğer yan ürünleriyle hem beslenme hem tedavi amaçlı ekonomik öneme sahiptir [68]. Toplumda en eski çağlardan beri özellikle zeytin yaprakları tedavi edici amaçla özellikle Malarya hastalığına karşı kullanılmıştır. Günümüzde yapılan araştırmalar da zeytin yaprağı ekstresinin tedavi edici özelliğini desteklemektedir. Malarya hastalığının yanında hipertansiyonu düşürücü özelliği de tespit edilmiştir [69].

Gemlik zeytininden elde edilen zeytinyağında yapılan bir araştırmada fenolik bileşen ve antioksidan kapasiteleri incelendiğinde başta hidrokstitirozol, 4-hidroksibenzoik asit, tirozol, 2,3-dihidroksibenzoik asit ayrıca kafeik asit, vanilik asit, sirinjik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, vanilin, sinamik asit, apigenin ve luteolin maddeleri bulunduğu saptanmıştır. En fazla miktarda bulunan baskın fenolik tirozolün olduğu, bunun yanında apigenin ve hidrokstitirozolün de fazla miktarda bulunduğu saptanmıştır. Fenolik bileşikler ile antioksidan kapasite arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır [70].

Zeytin yaprağında benzoik asitlerden gallik, salisilik, vanilin; sinamik asitlerden sinamik, kumarik, kafeik bulunduğu tespit edilmiştir. Yapraktaki başlıca sekoiridoidler arasında oleuropein, oleurosit ve dimetileuropein; flavonoidlerden ise apigenin, hesperidin, luteolin ve rutin bulunmaktadır. Biyoaktif bileşiklerden ise amyirin,  $\beta$ -karoten, eritrodiol, maslinik asit bunun yanında oleanolik asit, sgulen, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, tokoferol ve ursolik asit olduğu tespit edilmiştir [71].

Yapılan araştırmalar sonucunda zeytin yapraklarındaki toplam fenolik madde miktarını iklim şartları, yetiştiği toprak özellikleri, zeytin ağacının türü, hasat yapıldığı dönem ve zeytin üretim koşullarına göre değiştiği tespit edilmiştir [47]. Zeytin yapraklarından elde edilen ekstrakt ile antioksidan aktivite arasında bağlantı olduğu saptanmıştır [54,55].

Zeytin yaprak ve ekstraktında toplam fenol bileşeni ağacın bulunduğu coğrafya, hasat zamanı, zeytin çeşidi, yaprak yaşı, kurutma yöntemi ve çözücülere göre değiştiği tespit edilmiştir [71,72].

Mevsimplere göre zeytin yapraklarındaki oleuropein miktarı incelendiğinde Ekim ayında hasat edilen yapraklardaki miktarın Mart ayında hasat edilen yapraklara göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun sebebi ise yeşil ve genç yaprakların daha az üretim yaptığından dolayı oleuropein miktarının bahar aylarında düşük olduğu koyu renkli yapraklarda ise daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Koyu renkli yapraklarda ise Zeytin yapraklarında oleuropein miktarını yaprağın rengi ve ağacın yaşı etkilemektedir. Ağacın yaprak dökme zamanında ise yeşilimsi ve tamamı sarı olan yaprakların oleuropein miktarının en az olduğu saptanmıştır [47]. Başka bir çalışmada zeytin yaprağındaki fenolik bileşik miktarının yaprak yaşına, dal tipine (güçlü, orta veya zayıf ) ve çeşide göre değişiklik gösterdiği, Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında hasat edilen yapraklar arasındaki farklılığın en önemli sebebi toplanma zamanı ve çeşit olduğu belirlenmiştir [22].



## **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **3.1 Materyal**

Çalışmada materyal olarak Ayvalık zeytin çeşidine ait zeytin yaprakları kullanılmıştır. Zeytin yaprak örnekleri, yükseklik ve hasat tarihi olmak üzere iki parametre kullanılarak elde edilmiştir. Buna göre 0 m, 92 m, 235 m ve 360 m olmak üzere dört farklı yükseklik ve 2013 yılının Mayıs, Ağustos ve Kasım, 2014 yılının Şubat ayında olmak üzere dört farklı hasat tarihinde yaprak örnekleri bahçedeki zeytin ağaçlarından rastgele seçilen dördünden elle toplanılmıştır. Daha sonra toplanan yaprak örnekleri birleştirilerek homojen özellik kazandırılmıştır. Yaprak örnekleri analizleri yapılmadan önce üzerlerindeki safsızlıklardan saf su yardımıyla arındırılmış ve gölgede üç gün süreyle bekletilerek kurutulmuştur. Daha sonra kilitli poşetler içerisinde  $-80^{\circ}\text{C}$ 'deki buzdolabında analizleri yapılincaya kadar muhafaza edilmiştir.

### **3.2 Yöntem**

#### **3.2.1 Nem Tayini**

Zeytin yapraklarında nem tayini TS 1632'de belirtildiği gibi yapıldı [73]. Öğütölüp küçük parçalar haline getirilen zeytin yaprakları yaklaşık 5 g kadar tartıldı.  $105\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde sabit tartıma ulaşıncaya kadar tutulan yaprakların nem içerikleri buharlaşan nem miktarına göre saptandı.

#### **3.2.2 Kül Tayini**

Zeytin yapraklarında kül tayini TS 2131 ISO 928'e göre yapıldı [74]. Öğütölüp küçük parçalar haline getirilen zeytin yaprakları yaklaşık 2 g kadar tartıldı.

Porselen krezeler içine konulan yaprak örnekleri kül fırınında(Carbolite CWF 1300, İngiltere ) 600°C’de yakıldı.

### **3.2.3 Zeytin Yapraklarından Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu**

Zeytin yaprakları gölgede 3 gün kurutulularak, saf su ile bulaşanlarından arındırıldı. 50 g yaprak hemojenize edilerek %70’lik etanol içerisinde, belli aralıklarla karıştırılarak 15 gün bekletilmiştir. Bu işlemde sonra oluşan karışım adi filtre kağıdı ile süzülerek, elde edilen süzüntü 50 °C’de rotary evaporatörde uçurulmuştur [75]. Rezidüde kalan çözücünün tamamen uçurulması için çeker ocakta 1 gün kadar bekletilerek ekstraktlar analize hazır hale getirilmiştir. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ve Toplam Fenolik Madde gerçekleştirilinceye kadar -20 °C’de bekletilmiştir.

### **3.2.4 Zeytin Yapraklarının Antioksidan Aktivite Tayini**

#### **3.2.4.1 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi**

Zeytin yaprak ekstraktlarının Folin-Ciocalteu spektrofotometrik metodu kullanılarak toplam fenolik madde miktarları belirlendi [76]. Yaprak ekstraktlarından bir tüp içerisine pipetle 40 µL koyularak, seyreltmek için üzerine 2,40 ml saf su eklendi. Bu karışımın içerisine 200 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenerek karıştırıldı. Elde edilen karışıma 30 saniye sonra, 7.5 dakika önce 600 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (% 38’lik doymuş sodyum karbonat) çözeltisi ilave edildi. Tüplere 760 µL saf su ilave edilip, karanlıkta bekletilmiştir. 2 saat sonra çıkartılan çözeltiler spektrofotometre (T70+UV/VIS spectrophotometer, PG Instruments, England)’de 765 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Elde edilen ölçüm sonuçları gallik asit kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem yardımı ile mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak hesaplandı. Gallik asit kalibrasyon eğrisi denklemi aşağıda verilmiştir. Analizler üç paralel halinde yapıldı.

Toplam fenolik analizi için kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem

$$y=24,348x+0,0312$$

### 3.2.4.2 DPPH Yöntemi ( Serbest Radikal Süpürücü Etkisi)

Zeytin yaprak örnekleri -80 °C'den çıkarılarak öğütücüde toz durumuna getirilmeden önce sıvı azot ilave edildi. Elde edilen örneklerden 0,5'er g tartılarak tüplerde 5 mL %80'lik metanol eklenerek bir gece bekletilmek üzere +4 °C'de buzdolabına kaldırıldı. Daha sonra 15 dakika boyunca 4500 rpm' de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerin üstünde kısım (supernatant) alındı. Tüpte kalan pellete önce 5ml %80'lik sonra 2 ml %80'lik metanol ile 12 ml hacime tamamlandı. Daha sonra tekrar santrifüje tabi tutularak oluşan süpernatantlar daha önce elde edilenlerle birleştirilip elde edilen ekstraktlar -20 °C'de muhafaza edildi [77].

DPPH analizi yapmak için hazırlanan ekstraktlardan 250 µL alınarak üzerine 2.5 ml saf metanol ve 2.5 ml DPPH çözeltisi ilave edilip, karanlıkta bekletilmiştir. 1 saat süre ile bekletilen karışım, sadece saf metanol ve DPPH kullanılarak hazırlanan kontrol çözeltisine karşı değerler spektrofotometrede (T70+UV/VIS spectrophotometer, PG Instruments, England)'de 517 nm absorbansta ölçüldü. İşlemler oda sıcaklığında yapıldı [78]. Serbest radikalleri yakalama aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) aşağıdaki formül ile hesaplandı. Elde edilen sonuçlar % inhibisyon olarak verildi.

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH)} = [(AbsKontrol - AbsÖrnek) / AbsKontrol] \times 100$$

### 3.2.5 Fenolik Bileşimin Belirlenmesi

#### 3.2.5.1 HPLC Analizi (High Performance Liquid Chromatography)

Zeytin yaprak fenolik ekstraktları 10 ml metanolde çözülmek üzere 100 mg ekstrakt tartılarak karışım elde edilmiştir. Bu karışım 0.45 µm'lik şırınga filtreden geçirilerek HPLC'ye enjekte edildi. Kademeli elüsyon (gradiyent) Şekil 3.1'deki programa göre fenolik maddelerin profilini belirlemek üzere çalışıldı [75].

Mobil faz olarak çözücü A için %3'lük Asetik asit çözeltisi ve B çözücüsü için HPLC saflıkta Metanol çözeltileri kullanıldı.

Fenolik madde standartları olarak, 1. Gallik Asit, 2. Klorojenik Asit, 3. 4-hidroksibenzaldehit, 4. Vanilik Asit, 5. Kafeik Asit, 6. Epikateşin, 7. Siringik Asit, 8. Echinococside, 9. P-Kumarik Asit, 10. Ferrulik Asit, 11. Benzoik Asit, 12. 2-Hidroksisünamik Asit, 13. Hesperidin, 14. Rutin Hidrat, 15. Resveratrol, 16. Rosmarinik Asit, 17. Transsünamik Asit, 18. Kuersetin, 19. Neoklorojenik Asit, 20. Kuromanin Klorid, 21. 4-O-Caffeolkuinik Asit, 22. Taksifolin, 23. Çikoric Asit, 24. Ellagic Asit, 25. Oleuropein, 26. Mirisetin, 27. Luteolin, 28. Ursolik Asit, 29. Naringenin, 30. Apigenin-7-Glukozit, 31. Juglon, 32. Naringin, 33. Kaempferol kullanılmıştır.

**HPLC cihazı (Shimadzu Marka, Kyoto/Japan ) ve analiz koşulları;**

Dedektör: DAD dedektör ( $\lambda_{max}=278$ )

Auto sampler: SIL-10AD vp

System controller: SCL-10Avp

Pump: LC-10ADvp

Degasser: DGU- 14A

Column oven: CTO-10Avp

Kolon: Agilent Zorbax EclipseXDB-C18 (250x4,60 mm) 5  $\mu$ m

Mobil faz: Çözücü A( %3 asetik asit), Çözücü B( Metanol)

Akış Hızı: 0.8 mL / dakika

Kolon sıcaklığı: 30 °C

Enjeksiyon hacmi: 20 mikrolitre

Elüsyon (gradiyent) programı:

| #  | Time  | Module | Event  | Value | Comment |
|----|-------|--------|--------|-------|---------|
| 1  | 3.00  | Pumps  | B.Conc | 7     |         |
| 2  | 20.00 | Pumps  | B.Conc | 28    |         |
| 3  | 28.00 | Pumps  | B.Conc | 25    |         |
| 4  | 35.00 | Pumps  | B.Conc | 30    |         |
| 5  | 45.00 | Pumps  | B.Conc | 33    |         |
| 6  | 60.00 | Pumps  | B.Conc | 33    |         |
| 7  | 62.00 | Pumps  | B.Conc | 42    |         |
| 8  | 70.00 | Pumps  | B.Conc | 50    |         |
| 9  | 75.00 | Pumps  | B.Conc | 80    |         |
| 10 | 80.00 | Pumps  | B.Conc | 100   |         |
| 11 |       |        |        |       |         |

Şekil 3.1: HPLC elüsyon programı.

### 3.3 Mineral Madde Tayini

Yabancı maddelerinden arındırılan ve öğütülen zeytin yaprakları homojenize edildi. Örneklerden 0,3 g tartılarak üzere 5 ml nitrik asit eklendi ve saf su ile 25 ml tamamlanarak 24 saat bekletildi. Mikrodalga bozundurma kaplarına alınan numuneler aşağıdaki Tablo 3.1' deki mikrodalga programına göre bozunduruldu. Örneklerin metal içerikleri ICP-OES ile tayin edildi. Kullanılan cihaz CEM marka Mars 5 modeldir [79-81].

Tablo 3.1: Mikrodalga bozundurma programı

| Süre <sup>1</sup> (dak) | Basınç (psi) | Sıcaklık (°C) | Süre <sup>2</sup> (dak) | Güç (watt) |
|-------------------------|--------------|---------------|-------------------------|------------|
| 25                      | 200          | 150           | 25                      | 1200       |

1: İstenilen sıcaklığa ulaşma süresi

2: İstenilen sıcaklıkta kalma süresi

Mineral Maddeler için kullanılan Dalga boyları ile ICP-OES çalışma şartları aşağıda verilmiştir.

**Dalga boyları (nm):** 317.933 (Ca); 285.213 (Mg); 257.610 (Mn); 206.200 (Zn); 267.716 (Cr); 238.204 (Fe); 228.616 (Co); 231.604 (Ni); 327.393 (Cu); 308.215 (Al); 228.802 (Cd) ; (Pb) 220.349; 202.031 (Mo) ; 189.927 (Sn); 290.880 (V); 233.527 (Ba).

**ICP-OES çalışma şartları;**

Polikromator Echelle bazlı polikromator

UV bölge (167-403 nm)

Torch pozisyonu Aksiyal

Tekrar kalibrasyon sistemi Hg lambası

Dedektör Segmented array charge coupled device detector

RF jeneratör 40 MHz, free running, 750-1000 Watts

Sisleştirici Cross flow

Plazma gaz akısı 15 L min-1

Auxiliary gaz akısı 0,5 L min-1

Sisleştirici gaz akısı 0,5 L min-1

View height 15 mm

Örnek akış hızı 1 mL min-1

Örnek fişkirtma (flush) zamanı 4 s

Örnek fişkirtma (flush) hızı 4,0 mL min-1

Okuma süresi (Delay time) 60 s

Yıkama hızı 1,5 mL min-1

Yıkama süresi 20 s

### **3.4 İstatistik Analizler**

Zeytin yapraklarının farklı hasat mevsimi ve farklı yükseltilerde yapılan analiz sonuçlarının arasındaki farklılığın ortaya konulması amacıyla SPSS 21.0 istatistik programı kullanılarak gruplar arası farklılığın önemini tespit etmek için varyans analizi (ANOVA), gruplar arası farklılığı belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır [82].

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda Ayvalık çeşidi zeytin ağacı bitkisi yapraklarının nem ve kül içerikleri, toplam fenolik madde miktarı, DPPH antioksidan kapasiteleri ile fenolik ve mineral bileşimleri farklı yükselti ve hasat zamanı faktörlerine bağlı olarak araştırılmıştır. Toplanan zeytin yaprağı örneklerine ait kodlar Tablo 4.1’ de verilmiştir.

**Tablo 4.1:** Yaprak örneklere ait kodlar.

| Mevsim  | Yükselti  | Örnek kodu |
|---------|-----------|------------|
| Mayıs   | 0 metre   | A1         |
| Mayıs   | 92 metre  | A2         |
| Mayıs   | 235 metre | A3         |
| Mayıs   | 360 metre | A4         |
| Ağustos | 0 metre   | B1         |
| Ağustos | 92 metre  | B2         |
| Ağustos | 235 metre | B3         |
| Ağustos | 360 metre | B4         |
| Kasım   | 0 metre   | C1         |
| Kasım   | 92 metre  | C2         |
| Kasım   | 235 metre | C3         |
| Kasım   | 360 metre | C4         |
| Şubat   | 0 metre   | D1         |
| Şubat   | 92 metre  | D2         |
| Şubat   | 235 metre | D3         |
| Şubat   | 360 metre | D4         |

2013-2014 yıllarına ait ortalama aylık ve yıllık sıcaklık, yağış, nisbi nem ve güneşlenme sürelerini içeren meteorolojik veriler Tablo 4.2 ‘de Meteoroloji Genel Müdürlüğü Edremit istasyonundan temin edilmiştir. Meteorolojik veriler incelendiğinde 2013 yılı ortalama sıcaklığın 28,3 °C ile Ağustos ayında en yüksek sıcaklık, ortalama 8,0 ile en az Aralık ayında görülmüştür. Aylar arasındaki nisbi nem miktarı en fazla Şubat ayında görülürken, en az Haziran ayında olduğu saptanmıştır. Güneşlenme süresi en fazla Haziran ayında iken, en az Ayında olduğu tespit edilmiştir. Edremit bölgesinde yağış miktarı ise ortalama metrekarede 248,7 kg



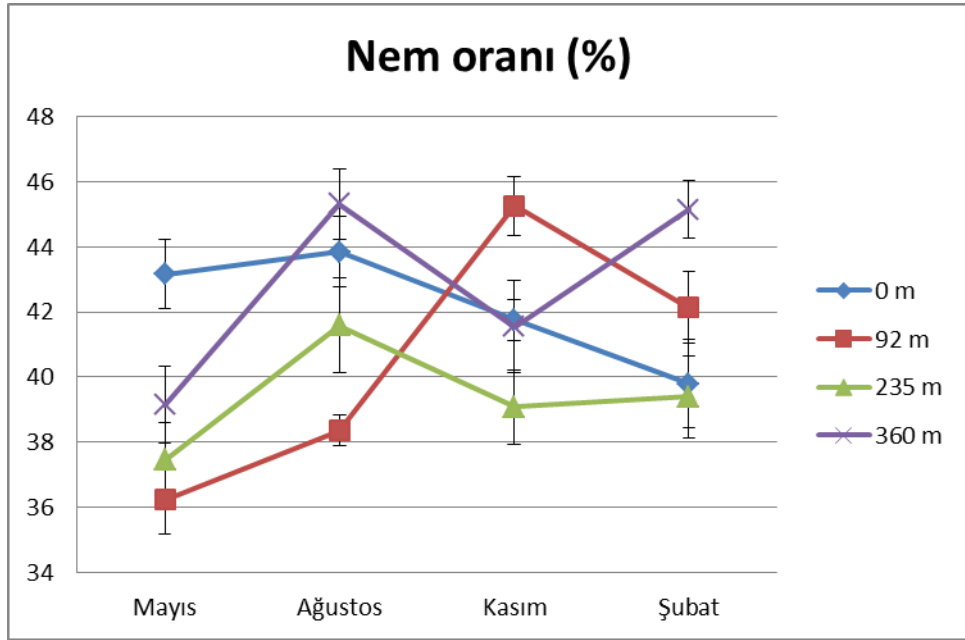
ile en çok Mart ayında görülmüştür. Ağustos ayında ise bölgenin hiç yağış almadığı saptanmıştır. Nisbi nem miktarı 2014 yılı verilerine bakıldığında 2013 yılındaki değerlerden yüksek olduğu; sıcaklık, yağış ve güneşlenme süresi bakımından 2013 ortalama değerlerinin altında kaldığı tespit edilmiştir.

**Tablo 4.2:** Edremit İlçesine ait 2013-2014 yılları meteorolojik verileri.

| AYLAR   | Ortalama Sıcaklık (°C) |      | Yağış Miktarı (kg/m <sup>2</sup> ) |      | Nisbi Nem (m/sn <sup>-1</sup> ) |      | Güneşlenme Süresi (h) |       |
|---------|------------------------|------|------------------------------------|------|---------------------------------|------|-----------------------|-------|
|         | 2013                   | 2014 | 2013                               | 2014 | 2013                            | 2014 | 2013                  | 2014  |
| Ocak    | 8,4                    | 11,1 | 211,6                              | 68,6 | 73,6                            | 75,2 | 94,0                  | 85,8  |
| Şubat   | 10,1                   | 10,4 | 183,0                              | 3,8  | 74,0                            | 70,4 | 96,3                  | 126,0 |
| Mart    | 12,5                   | -    | 248,7                              | -    | 66,6                            | -    | 148,5                 | -     |
| Nisan   | 16,2                   | -    | 54,2                               | -    | 57,5                            | -    | 166,5                 | -     |
| Mayıs   | 22,2                   | -    | 22,1                               | -    | 54,4                            | -    | 228,3                 | -     |
| Haziran | 25,0                   | -    | 24,0                               | -    | 41,0                            | -    | 307,2                 | -     |
| Temmuz  | 27,6                   | -    | 0,8                                | -    | 43,8                            | -    | 321,2                 | -     |
| Ağustos | 28,3                   | -    | 0                                  | -    | 49,8                            | -    | 273,2                 | -     |
| Eylül   | 22,9                   | -    | 8                                  | -    | 60,3                            | -    | 214,4                 | -     |
| Ekim    | 16,6                   | -    | 126,8                              | -    | 72,2                            | -    | 181,8                 | -     |
| Kasım   | 14,4                   | -    | 177,0                              | -    | 63,3                            | -    | 118,5                 | -     |
| Aralık  | 8,0                    | -    | 9,4                                | -    | 73,6                            | -    | 88,7                  | -     |
| Toplam  | 17,68                  |      | 88,8                               |      | 60,84                           |      | 186,5                 |       |

#### 4.1 Nem İçeriği

Farklı mevsim ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının nem ve kül içeriklerine ilişkin veriler Şekil 4.1’de verilmiştir. Örneklerin nem içerikleri %36,22 ile %45,32 arasında değiştiği görülmüştür. En yüksek nem içeriği Ağustos ayında 360 m yükseklikten toplanan yaprak örneklerinde, en düşük nem içeriği ise Mayıs ayında 92 m yüksekliğinden elde edilen yaprak örneklerinde tespit edilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testinden elde edilen sonuçlara göre örneklerin nem içerikleri bakımından 7 farklı grup oluşmuştur. Mayıs ayında toplanan örnekler incelendiğinde en yüksek nem oranı 0 m yükseltideki numunelerde, Ağustos ayında 360 m yükseklikteki yaprak numunelerinde, Kasım ayında ise 92m ve Şubat ayında 360 m yükseklikteki yaprak numunelerinde olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.1:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının nem yüzdesi.

Zeytin yaprak numuneleri yükseltilere göre kıyaslandığında örneklerin nem içerikleri 0 m yükseltiler de en fazla değeri Ağustos ayında, en düşük değeri ise Şubat ayında olduğu görülmüştür. 92 m yükseklikte en yüksek Kasım’da en düşük Mayıs ayı örneğinde, 235m’de en yüksek nem oranı Ağustos ayında en düşük Mayıs ayında, 360m’de en yüksek Ağustos en düşük Mayıs ayında toplanan örneklerinde olduğu saptanmıştır.

Helvacı ve ark.'ın (2013) zeytin yapraklarının kurutulması üzerine gerçekleştirdikleri bir çalışmada Mart, Nisan ve Mayıs aylarında toplanan yaprakların nem içerikleri ortalama % 40 oranında olduğu belirtilmiştir. Bilindiği üzere bitkilerde nem içeriği üzerine çeşitli faktörlerin etkisi bulunmaktadır. Yağış miktarı, sıcaklık, çeşit ve lokasyon etkilemiştir [83].

Yaprak örneklerinin nem analizleri sonuçları bakımından yükselti ve hasat tarihlerine göre farklılıklarını gösteren varyans analizleri Tablo 4.3'te verilmiştir. Yükselti ve hasat tarihi faktörlerinin söz konusu analiz sonuçları üzerine  $p < 0,05$  önem seviyesinde etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Bitkisel çay olarak da tüketilen zeytin yaprak örneklerinin nem oranı %36,22 ile %45,32 arasında saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği' ne göre son nem oranı % 7 'ye standartize edilmiştir. Zeytin yaprak örnekleri çay olarak tüketilebilmesi için nem miktarlarının uygun şartlarda bu orana getirilmesi gerekmektedir [84].

**Tablo 4.3:** Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının fenolik bileşik içeriği bakımından mevsimsel ve yükselti arası farklılığa ilişkin varyans analiz sonuçları.

| Varyans Kaynağı |           | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F Oranı   |
|-----------------|-----------|-----------------|---------------------|--------------------|-----------|
| Nem             | Mevsim    | 80,525          | 3                   | 26,842             | 3,625*    |
|                 | Yükseklik | 86,720          | 3                   | 28,907             | 3,980*    |
| Kül             | Mevsim    | 0,552           | 3                   | 0,184              | 0,235     |
|                 | Yükseklik | 19,642          | 3                   | 6,547              | 18,834*** |
| DPPH            | Mevsim    | 6,552           | 3                   | 2,184              | 22,055*** |
|                 | Yükseklik | 1,058           | 3                   | 0,353              | 1,576     |
| TFM             | Mevsim    | 2378,747        | 3                   | 792,916            | 14,078*** |
|                 | Yükseklik | 414,145         | 3                   | 138,048            | 1,367     |

( \*\*\*  $p < 0,001$  seviyesinde önemli; \*\*  $p < 0,01$  seviyesinde önemli; \*  $p < 0,05$  seviyesinde önemli )

**Tablo 4.4:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının nem ve kül içerikleri (A1-B4).

|         | Örnekler                  |                         |                          |                          |                          |                          |                          |                         |
|---------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|         | A1                        | A2                      | A3                       | A4                       | B1                       | B2                       | B3                       | B4                      |
| Nem (%) | 43.15±1.07 <sup>bc*</sup> | 36.22±1.06 <sup>g</sup> | 37.45±1.15 <sup>fg</sup> | 39.13±1.18 <sup>ef</sup> | 43.85±1.08 <sup>ab</sup> | 38.35±0.47 <sup>ef</sup> | 41.57±1.46 <sup>cd</sup> | 45.32±1.08 <sup>a</sup> |
| Kül (%) | 5,58±0,16 <sup>e</sup>    | 4,84±0,11 <sup>g</sup>  | 7,75±0,09 <sup>a</sup>   | 5,55±0,11 <sup>e</sup>   | 5,63±0,14 <sup>e</sup>   | 5,63±0,11 <sup>e</sup>   | 5,93±0,12 <sup>d</sup>   | 6,56±0,08 <sup>c</sup>  |

\* Aynı harfle belirtilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $P \leq 0.05$ ).

**Tablo 4.5:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının nem ve kül içerikleri (C1-D4).

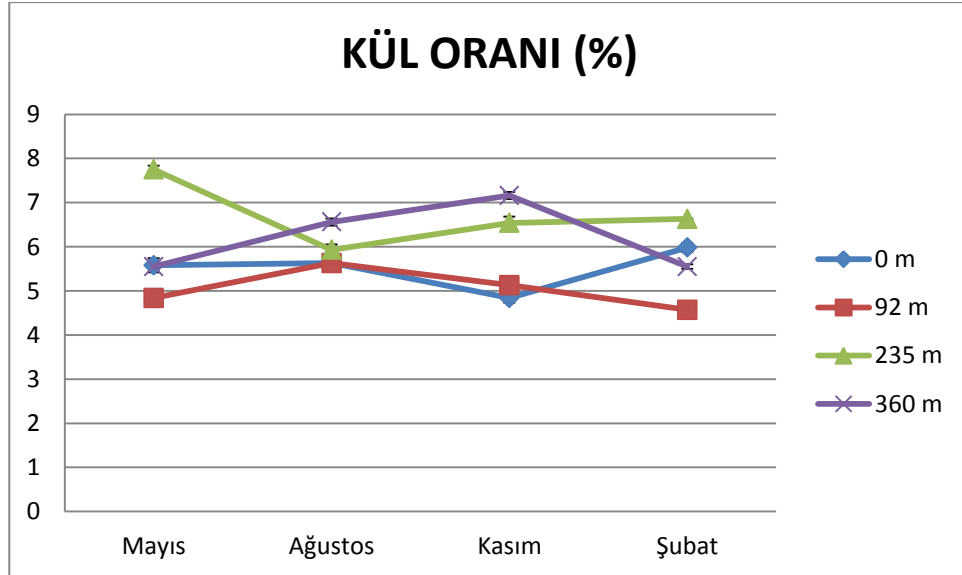
|         | Örnekler                 |                         |                          |                          |                          |                          |                          |                         |
|---------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|         | C1                       | C2                      | C3                       | C4                       | D1                       | D2                       | D3                       | D4                      |
| Nem (%) | 41.75±0.64 <sup>cd</sup> | 45.26±0.91 <sup>a</sup> | 39.07±1.14 <sup>ef</sup> | 41.54±1.41 <sup>cd</sup> | 39.78±1.36 <sup>de</sup> | 42.13±1.11 <sup>bc</sup> | 39.39±1.27 <sup>ef</sup> | 45.14±0.89 <sup>a</sup> |
| Kül (%) | 4,84±0,11 <sup>g</sup>   | 5,13±0,13 <sup>f</sup>  | 6,54±0,14 <sup>c</sup>   | 7,16±0,08 <sup>b</sup>   | 5,98±0,1 <sup>d</sup>    | 4,57±0,18 <sup>h</sup>   | 6,63±0,01 <sup>c</sup>   | 5,55±0,05 <sup>e</sup>  |

\* Aynı harfle belirtilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $P \leq 0.05$ ).

## 4.2 Kül İçeriği

Zeytin yapraklarının kül içeriği farklı mevsim ve yükseltilerden toplanan örneklerin kül içerikleri Şekil 4.2’ de verilmiştir. Zeytin yaprağı örneklerinin kül içeriği bakımında en az Şubat ayının 92 m’de % 4,57; en fazla değer Mayıs ayında 235 m yükseltide % 7,75 olduğu görülmüştür. Yaprak örneklerinin kül içerikleri Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliğine göre % 4 ile % 8 arasındaki değerlere uygun olduğu saptanmıştır [83]. Örneklerde Duncan karşılaştırma sonuçlarına göre 8 farklı grup oluşmuştur. Mayıs ayındaki zeytin yaprak örneklerinin 235 m yükseltide en fazla 92 m yükselti de ise en düşük olduğu gözlenmiştir. Örneklerde ki en yüksek değerler Kasım ve Ağustos ayında 360 m’de, Şubat ve Mayıs ayında 235 m’de olduğu; en az değerler ise 0 m ve 92 m yükseltilerde ise kül içeriklerinin düşük olduğu saptanmıştır.

Örneklerde 0 m’de en yüksek analiz sonucu Şubat ayında, 92 m ‘de Ağustos ayı örneklerinde, 235 m örneklerinden Mayıs ayında, 360 m ‘de ise Kasım ayındaki zeytin yaprağı numunelerinde en fazla olduğu saptanmıştır.



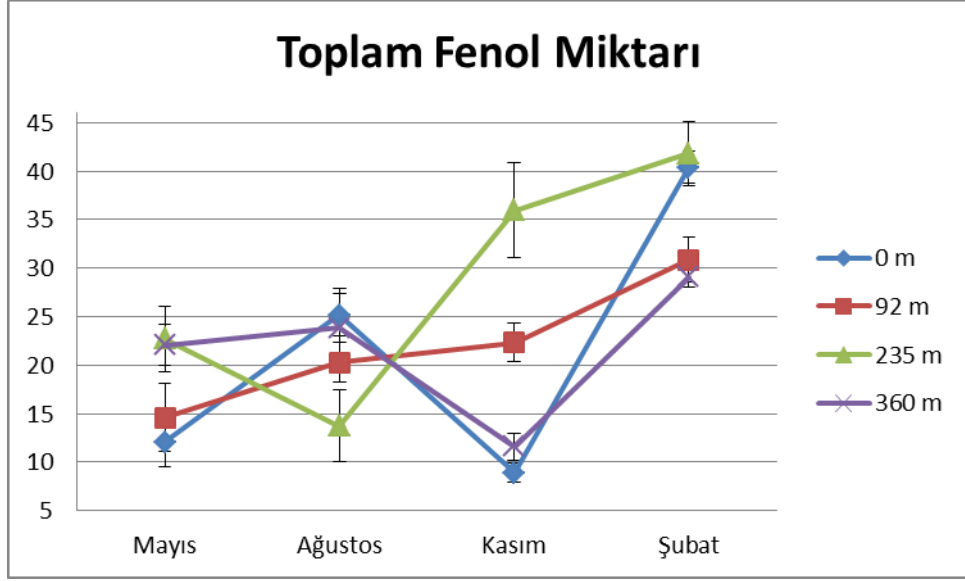
**Şekil 4.2:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının kül yüzdesi.

Zeytin yaprak örneklerinin kül içeriklerinin Tablo 4.3'teki varyans analiz sonuçlarına göre mevsimin kül miktarına göre istatistiksel olarak önemli bir etkisi saptanmazken, yükseltinin  $p<0,001$  önem seviyesinde etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Buna göre yaprakların kül içeriklerine hasat tarihinin (mevsimin) etkisi bulunmazken yükseltinin istatistiksel olarak önemli derecede etkisinin olduğu söylenebilir.

### **4.3 Antioksidan Aktivite**

#### **4.3.1 Toplam Fenolik Madde**

Toplam fenolik madde miktarına göre elde edilen sonuçlara göre 8,94 ile 41,80 arasında olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yaprak örneklerinde Duncan çoklu karşılaştırma testine göre 7 grup oluşmuştur. En yüksek TFM Şubat ayında 235m yükselti örneğinde tespit edilmiştir. En düşük TFM Kasım ayında 0 m örneğinde saptanmıştır. Aylara göre bakıldığında zeytin örneklerinde Mayıs ayında 235m yükseltide en fazla, 0 m yükseltide en düşük olduğu saptanmıştır. Ağustos ayı örneklerinde en yüksek 0 m yükseltide en düşük ise 235 m yükseltidedir. Şekil 4.3'te kasım ayında en düşük 0 m yükseltide iken en yüksek değer 235 m yükseltide; Şubat ayında en yüksek 235 m yükseltide en düşük değer 360 m yükseltide örneklerinde olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.3:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının toplam fenol miktarı.

Yükseltilere göre 0 m yükselti örnekleri arasında en yüksek Şubat en düşük Kasım, 92m örneklerinde en yüksek Şubat en düşük Mayıs; 235m yükseltide en yüksek Şubat en düşük Ağustos örneklerinde; 360m’de en yüksek Şubat en düşük Kasım örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yapraklarının fenolik bileşi içeriği bakımından mevsimsel ve yükseltiler arası varyans analiz sonuçları Tablo 4.3’te verilmiştir. Bu verilere göre yükseltiler arası farklılığa ilişkin önemli bir değişim saptanmamakta olup, mevsimler arası farklılığa ilişkin değişiklikler  $p < 0,001$  önem seviyesinde etkilidir. Yaprak örneklerinde en yüksek miktar Şubat ayının 235 m yükseltisinde 41,80 mg GAE/g ve Şubat ayının 0 m yükseltisinde 40,36 mg GAE/g olduğu belirlenmiştir. En düşük Kasım ayının 0 m örneğinde 8,94 mg/g GAE ve 235 m’de 11,61 mg/g GAE olarak bulunmuştur. Zeytin yapraklarının biyoaktif bileşenlerinin incelendiği bir çalışmada yıl boyunca yapılan çalışmalarda istatistiksel olarak önemli seviyede farklılık tespit edilmiştir. Yaprak örneklerinde fenolik madde içeriği en fazla Ocak ve Şubat aylarında iken, en az seviyenin ise Ağustos ve Kasım aylarında görüldüğü belirtilmiştir [85].

Özellikle Kasım ayında Şubat ayına kadar geçen sürede toplam fenol miktarında tüm yükselteler için belirgin bir artış görülmektedir. Yapılan araştırmalarda farklı zeytin çeşitleri (Adana yerli ve Gemlik) yapraklarında ve derimlerin de (Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık ayları) toplam fenol miktarında Kasım ayından, Aralık ayına doğru gidildikçe arttığı belirtilmiş, toplam fenolik maddelerin olgunlaşma sürecine bağlı olarak azaldığını tespit edilmiştir. Yapılan analizlerde en düşük 279,4 mg CAE/ 100g Aralık ayı numunesinde, en yüksek ise Eylül ayı numunelerinde 732 mg CAE/ 100g olduğu belirtilmiştir [32]. Çalışmamızda da yaprak örneklerinin fenolik madde içeriğinin olgunlaşma sürecinde azaldığı görülmüştür. Başka bir çalışmada farklı bölgelerden hasat edilen yaprak örneklerinde ekstre içeriğinin de farklılık gösterdiği belirlenmiştir [86]. Mayıs ayından Ağustos ayına kadar geçen süreçte ise tüm yükseltelerde artış görülürken 235 m yükselti örneklerinde azalış olduğu tespit edilmiştir. Mevsimlerin tamamında 92 m yükseltide yaprak örneklerinde devamlı toplam fenol miktarında artış gözlenmiştir.



**Tablo 4.6:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde içerikleri (A1-B4).

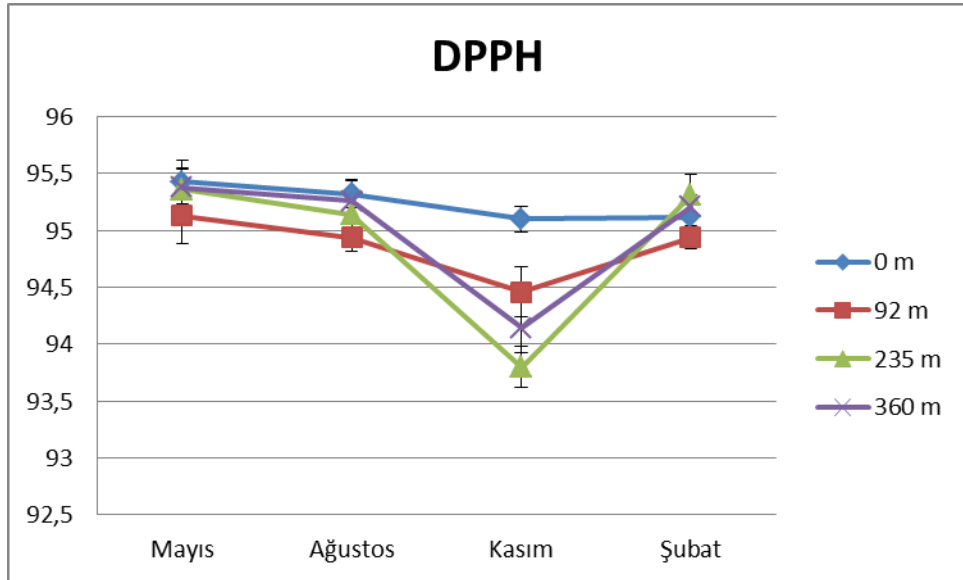
|   | Örnekler                 |                          |                                    |                                    |                                     |                                    |                                     |                                    |
|---|--------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
|   | A1                       | A2                       | A3                                 | A4                                 | B1                                  | B2                                 | B3                                  | B4                                 |
| Serbest Radikal Süpürücü Etki (%)                 | 95,43±0,1 <sup>a</sup>   | 95,13±0,25 <sup>ab</sup> | 95,36±0,1 <sup>9<sup>a</sup></sup> | 95,38±0,1 <sup>6<sup>a</sup></sup> | 95,32±0,1 <sup>2<sup>a</sup></sup>  | 94,94±0,1 <sup>2<sup>b</sup></sup> | 95,14±0,1 <sup>6<sup>ab</sup></sup> | 95,26±0,1 <sup>9<sup>a</sup></sup> |
| Toplam Fenolik Madde (mg/kg Gallik asit eşdeğeri) | 12,07±2,53 <sup>fg</sup> | 14,59±3,53 <sup>f</sup>  | 22,70±3,3 <sup>8<sup>e</sup></sup> | 22,09±2,0 <sup>6<sup>c</sup></sup> | 25,17±2,1 <sup>9<sup>de</sup></sup> | 20,29±2,0 <sup>9<sup>c</sup></sup> | 13,72±3,6 <sup>9<sup>fg</sup></sup> | 23,83±4,0 <sup>5<sup>e</sup></sup> |

**Tablo 4.7:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde içerikleri (C1-D4).

|   | Örnekler                 |                                    |                                    |                                     |                                     |                                    |                                    |                                     |
|---|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
|   | C1                       | C2                                 | C3                                 | C4                                  | D1                                  | D2                                 | D3                                 | D4                                  |
| Serbest Radikal Süpürücü Etki (%)                 | 95,10±0,11 <sup>ab</sup> | 94,46±0,2 <sup>2<sup>c</sup></sup> | 93,80±0,1 <sup>8<sup>e</sup></sup> | 94,14±0,2 <sup>2<sup>d</sup></sup>  | 95,12±0,1 <sup>5<sup>ab</sup></sup> | 94,94±0,1 <sup>0<sup>b</sup></sup> | 95,31±0,1 <sup>8<sup>a</sup></sup> | 95,21±0,1 <sup>0<sup>ab</sup></sup> |
| Toplam Fenolik Madde (mg/kg Gallik asit eşdeğeri) | 8,94±0,99 <sup>g</sup>   | 22,34±2,0 <sup>2<sup>e</sup></sup> | 35,95±4,9 <sup>1<sup>b</sup></sup> | 11,61±1,3 <sup>8<sup>fg</sup></sup> | 40,36±1,6 <sup>7<sup>ab</sup></sup> | 30,86±2,3 <sup>1<sup>c</sup></sup> | 41,80±3,3 <sup>5<sup>a</sup></sup> | 29,07±1,0 <sup>2<sup>dc</sup></sup> |

### 4.3.2 DPPH Radikalini Tutma Aktivitesi

Zeytin yaprak örneklerinde DPPH radikallerini indirgeme özelliğinin Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’te göre 95,43 ile 93,80 arasında değerler aldığı tespit edilmiştir. Zeytin yaprak ekstraktlarının da yapılan bir çalışmada; etanol ile hazırlanan ekstrakta DPPH süpürücü etkisi ortalama 95,4 olduğu görülmüştür ve çalışmamızda bulduğumuz değerler ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir [87]. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre 5 farklı grup oluşmuştur. Yaprak örneklerinde en yüksek DPPH değerleri Mayıs ayında olduğu görülmüştür. Mayıs ayında en yüksekten en aza doğru 0 m, 360 m, 235 m, 92 m olduğu tespit edilmiştir. Ağustos’ta 0 m yükseltide en fazla 92 m yükseltide en az olduğu, Kasım ayında 0 m de en yüksek 235 m’ de en az, Şubat ayında en yüksek 235 m yükseltide en düşük 92m yükseltide DPPH değerleri olduğu saptanmıştır. Yaprak örneklerinde varyans analiz sonuçlarına göre Tablo 4.3’te yükseltinin önemli bir etkisi saptanmamıştır. Mevsimsel sonuçlara göre  $p < 0,001$  seviyesinde önemli derecede etkili olduğu söylenebilir.



**Şekil 4.4:** Farklı mevsimlerde ve farklı yükseltilerden toplanan zeytin yapraklarının DPPH değerleri.

Yükseltilere göre DPPH değerlerine bakıldığında 0m'de 95,43 ile 95,10 arasında yüksek değerlere sahiptir. Yaprak örneklerinde Kasım ayında elde edilen verilere göre tüm yükseltelerde oranın düştüğü gözlenmiştir. Gemlik çeşidi zeytin yapraklarında yapılan bir çalışmada da Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında DPPH radikali tutma aktiviteleri incelendiğinde en düşük miktarın Kasım ayında olduğu görülmüştür. Bu analiz sonucu ile çalışmamız aynı doğrultuda olduğu belirlenmiştir.

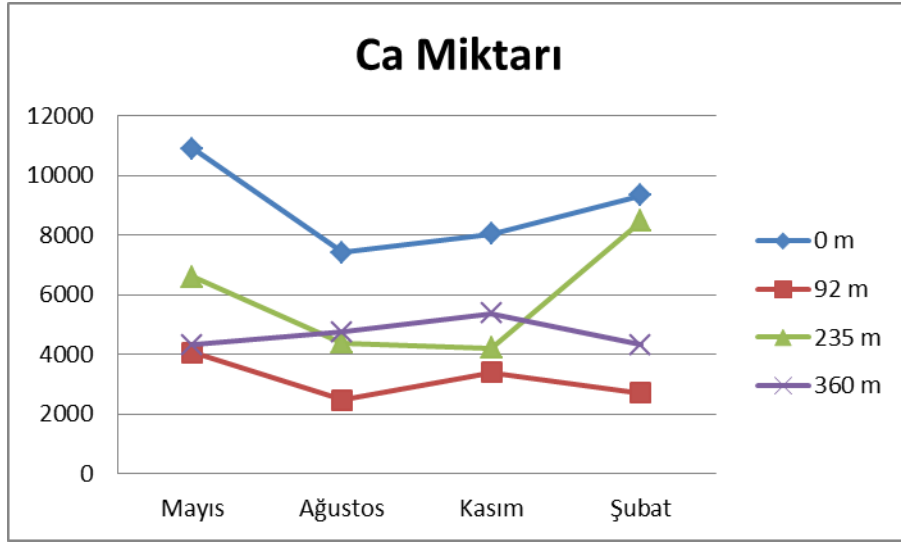
Son yıllarda zeytin yaprak ekstrelerinde yapılan DPPH serbest süpürücü antioksidan etkisi düşük konsantrasyonlarda bile güçlü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Zeytin yaprak ekstrelerinin zeytin meyvesinden yüksek antioksidan etkisine sahip olmasının nedeni ise toplam fenol miktarının da meyveden yüksek olması gösterilmiştir [88].

#### **4.4 Mineral Madde Tayini (ICP)**

Zeytin yaprakları mineral madde tayini sonuçları yükseltiye ve mevsime bağlı sonuçları Tablo 4.8'te verilmiştir. Mineral madde tayininde 16 mineral bakımından yapraklar analiz edilmiştir. Bu minerallerden 13 tanesi tespit edilmiş ve 3 tanesi determinasyon değerinin altında bulunmuştur. Bitkiler tüm yaşantıları boyunca minerallere ihtiyaç duymaktadır. Bitkilerin fazla miktarda ihtiyaç duyduğu elementler makro element (karbon, oksijen, hidrojen, azot, kükürt, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum), çok az miktarda ihtiyaç duyduklarına ise mikro element denilmektedir [89]. Çalışmamızda kalsiyum ve magnezyum elementlerinin çok yüksek miktarda olduğu, alüminyum ve demir miktarlarının da yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Kurşun, kadmiyum ve baryum elementleri sadece 0 m yükselti örneklerinde ve Şubat ayı 235 m yükseltide olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni ise alınan numunelerin otoyola yakın olmasından çevre kirleticilerinden (egzoz gazı gibi) etkilendiği söylenebilir.

Makro elementlerden olan kalsiyum miktarı Şekil 4.5 'te verilmiştir. Yaprak örneklerinde kalsiyum seviyesi en çok 0 metre yükseltelerinde olduğu belirlenmiştir. En az seviye miktarı ise 92 m yükseltelerinde görülmüştür.

Kalsiyum miktarı en fazla 10908,33 mg/kg olarak Şubat ayı 0 m yükseltide en az miktar ise 2461,62 mg/kg olarak Ağustos ayı 92 m yükseltide saptanmıştır. Yaprak numuneleri kalsiyum içerikleri Mayıs ayından Ağustos ayına kadar 360 m yükselti örneği artış göstermiştir. Ağustos ve Kasım ayları örneklerinde 235 m yükselti hariç bir artış görülmüştür. Mineral madde miktarları ve fenolik içeriğin, su miktarına bağlı olarak değişiminin zeytin yapraklarında incelendiği bir çalışmada yeterli su miktarı bulunduğu element seviyelerinin de normal seviyede olduğu gözlenmiştir. Zeytin yaprağındaki mineral içeriğini genetik faktörler, yetiştirme yöntemi ve ağacın stres durumu etkilemiştir [90].



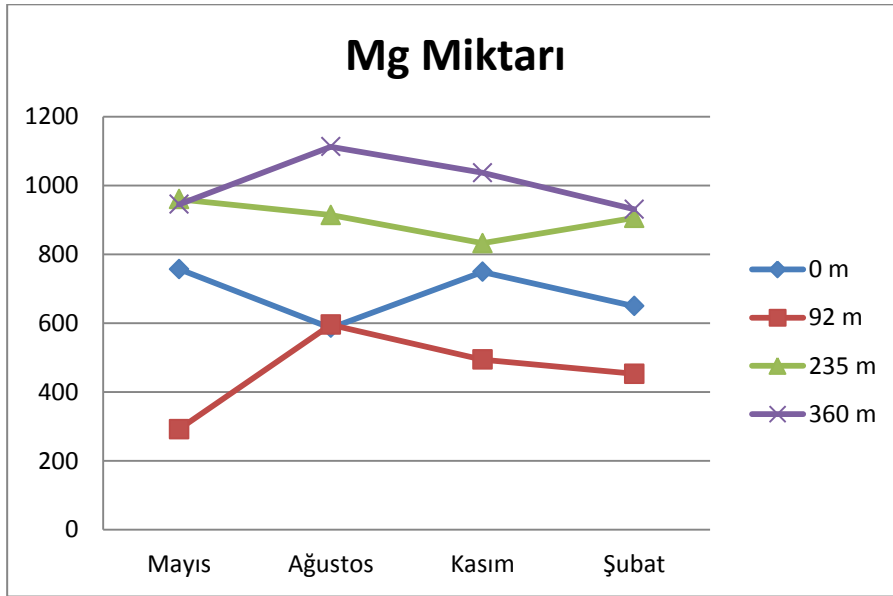
Şekil 4.5: Yaprakta Ca içeriğinin mevsim ve yükseltilere göre değişimi.

**Tablo 4.8:** Mineral Madde Bileşimi.

| Numuneler    | Mineraller (mg/kg) |      |       |       |      |      |      |      |       |         |        |          |        |
|--------------|--------------------|------|-------|-------|------|------|------|------|-------|---------|--------|----------|--------|
|              | Pb                 | Cr   | Cu    | Mn    | Ni   | Mo   | Ba   | Cd   | Zn    | Mg      | Fe     | Ca       | Al     |
| Mayıs 0m     | 1,83               | 0,58 | 4,58  | 15,08 | 0,17 | 1,42 | 4,33 | 0,17 | 20,25 | 757,08  | 141,83 | 10908,33 | 146,50 |
| Mayıs 92m    | T.E                | 1,00 | 1,50  | 7,25  | 0,50 | 0,17 | T.E  | T.E  | 2,92  | 292,17  | 80,58  | 4058,82  | 53,67  |
| Mayıs 235m   | T.E                | 0,12 | 1,42  | 20,92 | 0,25 | 0,25 | T.E  | T.E  | 4,00  | 960,00  | 88,83  | 6600,14  | 66,58  |
| Mayıs 360    | T.E                | 1,83 | 6,17  | 15,92 | 1,42 | T.E  | T.E  | T.E  | 3,42  | 945,00  | 87,17  | 4320,86  | 54,25  |
| Ağustos 0m   | 1,17               | 0,75 | 5,42  | 20,50 | 0,67 | 0,25 | 3,58 | 0,08 | 13,17 | 586,08  | 141,75 | 7420,83  | 117,17 |
| Ağustos 92m  | T.E                | 1,08 | 1,75  | 8,50  | 0,33 | 0,50 | T.E  | T.E  | 4,08  | 595,42  | 53,92  | 2461,62  | 33,92  |
| Ağustos 235m | T.E                | 1,75 | 0,92  | 20,08 | 0,67 | 1,08 | T.E  | T.E  | 4,75  | 914,17  | 64,50  | 4386,13  | 33,75  |
| Ağustos 360m | T.E                | 1,75 | 1,83  | 17,25 | 1,67 | 0,08 | T.E  | T.E  | 4,75  | 1112,50 | 70,50  | 4746,89  | 41,92  |
| Kasım 0m     | 1,00               | 0,50 | 4,25  | 21,42 | 0,33 | 0,17 | 3,33 | 0,08 | 12,42 | 749,17  | 96,92  | 8044,17  | 82,92  |
| Kasım 92m    | T.E                | 1,08 | 2,08  | 8,08  | 0,42 | 0,08 | T.E  | T.E  | 4,50  | 494,08  | 71,33  | 3387,32  | 50,83  |
| Kasım 235m   | T.E                | 1,75 | 1,25  | 35,67 | 0,75 | T.E  | T.E  | T.E  | 2,67  | 832,00  | 78,50  | 4212,01  | 44,92  |
| Kasım 360m   | T.E                | 1,67 | 6,25  | 20,00 | 3,33 | 0,25 | T.E  | T.E  | 8,17  | 1036,67 | 85,58  | 5365,44  | 35,42  |
| Şubat 0m     | 1,58               | 0,42 | 5,25  | 27,67 | 0,33 | 0,58 | 4,00 | 0,08 | 12,25 | 649,25  | 109,42 | 9325,00  | 83,67  |
| Şubat 92m    | T.E                | 1,00 | 2,00  | 7,42  | 0,25 | 0,25 | T.E  | T.E  | 3,33  | 452,67  | 60,33  | 2696,21  | 30,33  |
| Şubat 235m   | 1,50               | 0,42 | 3,83  | 36,83 | 0,08 | 0,33 | 2,58 | 0,08 | 8,33  | 905,83  | 95,50  | 8458,33  | 79,42  |
| Şubat 360m   | T.E                | 1,75 | 36,17 | 16,75 | 1,00 | 0,17 | T.E  | T.E  | 4,33  | 930,83  | 61,67  | 4320,86  | 25,83  |

\*T.E: Tespit Edilemedi.

Zeytin yaprak örneklerinde magnezyum en az 292,17 mg/kg miktarında Mayıs ayı 92 m örneğinde, en fazla miktarı 1112,50 mg/kg Ağustos ayı 360 m yükseltide olduğu Şekil 4.6'da belirlenmiştir. Genel olarak yaprak mevsimsel olarak düzensiz dağılım görülmüştür. Tüm aylarda magnezyum içeriği değişimleri 92 m ve 360 m örneklerinde benzerlik göstermiştir. Şubat ayı ölçümleri ile kasım ayı ölçümleri kıyaslandığında 235 m yükselti hariç diğer yükseltelerde azalış görülmüştür. Bunun nedeni araştırmamız boyunca en az yağışın 2014 yılı Şubat ayında olmasından kaynakladığı söylenebilir.

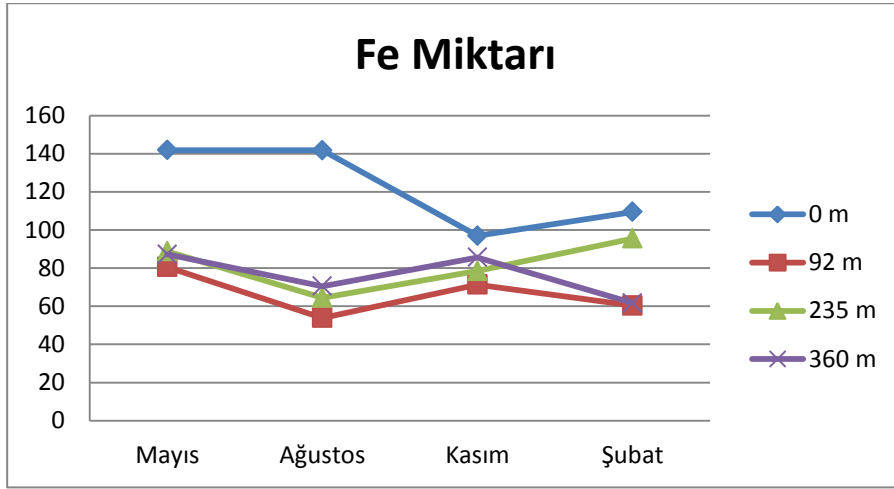


**Şekil 4.5:** Yaprakta Mg içeriğinin mevsim ve yükseltilere göre değişimi.

Yükselti farklılığına bağlı olarak incelenen demir miktarı 0 m yükseltelerde yüksek düzeyde olduğu, 92 m yükseltelerinde ise düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Ağustos ayı 92 m yükseltide 53,92 mg/kg ile en az seviyede olduğu, 141,83 mg/kg ile Şubat ayı 0 m yükseltide en fazla olduğu belirlenmiştir. Mayıs ayından Ağustos ayına doğru geçen zamanda demir miktarı azalırken Ağustos Kasım ayları arası 0 m yükseltide azalış devam ederken, diğer yükseltelerde artış görülmektedir. *Olea europaea* L. bitkisinde mineral maddelerin mevsimsel değişimleri incelendiğinde 70–200 mg/kg olması gerektiği söylenmiştir.

Elde ettiğimiz bulgular belirtilen aralıkta yer almaktadır [91]. Genel olarak bitkilerde 50 mg/kg'dan az demir bulunması bitki metabolizmasında aksaklığa neden olduğu belirtilmiştir [92]. Mikro elementlerden olan demir klorofil sentezi yapan enzim yapısına ve sitokların yapısına katıldığı belirlenmiştir. Bu durumda demir eksikliğinde yaprak klorofil üretilmemekte olup bitki yeşil rengini kaybetmektedir [90]. Yaprak numunelerimizde Şubat ayı 0 m örneklerinde demir eksikliğine bağlı renk değişimi gözlenmiştir.

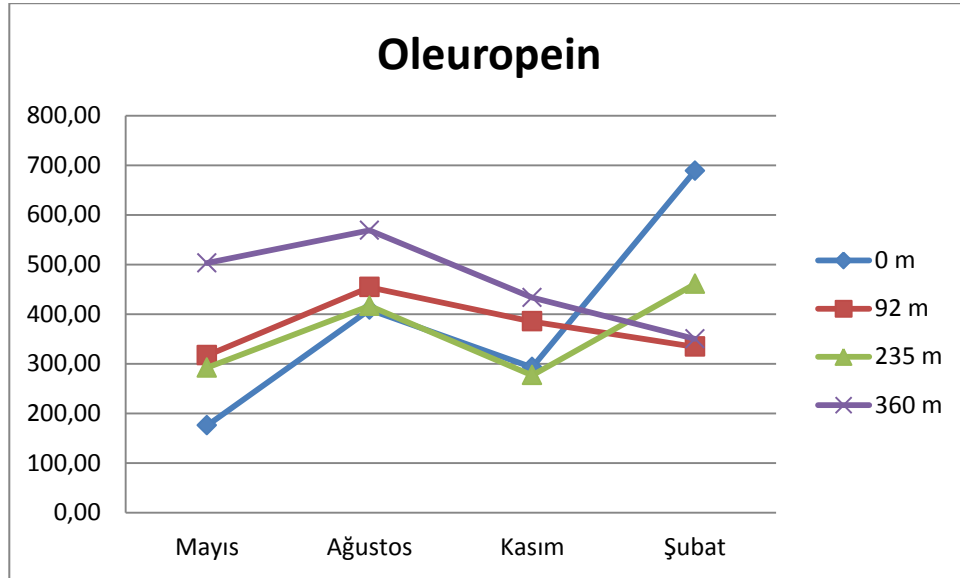
Yapılan bir çalışmada 3 yıl üst üste zeytin yapraklarında yapılan analizlerde farklı kalitelere göre sular kullanılarak mineral madde tayini yapılmıştır. Analizler sonucunda Bakır miktarı ortalama 6.4 mg/kg ile 12.0 mg/kg arasında olduğu, çinko miktarı ortalama 17.9 mg/kg ile 31.9 mg/kg arasında olduğu belirtilmiştir [93]. Genel olarak çalışmamızda farklı mevsim ve farklı yükseltiden toplanan yapraklardaki mineral madde analiz sonuçları ile aynı düzeyde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.6: Yaprakta Fe içeriğinin mevsim ve yükseltilere göre değişimi.

#### 4.5 HPLC Analizi (High Performance Liquid Chromatography)

Ayvalık zeytin çeşidi yaprakları fenolik bileşik içeriklerine dair Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da verilmiştir. Tüm yaprak örneklerinin farklı yükselti ve mevsimlerde toplam 15 adet fenolik bileşik tespit edilmiştir. Bütün yükselti ve hasat dönemlerinde farklı miktarlarda rosmarinik asit, taksifolin, çikoric asit, oleuropein, luteolin ve naringenin bulunmuştur. Yaprak örneklerimizde luteolin, çikoric asit, naringenin, oleuropein ve Mirisetin yüksek seviyede tespit edilmiştir. Farklı yükseklik ve mevsimlerdeki zeytin yapraklarından bazılarında majör fenolik bileşiklerden olan rutin ve p-kumarik asit rastlanmıştır. Fenolik bileşiklerden birkaçı Mayıs ve Ağustos aylarında elde edilen zeytin yapraklarında, bazıları ise Kasım ve Şubat aylarında bazıları da farklı yükseltilerde tespit edilmiştir.



**Şekil 4.7:** Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki oleuropein miktarı.

Yapraklardaki oleuropein miktarı Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Örneklerin tamamında oleuropein miktarı Mayıs ayı ölçümlerine göre Ağustos ayında arttığı görülmüştür. Kasım ayında ise ölçümlerinde de azalış belirtilmiştir. Oleuropein miktarı en fazla Şubat ayı hariç tüm aylarda 360 m yükseltide en fazla miktarda saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada az yağış zeytin yaprak dokularında strese sebep olduğundan toplam fenol miktarında artış gözlemlendiği bildirilmiştir [94].

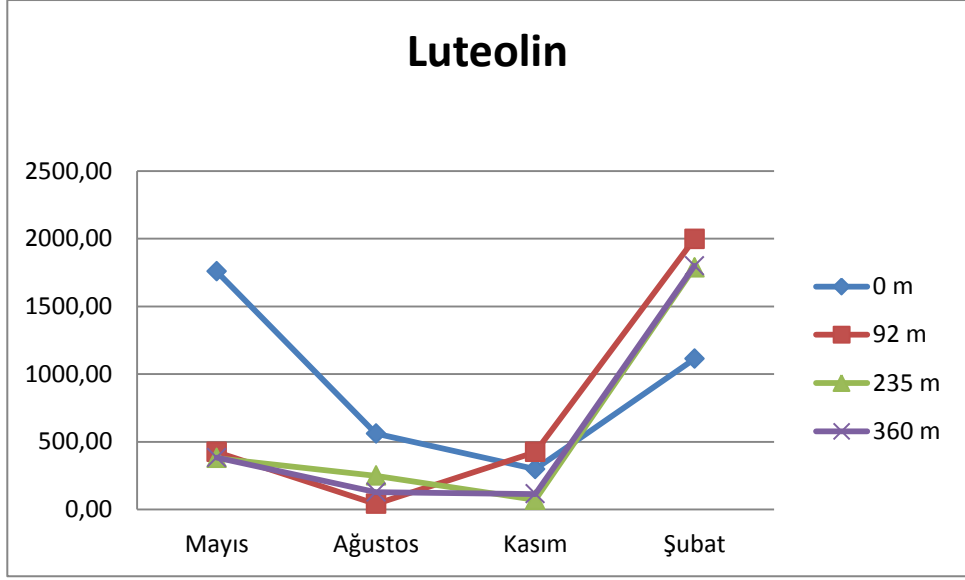


**Tablo 4.9:** Zeytin yaprak örneklerinde fenolik içerikler (A1-B4).

| Fenoller         | A1      | A2      | A3      | A4      | B1      | B2      | B3      | B4      |
|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Vanilik Asit     | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    |
| Echinococside    | 16,37   | 0,00    | 0,00    | 20,10   | 17,11   | 16,63   | 26,98   | 22,67   |
| P-Kumarik Asit   | 0,00    | 9,98    | 10,67   | 0,00    | 11,81   | 11,24   | 0,00    | 0,00    |
| Ferrulik Asit    | 12,94   | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 12,60   | 12,27   | 13,74   | 11,87   |
| Rutin hidrat     | 13,29   | 17,62   | 15,91   | 0,00    | 21,65   | 14,30   | 0,00    | 0,00    |
| Resveratrol      | 15,02   | 12,93   | 13,70   | 14,72   | 0,00    | 14,72   | 16,36   | 14,57   |
| Rosmarinik Asit  | 149,06  | 225,87  | 188,53  | 52,40   | 74,98   | 55,96   | 87,49   | 48,97   |
| Kuersetin        | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 27,91   | 10,92   | 0,00    |
| Kuromanin Klorid | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    |
| Taksifolin       | 7,84    | 23,32   | 22,13   | 67,73   | 17,37   | 17,71   | 16,39   | 116,47  |
| Çikoric Asit     | 819,68  | 1159,73 | 1643,52 | 1441,21 | 5135,39 | 1925,00 | 2709,27 | 1054,75 |
| Ellagic Asit     | 94,84   | 79,91   | 94,64   | 0,00    | 137,90  | 135,18  | 99,05   | 0,00    |
| Oleuropein       | 175,83  | 316,94  | 292,17  | 503,00  | 408,82  | 454,19  | 416,54  | 568,66  |
| Mirisetin        | 476,13  | 349,07  | 293,41  | 89,15   | 192,36  | 547,62  | 142,94  | 83,41   |
| Luteolin         | 1758,27 | 424,75  | 379,80  | 383,34  | 560,64  | 41,75   | 249,60  | 127,81  |
| Ursolik Asit     | 92,53   | 78,76   | 81,60   | 0,00    | 89,94   | 0,00    | 0,00    | 0,00    |
| Naringenin       | 125,75  | 87,87   | 215,29  | 221,54  | 252,01  | 85,86   | 171,29  | 111,31  |
| Naringin         | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 169,11  | 561,50  | 220,03  | 305,26  | 127,16  |

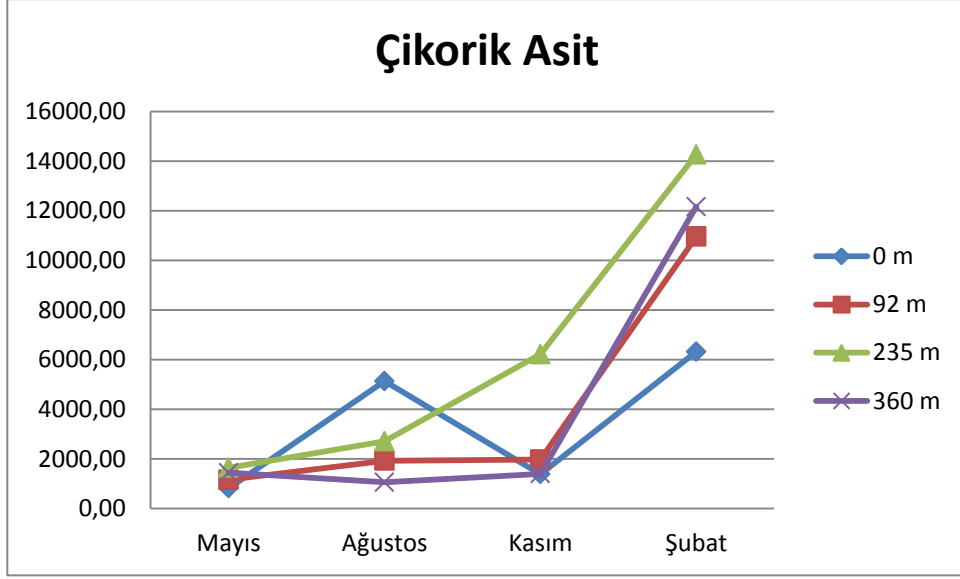
**Tablo 4.10:** Zeytin yaprak örneklerinde fenolik içerikler (C1-D4).

| Fenoller         | C1      | C2      | C3      | C4      | D1      | D2       | D3       | D4       |
|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Vanilik Asit     | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00     | 45,53    | 44,12    |
| Echinococside    | 0,00    | 16,50   | 17,88   | 22,10   | 16,09   | 19,64    | 21,45    | 19,72    |
| P-Kumarik Asit   | 12,38   | 11,29   | 10,73   | 0,00    | 10,30   | 12,01    | 12,54    | 11,84    |
| Ferrulik Asit    | 0,00    | 12,47   | 11,62   | 12,45   | 11,59   | 13,08    | 13,36    | 12,91    |
| Rutin hidrat     | 30,07   | 29,60   | 36,72   | 0,00    | 66,72   | 69,38    | 56,99    | 51,01    |
| Resveratrol      | 0,00    | 0,00    | 13,73   | 14,95   | 14,18   | 15,51    | 16,10    | 15,39    |
| Rosmarinik Asit  | 314,59  | 71,80   | 60,28   | 54,89   | 335,53  | 418,94   | 107,66   | 89,92    |
| Kuersetin        | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00     | 0,00     | 0,00     |
| Kuromanin Klorid | 0,00    | 0,00    | 157,71  | 0,00    | 0,00    | 0,00     | 192,78   | 169,50   |
| Taksifolin       | 21,12   | 19,96   | 29,18   | 98,22   | 32,84   | 51,68    | 72,24    | 17,91    |
| Çikorik Asit     | 1388,15 | 1973,97 | 6215,26 | 1398,54 | 6322,54 | 10954,08 | 14267,15 | 12164,19 |
| Ellagic Asit     | 127,85  | 124,11  | 147,54  | 97,54   | 250,97  | 263,35   | 220,90   | 199,41   |
| Oleuropein       | 293,19  | 385,41  | 276,94  | 433,25  | 688,47  | 334,36   | 460,61   | 350,15   |
| Mirisetin        | 484,94  | 564,90  | 460,43  | 402,44  | 514,61  | 641,74   | 780,08   | 653,52   |
| Luteolin         | 297,52  | 424,66  | 71,01   | 114,93  | 1112,78 | 1997,25  | 1787,15  | 1799,10  |
| Ursolik Asit     | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 0,00    | 79,45   | 0,00     | 95,20    | 0,00     |
| Naringenin       | 279,63  | 221,67  | 86,56   | 108,80  | 145,07  | 117,38   | 120,32   | 95,46    |
| Naringin         | 164,80  | 225,47  | 674,96  | 164,42  | 685,90  | 1180,11  | 1532,35  | 1308,45  |



**Şekil 4.8:** Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki luteolin miktarı.

Zeytin yaprağında bulunan luteolin miktarı en fazla 1997,24 mg/kg olan Şubat ayında 92 m yükseltide rastlanmıştır. Analiz sonuçları incelendiğinde Ağustos ayındaki luteolin miktarında önceki analizlere göre tüm yükseltelerde azalış Şekil 4.9'da görülmüştür. Bu azalış 92 m hariç kasım ayına kadarda azalma devam etmiştir. Ağustos 92 m de de en düşük miktar gözlenmiştir. Şubat ayı analiz sonuçlarına bakıldığında tüm aylardaki luteolin miktarı artmıştır.



**Şekil 4.9:** Ayvalık çeşidi zeytin yapraklarının mevsim ve yükselti örneklerindeki çikoric asit miktarı.

Yaprak örneklerinde fazla miktarda bulunan fenolik maddelerden çikoric asit en yüksek değere Şubat ayında 14267,15 ile 235 m yükseltide ulaşmıştır. En düşük miktara ise 819,68 mg/kg ile Mayıs ayında 0m yükseltideki yapraklarında Şekil 4.10'da görülmüştür. Yaprak örneklerinde tüm yükseltelerde en az çikoric asit miktarı Mayıs ayında görülmüştür. Aylara göre örnekler incelendiğinde en fazla artış ve en fazla miktar Şubat ayı örneklerinde görülmüştür.

Zeytin yaprak örneklerimizin analizlerinde fenolik madde miktar oranları düşük olmasına rağmen, magnezyum miktarlarının fazla olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada genç yapraklarda magnezyum miktarlarının yüksek olacağı belirtilmiştir. Bu durum çalışmamızdaki yaprakların genç olduğunu ve fenolik bileşenlerinin düşük olmasının olası bir durum olduğunu göstermiştir [95].

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda *Olea europaea* L. türü zeytin çeşidi yapraklarının nem, kül, antioksidan aktivite (TFM ve DPPH), fenolik içerik (HPLC) ve mineral içerikleri (ICP) sonuçları farklı mevsim ve yükseltideki sonuçları incelendi.

Çay olarak da tüketilen zeytin yapraklarında mikroorganizma ve enzim aktivitesini önlemek için hasat edildikten sonra içerisindeki nem en kısa sürede uzaklaştırılmalıdır. Yaprakların nem analiz sonuçları incelendiğinde hem yükselti hem de mevsime bağlı farklılık görülmüştür. Yükselti arttıkça nem oranı genelde artmaktadır. Mevsimsel olarak ortalama sıcaklığın en yüksek olduğu yağış miktarının da en az olduğu durumda zeytin yapraklarında nem oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda yapraklar yağışın az olduğu yükselti ve mevsimlerde hasat edilmelidir.

Organik maddeler dışında kalan bileşenlerin (inorganik maddeler) toplam kuru madde miktarı kül tayini ile yapıldı. Kül içeriklerinde mevsimsel olarak bir fark görülmezken, yükselti farkının önemli olduğu tespit edilmiştir Bitkiler yaşamlarını sürdürmeleri için minerallere ihtiyaç duyarlar. Mineral bileşim miktarları ise ICP-OES ile belirlendi. Özellikle magnezyum klorofil yapısına katıldığı için demirde klorofil sentezleyen enziminin yapısına katıldığında önemli bir yere sahiptir. Örneklerimizde yapılan özellikle kalsiyum, magnezyum ve demir analiz sonuçlarına göre bitki gelişimi için normal olduğu saptanmıştır. Yaprak örneklerinde yağış miktarı azaldıkça magnezyum miktarı da azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca genç yapraklarda magnezyum miktarının fazla olduğu bulunmuştur. Yükseltisi az olan bölgelerden elde edilen yaprak örneklerinde ağır metallerle rastlanmıştır. Bunun nedeni örnek alınan bölgelerde kentleşme ve sanayileşmenin fazla olması düşünülmektedir.

Toplam fenol miktarı analizler sonucunda yükselti farkı açısından önemli bir değişim görülmezken, fenol miktarının mevsimsel olarak değiştiği saptanmıştır. Fenollerin tamamı sağlık açısından önemli olup, yaprak örneklerimizde yüksek

seviyede olduğu tespit edilmiştir. İlaç ve kozmetik sanayide hammadde olarak kullanımı uygundur.

DPPH serbest radikalleri süpürücü özelliği bakımından elde ettiğimiz analiz sonuçları oldukça yüksek değerlere sahiptir. Bu sonuçlar toplam fenol miktarı ile paralellik göstermiştir ve iki analiz sonucunda da mevsimsel olarak farklılık gözlenmiştir. Şubat ayında hasat edilen yaprakların antioksidan aktivitesi yüksek olduğu bulunmuştur.

Yaprakların içeriğinde bulunan fenolik bileşikler yükselti ve mevsimsel olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Yükseltinin fazla olduğu yerlerde fenolik madde miktarlarının da fazla olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşiklerden oleuropein, çikoric asit ve luteolin miktarları yaprak örneklerinde yüksek olduğu bulunmuştur. Yağış miktarı azaldıkça bitki strese girdiğinden oleuropein miktarının arttığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen analiz sonuçlarına göre farklı mevsim ve farklı yükseltiden elde edilen zeytin yapraklarının içerdiği nem, kül, antioksidan özellikleri, fenolik madde içerikleri ve mineral bileşimlerinin değiştii saptanmıştır. Yıllık yağış miktarı ve sıcaklık ortalaması da zeytin yaprak içeriğini etkilemektedir. Günümüzde antibakteriyel, antioksidan, antifungal ve antimikrobiyel etkisi bilinen zeytin yaprakları ticari olarak kullanım için, fizyolojik stresleri fazla olan deniz seviyesi veya yükseltisi 235 m civarından fazla olan bölgelerden Şubat ayında hasat edilmesi uygundur. Bu sayede fenolik bileşim bakımından zengin olan, gıda raf ömrünü uzatabilecek nitelikte ve çay olarak tüketilmesi uygun olan yapraklar elde edilmiş olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Lavee, S., Zeytinin Biyolojisi ve Fizyolojisi (Bölüm 2). *Uluslararası Zeytinyağı Konseyi*, 59-106, (1997).
- [2] Bone, K., "A clinical guide to blending liquid herbs", Missouri, Churchill Livingstone, (2003).
- [3] Braun L., Cohen M. "Herbs and natural supplements: an evidence-based guide, 2nd ed. Sydney", Churchill Livingstone Elsevier, (2007).
- [4] Erbay, Z., "Zeytin Yaprağının Sıcak Hava İle Kurutulmasının Modellenmesi, Optimizasyonu ve Ekserji Analizi", Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, (2008).
- [5] Armutçu, F., Akyol, S., Hasgul, R. ve Yiğitoğlu, M.R., "Zeytin Yaprağının Biyolojik Etkileri ve Tıpta Kullanımı", *Spatula DD.*, 1(3), 159-165, (2011).
- [6] Özilbey, N., *Zeytin Çeşitlerimiz*, İzmir : Sidas, (2011).
- [7] Zohary, D., "Centers of Diversity and Centers of Origin", Genetic Resources in Plant, Oxford s 554, (1973).
- [8] Yaltırık, F., Oleal L. In: *Flora of Turkey, and the East Aegean Islands* *Edinburgh University Press*, Edinburgh, 6, 155-156, (1978).
- [9] Anonymous, "Characterics of the composition of olive oil", *IOOC T.15 / Doc.28*, (2015).
- [10] Harwood, J.L., Yaqoop, P., "Nutritional and health aspects of olive oil", *Eur.J.Lipid Sci.Technol*, 104 ,685 – 697, (2002).

- [11] Anonim,” Türk Gıda Kodeksi, Zeytinyağı Ve Pirina Yağı Tebliği”, *Resmi Gazete*, 2010/35, (2015).
- [12] Efe, R., Soykan, A., Cürebal, İ. ve Sönmez, S., *Dünyada, Türkiye’de, Edremit Körfezi Çevresinde Zeytin ve Zeytinyağı*. İzmir: Meta Basım, (2011).
- [13] Yıldız-Tiryaki, G., “Erken hasadın zeytinyağı kalitesi üzerine etkileri”, *Gıda* 30 (3), ( 2005).
- [14] Kavas, A., *Sağlıklı Yaşam İçin Doğru Beslenme* Literatür Yayıncılık, 800071, İstanbul, (2000).
- [15] Kaynaş, N., Yalçınkaya, E., Sütçü, A.R. ve Fidan, A.E., *Gemlik Zeytininde Klonal Seleksiyon*, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Bilimsel Araştırma ve İnceleme Yayınları, 111, Yalova, (1998).
- [16] Albuquerque, J.A., González, ., García, D and Cegarra J. “Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction”, *Bioresource Technology*, 195–200, (2004).
- [17] Sadeghi, H., Yansari, A. T., Pirsarai, Z. A. “Effects of different olive cake by products on dry matter intake, nutrient digestibility and performance of Zel sheep”, *Int. J. Agric. Biol*, 11,39-43, (2009).
- [18] Dıraman, H., Telli Karaman, H. Zeytin Yan Ürünleri ve Değerlendirilmesi. Zeytinyağı Teknolojisi Kursu. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, *Zeytincilik araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, Bornova, İzmir, (2005).
- [19] Oruç, N., “Zeytinyağı Fabrikası Atığı Karasu Ekolojik Sorun Değil- Ekolojik Gübre Olabilir”, *Ulusal Zeytin Kongresi*, Akhisar, (2011).



- [20] Delgado-Pertinez, M., Chesson, A., Provan, G.J., Garrido, A., Gomez-Cabrera, “A. Effect of different drying systems for the conservation of olive leaves on their nutritive value for ruminants”, *Ann. Zootech*, 47, 141-150. (1998).
- [21] Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Soares, M.E., Bastos, M.L., Pereira, J.A., “Antioxidant Activity and Phenolic Contents of *Olea europaea* L. Leaves Sprayed with Different Copper Formulations”, *Food Chemistry* 103,188-195, (2007).
- [22] Fabbri A, Galaverna G, Ganino T. “Polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar, time of collection and shoot type. Proceeding of the Fifth International Symposium on Olive Growing”, *Acta Horticulturae*, 791, 459-464, (2008).
- [23] Canözer Ö., *Standart zeytin çeşitleri katoloğu*, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. TÜGEM. Mesleki Yayınlar ,334 ,16.Ankara, (1991).
- [24] Alkın, E., “Zeytin Meyvesinde Bulunan Hydroxytrosolün Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri ”, *Türkiye 1. Zeytinyağı ve Sofralık Zeytin Bildirileri* , İzmir, (2003).
- [25] Singh, Indu, Michelle Mok, Anne-Marie Christensen, Alan H Turner, and John A Hawley., “The Effects of Polyphenols in Olive Leaves on Platelet Function.” *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 18 (2), 127–132, (2008).
- [26] Doymaz I., “Drying Kinetics of Black Grapes Treated with Different Solutions”, *Journal of Food Engineering*, 76, 2, 212-217, (2006).

- [27] Luque de Castro M.D., Japo'n-Luja'n R., "State-of-the-art and trends in the analysis of oleuropein and derivatives", *Trends in Analytical Chemistry*, 25,5, 501-510, (2006).
- [28] Sudjana, A.N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, V.T., Hammer, K.A." Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract", *International Journal of Antimicrobial Agents* ,33, 461-463, (2009).
- [29] Makris DP, Boskou G, Andrikopoulos NK. "Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts", *J Food Compost Anal*, 20(2): 125-32, (2007).
- [30] 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).
- [31] Standley L, Winterton P, Marnewick JL, Gelderblom WCA, Joubert E, Britz TJ, "Influence of processing stages on antimutagenic and antioxidant potentials of roobios tea", *J. Agric. Food Chem*, 49, 114–117, (2001).
- [32] 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).
- [33] Markin, D., Duek, L. Berdicevsky, I. "In vitro antimicrobial activity of olive leaves", *Mycoses* ,46, 132-136, (2003).
- [34] Elliott GA, Buthala DA, DeYoung EN. "Preliminary safety studies with calcium elenolate, an antiviral agent", *Antimicrobial Agents Chemother*, 9, (1969).

- [35] Battinelli, L., Daniele, C., Cristiani, M., Bisignanob, G., Saijab, A., Mazzanti, G. "In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes Olea europaea L. fruit", *Phytomedicine*, 13, 558-563, (2006).
- [36] Bors, W., Erbenruss MC, Saran M. Free Radicals, Lipoproteins and Membrane Lipids, *Plenum Press*, New York, (1990).
- [37] Ruiz-Gutierrez, V., Muriana FJG, Maestro R, Graciana E." Oleuropein on lipid and fatty acid composition of rat heart". *Nutr Res* 15 (1), 37—51, (1995).
- [38] Gonzalez, M., Zarzuelo, A., Gamez, M.J., Utrilla, M.P., Jimenez, J., Osuna, I. "Hypoglycemic activity of olive leaf", *Planta Med.* 58: 513-515, (1992).
- [39] International Olive Council (IOC) , World and European Table Olive Figures. Available Online at: <http://www.internationaloliveoil.org/> (Erişim tarihi: 1 Mayıs 2016).
- [40] TÜİK, 2008. T. C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu İnternet Veritabanı, <http://www.tuik.gov.tr/jsp/duyuru/upload/vt/vt.htm> (Erişim tarihi: 1 Haziran 2016).
- [41] Tanoğlu, A., "Ziraat Hayatı", İst. Üniv. Yay. 177, 8, İstanbul, (1968).
- [42] Atalay Ğ., ve Mortan, K. *Türkiye Bölgesel Coğrafyası*, İnkılâp Kitabevi, İstanbul, (1997).
- [43] Sakar, E., ve Ünver, H., "Türkiye'de zeytin yetiştiriciliğinin durumu ve ülkemizde yapılan bazı seleksiyon ve adaptasyon çalışmaları". *HR.Ü.Z.F. Dergisi*, 15(2), 19-25, (2011).
- [44] Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, B.I., 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).

- [45] Bahloul, N., Nourhene, B., Kouhila, M., Kechaou, N.,” Effect of Convective Solar Drying On Colour, Total Phenols and Radical Scavenging Activity of Olive Leaves (*Olea europaea* L.)”, *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 2561-2567, (2009).
- [46] Milardovic S, Ivekovic DS, Grabaric B. “A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical”, *Bioelectrochemistry*, 68, 175–180, (2006).
- [47] Ranalli A, Contento S, Lucera L, Di Febo M, Marchegiani D, Di Fonzo V. “Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.)”. *J Agric Food Chem*, 54, 434-440, (2006).
- [48] Bouaziz M, Sayadi S. “Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree”, *Eur J Lipid Sci Technol*, 107, 497-504, (2005).
- [49] Aruoma, O.I., Deiana, M., Jenner, A., Halliwell, B., Kaur, H., Banni,S., Corogiu, F. P., Dessi, M. A., Aeschbach, R. “Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on oxidative DNA damage and on low-density lipoprotein oxidation”, 46, 5181-5187, (1998).
- [50] Fki, I., Allouche, N., Sayadi, S. “The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants”, *Food Chemistry* 93, 197-204, (2005).
- [51] Dağdelen, Edremit (Balıkesir) Körfezi Çevresinde Yaygın Olarak Yetiştirilen Zeytin Çeşitlerinin Olgunlaşma Sürecinde Bazı Fizikokimyasal Özellikleri, Yağ Asidi Kompozisyonu, Tokoferol ve Fenolik Bileşik Miktarlarının Belirlenmesi. (Doktora), *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Balıkesir, (2008).

- [52] Nenadis, N., Moutafido, A., Gerasopoulos, D., Tsimidou, M.Z., “Quality Characteristics of Olive Leaf-Olive Oil Preparations”, *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 11,1337-1344, (2010).
- [53] De Leonardis, A., Macciola, V., Lembo, G., Aretini, A., Nag, A. “Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater”, *Food Chemistry*, 100,998-1004, (2007).
- [54] Le Tutour, B., Guedon, D.. “Antioxidative activities of *Olea europea* leaves and related phenolic compounds”, *Phytochemistry*, 31, 1173-1178, (1992).
- [55] Silva, S., Gomes, L., Leitao, F., Coelho, A.V., Boas, L.V. “Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. fruits and leaves”, *Food Science and Technology International*, 12(5), 385-396, (2006).
- [56] Lucas, M. D. Variacao de Teor de “Makro – Nutrientes e Micro – Nutrientes em Folhas de Oliverira”, *Agr.Luistana*, 25, 967-980, (1963).
- [57] Fox, R. L., Aydeniz, A., Kacar B, “Soil And Tissue Tests for Prediting Olive Yields in Turkey”, *Emp.J.Exp.Agric.*,32.P.84-91, (1964).
- [58] Zabunoğlu, S., Hatipoğlu, F., Yenicesu., “Bursa İlinde yetiştirilen Sofralık Gemlik Çeşidi Zeytin Ağaçlarının Makro ve Mikro Besin Maddeleri Durumu”, *Tübitak 6. Bilim Kongresi*, Ankara. (1977).
- [59] Canözer, Ö., “Ege Bölgesinde Önemli Zeytin Çeşitlerinin Besin Element Statüleri ve Toprak – Bitki İlişkileri”, Uzmanlık Tezi, *Zeytincilik Araştırma Enstitüsü*, Bornova, İzmir, (1978).
- [60] Seferoğlu, S. Ayvalık ve Edremit Yöresinde Yetiştirilen Ayvalık Zeytin Çeşidinin Beslenme Statüsü ile Kimi Kalite Ögeleri Arasındaki İlişkiler. *E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, Bornova, İzmir, (1997).

- [61] Bouaziz M, Fki I, Jemai H, Ayadi M, Sayadi S.. “Effect of storage on refined and husk olive oils composition:stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves”, *Food Chem*, 108 (1), 253-262, (2008).
- [62] Jemai, H., EL Feki, A., Sayadi, S. “Antidiabetic and Antioxidant Effect of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats”, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57: 8798-8804, (2009).
- [63] Capasso, R., Evidente, A., Schivo, L., Orru, G., Marcialis, M.A., Cristinzio, G. “Antibacterial polyphenols from olive oil mill wastewaters”, *J. Appl. Bacteriol.* 79: 393-398. (1995).
- [64] Sousa, A., Ferreira, ICFR., Calhelha, R., Andrade P.B., Valentão, P., Seabra, R. “Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives “alcaparra”. *Bioorg. Med. Chem*, 14: 8533-8538, (2006).
- [65] Xie,P., Huang, L., Zhang, C., You, F., and Zhang, Y. “Reduced pressure extraction of oleuropein fromolive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasoundassistance”, *Food and Bioproducts Processing* , 93 ( 2015 ), 29–38, (2015).
- [66] Furneri, P.M., A. Marino, A. Saija, N. Uccella and G. Bisignano.. “In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein”, *Int. J. Antimicrob. Age*, 20,293-296, (2002).
- [67] Zaher, KS. “In vitro studies on the antiviral effect of olive leaf against infectious laryngotracheitis virus,. *Global Veterinaria*, 1(1): 24-30, ( 2007).
- [68] Soni MG, Burdock GA, Christian MS, Bitler CM, Crea R. “Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods”, *Food Chem Toxicol*, 44(7):903-15, (2006).

- [69] Bouallagui Z, Han J, Isoda H, Sayadi S. “Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells”, *Food Chem Toxicol*, 49(1), 179-184, (2011).
- [70] Kelebek, H; Kesen, S.; Sabbağ, S.; Selli, S. “Gemlik Zeytin Çeşidinden Elde Edilen Natürel Zeytinyağında Fenol Bileşiklerinin Ve Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi”, *Gıda*, 37 (3), 133-140, (2012).
- [71] Tsimidou, M.Z., Papoti., “*Bioactive Ingredients in Olive Leaves, Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*”, 39, 349-356, (2010).
- [72] Jimenez, P., Masson, L., Barriga, A., Chavez, J., Robert, P., “Oxidative Stability of Oils Containing Olive Leaf Obtained by Pressure,” *Supercritical and Solvent-Extraction* , DOI:10.1002/ejlt.201000445, (2010).
- [73] Anonim, TSE, “*Yağlı tohumlar-su ve uçucu madde miktarı tayini (TS 1632) 1974*”, Ankara, (2014).
- [74] Anonim, 2007 TSE, “*A.Ü.Z.F Gıda Analizleri (TS 2131 ISO 928)* “, Ankara, (1986).
- [75] Caponio, F., Alloggio, V., Gomes, T., “Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil: Influence of Paste Preparation Techniques”, *Food Chemistry*, 64: 203-209, (1999).
- [76] Singleton, V.L., Rossi, J.R., “Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolibdic-Phosphothungstic Acid”, *American Journal Of Enology And Viticulture*, 16:144-158, (1965).
- [77] 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).

- [78] Erbay, Z., İçier, F., “Zeytin Yaprağının (*Olea europaea* L.) Kuruma Kinetiğinin İncelenmesi”, *Gıda*, 33 (4) : 165-173, (2008).
- [79] De Souza, R. M., Mathias, B. M., da Silveira, C. L. P. and Aucelio, R. Q., “inductively coupled plasma optical emission spectrometry for trace multielement determination in vegetable oils, margarine and butter after stabilization with propan-1-ol and water”, *Spectrochimica Acta Part B*, 60,711-715, (2005).
- [80] Zeiner, M., Steffan, I. and Cindric, I. J., “Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: A pilot study on the geographical characterization”, *Microchemical Journal*, 81, 171-176, (2005).
- [81] Costa, L. M., Silva, F. V., Gouveia, S. T., Nogueira, A. R. A. and Nobrega, J.A., “Focused microwave-assisted acid digestion of oils: an evaluation of the residual carbon content”, *Spectrochimica Acta Part B*, 56, 1981-1985, (2001).
- [82] Düzgüneş, O, Kesici, T., Gürbüz, F. *İstatistik Metodları*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 681, Ankara, (1983).
- [83] Helvacı, H.U., Gökçen, G., Korel F. Ve Aydemir., L.Y. ”Bir Jeotermal Kurutucu Tasarımı Saha Testleri ve Kurutma Sisteminin Enerji Analizi”, *11. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi*, İzmir, (2013).
- [84] Anonim, 2015., “Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği”, Resmi Gazete, 29389, (2015).
- [85] Doğançay, G., “Sulanan ve Sulanmayan Koşullarda Bazı Zeytin Çeşitlerinin Yapraklarındaki Biyoaktif Bileşiklerin Mevsimsel Değişimi”, Yüksek Lisans Tezi, *Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Ocak,(2013).



- [86] Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A., “Antihypertensive, Antiatherosclerotic and Antioxidant Activity of Triterpenoids Isolated from *Olea europaea*, Subspecies *Africana* Leaves”, *Journal of Ethenopharmacology*, 84:299-305, (2003).
- [87] Moudache, M., Colon, M., Nerín, C., Zaidi, F., “Phenolic content and antioxidant activity of olive by-products and antioxidant film containing Olive Leaf extract”, *Food Chemistry* , doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.001> , (2016).
- [88] Andzi Barhé, T., & Feuya Tchouya, G. R. “Comparative study of the antioxidant activity of the total polyphenols extracted from Hibiscus Sabdariffa L., Glycine max L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals”, *Arabian Journal of Chemistry* , <<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.048>>;inpress, (2015).
- [89] Campbell, N.A., Reece, J. B. *Biology (7<sup>a</sup> edición)*, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Madrid (2007).
- [90] Çetinkaya H., Koç M., Kulak M., Monitoring of mineral and polyphenol content in olive leaves under drought conditions: Application chemometric techniques, *Industrial Crops and Products*, doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.005, (2016).
- [91] Toplu, C., “Hatay İli Değişik Üretim Merkezlerindeki Zeytinliklerin Verimlilik Durumları, Fenolojik, Morfolojik ve Pomolojik Özellikleri ile Beslenme Durumları Üzerindeki Araştırmalar.”, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı , Adana, (2000).
- [92] Kaçar, B., Katkat, A.V., *Gübreler ve Gübreleme Tekniği* , Nobel Yayınları, N011/19, Ankara, (2007).

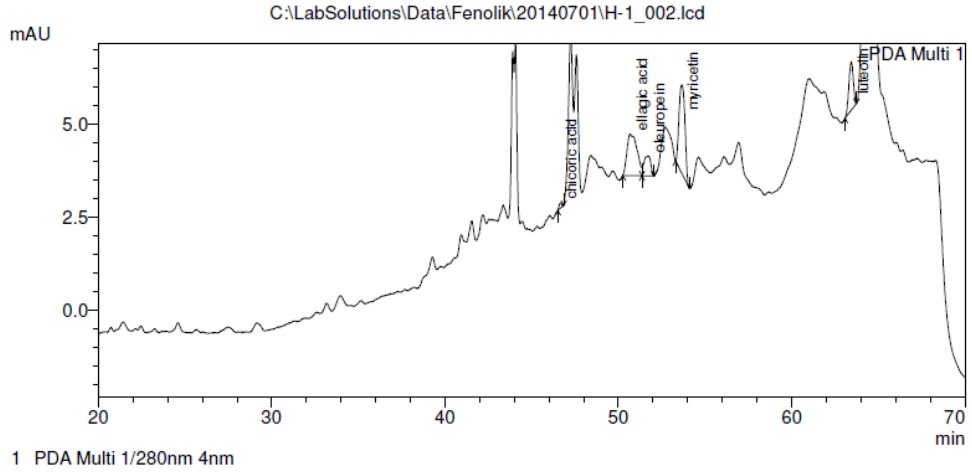
- [93] Petousia, I., Fountoulakisa M.S., Sarub M.L., Nikolaidisb N., Fletcherc L., Stentifordc,E.I, and Maniosa T., “Effects of reclaimed wastewater irrigation on olive (*Olea europaea* L.cv.‘Koroneiki’) trees”, *Agricultural Water Management*, 160, 33–40, (2015).
- [94] Dağdelen, A. “Identifying Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Phenolic Extracts and Mineral Contents of Virgin Olive Oils (*Olea europaea* L. cv. Edincik Su) from Different Regions in Turkey”, *Journal of Chemistry*. DOI: 10.1155/2016/9589763, 11 , (2016).
- [95] Yılmaz Çevik, C,. “Zeytin ve Zeytin Ürünlerinin Bazı Makro ve Mikro İnorganik Bileşenlerinin Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi*, Kimya Anabilim Dalı, Adana (2015).

# **EKLER**

## 7. EKLER

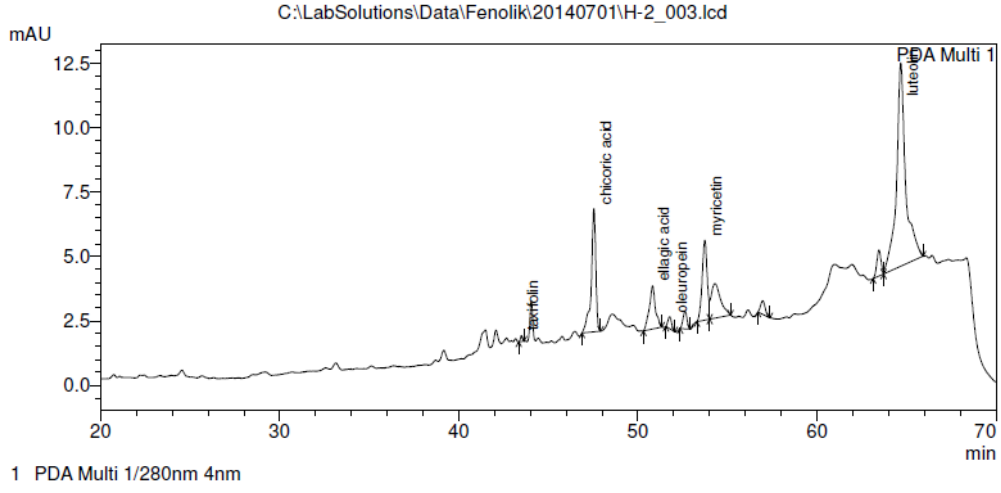
### EK A: Şubat Ayı 0 m Yükselti Yaprak Örnekleri HPLC Kromotogramı

<Chromatogram>



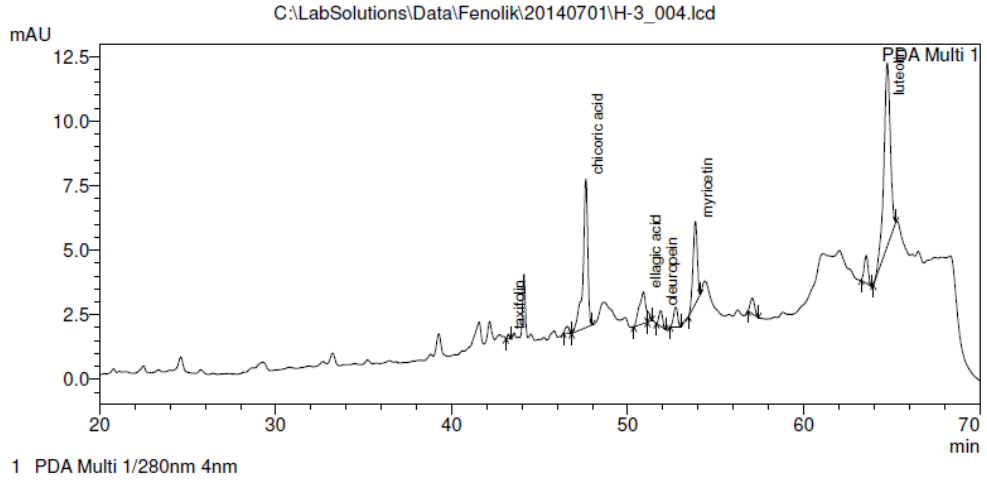
## EK B: Şubat ayı 92 m Yaprak Yükselti Örnekleri HPLC Kromotogramı

<Chromatogram>



## EK C: Şubat ayı 235 m Yaprak Yükselti Örnekleri HPLC Kromotogramı

<Chromatogram>



## EK D: Şubat ayı 360 m Yaprak Yükselti Örnekleri HPLC Kromotogramı

<Chromatogram>

