



**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ZEYTİN ÇEŞİTLERİNDEN SOĞUK
PRESLENMİŞ ZEYTİNYAĞLARININ
BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ ÜZERİNE
SELÜLAZ VE PAPAİN ENZİMLERİNİN
ETKİSİ**

Fadimana MOTUK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Ocak-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Fadimana MOTUK tarafından hazırlanan “Farklı Zeytin Çeşitlerinden Soğuk Preslenmiş Zeytinyağlarının Biyoaktif Bileşenleri Üzerine Selüloz ve Papain Enzimlerinin Etkisi” adlı tez çalışması 07/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Mustafa KARAKAYA

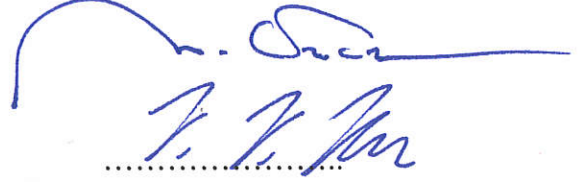
Danışman

Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN

Üye

Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

Bu tez çalışması S.Ü. BAP tarafından 18201124 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Fadımama MOTUK

Tarih: 07/01/2020

ÖZET

FARKLI ZEYTİN ÇEŞİTLERİNDEN SOĞUK PRESLENMİŞ ZEYTİNYAĞLARININ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ ÜZERİNE SELÜLAZ VE PAPAIN ENZİMLERİNİN ETKİSİ

Fadimana MOTUK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN

2020, 51 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN
Prof. Dr. Mustafa KARAKAYA
Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA

Bu çalışmada Mersin (Mut)'den toplanan Ayvalık, Gemlik, Yağlık ve Çöpaşı zeytin çeşitlerinin malaksasyon aşamasında selülaaz ve papain enzimi ilavesi sonucu manuel soğuk pres yöntemiyle elde edilen yağların serbest yağ asidi, peroksit miktarı, yağ verimi, renk değerleri, tokoferol içeriği, yağ asidi kompozisyonu ve fenolik bileşen dağılımı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre enzim kullanımı ve uygulama süresinin serbest yağ asidi ($p<0.05$) ve peroksit miktarı ($p<0.01$) üzerine önemli farklılıklar meydana getirdiği gözlemlenmiştir. En yüksek serbest asitliğin %8.57 ile 12 saat papain enzimi muamelesi yapılan Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneğine ait olduğu belirlenmiştir. Çöpaşı çeşidinde 24 saat papain enzimi uygulaması ile en yüksek peroksit miktarı 12.00 (meq O_2/kg yağ) olarak saptanmıştır. Yağ verimi sonuçlarında, enzim ekstraksiyonu sonucu, önemli değişimler göstererek arttığı tespit edilmiştir ($p<0.01$). Tokoferol, yağ asidi kompozisyonu ve fenolik bileşen analizleri sonucu 12 saat muamele edilen örneklerde olumlu artışlar gözlenirken, muamele süresinin uzaması ile bazı çeşitlerin sonuçlarında düşüş tespit edilmiştir. Ayvalık çeşidi selülaaz enzimiyle 12 saat muamele edilen zeytinyağı örneği 254.7 mg/kg ile en yüksek tokoferol içeriğine sahip örnek olmuştur. Yağ asidi kompozisyonunda oleik, linoleik ve araşidonik asit oranları istatistikî açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Zeytinyağı çeşitleri arasında oleik asit içerikleri %63.36 ile 72,68 arasında değişim göstermiştir. Fenolik bileşen sonuçlarında oleuropein içerikleri düşük olan örneklerde hidroksitirozol ve tirozol içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Zeytinden enzim ekstraksiyonu sırasında kullanılması önerilen en ideal enzim selülaaz enzimi olmuştur. Papain enzimi bu çalışma için olumlu sonuçlar vermemiştir. Muamele sürelerinin kısaltılması ile daha olumlu sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çeşit, papain, selülaaz, yağ ekstraksiyonu, zeytin (*Olea europaea* L.), zeytinyağı

ABSTRACT

THE EFFECT OF CELLULASE AND PAPAIN ENZYMES ON BIOACTIVE COMPONENTS OF COLD PRESSED OLIVE OIL FROM DIFFERENT OLIVE VARIETIES

Fadimana MOTUK

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN FOOD ENGINEERING

Advisor: Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN

2020, 51 Pages

Jury

Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN

Prof. Dr. Mustafa KARAKAYA

Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA

In this study, the effect of the cellulase and papain enzymes addition at the malaxation stage of the Ayvalık, Gemlik, Yağlık and Çöpaşı olives collected from Mersin (Mut) on free fatty acid, amount of peroxide, oil yield, color values, tocopherol content, fatty acid composition and phenolic component of the olive oils obtained by the pressing method were determined. According to the results, it was observed that enzyme usage and application time caused significant differences on free fatty acid ($p < 0.05$) and amount of peroxide ($p < 0.01$). It was determined that the highest free acidity was 8.57% with olive oil sample of Ayvalık variety treated with papain enzyme for 12 hours. The highest amount of peroxide was found to be 12.00 (meq O_2 / kg) with 24 hours of papain enzyme application in Çöpaşı variety. It was found that the results of enzyme extraction increased significantly in oil yield results ($p < 0.01$). Tocopherol, fatty acid composition and phenolic component analysis showed positive increases in the samples treated for 12 hours while the treatment time is prolonged and the results of some varieties decreased. The olive oil sample treated with cellulase enzyme for 12 hours was the highest tocopherol content with 254.7 mg / kg. The amount of oleic, linoleic and arachidonic acids in fatty acid composition were found to be statistically significant ($p < 0.01$). Among olive oil belonged olive varieties, oleic acid contents varied between 63.36% and 72.68%. It was determined that hydroxytyrosol and tyrosol contents were higher in the samples with low oleuropein content in phenolic component results. Cellulase is the most ideal enzyme recommended during the enzyme extraction from olive. In this study, it was not obtained positive results for Papain enzyme. It is thought that shorter treatment times will result in more positive results.

Keywords: cellulase, olive (*Olea europaea* L.), olive oil, oil extraction, papain, variety

ÖNSÖZ

Yüksek lisans süresince tezimin tüm aşamalarında bana inanarak verdiği güven ve bilgi birikimleriyle desteğini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Musa ÖZCAN'a ve bu yolda attığım her adımda yardımcı olarak bana yol gösteren değerli hocam Arş. Gör. Nurhan USLU' ya teşekkür ederim.

Bu süreçte her koşulda yanımda olarak maddi mânevi desteğini esirgemeyen, kendimi geliştirmeme olanak sağlayan sevgili eşim Mustafa MOTUK'a; bu yaşıma kadar sevgi ve şefkatle beni büyüten, her türlü imkânı sunarak meslek sahibi olmama vesile olan babam Abdullah GÜNDÜZ ve annem Ayşegül GÜNDÜZ olmak üzere tezimde emeği geçen tüm ailem ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Fadimana MOTUK
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Zeytin Meyvesi	4
2.2. Zeytinyağı	6
2.3. Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Zeytin	14
3.1.2. Kimyasal maddeler ve cihazlar	15
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Zeytinyağında ekstrakt hazırlanması	16
3.2.2. Yağ asidi kompozisyonu tayini.....	17
3.2.3. Fenolik bileşen tayini.....	17
3.2.4. Tokoferollerin belirlenmesi	18
3.2.5. Yağ tayini.....	18
3.2.6. Renk tayini.....	18
3.2.7. Serbest yağ asidi tayini	19
3.2.8. Peroksit tayini	19
3.2.9. İstatiksel analiz	19
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1. Serbest Yağ Asitleri, Peroksit Değeri ve Yağ Verimi Analizi	20
4.2. Renk Analizi (L^* , a^* , b^*)	26
4.3. Tokoferol Analizi.....	30
4.4. Yağ Asidi Kompozisyonu.....	32
4.5. Fenolik Bileşen Analizi	38
5. SONUÇLAR	44
6. ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47

ÖZGEÇMİŞ	51
----------------	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

C	: Karbon
G	: Gram
Kg	: Kilogram
meq	: Miliekivalan
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
V	: Hacim
μ	: Mikron
μ l	: Mikrolitre
μ m	: Mikrometre
%	: Yüzde
O ₂	: Oksijen
°C	: Derece
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
δ	: Teta
a*	: (+) kırmızı, (-) yeşil renk değeri
b*	: (+) sarı, (-) mavi renk değeri
L*	: Parlaklık renk değeri
ΔE^*	: Renk değişimi

Kısaltmalar

CRC	: Kolorektal kanser
dk	: Dakika
IBD	: İnflammatory bowel disease
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
KOH	: Potasyum hidroksit
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LDL	: Low density lipoprotein
Na ₂ HPO ₄	: Disodyum hidrojen fosfat
sa	: Saat

1. GİRİŞ

Zeytin (*Olea europaea* L.), Oleaceae familyasından olup ismi Yunanca elaiia'dır. Boyu 2-10 metre arasında değişen ancak 15-20 metreye kadar da uzayabilen bir bitkidir. Meyveleri olgunlaşmaya başladığında rengi yeşilken Ekim-Kasım aylarında yeşilden mora dönüp olgunlaşır. Genellikle 300-400 yıl gibi uzun ömürlü bir ağaç olan zeytinin 2000 yıl yaşayanlarının olması muhtemelen kuraklıktan etkilenmeyen bir bitki olmasındandır. Zeytin bitkisi Güneş gören killi toprakta iyi yetişmesinin yanı sıra fakir toprağa da dayanabilmektedir. Milattan 10 bin yıl öncesine kadar Doğu Akdeniz havzasının doğal bitki örtüsü sayılmaktadır. Fakat son araştırmalar kesin olmamakla birlikte zeytinin, milattan önce yaklaşık 12 bin yıl öncesinde Akdeniz'in batısındaki ele geçen fosillerin yabani zeytin dalları olduğunu gösteren deliller sunmaktadır (Kaplan ve Arıkan, 2017).

Zeytin meyvesi, kimyasal bileşim açısından diğer tek çekirdekli meyvelerden daha az şeker ve oleuropein adında fenolik bir bileşen olan acılık maddesini içermesi sebebiyle farklılık gösterir. Bu sebeple zeytin koparıldığında doğrudan tüketilmez. Bünyesindeki acılık veren maddenin giderilmesi gerekir. Sofralık zeytin ve saf zeytinyağı, zeytin meyvelerinden işlenmiş iki ana üründür. Yaklaşık 6000 yıl önceden bu yana her iki üründe, Akdeniz diyetinin temel gıdaları olarak kabul edilir ve bu bölgede yüzyıllardır üretilmiştir. Zeytinlere özel olan, çeşitli ve bol miktarda bioaktif bileşiklerin varlığı, bu ürünlerin nutrasötik (hastalıkları önleyici ve tedavi edici özelliği olan gıda) özelliğine dikkat çekmektedir (Rallo ve ark., 2018). Geleneksel Akdeniz diyetinde görüldüğü gibi uygun şekilde tüketildiği zaman ekstra sızma zeytinyağının çok faydalı olduğu teyit edilmiştir. Pek çok kanıt; Akdeniz diyetinin sağlık üzerinde zeytinyağı ve bileşenlerinin önemli ölçüde olumlu etkisi olduğunu göstermektedir ve bu etkilerin tedaviden daha çok önleyici yönde olduğunu göstermektedir (Armutcu ve ark., 2013).

Dünya genelindeki zeytin yetiştiriciliğinin %90'lık bir kısmı Akdeniz havzası, geriye kalan kısmı ise Latin Amerika ülkelerinde yapılmaktadır. Dünyada yaklaşık 9 milyon hektar alanda 900 milyon zeytin ağacından yaklaşık 17 milyon ton dane zeytin elde edilmektedir. Tüm dünyada 900 milyon ağaçtan %98'i, Akdeniz havzasında yer almaktadır. Zeytinin anavatanı, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ni de içine alan Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya'dır. Günümüzde 20. yüzyılın bitkisi olarak gösterilen ve yüzyıllardır önemini yitirmemiş olan zeytin bitkisinin anavatanı Mardin, Hatay,

Suriye, Filistin ve Kıbrıs adasını içerisine alan bölge kabul edilmektedir. Türkiye’de Aydın, İzmir, Muğla, Balıkesir, Bursa, Manisa, Çanakkale, Gaziantep ve Mersin önemli zeytin üretimi yapılan illerdir. Ege, Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu Bölgeleri ise önemli zeytin üreten bölgelerdir. Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi Koordinatörlüğü’nde yapılan tahmine göre, Türkiye'nin 2017-2018 sezonunda meyve veren 151 milyon 347 bin 628 zeytin ağacı bulunmaktadır (Anonim, 2018).

Dünya zeytinyağı üretimi son beş sezon ortalamasına göre 2.85 milyon ton civarındadır. Önemli zeytinyağı üretici ülkeler sırasıyla, İspanya, İtalya, Yunanistan, Portekiz, Türkiye, Tunus ve Suriye’dir. Üretimde AB ülkelerinin payı yıllara göre değişmekle birlikte ortalama %68 seviyelerindedir. AB ülkeleri arasında ilk sırayı İspanya almakta onu İtalya ve Yunanistan izlemektedir. İspanya’nın AB üretimdeki payı %64’ler seviyesindedir. Bunların yanı sıra son yıllarda Avustralya, Japonya ve Arjantin gibi ülkelerde de zeytin üretimine başlanılmıştır (Anonim, 2018).

Zeytinyağı, hiçbir kimyasal işlem görmeden zeytinin çekirdeğiyle birlikte preslenmesiyle elde edilen şeffaf, yeşilimsi/sarımtırak ve aromatik bir yağdır. Akdeniz ülkeleri kardiyovasküler hastalık ve kanser bakımından diğer Avrupa ülkelerine göre daha düşük ölüm oranlarına sahiptir. Diyet yağının temel kaynağını oluşturan zeytinyağının düzenli tüketiminin, insan sağlığı üzerine çeşitli yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Zeytinyağı tüketiminin önemini vurgulayan biyolojik özellikler kısmen onun fenolik bileşenleriyle ilişkili olup aslında zeytinyağı fenoliklerinin antioksidan etkileriyle, oleik asit ve skualen gibi diğer bileşenlerine bağlıdır. Zeytinyağında belirlenen ve miktarı bilinen temel fenolik bileşikler, hepsi antioksidan özelliklere sahip; basit fenoller (hidroksitirozol, tirozol), sekoiridoidler (oleuropein) ve lignanlar şeklinde üç grupta yer alır. Bu maddelerden son iki sınıf en yoğun doğal zeytinyağı fenollerini içerir (Armutcu ve ark., 2013).

Biyomoleküllerin bitkilerden enzim destekli ekstraksiyonu, geleneksel solvent ekstraksiyon metodlarına potansiyel bir alternatiftir ve verimli, yararlı, sürdürülebilir ve çevre dostu bir ekstraksiyon teknolojisi olması nedeniyle daha fazla dikkat çekmektedir. Enzim bazlı ekstraksiyon, enzimlerin, kesin özellikleri, bölge seçiciliği ile reaksiyonları iletilebilmeleri ve biyolojik koşullar altında biyolojik aktifliklerini koruyarak, hafif koşullar altında reaksiyonları yürütebilmeleri için karakteristik özelliklerine bağlıdır. Enzim destekli ekstraksiyonun temel prensibi, hücre içi bileşenleri serbest hale getirmek için optimum deney koşulları altında bir katalizör olarak kullanılan enzimlerle bitki hücre duvarı yapısının değiştirilerek içindeki bileşenlerin açığa çıkmasını sağlamaktır.

Bitki hücre duvarı, enzimin aktif bölgesine bağlanır. Bu da enzimin şeklini değiştirmesine neden olur. Böylece substrat aktif bölgeye yerleşir ve ikisi arasında maksimum etkileşime neden olur. Enzim aktivitesi hücre duvarı bağlarının kopmasına neden olur ve aktif bileşenler serbest kalır. Bu yeni ekstraksiyon yöntemleri sadece riskli solvent gereksinimini azaltmakla kalmaz, aynı zamanda kısa ekstraksiyon süresi gerektirir. Ek olarak, bu ekstraksiyon kontrollü sıcaklık koşullarında gerçekleştirildiği için, aromalar, pigmentler, yağ, vb. gibi termo-duyarlı moleküllerin ekstraksiyonu için çok yararlıdır (Nadar ve ark., 2018).

Bu çalışmada enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemiyle soğuk preslenmiş zeytinyağı eldesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Mersin ili Mut ilçesinden temin edilen zeytin çeşitlerinden (Ayvalık, Gemlik, Yağlık ve Çöpaşı) yağ eldesi aşamalarından, malaksasyon aşamasında selülaz ve papain enzimleri farklı sürelerde (12-24 saat) uygulandıktan sonra, soğuk pres yöntemiyle zeytinyağları elde edilmiştir. Bu çalışmanın amacı enzim muamelesiyle elde edilen zeytinyağlarının bazı kimyasal özellikleri ve biyoaktif özellikleri ile yağ asitleri bileşimi, tokoferol içerikleri ve fenolik bileşikleri üzerine selülaz ve papain enzimlerinin etkisini araştırmak olmuştur.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Zeytin Meyvesi

Zeytin, içerdği bileşenler açısından oldukça değerli bir meyve olup, şekli ve rengi çeşide göre farklılık göstermektedir. Zeytin tanesinin kimyasal bileşiminin büyük bir kısmını su ve yağ oluşturur. Bileşiminde protein, selüloz, şeker, mineral maddeler, hidrokarbonlar, fenolik bileşikler ve tokoferoller de bulunur. Olgunluk derecesi, yetiştirildiği bölge, yetiştirme koşulları ve çeşit bileşimini etkileyen faktörlerdendir (Vinha ve ark., 2005) . Zeytin meyvesi, yaklaşık %50 su, %20 yağ, %20 karbonhidrat (pektik, selülozik ve hemiselülozik maddeler), organik asit, pigment, fenolik bileşik ve mineral'den oluşur. Yağın %96–98'i ette (mezokarp) ve kabukta (perikarp), %2-4'ü ise çekirdekte (endokarp) bulunur (Najafian ve ark., 2009).

Taze hamur ağırlığının %1 ila 3'ünü oluşturan fenolik bileşikler, zeytin meyvesinin minör bileşenleridir, ancak antioksidan, antienflamatuar ve antikarsinojenik aktivitelerinde çok önemli rolleri vardır. Ayrıca, kardiyovasküler ve dejeneratif hastalıkların önlenmesiyle de ilişkilendirilmişlerdir. Zeytin meyvelerinde fenolik bileşiklerin profili çok karmaşıktır ve çeşit, olgunlaşma aşaması veya mevsim gibi faktörlere bağlıdır. Taze zeytinlerde en bol bulunan fenoller, oleuropein, dimetil oleuropein, hidroksitirozol ve verbaskozit iken, işlenmiş sofralık zeytinlerde, hemen hemen hiç oleuropein bulunmaz, hidroksitirozol ve tirozol baskın fenoliklerdir. Aslında, sofralık zeytin üretimi işlemi, toplam fenolik bileşik miktarını önemli ölçüde azaltır ve profili büyük ölçüde değiştirir. Bununla birlikte, farklı işleme yöntemleri arasında önemli farklılıklar vardır. Genel olarak, doğal zeytinlerde ve yeşil işlenmiş zeytinlerde toplam fenolik içerikler, siyah olgun zeytinlerden daha fazladır (Rallo ve ark., 2018).

Zeytinyağındaki fenolikler genellikle zeytindeki fenolik maddelerin mekanik ekstraksiyon sırasında yağa geçmeleri sonucu bulunmaktadır. Zeytin fenolikleri zeytinyağı fenoliklerinden farklıdır. Zeytin, meyve etinin %1-3'ünü kapsayacak düzeyde, yüksek konsantrasyonlarda fenolik madde ihtiva eder. Zeytinin temel fenolikleri; fenolik asitler, fenolik alkoller, flavonoidler ve sekoiridoidler olarak sınıflandırılabilir (Yorulmaz ve Tekin, 2008).

Fenolik asitler, fenolik alkoller ve flavonoidler farklı botanik familya içerisinde yer alan pek çok meyve ve sebzede bulunabilirken, sekoiridoidler sadece *Olea europaea*

L. türünün içinde yer alan Oleaceae familyasında bulunurlar. Sekoiridoid sınıfında gruplandırılan fenolik bileşenler yapılarında elenolik asit veya elenolik asit türevi ihtiva etmeleri sebebiyle diğerlerinden ayrılır. Oleuropein, dimetiloleuropein, ligstrosit ve nüzhenit zeytinde en fazla tespit edilen sekoiridoid glukozitlerdir (Yorulmaz ve Tekin, 2008).

Zeytinlerin ana fenolik alkoller arasında oleuropein β -(3,4 dihidroksifeniletanol) veya hidroksitirozol ve hidroksifeniletanol (tirozol) bulunur. Zeytindeki flavonoid bileşikler esas olarak luteolin 7-O-glukozit, rutin, apigenin 7-O-glukozit, antosiyaninler, siyanidin 3-O-glukozit ve siyanidin 3-rutinosid gibi flavonol glikozitlerden oluşur. Hidroksitirozol ve tirozol, fenolik bileşiklerin geri kalanına kıyasla sırasıyla en yüksek 76.73 ve 19.48 mg/100g düzeyinde zeytin içeriğinde bulunur. Zeytinlerin olgunlaşması sırasında, oleuropein tamamen parçalanır ve meyve karardığında, hidroksitirozol, tirozol ve verbaskozit artar, oleuropein neredeyse hiç tespit edilemez. Zeytin meyvesinde bu kadar tıbbi açıdan önemli biyoaktif bileşiklerin varlığı, bu türlerden üretilen başlıca ürünlerin, sofralık zeytinlerin ve sızma zeytinyağının fonksiyonel gıda potansiyelini destekler. Ayrıca, zeytin meyvesi kabuğundan iki önemli pentasiklik triterpen, yani potansiyel antiproliferatif aktiviteye sahip oleanolik ve maslinik asitler olduğu bildirilmiştir (Ghanbari ve ark., 2012).

Oleuropein, zeytin meyvesine acılığını veren maddedir. Zeytin meyvesinin ilk zamanlarında meyvede daha fazla bulunur, olgunlaşma arttıkça zamanla metabolize olarak miktarı azalır. Zeytinin hasattan hemen sonra tüketilememesine sebep olan bu glukozit suda çözünbilme yeteneğine sahiptir. Klasik salamura yöntemi, alkali uygulaması, enzimatik yöntem veya mikroorganizmalarla hidrolize edilerek zeytindeki istenmeyen acı tadı veren oleuropein kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir (Yıldız ve Uylaşer, 2011). Giner ve ark. (2016)'ın yapmış oldukları araştırmalar sonucunda birçok sayıda kanıtın, polifenollerin gerçekten iltihabı değiştirebildiğini ve kanser gelişimine karşı koruyabileceğini, IBD 8 ve CRC 9'un doğal koruyucu tedavileri için umut verici adaylar olmalarını sağlayabileceğini göstermiştir. Zeytinin yapraklarında ve işlenmemiş zeytin meyvelerinde bulunan başlıca fenolik bileşen olan oleuropein, zeytin ağacının yapraklarının insan diyetinde potansiyel faydalı etkileri sayesinde özüt, bitki çayı veya toz olarak kullanılmaktadır. Oleuropeinin antienflamatuvar ajan olarak rolü, çeşitli inflamasyon modellerinde bildirilmiştir. Son zamanlarda, çeşitli çalışmalarda farklı kanser hücre hatlarında apoptozun (hücre ölümünün) indüklenmesiyle oleuropeinin antiproliferatif ve antitümör özelliklerini göstermiştir.

2.2. Zeytinyağı

Sızma zeytinyağı, Akdeniz diyetinin temel parçasıdır ve zeytin meyvesinden mekanik / fiziksel yöntemlerle üretilir. Esas olarak trigliseritler ve mineraller, fenolikler, steroller, tokoferoller, fosfolipitler, hidrokarbonlar ve uçucu bileşikler dahil olmak üzere çok çeşitli küçük bileşikler kapsar (Çevik ve ark., 2016). Sızma zeytinyağının popülaritesi hem sağlık özellikleri hem de hoş aroması ile ilgilidir. Sağlık özellikleri acı ve keskinliğinden de sorumlu olan fenolik bileşiklere atfedilse de, hoş aroması uçucu aroma bileşiklerinin varlığından kaynaklanmaktadır. Zeytinyağı aroması çok sayıda farklı uçucu maddeden oluşur. Bu nitelikler; çeşitlilik, yetiştirme koşulları ve hasat sonrası işlemlere göre değişiklik gösterir (Genovese ve ark., 2018).

Zeytinyağı, kendine has lezzetini ve antioksidan etkisini veren çok sayıdaki flavonoidleri, yağda çözünen steroller ve vitaminleri, dışardan almak zorunda olduğumuz “esansiyel” yağ asitlerini içermesinden dolayı sağlıklı yaşamının temelini oluşturmaktadır. Yüksek tansiyon, kolesterol, damar sertliği, mide ve bağırsak ülserleri, romatizma, safra kesesi, karaciğer bozuklukları, kansızlık, bazı romatizma, bağırsak ve cilt hastalıklarının tedavisinde yüzyıllardır kullanıldığı bilinmektedir. Kalori değeri ve sindirilebilirlik derecesi yüksek, esansiyel yağ asitlerinin kaynağıdır. Yağda çözünen A, D, E ve K vitaminlerince zengin olan zeytinyağı, kendine özgü tad ve kokusu ile diğer bitkisel yağlara göre daha çok tercih edilmektedir. Bitkisel yağlar arasında ham yağ olarak rafinasyona tâbi tutulmadan üretilebilen neredeyse tek yağ olma özelliğine sahiptir. Günlük 15-20 gram zeytinyağı tüketilmesi özellikle damarların sağlıklı kalması için oldukça önemlidir (Özata ve Cömert, 2016).

Genel olarak zeytinyağı tüketiminin, koroner kalp hastalığı ile ilişkili risk faktörlerinin azaltılması, bazı kanser türlerinin ve enflamatuvar tepkilerin modifikasyonu gibi sağlık yararları olduğu kabul edilir. Yapılan bir çalışmada zeytinyağı tüketimi ve kanser ile ilgili bir meta-analiz gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu meta-analizde meme kanseri oranı ve bitkisel yağ alımı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu meta-analiz 5 gruptan 150.000 kadını ve geriye dönük 11 vaka kontrol çalışmasını içermektedir. Bulgular, yüksek miktarda zeytinyağı tüketen bireylerin düşük miktarda zeytinyağı tüketen bireylerle karşılaştırıldığında zeytinyağının meme kanserine karşı koruyucu bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Foscolou ve ark., 2018). Sofi ve ark. (2008)'nın 12 prospektif çalışmasının meta-

analizinde, Akdeniz diyeti sayesinde mortalite (%9), kardiyovasküler hastalıklar (%9), kanser (%6), Parkinson ve Alzheimer hastalığı (%13) görülme sıklığında belirgin bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Zeytinyağı majör (sabunlaşabilen fraksiyon) ve minör (sabunlaşmayan fraksiyon) bileşenlerden oluşur. Majör bileşenler yani triaçilgliseroller toplam yağın %98'ini, minör bileşenler ise %2'sini kapsamaktadırlar. Oleik asit, palmitik asit, linoleik asit gibi yağ asitleri majör bileşenleri oluştururlar. Minör bileşenler ise gliserit olmayan esterler ve mumlar, alifatik alkoller, triterpen alkoller, steroller, hidrokarbonlar, pigmentler, uçucu bileşikler ve fenolik bileşiklerdir (Armutcu ve ark., 2013).

Sızma zeytinyağı, az miktarda serbest yağ asidi, gliserol, fosfatid ve diğer bileşiklerle birlikte, genellikle trigliseritlerden oluşur. Trigliserit molekülü, gliserol ve üç yağ asidi molekülünden türetilmiş bir esterdir (Portarena ve ark., 2019). Yağ asitleri, uzunluğu 14 ila 24 karbon atomu arasında değişen uzun hidrokarbon zincirlerine benzemektedir (Anonim). Çizelge 2.2.1.'de zeytinyağının yağ asidi bileşimi verilmiştir.

Çizelge 2.2.1. Zeytinyağının yağ asidi bileşimi (Gavahian ve ark., 2019)

Yağ Asitleri	İçerik (%)
Palmitik asit (C16:0)	9.4-19.5
Palmitoleik asit (C16:1)	0.6-3.2
Margarik asit (C17:0)	0.07-0.13
Margaroleik asit (C17:1)	0.17-0.24
Stearik asit (C18:0)	1.4-3.0
Oleik asit (C18:1)	63.1-79.7
Linoleik asit (C18:2)	6.6-14.8
Linolenik asit (C18:3)	0.46-0.69
Araşidik asit (C20:0)	0.3-0.4
Eikosenoik asit (C20:1)	0.2-0.3
Behenik asit (C22:0)	0.09-0.12
Lignoserik asit (C24:0)	0.04-0.05

Zeytinyağı trigliseritlerinde en bol bulunan yağ asidi oleik asittir ve ardından palmitik, linoleik ve stearik asit gelir. Düşük oranlarda ise palmitoleik, linolenik, araşidik, behenik, margarik, margaroleik, eikosenoik, lignoserik asit içeriğine sahiptir (Kayahan ve Tekin, 2006). Birçok sağlık yararı olan oleik asit, tekli doymamış bir omega-9 yağ asididir. Vücudun hücreleri tarafından gerçekleştirilen membran akışkanlığında görev alır. Patojenlerle savaşmak, mineralleri taşımak ve hormonlara cevap vermek için önemlidir. Ayrıca hücrelerimiz için önemli bir enerji kaynağı olmakla birlikte birçok temel metabolitin üretimi ve biyosentezi için kullanılır

(Anonim). Ana oleik asit kaynağının zeytinyağı olduğu Yunanistan, İtalya veya İspanya gibi Güney Avrupa ülkelerinde (%29'a kadar) tüketim daha yüksek, oleik asit alımının ağırlıklı olarak et ve et ürünlerinden sağlandığı batı ve kuzey ülkelerinde ise düşüktür. Sonuç olarak, diyetle oleik asit alımı %10-15 arasında olmalıdır. Diyetle yağ bileşiminin modülasyonunun kan-lipit konsantrasyonlarını etkilediğini gösteren çok sayıda bilimsel kanıt vardır. Doymuş yağ asitlerinden enerjinin yaklaşık %5'inin oleik asit ile izokalorik olarak değiştirilmesinin, koroner kalp hastalığı riskini esas olarak LDL-kolesterol azalması yoluyla %20-40 oranında azalttığı tahmin edilmektedir. Ayrıca, trombojenez, *in vitro* LDL oksidatif duyarlılık ve insülin duyarlılığı ile ilgili faktörler gibi KHV için risk faktörleri üzerindeki diğer faydalı etkiler de bildirilmiştir (Lopez-Huertas, 2010).

Minör bileşenlerden olan uçucu ve fenolik bileşenler sızma zeytinyağının duyuşal özelliğini belirlemektedir (Servili ve ark., 2003). Zeytinyağında ikincil bitki metabolitleri diye bilinen fenolik bileşenler, yağın duyuşal özellikleri ve oksidatif stabilitesine etki eder. Diğer bitkisel yağlarda olmayan hidrofilik bileşenlerdir (Kayahan ve Tekin, 2006). Uçucu bileşenler ise zeytinyağı aroması üzerinde önemli etkisi olan ve zeytindeki lipoksigenaz aktivitesi ile ortaya çıkan bileşenlerdir (Hepsağ ve Ruken, 2018). Zeytinyağında bulunan fenolik ve uçucu bileşenlerinin oluşumu; zeytin türü, olgunlaşma düzeyi, zeytin zararlıları ve iklimi de kapsayan birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Kayahan ve Tekin, 2006).

Oleuropein, dimetiloleuropein ve ligstrosit zeytindeki sekoiridoid glikozitlerin türevleridir (Yorulmaz ve Tekin, 2008). Zeytin meyvesinde ana fenolik bileşen oleuropein iken, zeytinyağında ana fenolik bileşen fenolik alkollerden olan hidroksitirozol ve tirozol'dur (Servili ve Montedoro, 2002). Zeytinin olgunlaşması süresince yüksek molekül ağırlıklı oleuropein gibi bileşiklerin hidrolizi sonucu tirozol ve hidroksitirozol miktarı artar (Ryan ve Robards, 1998). Yağın duyuşal özelliklerini ve oksidasyona direncini etkileyen bir fenolik bileşik olan hidroksitirozol, sadece basınç veya seçici filtrasyon yoluyla elde edilen zeytinyağlarında ve kaliteli taze zeytinlerden elde edilebilir miktarlarda bulunur. Santrifüjlü zeytinyağı değirmenlerinde kullanılan su, büyük ölçüde hidroksitirozolu uzaklaştırır. Santrifüjleme işlemi sırasında kaybedilen antioksidanların miktarı, malaksasyon aşamasının süresine ve dekantörde ilave edilen sıcak su miktarına bağlıdır (Kiritsakis ve ark., 1998).

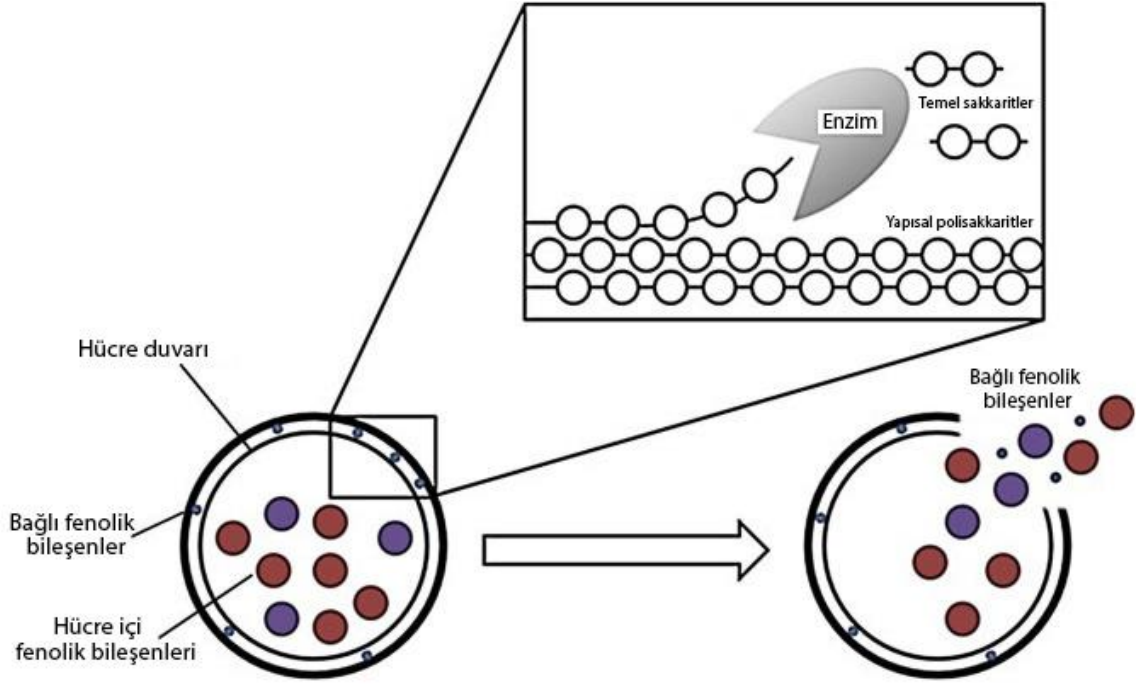
Sızma zeytinyağının birkaç küçük bileşeni arasında, en bol fraksiyon hidrokarbonlardır (skualen ve daha küçük miktarlarda karotenoidler, β -karoten ve lutein) (Lopez ve ark., 2014). Zeytinyağlarındaki en önemli hidrokarbon skualendir. Sızma zeytinyağı 100 gramda 400-450 mg skualen ihtiva eder (Demirci ve ark., 2008). Bitkisel skualen kaynakları arasında, sızma zeytinyağı, %0.1-1.2 seviyesiyle en zenginidir. Rafine yağda konsantrasyonu çok daha düşüktür, çünkü rafinaj adımları ve özellikle de koku giderme, skualenin kaybına neden olur. Zeytinyağının stabilitesini ve dolayısıyla raf ömrünü artırabilen bir antioksidandır. Skualen, birçok yararlı sağlık etkisi göstermiştir. Kolesterol sentezinde bir biyoöncü olduğundan, yüksek yoğunluklu lipoproteini artırır ve düşük yoğunluklu lipoproteini azaltır. Ayrıca skualen, kemoterapinin, hastalara uygulanan ilaçların neden olduğu DNA hasarı ve toksisitesinin yan etkilerini azaltmaya yardımcı olabilir (Pacetti ve ark., 2019).

Zeytinyağındaki ana tokoferol olan α -tokoferol, toplam tokoferollerin (150 – 200 mg/kg) %90-95'ini oluşturan baskın formdur. Diğer %5'i β ve γ -tokoferollerdir (Dell'aghi ve Bosisio, 2002). Zeytinyağlarında toplam tokoferol içeriği 50-270 mg/kg arasında değişmektedir (Oliveras-López ve ark., 2008). Tokoferoller güçlü antioksidanlar olarak bilinirler (Sevim, 2011). Bu sebeple zeytinyağının yüksek oksidasyon stabilitesine sahip olması hem tokoferoller ve polifenoller gibi antioksidan maddelere sahip olmasından hem de çoklu doymamış yağ asitlerini az içermesinden kaynaklanmaktadır (Erinç ve Kırılan, 2008). Vitamin E'nin aktif hali olan α -tokoferol, zeytinyağında düşük oranlarda bulunsa da günlük tüketimde vücuttaki antioksidan içeriği arttırarak hücreleri serbest radikallere ve lipid peroksidasyonuna karşı korur (Armutcu ve ark., 2013).

Zeytinyağının üretim sistemindeki aşamalardan ilki kırma aşamasıdır. Kırıcı yardımı ile meyve etinin parçalanması hücreler içinde hapsolmuş vakuollerdeki yağın dışarı çıkabilmesini sağlamaktadır. Yoğurma ise kırıcıdan çıkan zeytin hamurunun sürekli yavaş bir şekilde işlendiği ikinci aşamadır. Yoğurma işlemi ekstraksiyon verimini arttıran önemli aşamalardan biridir (Köylüoğlu ve Özkan, 2012). Zeytin hamurunun yoğrulması ile yağ-su emülsiyonu kırılarak serbest yağ yüzdesi artırılmakta ve yağ damlacıkları daha büyük damlalar oluşturmaktadır (Çevik ve ark., 2015). Örneğin; kırma-ezme işleminden sonra yağ damlacıklarının %45'inin çapı 30 μ 'dan büyük iken, yoğurma işleminden sonra bu oran %80'e yükselmektedir (Kıvrak, 2019). Bir başka deyişle, yoğurma aslında basit bir fiziksel ayrılma adımından çok daha fazlasıdır; nihai ürün kalitesini ve bileşimini esas olarak belirten karmaşık bir biyoişlem

gerçekleşir. Bazı çalışmalar, malaksasyon koşullarının kaliteli bir zeytinyağı elde etmek için önemli olduğunu göstermiştir. Bir malaksasyondaki zaman ve sıcaklık değişkenleri, kaliteli zeytinyağları üretimi için bu basamağın kilit faktörleridir (Çevik ve ark., 2016). Örneğin yağın kalitesini korumak için hiçbir aşamada sıcaklık 30°C'yi aşmamalıdır. 30°C'yi aşan sıcaklıklarda yağ daha kırmızı renk almaya başlar, uçucu bileşenler uzaklaşır, hidroliz hızlanır ve serbest yağ asidinde artış gözlenir (Nas ve ark., 1992). Malaksasyondan sonra zeytin hamurunun ekstraksiyon işlemi ile katı ve sıvı fazlarına ayrılması ise üçüncü aşamayı oluşturmaktadır. Ekstraksiyon işleminde presleme, perkolasyon ve santrifüj sistemlerinden herhangi birinden yararlanılmakta ve çözücü kullanılmamaktadır (Köylüoğlu ve Özkan, 2012).

Enzimatik işlemler, yüksek özgülükleri ve düşük çalışma sıcaklıkları nedeniyle, yemeklik yağ endüstrileri için potansiyel olarak yararlıdır. Yenilebilir yağ işlemede enzim uygulamaları: preslemeyi kolaylaştırır, çözücü ekstraksiyonunun yağ verimini artırır ve sulu ekstraksiyonu kolaylaştırır. Enzimler bitkilerin hücre duvarını parçalayabilir ve yağı hücrelerden serbest bırakabilir. Bitkilerin hücre duvarı esas olarak pektik maddeler, selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşur. Enzimlerin zeytinyağının ekstraksiyonu ve özellikleri üzerindeki etkileri üzerine birçok makale yayınlanmıştır. Zeytin meyvesinde bulunan enzimler genel olarak yağ çıkarma işlemi veya kırma aşaması sırasında devre dışı bırakılır. Bu nedenle, devre dışı bırakılmış enzimleri değiştirmek ve enzim aktivitesini arttırmak için eksojen enzimler zeytin hamuruna yoğurma aşamasında ilave edilmelidir (Najafian ve ark., 2009). Farklı enzimler, yağlı tohumların farklı bileşenlerini indirgemiş ve böylece yağ verimlerini etkilemiştir. Selülaz, hemiselülaz, pektinaz, proteaz, amilaz, glukanaz ve poligalakturonaz gibi enzimler daha önceki çalışmalarda kullanılmıştır. Enzimatik hidroliz için optimum sıcaklık aralığı 45°C ile 55°C arasındadır. Enerji dikkate alındığında, aktivite taleplerini karşılamak için mümkün olan en düşük sıcaklık kullanılmalıdır. Özellikle zeytin meyvelerinde yağ kalitesini korumak için 30°C ve altı bir sıcaklığın uygun olduğu bulunmuştur (Liu ve ark., 2016). Bitki hücre duvarlarının enzimatik bozunmasına ilişkin şema Şekil 2.2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.2.1. Bitki hücresel duvarlarının enzimatik bozunması (Gligor ve ark., 2019)

Proteazlar, endüstriyel enzimlerin en önemlisidir. Proteazlar substrat özgüllüğü, aktif bölge ve katalitik mekanizma, optimum pH, optimum sıcaklık ve kararlılık gibi özellikleri farklı olan enzimlerin geniş ve kompleks gruplarından meydana gelir. Proteazlar hem proteolitik reaksiyonları yönettikleri için hem de yağlar ve karbonhidratların parçalanmasını içeren metabolik reaksiyonların nedeni olan çeşitli basamakları regüle ettikleri için önemlidir. Papain hücre izolasyonunda ve geniş ölçekli endüstri proseslerinde biyomoleküllerin ayrılmasında kullanılır. Papain (EC 3.4.22.2), papaya (*Carica papaya*) lateksinden izole edilen endolitik, bitki sistein proteaz enzimidir. Papain, olgunlaşmamış papayanın kabuğunun kesilip, akan lateksin toplanıp kurutulmasıyla elde edilir (Alpay, 2014). Enzimin performansı, bitkinin yetiştirildiği iklimsel şartlarına, bitki kaynağına, saflaştırılması ve ekstraksiyonu için kullanılan metotlara bağlıdır. Enzim pH 5-9 arasında aktiftir ve substrat varlığında 80 veya 90°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kararlıdır (Işık, 2014).

Selüloz fibriler yapıda, sert bir madde olup, bitkilerin hücre duvarında bulunur ve bitki biyokütlesinin yaklaşık %40'ını oluşturur. Selülozu hidrolize eden selüloz enzimleri büyük ölçüde fungus ve bakterilerden elde edilmekte ve çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır (Topuz ve ark., 2007). Oligosakkaritleri ve polisakkaritleri hidrolize eden selülozlar, enzimlerin glukozil hidrolaz familyalarının

üyeleridir. Bu enzimler doğada modülerdir, burada her modül veya alan polipeptit zincirinin ardışık bir bölümünü içerir (Bayer ve ark., 1998). Selülaz enzimi maksimum aktivitesini 60°C ve pH 8.0'de göstermektedir (Haliskaranfil ve Arıkan, 2012).

2.3. Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Enzimatik sulu ekstraksiyonla ilgili birçok çalışma mevcuttur. Najafian ve ark. (2009) normal olgunlukta iyi ve temiz şartlarda yetiştirilen 3 çeşit zeytine (Koroneiki, Iranian native oleaginous ve Mission) düşük ve yüksek konsantrasyonlarda pectinex ultra ve pectinase 1.06021 enzimlerini uygulayarak zeytinyağı verimi üzerine enzimlerin etkilerini incelemişlerdir. Yağ verimi kontrol örneklerinde %62.9, düşük konsantrasyonda %64.23 ve yüksek konsantrasyonda %64.33 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, zeytinden yağ ekstraksiyonunun enzim hidrolizi ile arttığını ve hatta enzim konsantrasyonunun artışıyla veriminde arttığını göstermiştir.

Polmann ve ark. (2019); pikan cevizi yağını Alcalase® ve Celluclast® ticari enzimleri kullanarak enzimatik sulu ekstraksiyon ve mekanik presleme (MP) yöntemleriyle elde etmişler ve fizikokimyasal özellikleri ile kimyasal bileşimini karşılaştırmışlardır. Fosfat tampon çözeltisinde pH 8.00 ve 52°C'de Alcalase® (1.50g / 100g) kullanılarak 0.40g / mL substrat konsantrasyonunda ve 4 saat reaksiyonda yüksek verimli pikan cevizi yağı elde edilmiştir. Bu koşullar altında enzimatik sulu ekstraksiyonla yağ verimi, mekanik presleme tarafından elde edilen verime kıyasla %8.1 daha yüksek bulunmuş olup %65.2'lik bir yağ verimi tespit edilmiştir.

Fang ve ark. (2016), Kamelya tohumundan (*Camellia oleifera* Abel.) yağ çıkarmak için sulu enzimatik ekstraksiyon yöntemini geliştirmişlerdir. Bu çalışmada bireysel enzimler ve enzim kombinasyonları, pH, malzemenin suya oranı, reaksiyon süresi ve demülsifikasyon yöntemleri incelenmiştir. Proteaz ve selülaz kombinasyonu kullanıldığında serbest yağ verimi, %1'e kadar artan enzim konsantrasyonları ile artmıştır. Proteaz ve selülaz ile *Camellia* yağı ekstraksiyonu için sulu enzimatik ekstraksiyon işleminden sonra %20 etanol ile emülsifikasyon yoluyla %82.36'dan %91.38'e yükseldiği gözlemlenmiştir. Proteaz ve selülaz kombinasyonu, diğer kombinasyonlardan çok daha fazla yağ verimi sağlamıştır.

Man ve ark. (1996); Hindistan cevizi yağına farklı konsantrasyonlarda selülaz, α -amilaz, poligalakturonaz ve proteaz enzimleriyle sulu enzimatik ekstraksiyonun ekstraksiyon verimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Rendelenmiş Hindistan cevizi

pulpunun suyla karıştırılması, enzim olmadan sıkılması ve santrifüj edilmesi ile yağ verimi %19.3 olarak tespit edilmiştir. Enzim uygulamalarında ise verim (%) sırasıyla 28.1, 28.2, 32.2, 36.1'e yükselmiştir. Bunun nedeni Hindistan cevizi eti tortusu karışımının enzimle işlenmesiyle hücre duvarlarının hidrolize olması ve yağ akışına daha geçirgen olması olarak düşünülmüştür.

Tano-Debrah ve Ohta (1994), enzim destekli yağ ekstraksiyonu ile ilgili çalışmaları tasarlamak ve değerlendirmek amacıyla Shea çekirdeklerini proteaz, selüloz ve hemiselülozdan oluşmuş enzim karışımı ile işleme tâbi tutmuştur. Prosesin optimum koşulları, %1 enzim konsantrasyonu, 1:2 tohum su oranı, 30 °C'de 4 saat inkübasyon olarak belirlenmiştir. Enzimsiz ekstraksiyonda %48 olan yağ verimi enzimli ekstraksiyonda %72'ye kadar yükselmiştir. Proteaz, selüloz ve hemiselüloz enzimleri birlikte kullanıldığında yaklaşık %20'lik bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Zeytin

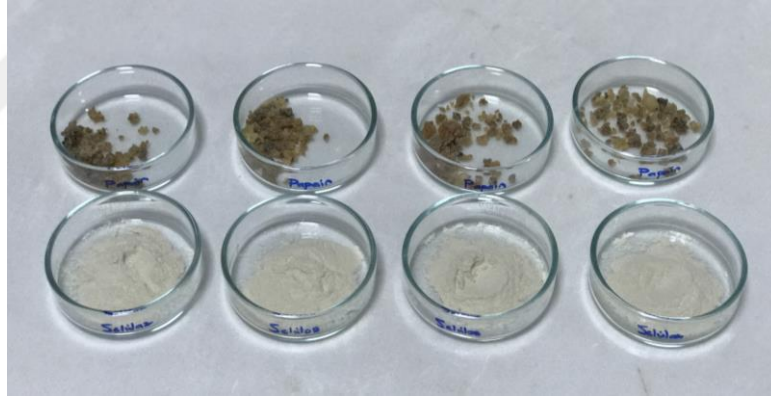
Bu çalışma 2018 yılı Kasım ayında Mersin ili Mut ilçesinde zeytin bahçesinden toplanan Ayvalık, Gemlik, Yağlık, Çöpaşı zeytin çeşitleri üzerinde yürütülmüştür. Zeytinler boyut, şekil, etli olma durumuna göre farklıdır. Ayvalık çeşidinin meyve büyüklüğü orta olup şekli yuvarlağa yakın, silindirik ve yağ oranı yüksek olup kalitesi iyidir. Gemlik çeşidi meyveleri Ayvalık türüne benzer olup orta büyüklükte olup yuvarlağa yakın, silindirik şekildedir ve yağ oranı yüksektir. Yağlık çeşidi diğerlerine göre yağ verimi daha düşük, meyvesi uzun ve silindirik. Çöpaşı çeşidi ise diğerlerine kıyasla daha küçük çekirdek ve daha az et oranına sahiptir. Buna karşın yağ verimi oldukça yüksektir. Çalışmada incelenmek üzere alınan zeytin örneklerinden kırıcı ve pres yardımı ile zeytinyağları çıkarılmıştır. Elde edilen zeytinyağları analizler yapıncaya kadar cam şişelerde +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1.1.1. Çalışmada kullanılan zeytin çeşitleri

3.1.2. Kimyasal maddeler ve cihazlar

Çalışmada gerekli olan kimyasal maddeler selüloz ve papain enzimi, potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), etil alkol, dietil eter, fenolftalein, potasyum hidroksit (KOH), asetik asit, kloroform, potasyum iyodür, nişasta, sodyum tiyosülfat, *n*-hekzan, metanol, asetonitril ve petrol eteri'dir. Kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich, Merck ve Aldrich firmalarından edinilmiştir. Yapılan bu çalışmada serbest yağ asidi, peroksit, yağ asidi kompozisyonu, fenolik bileşen, tokoferol, yağ verimi ve renk analizleri yapılmıştır. Fenolik bileşen kompozisyonu ve tokoferol analizi için Shimadzu CTO-10ASvp HPLC cihazı, yağ asidi kompozisyonu için Shimadzu AOC-20İ GC cihazı, yağ verimi için Wise Therm Soxhlet cihazı ve Heidolph Rotary evaporatör, renk için ise Minolta Chromameter CR 400 cihazı kullanılmıştır. Analizlerde bu cihazlara ek olarak Labart vortex, Scilogex MS-H280-Pro manyetik karıştırıcı, Nüve FN 055 kuru hava sterilizatörü ve Hermle Z 200 A santrifüj'den de yararlanılmıştır.



Şekil 3.1.2.1 Çalışmada kullanılan selüloz ve papain enzimleri

3.2. Yöntem

Çalışmada kullanılmak üzere toplanan zeytin çeşitlerinden (Ayvalık, Gemlik, Yağlık, Çöpaşı) yaprak, sap v.b. gibi yabancı maddeler uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kırıcı yardımı ile zeytin hamuru haline getirilmiştir. Her bir çeşit zeytin hamurundan 3 ayrı kaba, 100'er g tartılmıştır. Kontrol örneği, selüloz ilaveli ve papain ilaveli örnekler olmak üzere her bir örnek için 3'er kavanoz hazırlanmıştır. Kontrol örnekleri için kavanozlara sadece zeytin hamuru ilave edilmiştir. Diğer kavanozların ise birine 1 g

selüloz enzimi, diğerine 1 g papain enzimi, 100 ml tampon çözelti (KH_2PO_4 ve Na_2HPO_4) içerisinde çözündürüldükten sonra eklenmiştir. Bu işlem her zeytin çeşidi için tekrarlanmıştır. Hazırlanan örnekler 12 ve 24 saat olmak üzere iki ayrı süre, 50°C 'de su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan çıkan örnekler pres torbalarına konularak manuel soğuk pres yardımı ile preslenmiştir. Ortaya çıkan yağ-karasu karışımı santrifüj tüplerine konarak 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Üste ayrılan yağ tabakası pipet yardımı ile cam şişelere alınmıştır. Elde edilen zeytinyağlarında ise gerekli analizler yapılmıştır.



Şekil 3.2.1. Kırıcı ve manuel soğuk pres

3.2.1. Zeytinyağında ekstrakt hazırlanması

4 farklı zeytin çeşidinden enzimatik sulu ekstraksiyon metoduyla elde edilen zeytinyağlarından santrifüj tüplerine her bir örnek için 2 ml pipetle konulmuştur. Üzerine 1 ml *n*-hekzan ilave edilmiştir. Ardından 4 ml metanol:su (60:40, v/v) karışımında ekstrakte edilmiştir. 2 dakika vortekslenen örnekler daha sonra 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir (Santrifüj, Hermle Z-200A). Santrifüjden çıkan tüplerdeki alt faz alınmıştır ve aynı işlem iki kez tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstrakt $0.45\ \mu\text{m}$ (AIM Syringe Filter PTFE) filtreden geçirilerek analiz için hazır hale getirilmiştir (Pirisi ve ark., 2000). Ekstraktlar analizde kullanılıncaya kadar -18°C 'de dondurularak saklanmıştır.

3.2.2. Yağ asidi kompozisyonu tayini

Zeytinyağı örneklerindeki yağ asidi kompozisyonları, Hişil (1998) tarafından tanımlanan metodun modifiye edilmesiyle tanımlanmıştır. Yağ örnekleri (50-100 mg) yağ asidi metil esterlerine (FAME) çevirilmiştir. Esterleştirme işlemi için öncelikle 0.1 g yağ örneğine 10 ml *n*-hekzan (C_6H_{14}) ilave edilerek çözündürülmüştür ve 4500 rpm'de-30 dakika santrifüj (Santrifüj, Hermle Z-200A) işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından 0.5 ml 2 N metanollü KOH eklenerek çözelti kısa bir süre vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Faz ayrımı gerçekleştikten sonra süpernatant'dan 1 ml alınarak viallere aktarılmıştır. Yağ asitlerinin metil esterleri (1 μ l), alev iyonize edici bir dedektör (FID), ile bağlantılı bir kapiler kolonuyla (60m x 0.25 mm x 0.20 μ m) donatılmış bir gaz kromatografisinde (Shimadzu GC-2010) analiz edilmiştir (Hişil, 1998).

Gaz kromatografisi şu şartlar altında çalıştırılmıştır; fırın sıcaklık programı, 7 dakika boyunca 90°C, 5°C/dakika hızında 240°C'ye yükseltilmiş (ve daha sonra 15 dakika boyunca 240°C'de tutulmuş), enjektör sıcaklığı; 260°C ve detektör sıcaklığı; 260°C, taşıyıcı gaz; nitrojen akış hızı 1.51 ml/dakika, split oranı; 1/50 μ l/dakika şeklinde uygulanmıştır.

3.2.3. Fenolik bileşen tayini

Zeytinyağı örneklerindeki fenolik bileşenlerin tayinini yapmak için filtreden geçirilmiş ekstraktlardan 0.5 ml viallere alınmıştır. Üzerine 0.5 ml metanol ilave edilerek örnekler cihaza enjekte edilecek hale getirilmiştir. Inertsil ODS-3 (5 μ m; 4.6 x 250 mm) kolonu ve PDA detektörü ile donatılmış Shimadzu-HPLC cihazı yardımıyla örneklerin fenolik bileşen içerikleri tespit edilmiştir. Mobil faz olarak, %0.05 asetik asit içeren su (A) ve asetonitril (B) karışımı kullanılmıştır. Mobil fazın akış hızı 30°C'de 1 ml/dakika ve enjeksiyon hacmi 20 μ l'dir. 280 ve 330 nm'lerde kaydedilmiştir ve her bir örnek için cihazın çalışma süresi 60 dakikadır (Pagliarini ve Rastelli, 1994).

3.2.4. Tokoferollerin belirlenmesi

Tokoferoller, HPLC (Shimadzu LC 10A vp, Kyoto, Japonya)'de Beltrán ve ark. (2004) 'na göre belirlenmiştir. Fotodiode Array Dedektör (Shimadzu SPD-M20 A) ile 295 nm'de okuma yapılmıştır. Örneklerden 0.1 g tartılarak üzerine 10 ml *n*-hekzan ilave edilmiştir. Ardından vortekslenerek yağ *n*-hekzan içerisinde çözündürülmüştür ve viallere (1.5 ml) alınarak cihaza enjekte edilmiştir. Mobil fazda (hekzan içinde %0.5 izopropanol) çözündürülüp kolona (LiChroCART, Si 60, 250 mm uzunluk, 4 mm iç çap, 5 µm gözenek çapı, Merck, Darmstadt, Almanya) enjekte (20 µl) edilmiştir. Akış hızı 1ml/dk.'ya ayarlanmıştır. Kullanılan standart maddeler şunlardır, α-tokoferol, β-tokoferol, γ- tokoferol ve δ-tokoferol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya). Sonuçlar, altı farklı konsantrasyonda hazırlanmış belirli standartların çözeltilerinin verdiği sonuçlardan oluşturulan doğruya göre hesaplanmıştır. Sonuçlar mg tokoferol kg⁻¹ yağ şeklinde verilmiştir.

3.2.5. Yağ tayini

Örnekler 70°C'de etüvde kurutulduktan sonra yaklaşık 5 g kadar kartuşlara tartılmıştır. Yağ içeriği Soxhlet yöntemiyle petrol eteri kullanılarak 55°C'de ısıtılarak belirlenmiştir. 5.5 saat sonra balona biriken miselladaki çözücü 55°C'de evaporatör yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Örneklerin yağ miktarı sabit tartıma gelene kadar tartılmıştır (AOAC, 1990). Her bir örnek için yağ verimi hesaplaması aşağıdaki denklem ile yapılmıştır.

$$\% \text{ Yağ miktarı} = (\text{Son tartım} - \text{Dara})_{(g)} / (\text{Örnek miktarı})_{(g)} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.6. Renk tayini

Minolta Chromameter CR 400 (Chromameter, Osaka-Japan) standart beyaz yüzeyli bir kalibrasyon levhasına karşı kalibre edilmiştir ve örneklerin bu cihaz yardımıyla CIELab koordinatları (L^* , a^* , b^*) doğrudan okunmuştur (Pagliarini ve Rastelli, 1994). Bu koordinat sisteminde L^* değeri, 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişen bir parlaklık ölçüsüdür ve a^* değeri -100 (yeşillik) ile +100 (kırmızılık), b^*

değeri -100 (mavilik) ile +100 (sarılık) arasında bulunmaktadır (Kahyaoglu ve Kaya, 2006). L^* , a^* , b^* değerleri üç okumanın ortalamasıdır.

3.2.7. Serbest yağ asidi tayini

2.5 g tartılan örneklerdeki serbest yağ asidi miktarı, yağın etanol/eter (1:1, v/v) çözeltisinde çözündürülmesi ve daha sonra 0.1 N etanollü KOH çözeltisine karşı titrasyonu ile belirlenmiştir. Sonuçlar % oleik asit cinsinden verilmiştir (Anonim, 1973).

3.2.8. Peroksit tayini

Bir kilogram yağda bulunan aktif oksijenin mili eşdeğer cinsinden değeridir (meq O_2 / kg yağ). 1'er g tartılan yağlar ile asetik asit/kloroform (3:2, v/v) karışımı, karanlıkta 0.5ml potasyum iyodür çözeltisi ilave edildikten sonra reaksiyona bırakılmıştır. Daha sonra açığa çıkan iyot, 0.1 N sodyum sülfat çözeltisine karşı titre edilmiştir (Anonim, 1973).

3.2.9. İstatiksel analiz

Verilerin bilgisayar ortamına dönüştürülmesinde Microsoft Office Excel 2019 programı, analizin yorumlanmasında Windows için MİNİTAB 16 istatistik paket programı kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkın önem kontrolü, ANOVA testi ile yapılmıştır. Bu testte önemli çıkan gruplar için DUNCAN testi uygulanmış olup $p < 0.01$ ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak önemli olarak kabul edilmiştir. Elde edilen tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Serbest Yağ Asitleri, Peroksit Değeri ve Yağ Verimi Analizi

Farklı çeşit zeytinlerden enzim uygulamasıyla soğuk preslenerek elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asitleri, peroksit değeri ve yağ verimine ait Duncan testi analiz sonuçları Çizelge 4.1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. Zeytinyağı Örneklerinin Ortalama Serbest Asitlik, Peroksit değeri ve Yağ Verimi Analiz Sonuçları

Çeşit	Enzim	Süre(sa)	Serbest Asitlik (%)	Peroksit Değeri (meq O ₂ /kg)	Yağ Verimi (%)
Ayvalık	Kontrol	12	3.25 ± 0.78 ^d	1.25 ± 0.25 ^E	41.72 ± 0.02 ^{CDE}
		24	1.96 ± 0.06 ^{ef}	1.50 ± 0.50 ^E	32.17 ± 1.43 ^K
	Selülaz	12	3.16 ± 0.03 ^d	1.37 ± 0.12 ^E	27.67 ± 1.00 ^L
		24	2.46 ± 0.00 ^{de}	2.50 ± 0.50 ^{DE}	37.71 ± 0.21 ^{FGH}
	Papain	12	8.57 ± 0.00 ^a	2.25 ± 0.25 ^{DE}	52.29 ± 0.03 ^A
		24	6.72 ± 1.12 ^b	2.50 ± 0.50 ^{DE}	41.25 ± 2.25 ^{DE}
Gemlik	Kontrol	12	1.48 ± 0.03 ^{ef}	1.00 ± 0.00 ^E	39.92 ± 1.08 ^{EF}
		24	1.65 ± 0.03 ^{ef}	1.50 ± 0.00 ^E	43.53 ± 2.60 ^{BC}
	Selülaz	12	1.76 ± 0.03 ^{ef}	2.00 ± 0.00 ^{DE}	43.66 ± 1.66 ^{BC}
		24	1.65 ± 0.03 ^{ef}	2.00 ± 0.00 ^{DE}	37.47 ± 0.02 ^{HI}
	Papain	12	7.00 ± 0.06 ^b	1.50 ± 0.00 ^E	43.10 ± 1.90 ^{BCD}
		24	4.59 ± 0.00 ^c	2.00 ± 0.00 ^{DE}	37.85 ± 1.35 ^{FGH}
Yağlık	Kontrol	12	1.57 ± 0.00 ^{ef}	0.87 ± 0.12 ^E	35.69 ± 2.09 ^{HIJ}
		24	1.51 ± 0.00 ^{ef}	2.00 ± 0.00 ^{DE}	40.45 ± 0.87 ^E
	Selülaz	12	1.40 ± 0.06 ^f	1.25 ± 0.25 ^E	36.31 ± 4.32 ^{HIJ}
		24	1.23 ± 0.00 ^f	2.50 ± 0.50 ^{DE}	39.74 ± 1.05 ^{EFG}
	Papain	12	4.82 ± 0.56 ^c	1.50 ± 0.50 ^E	45.05 ± 3.95 ^B
		24	5.49 ± 0.00 ^c	4.00 ± 1.50 ^{CD}	35.86 ± 0.86 ^{HIJ}
Çöpaşı	Kontrol	12	1.20 ± 0.03 ^f	2.00 ± 0.00 ^{DE}	35.23 ± 0.11 ^{IJ}
		24	1.23 ± 0.22 ^f	4.50 ± 0.50 ^{BC}	36.21 ± 1.54 ^{HIJ}
	Selülaz	12	0.98 ± 0.03 ^f	3.00 ± 1.00 ^{CDE}	37.73 ± 1.40 ^{GH}
		24	1.40 ± 0.00 ^f	6.00 ± 0.00 ^B	35.37 ± 1.37 ^{IJ}
	Papain	12	5.15 ± 0.00 ^c	1.62 ± 0.12 ^E	34.59 ± 1.58 ^J
		24	7.06 ± 0.00 ^b	12.00 ± 0.00 ^A	36.46 ± 1.46 ^{HIJ}

Veriler (n=2) ± standart sapmayı göstermektedir. Aynı sütunda a-f arası farklı harflerle belirtilen değerler istatistikî açıdan önemli bulunmuştur (Duncan<0.05). A-L arası farklı harflerle belirtilen değerler ise istatistikî açıdan önemli bulunmuştur (Duncan<0.01)

Çizelge 4.1.1.'de serbest yağ asidi sonuçları incelendiğinde Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinde serbest yağ asidi miktarının %1.96 ile %8.57 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. 12 saat bekletilen kontrol örneklerinde asitlik %3.25 olarak tayin edilirken, selüloz enzimiyle muamele edilen örneklerde %3.16, papain enzimiyle muamele edilen örneklerde ise %8.57 olarak tayin edilmiştir. Aynı çeşidin 24 saat bekletilen örneklerinde kontrol örneğinin serbest yağ asidi miktarı %1.96 iken, selüloz enzimiyle muamele edilen %2.46, papain enzimiyle muamele edilen ise %6.72 olarak bulunmuştur. Zeytin hamuruna selüloz enzimi uygulamasıyla elde edilen zeytinyağı örneklerinin serbest yağ asidi miktarı kontrol örneklerine göre çok düşük farklılıklar göstermiştir. Buna karşın papain uygulamasının serbest yağ asidi miktarlarını iki katına çıkardığı tespit edilmiştir. En yüksek asitlik miktarının Ayvalık çeşidinin papain enzimi uygulanarak 12 saat su banyosunda bekletilen örneğinde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.1.).

Gemlik çeşidinin verileri göz önüne alındığında serbest asitlik miktarları %1.48-%7.00 arasında değişmektedir. En yüksek serbest yağ asidi miktarının yine papain ilave edilmiş örnekler için olduğu bulunmuştur. Bu değerler 12 saat süre uygulamasında %7.00, 24 saat süre uygulamasında %4.59'dur. En düşük serbest asitlik değerinin ise %1.65 ile Gemlik çeşidinin 24 saat bekletilen kontrol ve selüloz ilave edilen örneklerine ait olduğu belirlenmiştir.

Yağlık çeşidi zeytinlerinden elde edilen zeytinyağlarında serbest yağ asidi sonuçları %1.23 ve %5.49 arasında değişmektedir. Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde olduğu gibi Yağlık çeşidinde de papain enzimi uygulanan örneklerin diğer örneklerle göre çok daha yüksek asitliğe sahip olduğu, en yüksek asitliğin %5.49 ile papain uygulanmış 24 saat bekletilen zeytinyağı örneğine ait olduğu tespit edilmiştir.

Soğuk presle elde edilen Çöpaşı çeşidi zeytinyağlarının yapılan analize göre serbest asitlik miktarları %0.98-7.06 arasında belirlenmiştir. Diğer üç çeşit zeytinyağı örneğindeki verilerle benzerlik göstererek yine en yüksek asitlik papainle muamele edilen örneğe aittir ve %7.06 ile 24 saat enzimle muamele edilen örnek olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.1.1.'in serbest yağ asidi miktarlarına genel bakıldığında %0.98 oranla en düşük asitliğe sahip zeytinyağı Çöpaşı çeşidinin 12 saat selüloz enzimiyle bekletilen örnek olarak tespit edilmiştir.

Najafian ve ark. (2009); pektinaz enzimini kullanarak kontrol grubu zeytinyağının asitliğini 0.26, düşük konsantrasyonda pektinaz enziminin kullanıldığı zeytinyağında 0.25 ve yüksek konsantrasyonda pektinaz enzimi nin kullanıldığı

zeytinyağında ise 0.27 (% oleik asit) olarak bulmuşlardır. Iconomou ve ark. (2010) farklı konsantrasyonlarda olivex + glucanex enzim kombinasyonu ilavesiyle sızma zeytinyağının kalitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Serbest yağ asidi miktarları kontrol grubu, 0.25 ml olivex + 0.03 g glucanex uygulaması ve 0.50 ml olivex + 0.06 g glucanex uygulaması sonucu sırasıyla %0.57, 0.46, 0.29 olarak tespit edilmiştir. Hadj-Taieb ve ark. (2012) ise çeşitli hidrolitik enzimlerin, özellikle de pektinaz, ksilanaz ve selüloz enzimlerinin hem ayrı ayrı hem de kombinasyon olarak ekstraksiyonda kullanımının Tunus zeytinyağları üzerinde etkisini araştırmışlardır. Kontrolle (%0.25) karşılaştırıldığında, enzimlerin eklenmesinin (%0.18, 0.16, 0.20) yağdaki serbest asit grubunun sayısını azalttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları Hadj-Taieb ve ark. (2012) ve Iconomou ve ark. (2010)'nın çalışmaları ile karşılaştırıldığında, selüloz enzimi uygulamalarında paralellik gösterse de papain enzimi uygulamalarında farklılık göstermiştir. Papain enzimi uygulanan zeytinyağı örneklerinde serbest yağ asidi oranları kontrol ve selüloz enzimi uygulanan örneklerle göre çok daha yüksek çıkmıştır. Su banyosundaki sıcaklık, tampon çözeltideki saf sudan gelen nem, uzun bekletme süresi ve hamura eklenen enzimlerin zeytindeki lipaz enzimlerini aktif hale getirdiği ve bu nedenle serbest yağ asidi artışına neden olduğu düşünülmektedir. Avcı ve ark. (2018), zeytinyağının belirlenmiş fizikokimyasal kalite parametreleri ve zeytinyağı kalite parametreleri için Avrupa Düzenleme Standardı sınır değerlerine bakarak Gemlik çeşidinde serbest yağ asidinin sınır değerlerini %0.4-5.9 olarak bildirmişlerdir. Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinde bu sınırı yalnız papain enzimi ilave edilen örneklerin aştığı gözlemlenmiştir. Enzim çeşidinin serbest yağ asidi miktarı üzerine etkisi olduğu tahmin edilmektedir. Bu çalışma da selüloz enziminin Hadj-Taieb ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmada da görüldüğü üzere serbest yağ asidi içeriğini azalttığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1.1.'de peroksit analizi sonuçlarına bakıldığında, Ayvalık çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının peroksit değerlerinin 1.25-2.50 meq O₂/kg arasında değiştiği tespit edilmiştir. Malaksasyon aşamasında 12 saat bekletilen örneklerde peroksit değerleri sırasıyla 1.25, 1.37, 2.25 meq O₂/kg olarak bulunmuştur. Burada peroksit değerinin enzim ilavesiyle artışı söz konusudur. 24 saat bekletilen örneklerde buna benzer bir durum göstermiştir. Kontrolde 1.50 meq O₂/kg olan peroksit değeri, selüloz ve papain enzimi uygulamasıyla 2.50 meq O₂/kg'a yükselmiştir.

Gemlik çeşidinden ekstrakte edilen yağların peroksit değerlerine bakıldığında en düşük değer; 1.00 meq O₂/kg olup 12 saat su banyosunda bekletilen örneğe aittir. Peroksit değerleri 1.00-2.00 meq O₂/kg arasında sonuçlar vermiştir. Selüloz enzimi

uygulamasında iki farklı süre sonucunda da peroksit değerin yükseldiği görülmüştür. Papain enzimiyle 12 ve 24 saat bekletilen örneklerin peroksit değerleri sırasıyla 1.50, 2.00 meq O₂/kg olarak tespit edilmiştir. Örneklerin peroksit değerleri arasında önemli farklılıklar gözlenmemiştir.

Yağlık çeşidinden ekstrakte edilen zeytinyağlarının analizi sonucunda peroksit değerleri 0.87- 4.00 meq O₂/kg arasında değişim göstermiştir. Sonuçlar arasında en düşük peroksit değeri 12 saat bekletilen yağlık çeşidinin kontrol örneğinde tespit edilmiştir. Selüloz enzimi uygulanan örneklerde peroksit değeri 12 saatte 1.25 meq O₂/kg olarak belirlenirken, 24 saatte 2.50 meq O₂/kg olarak bulunmuştur. Papain enzimi uygulanan örneklerde ise 12 saatte 1.50 meq O₂/kg olan peroksit değeri, 24 saatte 4.00 meq O₂/kg'a yükselmiştir. Yağlık çeşidinde sürenin artışı ile peroksit değerinde 2 kat artış gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.1.'de görülen sonuçlar doğrultusunda, Çöpaşı çeşidi zeytinyağlarının enzim uygulaması sonucu peroksit değerlerinin diğer çeşitlere göre yüksek olduğu saptanmıştır. 12 saat bekletilen Çöpaşı kontrol, selüloz enzimi ve papain enzimi uygulaması sonucu peroksit değerleri sırasıyla (%) 2.00, 3.00, 1.62 olarak saptanmıştır. 24 saat bekletilen Çöpaşı kontrol, selüloz enzimi ve papain enzimi uygulaması sonucu peroksit değerleri sırasıyla (%) 4.50, 6.00, 12.00 olarak tespit edilmiştir. Papain enzimi uygulamasının Çöpaşı çeşidinde olumsuz etki gösterdiği düşünülmektedir.

García ve ark. (2001); Picual ve Arbequina zeytin çeşitlerine olivex + novoferm 12 (1:1) ve olivex + glucanex (1:1) enzim kombinasyonlarını uygulayarak peroksit değerlerini incelemişlerdir. Peroksit değerleri kontrol örneklerinde 7.00, 3.4, 12.5, 2.9 meq O₂/kg; enzim ilave edilen örneklerde ise 5.8, 3.2, 11.6, 2.7 meq O₂/kg olarak tespit edilmiştir. Ranalli ve ark. (2003), yeni bir enzim işleme yardımcısı olan bioliva ile ekstrakte edilmiş üç sızma zeytinyağı çeşidinin analitik özelliklerini inceledikleri bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu üç zeytin çeşidinden elde edilen yağların peroksit değerleri kontrol örneklerinde 7.0, 10.2, 4.7 meq O₂/kg; enzim ekstraksiyonu sonucunda ise 6.3, 9.1, 4.1 meq O₂/kg olarak bulunmuştur. Chih ve ark. (2012), zeytinyağı ekstraksiyonu sırasında enzim kullanımıyla yağ geri kazanımının ve biyoaktivitenin nasıl etkilendiğine dair yapmış oldukları çalışmada kontrol örneğinin peroksit değeri 16.78 meq O₂/kg, zeytin hamuruna 0.15 g mL⁻¹ Viscozyme selülotik enzimi ilave edildiğinde 19.23 meq O₂/kg ve 0.30 g mL⁻¹ Viscozyme selülotik enzimi ilave edildiğinde ise 5.97 meq O₂/kg olarak saptanmıştır. Ranalli ve ark. (2003) ve Chih ve ark. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmalarda, peroksit değerin enzim etkisiyle

azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise bulunan literatürlerin aksine peroksit değerinin enzim etkisiyle daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada bioliva, maxoliva, cytolase enzimlerinin zeytinyağı ekstraksiyonunda kullanılmasıyla yağ veriminin arttığını, fakat peroksit ve serbest yağ asidi değerinde farklılık olmadığını bildirmişlerdir (Ranalli ve ark., 2003). Ranalli ve ark. (2003)'nın yapmış oldukları çalışma göz önüne alınarak enzim kullanımının zeytinyağı kalitesini değiştirmede sadece yağ verimini arttırdığı düşünülmektedir. Fakat bu çalışma da enzim kullanımıyla peroksit değerlerinin artmasının nedeninin zeytin hamurlarının 50°C'de uzun süre bekletilmesi sonucu olduğu tahmin edilmektedir. Kayahan ve Tekin (2006) yağ verimini arttırmak için kullanılan enzim preparatlarının 34-36°C'lik bir sıcaklık ve uzun süreli bir malaksasyon sürecine ihtiyaç duydukları için zeytinyağının kalitesini olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. 35°C'yi aşmaması istenilen zeytinyağı üretimi için bu çalışma da denenen sıcaklığın kaliteyi olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Yemişçioğlu ve ark. (2001) ise zeytin hamuruna katılan suyun oksidatif stabiliteyi arttıracak olduğunu bildirmiştir. Bu sebeple peroksit sayısındaki artış, örneklerin oksidasyona maruz kalmış olabileceği ihtimalini ortaya koymuştur.

Çalışma da enzimatik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen zeytinyağı çeşitlerinin yağ verimleri Çizelge 4.1.1.'de verilmiştir. Ayvalık zeytin çeşidinin yağ verimleri %27.67-52.29 düzeyinde bulunmuştur. Ayvalık çeşidine ait verilerde en düşük yağ verimi %27.67 olup 12 saat selülaz enzimi uygulamasında görülmüştür. En yüksek yağ verimi ise 12 saat papain enzimi uygulamasında tespit edilmiştir. 12 saat bekletilen kontrol, selülaz ve papain ilaveli örneklerin yağ verimleri sırasıyla %41.72, 27.67, 52.29 olarak bulunmuştur. 24 saat bekletilen kontrol, selülaz ve papain ilaveli örneklerin yağ verimleri ise sırasıyla %32.17, 37.71, 41.25'tir. Ayvalık çeşidinde selülaz enzimi uygulamasında süre farkıyla değerlerde dalgalanmalar gözlenirken papain enzimi uygulamasında olumlu sonuçlar gözlenmiştir.

Gemlik çeşidi zeytinlerinden soğuk preslenen zeytinyağlarının yağ verimleri değerlendirmeye alındığında, sonuçların birbirine yakın olduğu gözlemlenmiştir. Gemlik çeşidine ait 12 saat bekletilen kontrol, selülaz ve papain uygulamalı örneklerin yağ verimleri sırasıyla %39.92, 43.66 ve 43.10 olarak tespit edilmiştir. Gemlik çeşidi 12 saat bekletilen örneklerde enzim uygulaması sonucu verim artmıştır. 24 saat bekletilen kontrol, selülaz ve papain uygulamalı örneklerin yağ verimleri ise sırasıyla %43.53, 37.47, 37.85 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda Gemlik çeşidinde enzim uygulaması sonucu sürenin uzamasıyla verimin azaldığı gözlemlenmiştir.

Yağlık çeşidi zeytinyağlarının yağ verimi sonuçları %35.69- 45.05 arasında değerler almıştır. Malaksasyon aşamasında kontrol, selüloz ve papain uygulaması yapılan örneklerin 12 saat bekletilmesi sonucu elde edilen zeytinyağlarının verimleri sırasıyla %35.69, 36.31, 45.05 olarak gözlemlenmiştir. Aynı malaksasyon koşullarında sürenin 24 saate uzatılması sonucu elde edilen zeytinyağlarının yağ verimleri ise sırasıyla %40.45, 39.74, 35.86 olarak bulunmuştur. Gemlik çeşidiyle benzerlik gösteren sonuçlar doğrultusunda Yağlık zeytin çeşidinde de 12 saat süre uygulamasının verimi arttırdığı, 24 saat süre uygulamasının ise verimi azalttığı görülmüştür.

Çöpaşı zeytininden preslenen zeytinyağı örneklerinin yağ verimleri %34.59- %37.73 arasında değişiklik göstermiştir. Genelde yaklaşık olarak aynı oranlarda yağ verimi gözlemlense de enzim uygulamalarında ufak değişiklikler saptanmıştır. Çöpaşı zeytinyağlarında selüloz enzimiyle 12 saat malaksasyon koşullarında bekletilmesi sonucu yağ veriminde artış saptanmıştır. Bunun aksine papain enzimi uygulanan örneklerde düşüş gözlenmiştir.

En yüksek yağ verimi 12 saat papain uygulaması yapılan Ayvalık çeşidi örneğine aittir. Çizelge 4.1.1. incelendiğinde, yağ verimi Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde diğerlerine nazaran daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bu çalışmanın sonucunda en düşük yağ verimi Çöpaşı zeytin çeşidine ait örneklerde gözlemlenmiştir.

Montedoro ve ark. (1992), kontrol örneğinde %85.00 olan zeytinyağı örneklerinin yağ veriminin pektinaz enzimi uygulaması sonucu %87.00'ye yükseldiğini saptamışlardır. Ranalli ve Serraiocco (1996), üç çeşit zeytinden elde ettikleri zeytinyağlarında enzim kullanılmayan denemelerde yağ verimi %82.0, 85.1, 88.8 olarak tespit edilirken; Olivex enzimi denemesi yapılan zeytinyağlarında yağ verimi %85.4, 86.6, 88.8 olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir araştırma da Koroneiki zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağında yağ verimi %69.7 iken, düşük konsantrasyonda pektinaz enzimi uygulanması ile %71.23'e, yüksek konsantrasyonda pektinaz enzimi uygulamasında ise %72.13'e yükseldiği bildirilmiştir (Najafian ve ark., 2009). Literatür taraması sonucu zeytinyağında enzim ekstraksiyonu sonucu yağ veriminin arttığı saptanmıştır. Bu çalışma da enzim denemelerinde yağ veriminde kontrole göre azalma gözlenmesinin sebebi inkübasyon süresinin uzun tutulması olduğu düşünülmektedir. Sürenin doğru uygulanması ile enzimlerin yağ verimini arttıracakları tespit edilmiştir. Dominguez ve ark. (1993), soya yağında yapmış oldukları enzimatik ekstraksiyon çalışmasında su banyosunda inkübasyon süresinin yağ verimi üzerine etkisi olduğunu ve verimi arttırmak için en ideal sürenin 6 saat olduğunu bildirmişlerdir.

4.2. Renk Analizi (L^* , a^* , b^*)

Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemiyle soğuk pres kullanılarak elde edilen zeytinyağlarının renk değerlerine ait Duncan testi analiz sonuçları Çizelge 4.2.1.'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre istatistikî açıdan sadece a^* değeri önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.2.1. incelendiğinde örneklerin L^* değerleri 67.39 ile 86.99 arasında değişim göstermiştir. Ayvalık zeytin çeşidinden elde edilen zeytinyağı örneklerinin L^* değerleri 12 ve 24 saat olmak üzere sırasıyla kontrolde 84.04 ile 73.61; selülaz enzimi uygulamasında 84.33, 79.41; papain enzimi uygulamasında ise 85.93 ile 75.26 olarak bulunmuştur. Ayvalık zeytin çeşidinde en yüksek parlaklık 12 saat papain enzimi uygulaması yapılan örneğe aittir. Gemlik zeytin çeşidinden soğuk preslenen zeytinyağlarının L^* değerlerinin 73.44 ile 86.99 arasında olduğu saptanmıştır. Zeytin çeşitleri arasında en yüksek L^* değerinin gemlik çeşidinin 12 saat bekletilen kontrol örneğine ait olduğu görülmüştür.

Yağlık zeytin çeşidinden üretilen zeytinyağı örneklerinin L^* değerleri 74.85-85.53 arasında değerler almıştır. 12 saat süre uygulaması yapılan Yağlık çeşidi zeytinyağlarının kontrol, selülaz ve papain örneklerinin L^* değerleri sırasıyla 82.88, 81.20, 85.53 olarak bulunmuştur. 24 saat süre uygulamasında ise 75.32, 75.15, 74.85 olarak bulunmuştur. Yağlık çeşidi 24 saat süre uygulaması sonucu elde edilen örneklerin parlaklığının 12 saat süre uygulaması yapılan örneklere göre daha az olduğu belirlenmiştir. Yağlık çeşidi zeytinyağı örnekleri arasında en yüksek parlaklık 85.53 olup 12 saat bekletilen papain ilaveli örnekte ölçülmüştür.

Çöpaşı zeytin çeşidinden enzim ekstraksiyonu ile elde edilen zeytinyağlarının renk analizi sonuçları incelendiğinde ise L^* değerleri 67.39 ile 83.12 arasında değişmektedir. Çizelge 4.2.1.'de en düşük parlaklık Çöpaşı çeşidinin 24 saat bekletilen kontrol örneğine ait olduğu gözlemlenmiştir. 12 saat enzim uygulaması sonucu kontrolde 76.99 olan L^* değeri, selülaz uygulamasında 83.12'ye, papain uygulamasında ise 82.35'e yükselmiştir. Diğer zeytinyağı çeşitlerinde L^* değerleri çok farklılık göstermese de Çöpaşı zeytinyağı örneklerinde enzim uygulamasıyla parlaklığın arttığı görülmüştür.

Çizelge 4.2.1. Zeytinyağı Örneklerinin Ortalama L^* , a^* , b^* , ΔE^* değerlerine ait Duncan testi analiz sonuçları

Çeşit	Enzim	Süre(sa)	L^* Değeri	a^* Değeri	b^* Değeri	ΔE^* Değeri
Ayvalık	Kontrol	12	84.04 ± 0.69	-5.95 ± 0.30 ^E	16.8 ± 1.39	8.72 ± 1.51
		24	73.61 ± 1.89	-9.13 ± 0.27 ^{HI}	42.35 ± 3.07	35.99 ± 3.53
	Selülaz	12	84.33 ± 1.71	-4.64 ± 0.98 ^D	12.38 ± 3.78	7.16 ± 2.53
		24	79.41 ± 1.65	-9.62 ± 0.06 ^{IJ}	42.07 ± 2.22	33.86 ± 2.55
	Papain	12	85.93 ± 0.97	-4.18 ± 0.58 ^{CD}	9.98 ± 2.04	4.54 ± 0.61
		24	75.26 ± 0.51	-12.31 ± 0.25 ^L	50.84 ± 1.83	43.78 ± 1.90
Gemlik	Kontrol	12	86.99 ± 0.15	-4.17 ± 0.15 ^{CD}	10.08 ± 0.64	2.59 ± 0.11
		24	73.44 ± 0.12	-7.33 ± 0.07 ^F	33.23 ± 0.38	27.99 ± 0.39
	Selülaz	12	86.33 ± 0.75	-3.01 ± 0.36^A	7.60 ± 1.29	4.21 ± 0.33
		24	84.23 ± 1.19	-6.85 ± 0.72 ^F	20.99 ± 3.35	12.36 ± 3.56
	Papain	12	86.50 ± 1.25	-4.41 ± 1.15 ^{CD}	10.56 ± 3.74	5.84 ± 2.02
		24	75.64 ± 2.60	-12.93 ± 0.22 ^M	58.14 ± 6.02	50.69 ± 6.37
Yağlık	Kontrol	12	82.88 ± 1.11	-8.59 ± 0.80 ^{GH}	30.81 ± 4.40	22.16 ± 4.57
		24	75.32 ± 1.50	-7.27 ± 0.17 ^F	30.99 ± 2.17	25.06 ± 2.62
	Selülaz	12	81.20 ± 2.05	-3.98 ± 0.51 ^{BC}	14.30 ± 2.97	9.07 ± 3.02
		24	75.15 ± 0.54	-8.44 ± 0.11 ^G	35.30 ± 0.59	29.01 ± 0.76
	Papain	12	85.53 ± 0.93	-3.43 ± 0.34 ^{AB}	9.91 ± 1.63	4.08 ± 0.87
		24	74.85 ± 1.61	-8.77 ± 0.48 ^{GH}	35.83 ± 3.54	29.68 ± 3.89
Çöpaşı	Kontrol	12	76.99 ± 2.68	-11.02 ± 0.46 ^K	48.17 ± 6.15	40.58 ± 6.56
		24	67.39 ± 2.44	-9.92 ± 0.53 ^J	60.72 ± 3.92	55.24 ± 4.38
	Selülaz	12	83.12 ± 1.33	-11.60 ± 1.14 ^K	41.38 ± 7.99	32.86 ± 8.11
		24	80.81 ± 0.61	-11.11 ± 0.21 ^K	42.81 ± 1.90	34.52 ± 1.97
	Papain	12	82.35 ± 1.43	-12.74 ± 0.88 ^{LM}	46.67 ± 6.16	38.31 ± 6.29
		24	73.16 ± 1.90	-12.93 ± 0.36 ^M	69.87 ± 3.57	62.45 ± 3.79

Veriler (n=2) ± standart sapmayı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfler alan a^* değerleri Duncan testine göre istatistikî olarak farkın önemli ($p < 0.01$) olduğunu göstermektedir.

Genel olarak Çizelge 4.2.1. incelendiğinde L^* değerleri süre uygulamasının artışıyla azalma göstermiştir. 24 saat süre uygulaması yapılan örneklerin parlaklığının 12 saat süre uygulaması yapılanlara göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

Kırmızı (+) ve yeşil (-) rengi temsil eden a^* değerlerine bakıldığında -12.93 ile -3.01 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek a^* değeri Gemlik ve Çöpaşı çeşidi 24 saat papain enzimi uygulaması sonucu bulunmuştur. Ayvalık çeşidi 12 saat bekletilen kontrol, selülaz ve papain ilave edilmiş zeytinyağı örneklerinin a^* değerleri -5.95, -4.64, -4.18 olarak bulunurken, 24 saat bekletilmesi sonucunda -9.13, -9.62, -12.31 olarak bulunmuştur. Ayvalık çeşidi zeytinyağı örnekleri arasında 24 saat papain

uygulaması yapılan zeytinyağı örneğinin diğerlerine göre daha yeşil renkte olduğu tespit edilmiştir.

Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinin a^* değerleri -3.01 ile -12.93 arasında değişiklik göstermiştir. Selüloz enzimi uygulamasında 12 saat bekletilen örneğin a^* değeri -3.01 iken 24 saat bekletilmesi sonucu -6.85'e yükseldiği gözlemlenmiştir. Papain enzimi uygulamasında ise 12 saat süre bekletilen örneğin a^* değeri -4.41 iken, 24 saat bekletilmesi sonucu -12.93 olduğu tespit edilmiştir.

Yağlık zeytin çeşitlerinden yapılan renk analizi sonucunda a^* değerleri -3.43 ile -8.59 arasında bulunmuştur. Kontrol örneğinde süre uygulaması sonucu çok az farklılık görülmüştür. Bunun yanı sıra selüloz enzimi uygulamasında 12 saat bekletilen örnekte -3.98 olan a^* değeri, 24 saat bekletilmesi sonucu -8.44'e yükselmiştir. Yağlık çeşidine 12 saat papain enzimi uygulaması ile elde edilen zeytinyağlarının renk analizi sonucunda ise a^* değeri -3.43 iken, 24 saat bekletilmesi sonucunda -8.77'e yükseldiği görülmüştür. Ayvalık ve Gemlik çeşidinde görüldüğü gibi Yağlık çeşidinde de kontrol örneğinin a^* değeri enzim uygulaması sonucu elde edilen a^* değerine göre yüksek bulunmuştur.

Çöpaşı çeşidi renk analizi sonuçları değerlendirildiğinde a^* değerlerinin -9.92 ile -12.93 arasında değiştiği ve örneklerin a^* değeri üzerine enzim uygulaması sonucu önemli bir fark oluşturmadığı görülmüştür. 12 saat bekletilen kontrol Çöpaşı zeytinyağının a^* değeri -11.02, selüloz enzimi uygulaması sonucu -11.60, papain enzimi uygulaması sonucunda ise -12.74 olduğu tespit edilmiştir. 24 saat süre uygulamasında kontrolde -9.92 olan a^* değeri, selüloz uygulaması sonucu -11.11'e, papain enzimi uygulaması sonucunda ise -12.93'e yükselmiştir. En az değişim gözlenen Çöpaşı çeşidi hariç diğer zeytinyağlarında 24 saat uygulaması sonucunda a^* değerleri 12 saat uygulama yapılanlara göre düşük çıkmıştır. Bu nedenle 24 saat süre uygulaması yapılan zeytinyağlarının renginin daha yeşil olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda enzim uygulamasının a^* değeri üzerinde olumlu etki gösterdiği tahmin edilmektedir.

Sarı (+) ve mavi (-) rengi temsil eden b^* değerleri için okunan değerler 7.60 ile 69.87 arasında değişiklik göstermiştir. Çizelge 4.2.1.'de b^* değerleri arasında en yüksek olan değer (69.87) 24 saat süre uygulaması sonucu Çöpaşı zeytinyağına ait olduğu görülmektedir. En düşük b^* değerinin ise (7.60) 12 saat süre uygulaması yapılan Gemlik yağ örneğine ait olduğu tespit edilmiştir.

Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinin b^* değerleri 9.98 ile 50.84 arasında değişmiştir. Ayvalık kontrol örneğinde 12 saat sonunda 16.8 olan b^* değeri, 24 saat uygulaması sonucunda 42.35'e yükselmiştir. Ayvalık çeşidi 12 saat selülaz enzimi uygulaması sonucu 12.38 olan b^* değerinin, 24 saat uygulanması sonucu 42.07'ye yükseldiği gözlemlenmiştir. Ayvalık çeşidi papain enzimi uygulamasıyla 12 saat sonunda; 9.98 olan b^* değerinin, 24 saat sonunda 50.84'e yükseldiği görülmüştür.

Çizelge 4.2.1.'de a^* değeri verilerinin aksine b^* değeri verilerinde süre uygulamasının 2 katına çıkması ile değerlerin artışı söz konusudur. Bu nedenle Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinde 24 saat süre uygulamasıyla daha fazla sarı renkli zeytinyağları elde edildiği gözlemlenmiştir.

Sarılık ve mavilik ölçütü olan b^* değeri verileri incelendiğinde; Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinin b^* değerleri 7.60 ile 58.14 arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Gemlik çeşidinde en fazla değişim papain enzim uygulamasına ait olup, 12 saat sonunda 10.56 olan b^* değeri, 24 saat sonunda 58.14'e yükseldiği görülmüştür.

Yağlık çeşidi zeytinyağlarında okunan b^* değerlerinin 9.91 ile 35.83 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Yağlık çeşidi zeytinyağlarında enzim uygulanması sonucu b^* değerlerinin kontrol örneklerine göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çöpaşı zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının b^* değerleri 12 ve 24 saat beklemekle kontrolde 48.17, 60.72; selülaz enzimi uygulaması sonucu 41.38, 42.81; papain enzimi uygulaması sonucu ise 46.67, 69.87 olarak bulunmuştur. Sarı rengin en baskın olduğu örneğin Çöpaşı çeşidi 24 saat papain enzimi uygulaması yapılan örneğe ait olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda enzim uygulamasının b^* değeri üzerinde olumlu etki gösterdiği düşünülmektedir.

Çizelge 4.2.1.'de renk değişimi verileri incelendiğinde iki farklı süre uygulamaları sonucunda renk değişiminde büyük farklılıklar görülmüştür. En yüksek renk değişiminin 24 saat papain enzimi uygulanan Çöpaşı zeytinyağı örneğine ait olduğu tespit edilmiştir. En düşük renk değişiminin ise 2.59 ile Gemlik çeşidi 12 saat bekletilen kontrol örneğine ait olduğu saptanmıştır. Enzim ilave edilen örneklerdeki renk değişimi papain enzimi uygulamasındaki renk değişimlerinin selülaz enzimi uygulamasına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Pektolitik enzimlerin zeytinyağı üretiminde nicel ve nitel etkilerinin incelendiği bir çalışmada parlaklık (Brightness) değerleri kontrolde %66.8, olivex enzimi ilavesi sonucu %67.3 olarak bulunmuştur. Renk doygunluğu (Chroma) kontrolde %86.7 iken olivex enzimi ilavesi sonucu %87.8 olarak tespit edilmiştir. Hue (renk) değeri ise

kontrolde 577, enzim ilavesi sonucu 578 olarak bulunmuştur (Ranalli ve Serraiocco, 1996). Ranalli ve ark. (2004) sızma zeytinyağının kalitesini ve verimini arttırmak için Bioliva enzimi kullanarak 4 çeşit zeytin çeşidinden zeytinyağı işlemişlerdir. Elde edilen zeytinyağı örneklerinde renk analizi sonucu Chroma (doygunluk), Brightness (parlaklık), Hue (renk) ve Colour index değerlerini tespit etmişlerdir. Parlaklık (Brightness) değerleri kontrol örneklerinde %82.1, 94.4, 78.7, 91.9 bulunurken, enzim uygulaması sonucu %72.1, 84.7, 77.9, 82.4 olarak bulunmuştur. Renk doygunluğu (Chroma) kontrol örneklerinde %76.1, 65.5, 78.2, 70.8 iken, Bioliva enzimi uygulamasıyla %86.1, 68.3, 88.0, 71.4 olarak saptanmıştır. Renk değerleri ise ortalama 577nm olarak tespit edilmiştir. Ranalli ve ark. (2005) farklı bir çalışma da sızma zeytinyağındaki işleme tekniklerinin doğal renklendiriciler ve diğer fonksiyonel bileşenler üzerindeki etkilerini incelemişler ve renk değerlerini analiz etmişlerdir. Kontrol örneklerinde %65.8, 64.8, 67.4 olan parlaklık değerleri (Brightness), enzim denemesi sonucu %64.1, 63.9, 65.3 olarak bulunmuştur. Renk doygunluğu (Chroma) verilerinde kontrolde %85.4, 94.0, 95.4 olan değerler enzim denemesi sonucu %89.9, 96.8, 97.7 olarak bulunmuştur. Rengin ne olduğunu gösteren Hue değerlerinde ise veriler kontrolde 578, 579, 578 nm, enzim denemesi sonucu ise 578, 578, 578 nm olarak saptanmıştır.

4.3. Tokoferol Analizi

Ayvalık, Gemlik, Yağlık ve Çöpaşı çeşidi zeytinyağlarında belirlenen tokoferol analizi sonuçları Çizelge 4.3.1.'de verilmiştir. Bu analizde zeytinyağında en fazla bulunan tokoferol olan α - tokoferol miktarları ele alınmıştır.

Zeytinyağlarının çeşitlerine göre α -tokoferol içeriği 125.4-218.4 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Ayvalık çeşidi zeytinyağlarının α -tokoferol içeriği diğer çeşitlere göre daha yüksek bulunmuştur. 12 saat malaksasyon aşamasında bekletilerek Ayvalık çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının α -tokoferol içeriği kontrol, selülaz ve papain olmak üzere sırasıyla 206.4, 254.7, 212.4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. 24 saat bekletilen Ayvalık zeytinyağı örneklerinin α -tokoferol içeriği ise kontrol, selülaz ve papain olmak üzere sırasıyla 174.6, 195.3, 218.4 mg/kg olarak bulunmuştur. Enzim uygulaması ile Ayvalık çeşidinde α -tokoferol içeriği olumlu yönde bir artış göstermiştir.

Çizelge 4.3.1. Zeytinyağı Örneklerinin Ortalama α - tokoferol Analizi Sonuçları

Çeşit	Enzim	Süre(sa)	α - tokoferol(mg/kg)
Ayvalık	Kontrol	12	206.4 $\pm$ 0.44
		24	174.6 $\pm$ 0.51
	Selülaz	12	254.7 $\pm$ 0.09
		24	195.3 $\pm$ 0.24
	Papain	12	212.4 $\pm$ 0.86
		24	218.4 $\pm$ 0.05
Gemlik	Kontrol	12	132.3 $\pm$ 0.14
		24	156.0 $\pm$ 0.03
	Selülaz	12	196.2 $\pm$ 0.84
		24	186.9 $\pm$ 1.32
	Papain	12	140.1 $\pm$ 0.10
		24	125.4 $\pm$ 0.03
Yağlık	Kontrol	12	148.2 $\pm$ 0.06
		24	172.8 $\pm$ 0.10
	Selülaz	12	159.0 $\pm$ 0.18
		24	136.8 $\pm$ 0.27
	Papain	12	157.8 $\pm$ 0.13
		24	155.7 $\pm$ 0.13
Çöpaşı	Kontrol	12	179.1 $\pm$ 0.29
		24	166.8 $\pm$ 0.14
	Selülaz	12	168.9 $\pm$ 0.09
		24	156.9 $\pm$ 0.12
	Papain	12	126.6 $\pm$ 0.59
		24	139.2 $\pm$ 1.55

Veriler (n=3) $\pm$ standart sapmayı göstermektedir.

Gemlik çeşidi kontrol örneklerinin α -tokoferol içerikleri 12 saat ve 24 saat süre uygulamasında sırasıyla 132.3 ve 156.0 mg/kg olarak bulunmuştur. Aynı sürelerde selülaz enzimi uygulanan örneklerde bu miktarlar 196.2 ve 186.9 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Papain enzimi uygulamasında ise 140.1 ve 125.4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Gemlik çeşidi zeytinyağlarında enzim uygulaması yapılan örneklerin α -tokoferol içeriği, kontrole göre yüksek çıksa da 24 saat süre uygulamasında 12 saat süre uygulamasına göre değerlerde bir düşüş gözlenmiştir.

Yağlık çeşidi zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarının α -tokoferol içeriği 136.8 ile 172.8 mg/kg arasında değişmiştir. 12 saat süre bekletilerek hazırlanan zeytinyağlarının α -tokoferol içeriği kontrolde 148.2 mg/kg iken, selülaz enzimi uygulamasında 159.0 mg/kg'a, papain enzimi uygulamasında ise 157.8 mg/kg'a yükselmiştir. Yağlık çeşidinde 12 saat süre uygulaması ve enzim ilavesiyle α -tokoferol içeriğinin arttığı gözlenmiştir. Bunun aksine 24 saat süre uygulaması kontrol örneğinin

α -tokoferol içeriğinde artışa sebep olsada, enzim ilavesiyle bu değerlerde düşüş gözlenmiştir.

Çöpaşı çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının α -tokoferol içeriği 126.6 ile 179.1 mg/kg arasında değişim göstermiştir. Diğer zeytin çeşitlerinin aksine Çöpaşı çeşidinde enzim uygulamasıyla α -tokoferol içeriğinde azalma gözlenmiştir. En fazla azalma gözlenen örnek 12 saat papain ilave edilen örnek olup, kontrolde 179.1 mg/kg olan α -tokoferol içeriği 126.6 mg/kg'a düşmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda Çöpaşı çeşidine enzim ilavesinin α -tokoferol içeriği üzerine olumsuz etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Cytolase enzimiyle üretilen üç çeşit zeytinyağında α -tokoferol içerikleri kontrol örneklerinde 67.1, 194.7, 256.6 mg/kg bulunurken, enzim ilavesi yapılan örneklerde 76.1, 196.7, 291.5 mg/kg olarak bulunmuştur (Ranalli ve De Mattia, 1997). Cytolase enziminin kullanıldığı bir diğer çalışmada ise üç İtalyan zeytin çeşidi (Coratina, Dritta ve Leccino) kullanılarak elde edilen zeytinyağlarının α -tokoferol içerikleri kontrol örneklerinde 89, 58, 175 mg/kg; enzim uygulaması sonucunda 112, 76, 221 mg/kg olduğu bildirilmiştir (Ranalli ve ark., 1999). Ranalli ve ark. (2003) sızma zeytinyağının kalitesinin, işlem sırasında yeni bir bitkisel enzim özütü (Bioliva) kullanılarak geliştirilmesi üzerine yaptıkları bir çalışma da üç ana sızma zeytinyağı çeşidinin α -tokoferol içeriğinin kontrol örneklerinde 152.0, 115.5, 124.5 mg/kg; enzim ekstraksiyonu sonucunda ise 252.2, 147.3, 134.4 mg/kg olduğunu bildirmişlerdir.

Enzimlerin kullanılmasıyla elde edilen yağın, polifenol ve tokoferol içeriğinde bir artış ve dolayısıyla daha iyi oksidatif stabiliteye sahip olduğu bildirilmiştir (Kiritsakis ve ark., 1998). Ranalli ve arkadaşlarının farklı zamanlarda yapmış olduğu çalışmalarda α -tokoferol içeriğinin enzim kullanımıyla arttığını göstermiştir. Bu çalışma da α -tokoferol içeriklerinde azalma gösteren örneklerin enzim çeşidi, zeytin çeşidi, sıcaklık ve süreden etkilendiği düşünülmektedir.

4.4. Yağ Asidi Kompozisyonu

Ayvalık, Gemlik, Yağlık ve Çöpaşı zeytin çeşitlerine selülaz ve papain enzimi uygulamasıyla üretilen zeytinyağlarına ait yağ asidi kompozisyonu verileri Çizelge 4.4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4.1. Zeytinyağı örneklerinin yağ asidi kompozisyonu (%)

Çeşit	Enzim	Süre(sa)	n	Palmitik Asit	Stearik Asit	Oleik Asit	Linoleik Asit	Araşidik Asit	Linolenik Asit	Behenik Asit	Araşidonik Asit
Ayvalık	Kontrol	12	2	13.88 ± 0.05	2.10 ± 0.02	68.61 ± 0.07 ^{FGH}	12.43 ± 0.03 ^H	0.31 ± 0.00	0.45 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.22 ± 0.01 ^K
		24	2	13.74 ± 0.42	2.10 ± 0.02	69.08 ± 0.51 ^{EFG}	12.28 ± 0.07 ^{HI}	0.20 ± 0.20	0.45 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.28 ± 0.00 ^{HIJK}
	Selüloz	12	2	13.46 ± 0.02	2.04 ± 0.00	67.27 ± 0.08 ^{IJK}	14.12 ± 0.01 ^F	0.33 ± 0.00	0.51 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.24 ± 0.02 ^{JK}
		24	2	13.55 ± 0.00	2.04 ± 0.00	70.25 ± 0.15 ^{CD}	11.20 ± 0.11 ^K	0.31 ± 0.00	0.41 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.34 ± 0.00 ^{DEFGH}
	Papain	12	2	13.15 ± 0.62	2.06 ± 0.03	67.45 ± 0.40 ^{IJ}	14.37 ± 0.14 ^F	0.33 ± 0.02	0.49 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.27 ± 0.03 ^{HIJK}
		24	2	13.70 ± 0.34	2.06 ± 0.19	70.35 ± 0.25 ^{CD}	10.95 ± 0.01 ^K	0.32 ± 0.00	0.41 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.33 ± 0.01 ^{EFGHI}
Gemlik	Kontrol	12	2	13.63 ± 0.27	2.09 ± 0.01	67.88 ± 0.22 ^{HI}	13.46 ± 0.00 ^G	0.31 ± 0.00	0.47 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.35 ± 0.02 ^{DEFGH}
		24	2	13.30 ± 0.01	2.14 ± 0.00	69.91 ± 0.00 ^{CDE}	11.61 ± 0.08 ^J	0.32 ± 0.01	0.42 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.42 ± 0.31 ^{CD}
	Selüloz	12	2	13.43 ± 0.24	2.13 ± 0.01	69.48 ± 0.16 ^{DEF}	11.96 ± 0.07 ^I	0.31 ± 0.00	0.43 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.41 ± 0.00 ^{CDE}
		24	2	13.50 ± 0.14	2.10 ± 0.00	70.22 ± 0.10 ^{CD}	11.19 ± 0.07 ^K	0.32 ± 0.00	0.42 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.40 ± 0.40 ^{CDE}
	Papain	12	2	13.07 ± 0.16	2.10 ± 0.00	69.52 ± 0.08 ^{DEF}	12.33 ± 0.02 ^H	0.32 ± 0.00	0.44 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.39 ± 0.00 ^{CDEF}
		24	2	13.41 ± 0.32	2.12 ± 0.01	71.60 ± 0.21 ^B	9.74 ± 0.16 ^M	0.31 ± 0.00	0.41 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.53 ± 0.01 ^B
Yağlık	Kontrol	12	2	13.23 ± 0.04	1.97 ± 0.00	63.36 ± 0.02 ^N	18.43 ± 0.09 ^A	0.30 ± 0.00	0.57 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.30 ± 0.00 ^{GHIJK}
		24	2	12.92 ± 0.19	2.01 ± 0.00	65.74 ± 0.04 ^{LM}	16.33 ± 0.12 ^C	0.32 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.37 ± 0.00 ^{CDEFG}
	Selüloz	12	2	13.29 ± 0.29	2.07 ± 0.02	65.63 ± 0.24 ^{LM}	16.05 ± 0.03 ^C	0.31 ± 0.00	0.52 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.31 ± 0.01 ^{FGHIJ}
		24	2	12.97 ± 0.11	2.11 ± 0.01	65.08 ± 0.20 ^M	16.90 ± 0.13 ^B	0.32 ± 0.01	0.54 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.25 ± 0.00 ^{IJK}
	Papain	12	2	12.88 ± 0.12	2.04 ± 0.00	66.39 ± 0.08 ^{KL}	15.63 ± 0.02 ^D	0.32 ± 0.00	0.51 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.40 ± 0.00 ^{CDE}
		24	2	13.02 ± 0.11	2.03 ± 0.01	66.53 ± 0.46 ^{JKL}	14.86 ± 0.12 ^E	0.32 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.33 ± 0.00 ^{DEFGHI}
Çöpaşı	Kontrol	12	2	14.93 ± 0.23	2.00 ± 0.00	69.90 ± 0.22 ^{CDE}	10.13 ± 0.00 ^L	0.29 ± 0.00	0.42 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.51 ± 0.00 ^B
		24	2	13.49 ± 0.40	2.02 ± 0.02	68.85 ± 0.31 ^{FG}	12.49 ± 0.05 ^H	0.29 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.51 ± 0.02 ^B
	Selüloz	12	2	14.03 ± 0.03	2.04 ± 0.00	70.86 ± 0.06 ^{BC}	9.89 ± 0.02 ^{LM}	0.30 ± 0.00	0.44 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.53 ± 0.02 ^B
		24	2	13.25 ± 0.39	2.04 ± 0.01	68.16 ± 0.23 ^{GHI}	13.41 ± 0.013 ^G	0.32 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.45 ± 0.02 ^{BC}
	Papain	12	2	14.03 ± 0.00	2.05 ± 0.00	71.52 ± 0.02 ^B	9.27 ± 0.02 ^N	0.31 ± 0.00	0.43 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.51 ± 0.01 ^B
		24	2	13.97 ± 0.45	2.02 ± 0.03	72.68 ± 0.19 ^A	8.09 ± 0.08 ^O	0.31 ± 0.00	0.22 ± 0.16	0.11 ± 0.01	0.70 ± 0.04 ^A

Oleik, linoleik ve araşidonik asit açısından zeytinyağı örnekleri arasında önemli bir fark bulunurken; palmitik, stearik, araşidik, linolenik ve behenik asit açısından önemli bir fark bulunmamıştır. Çizelge 4.4.1.'de araşidik, linolenik, behenik ve araşidonik asitin %1'in altında değerler aldığı görülmektedir.

Zeytinyağı örneklerinin oleik asit içerikleri %63.36 ile 72.68 arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek oleik asit miktarları Çöpaşı çeşidinde görülmekte olup, 12 saat süre muameleli Çöpaşı kontrol örneğinde %69.90 olan oleik asit miktarının selülaz enzimi uygulaması ile 70.86, papain enzimi uygulaması ile 71.52'ye çıktığı gözlemlenmiştir. Oleik asit içeriği en çok Çöpaşı çeşidinin papain enzimi uygulanan örneklerinde görülmüştür. Genel olarak papain enziminin selülaz enziminden daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

En düşük oleik asit içerikleri Yağlık çeşidine ait örneklerde görülmüştür. Yağlık çeşidine 12 saat papain enzimi uygulanarak kontrolde %63.36 olan oleik asit içeriği %66.39'a yükselmiştir. 24 saat papain uygulamasıyla ise kontrolde %65.74 olan oleik asit içeriği %66.53'e yükselmiştir. Yağlık çeşidinde selülaz enzimi uygulamasıyla oleik asit içeriğinde çok az değişim olduğu tespit edilmiştir.

Gemlik çeşidinde oleik asit miktarları % 67.88 ile 71.60 arasında olup en yüksek miktar 24 saat papain enzimi uygulaması yapılan örneğe aittir. Çok büyük artışlar gözlenmese bile enzim uygulaması ile Gemlik çeşidinde oleik asit miktarının arttığı gözlemlenmiştir.

Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinin oleik asit miktarları kontrolde %68.61, 69.08 iken, 12 ve 24 saat papain enzimi uygulanarak %67.45, 70.35; 12 ve 24 saat selülaz enzimi uygulanarak ise %67.27, 70.25 olarak bulunmuştur. 24 saatte selülaz uygulaması Ayvalık çeşidinde artışa sebep olsa da diğer çeşitlerden farklı olarak 12 saat papain enzimi uygulaması ile Ayvalık çeşidi zeytinyağlarının oleik asit miktarlarında düşüş olduğu gözlemlenmiştir.

Zeytinyağında oleik asitten sonra en yüksek miktarda bulunan ikinci yağ asidi olan palmitik asit içeriklerine bakıldığında %12.88 ile 14.93 arasında değerler aldığı belirlenmiştir. Oleik asitte gözlendiği gibi palmitik asitte de en yüksek miktarlar Çöpaşı çeşidine aittir. Kontrol örnekleri ile kıyaslandığında Çöpaşı çeşidinde enzimlerin palmitik asit üzerine bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinin palmitik asit içeriği %13.15 ile 13.88 arasında değişmektedir. Miktarlar arasında çok küçük değişiklikler olsa da enzim

uygulanan örneklerin kontrole göre palmitik asit içeriği daha düşük çıkmıştır. Bu düşüş önemsenmeyecek kadar küçük değerlerdedir.

Gemlik ve Yağlık çeşidinden elde edilen zeytinyağlarının palmitik asit içerikleri ortalama %13.22 civarında bulunmuştur. Bu iki çeşit zeytinden de elde edilen zeytinyağının palmitik asit sonuçlarında enzim uygulamasının gözle görülebilecek değişiklikler olmadığı tespit edilmiştir. Çeşitler arasında en düşük palmitik asit içeriği 12 saat papain enzimi uygulanan Yağlık çeşidi zeytinyağı örneği olduğu belirlenmiştir.

Türk Gıda Kodeksi'ne göre zeytinyağının yağ asidi bileşiminde %3.5-21'lik payı olan linoleik asit, palmitik asitten sonra zeytinyağında bulunan 3.yağ asididir (Kayahan ve Tekin, 2006). Çalışmamızda elde edilen zeytinyağı örneklerinin linoleik asit içerikleri analiz sonucunda %8.09 ile %18.43 arasında bulunmuştur.

Çizelge 4.4.1. incelendiğinde zeytin çeşitleri arasında oleik asit ve palmitik asit içeriği en yüksek Çöpaşı çeşidi zeytinyağlarına ait olmasına karşın linoleik asit içerikleri diğer çeşitlere göre en düşük seviyelerde bulunmuştur. 24 saat bekletilen Çöpaşı kontrol örneğinin linoleik asit içeriği %12.49 iken, papain enzimi uygulaması ile bu miktarın %8.09'a düştüğü gözlemlenmiştir. 24 saat papain enzimi uygulanan Çöpaşı örneği %8.09 ile en düşük linoleik asit içeriğine sahipken, 24 saat selülaz enzimi uygulanan Çöpaşı örneği ise %13.41 ile en yüksek linoleik asit içeriğine sahip örnek olarak belirlenmiştir.

Ayvalık zeytin çeşidinin 12 saat bekletilmesi ile elde edilen zeytinyağlarının linoleik asit içerikleri kontrol, selülaz ve papain olmak üzere sırasıyla (%) 12.43, 14.12, 14.37 olarak tespit edilmiştir. 24 saat bekletilmesi sonucunda ise kontrolde %12.28 olan linoleik asit içeriği, selülaz enzimi uygulamasıyla %11.20'ye, papain enzimi uygulamasıyla %10.95'e düştüğü gözlemlenmiştir. Bu veriler sonucu Ayvalık çeşidinde 12 saat bekletilen enzim uygulamalı örnekler olumlu sonuçlar vermiştir.

Gemlik çeşidi zeytinyağlarında %9.74 ile 13.46 arasında değişen linoleik asit içerikleri, süre ve enzim uygulaması sonucu içeriklerde azalma olduğu tespit edilmiştir. Gemlik çeşidinde linoleik asit üzerine olumsuz bir gelişme gözlenmemiştir.

Yağlık çeşidinde yapılan analizler sonucunda 12 ve 24 saat olmak üzere kontrolde %18.43, 16.33 olan linoleik asit miktarlarının, selülaz enzimi uygulamasıyla %16.05, 16.90'a, papain enzimi uygulamasıyla %15.63, 14.86'ya düştüğü tespit edilmiştir. Gemlik çeşidinde de görüldüğü gibi yağlık çeşidinde de süre ve enzim uygulaması olumsuz bir etki oluşturmuştur.

Stearik asit sonuçları incelendiğinde zeytinyağı örneklerinin %1.97-2.14 arasında yakın değerler aldığı ve enzim uygulaması ile gözle görülür bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Araşidik, linolenik ve Behenik asit ise %1'in altında tespit edilmiştir.

Ranalli ve ark. (1999); Cytolase enzimini kullanarak üç zeytin çeşidinden elde ettikleri zeytinyağlarında enzim ilavesinin yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Buldukları sonuçlar doğrultusunda en yüksek yağ asidi kompozisyonu oleik asitte tespit edilmiştir (%82.8, 76.3, 77.0). Lineoleik ve palmitik asit içerikleri ise enzim ilavesi sonucu bazı çeşitlerde artış gösterirken bazılarında azalış göstermiştir. Önceden yapılmış başka bir çalışma da sabit oranlarda pektinaz, ksilanaz ve selüloz enzimleri kullanılarak üç enzimatik formülasyon ile işleminden geçirilmiş siyah zeytinlerden elde edilmiş zeytinyağlarının asidik bileşimine etkisi incelenmiştir. İncelemeler sonucunda yağ asitleri bileşiminde enzim formülasyonlarının uygulanması sonucu oleik asit miktarında çok düşük seviyede artış olurken; palmitik, linoleik ve stearik asit içeriğinde ise azalma görülmüştür (Hadj-Taieb ve ark., 2012). Çizelge 4.4.1.'deki yağ asidi kompozisyonu sonuçları ile kıyaslandığında Hadj-Taieb ve ark. (2012)'ın çalışması ile benzerlik gösterdiği, fakat oleik asit verilerinin bizim çalışmamızda daha yüksek olduğu görülmektedir. 2012 yılında enzim ilavesiyle zeytinyağı kalitesindeki değişimlerin incelendiği bir çalışma da ise enzim ilave edilen örneklerde oleik ve stearik asit miktarlarında artış gözlenirken, palmitik ve linoleik asit miktarlarında azalma gözlenmiştir (Iconomou ve ark., 2010).

Alba Mendoza ve ark. (1997), pektin-glikozidaz, selüloz ve hemiselüloz enzimlerinin; yağın kalite özellikleri, yağ asidi bileşimi ve sterol bileşiminde önemli değişiklikler gözlemlememişlerdir. Montedoro ve ark. (1976) ise; enzimlerin ve tanen emici ajanların eşzamanlı kullanımının, yağ verimini arttırdığını ve yağ asidi bileşiminin ve yağın renginin önemsiz bir şekilde değiştirilmesine yol açtığını tespit etmişlerdir. Başka bir çalışma da ise yağların yağ asidi bileşiminin zeytin hamurlarına enzim işlemi yapılmasından önemli ölçüde etkilenmediği ve bu bileşenlerin yağın üretildiği zeytin çeşidinden etkilenmiş olduğu bildirilmiştir (Ranalli ve De Mattia, 1997). Bu sebeple yağ asidi kompozisyonu sonuçlarındaki değişimlerin zeytin çeşidine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

4.5. Fenolik Bileşen Analizi

Farklı çeşit zeytinlerden enzim uygulamasıyla üretilen zeytinyağlarının fenolik bileşen içeriklerine ait Duncan testi analiz sonuçları Çizelge 4.5.1.'de verilmiştir.

Fenolik bileşen analizi sonucu zeytinyağı örneklerinin hidroksitirozol içeriği 4.60 ile 8.64 mg/kg arasında değerler almıştır. Çöpaşı 12 saat muamele edilen kontrol örneği 4.60 mg/kg ile en düşük içeriğe sahip olmuştur. Bu örneğe 12 saat selüloz enzimi uygulanması sonucu hidroksitirozol içeriği 7.82 mg/kg'a, papain enzimi uygulanması sonucunda da 8.42 mg/kg'a yükselmiştir. Enzim uygulanması ile en yüksek hidroksitirozol içeriğinin 24 saat papain enzimi uygulanan Çöpaşı zeytin çeşidine ait olduğu belirlenmiştir. Yağlık çeşidinde de 24 saat süre uygulaması sonucu kontrol ve selüloz enzimi ilave edilen örneklerde hidroksitirozol içeriğinde artış meydana gelse de papain enzimi ilave edilen örneklerde azalma olduğu görülmüştür. Yağlık çeşidinde en yüksek hidroksitirozol içeriği 12 saat papain enzimi uygulanan örnekte bulunmuştur (8.70 mg/kg). 24 saat papain uygulaması sonunda bu miktarın 7.38 mg/kg'a düştüğü gözlemlenmiştir. Gemlik çeşidi zeytinyağlarının hidroksitirozol içeriği 6.46 ile 8.10 mg/kg arasında değişim göstermiştir. Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinde, kontrole göre enzim uygulanan örneklerin hidroksitirozol içeriğinin daha yüksek değerlerde olduğu saptanmıştır. 24 saat uygulaması sonucu papain enzimi uygulamasıyla artış gözlenirse de kontrol ve selüloz enzimi uygulanan örneklerde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Ayvalık çeşidi zeytinlerin 12 saat bekletilmesi sonucu elde edilen zeytinyağlarının hidroksitirozol içeriği kontrol, selüloz, papain olmak üzere sırasıyla 7.11, 7.39, 7.67 mg/kg olarak tespit edilmiştir. 24 saat sonunda elde edilen Ayvalık çeşidi zeytinyağlarında ise bu miktarların sırasıyla 6.24, 5.26, 5.38 mg/kg'a düştüğü gözlemlenmiştir. Ayvalık çeşidinde enzim uygulamasıyla kontrole göre, hidroksitirozol içerikleri 12 saat ve 24 saat sonunda azalış göstermiştir.

Çizelge 4.5.1.'de zeytinyağı örneklerinin tirozol içeriklerinin 3.29 ile 6.44 mg/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Çeşitler arasında en yüksek tirozol miktarının 6.44 mg/kg ile Çöpaşı çeşidinin 12 saat bekletilen kontrol örneğine ait olduğu tespit edilmiştir. Çöpaşı çeşidinde 12 saat bekletilen örneklerde bu değer enzim ilavesiyle düştüğü gözlemlenmiştir. Bunun yanısıra 24 saat bekletilen örneklerin tirozol içeriğinin 12 saat bekletilenlere göre Çöpaşı kontrol ve papain örneklerinde azaldığı, selüloz örneklerinde ise arttığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.5.1. Zeytinyağı örneklerinin fenolik bileşen analizi sonuçları (mg/kg)

Çeşit	Enzim	Süre(sa)	n	Hidroksitirozol	Tirozol	Kafeik asit	Sirinjik asit	Rutin trihidrat	Verbaskozit	Luteolin-7-glikozit	Apigenin-7-glukozit	Oleuropein	Luteolin	Trans-sinamik asit
Ayvalık	Kontrol	12	3	7.11 ± 3.10	4.17 ± 7.98	1.84 ± 0.35	1.64 ± 1.06	4.48 ± 2.84	6.46 ± 5.58	4,00 ± 1,88	2,71 ± 0,84	3,01 ± 2,31	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
		24	3	6.24 ± 7.92	4.62 ± 1.03	1.88 ± 0.37	1.59 ± 0.35	5.74 ± 5.25	6.29 ± 5.51	4,01 ± 1,95	2,80 ± 0,92	3,24 ± 1,99	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
	Selülaz	12	3	7.39 ± 1.69	3.88 ± 1.42	1.80 ± 0.29	1.56 ± 0.83	4.31 ± 2.99	5.53 ± 2.55	3,83 ± 2,33	2,70 ± 1,14	2,77 ± 1,01	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
		24	3	5.26 ± 6.81	4.07 ± 2.49	1.98 ± 0.35	1.83 ± 0.27	6.34 ± 1.68	7.33 ± 4.14	4,34 ± 1,60	3,22 ± 0,38	4,32 ± 2,00	2,00 ± 0,07	1,16 ± 0,00
	Papain	12	3	7.67 ± 3.41	5.24 ± 3.22	1.94 ± 0.25	1.80 ± 0.28	6.44 ± 2.28	7.29 ± 1.35	4,34 ± 2,26	3,00 ± 0,94	3,69 ± 2,84	2,02 ± 0,08	1,16 ± 0,02
		24	3	5.38 ± 6.90	4.76 ± 5.48	1.92 ± 0.21	1.78 ± 0.31	5.39 ± 1.50	7.67 ± 1.58	4,44 ± 1,40	2,79 ± 0,65	3,17 ± 2,84	1,99 ± 0,05	1,16 ± 0,00
Gemlik	Kontrol	12	3	6.87 ± 7.99	3.48 ± 3.17	1.80 ± 0.38	1.60 ± 0.88	5.11 ± 5.35	6.48 ± 4.36	4,49 ± 4,21	2,94 ± 2,39	2,97 ± 2,20	1,99 ± 0,04	1,16 ± 0,00
		24	3	6.46 ± 4.09	5.26 ± 2.05	2.11 ± 0.22	1.69 ± 0.32	4.86 ± 4.83	6.36 ± 3.06	4,14 ± 2,87	2,59 ± 0,61	2,93 ± 2,16	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
	Selülaz	12	3	7.88 ± 5.20	6.18 ± 2.55	2.05 ± 0.09	1.91 ± 1.45	5.04 ± 6.04	5.77 ± 1.94	3,92 ± 2,52	2,78 ± 1,24	2,94 ± 2,27	1,98 ± 0,02	1,16 ± 0,00
		24	3	7.60 ± 8.18	3.29 ± 1.79	2.18 ± 0.13	2.00 ± 1.33	5.62 ± 2.91	5.62 ± 0.35	4,92 ± 1,64	2,80 ± 0,54	3,84 ± 2,00	1,99 ± 0,02	1,16 ± 0,00
	Papain	12	3	7.80 ± 4.83	6.27 ± 8.91	1.99 ± 0.37	1.95 ± 1.40	5.27 ± 3.49	6.46 ± 2.81	4,00 ± 2,02	2,54 ± 0,36	3,35 ± 4,67	1,98 ± 0,01	1,16 ± 0,00
		24	3	8.10 ± 2.00	4.23 ± 2.41	1.84 ± 0.11	2.04 ± 0.99	4.96 ± 1.51	7.51 ± 6.87	4,86 ± 5,25	2,86 ± 1,26	3,22 ± 2,93	2,02 ± 0,11	1,16 ± 0,03
Yağlık	Kontrol	12	3	7.42 ± 6.29	5.50 ± 4.76	1.81 ± 0.26	1.64 ± 1.46	3.84 ± 2.97	5.18 ± 1.33	3,51 ± 0,98	2,51 ± 0,07	2,59 ± 0,12	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
		24	3	7.87 ± 5.64	4.66 ± 6.62	1.86 ± 0.25	1.81 ± 0.22	5.30 ± 0.50	6.27 ± 3.20	3,94 ± 1,03	2,78 ± 0,87	2,86 ± 0,95	1,98 ± 0,01	1,16 ± 0,00
	Selülaz	12	3	7.22 ± 5.66	6.14 ± 10.5	2.03 ± 0.58	2.09 ± 1.04	5.80 ± 4.57	5.86 ± 1.74	4,18 ± 2,19	2,66 ± 1,04	3,19 ± 3,20	2,00 ± 0,12	1,16 ± 0,00
		24	3	8.22 ± 1.56	5.22 ± 0.20	2.02 ± 0.67	2.81 ± 1.22	6.26 ± 3.71	7.79 ± 6.06	4,97 ± 2,73	2,93 ± 0,10	4,22 ± 2,48	2,04 ± 0,17	1,16 ± 0,02
	Papain	12	3	8.70 ± 1.51	3.70 ± 5.98	1.93 ± 0.49	1.74 ± 0.11	4.99 ± 2.03	6.22 ± 3.72	3,82 ± 2,21	2,58 ± 0,42	2,62 ± 0,45	1,98 ± 0,01	1,16 ± 0,00
		24	3	7.38 ± 3.16	4.41 ± 2.74	1.85 ± 0.79	1.63 ± 0.29	4.05 ± 1.96	5.61 ± 2.21	3,79 ± 1,65	2,53 ± 0,26	2,54 ± 0,07	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00
Çöpaşı	Kontrol	12	3	4.60 ± 6.15	6.44 ± 9.87	1.98 ± 0.83	1.98 ± 1.92	5.35 ± 5.47	7.80 ± 9.41	4,25 ± 3,65	3,10 ± 1,53	3,58 ± 2,77	1,99 ± 0,08	1,16 ± 0,02
		24	3	8.31 ± 0.31	4.01 ± 4.48	1.93 ± 0.14	1.89 ± 0.74	5.31 ± 3.45	6.63 ± 1.81	3,89 ± 1,23	2,83 ± 1,12	3,30 ± 2,28	1,98 ± 0,02	1,16 ± 0,00
	Selülaz	12	3	7.82 ± 5.20	4.69 ± 4.57	2.00 ± 0.81	1.59 ± 0.78	4.89 ± 6.26	5.76 ± 3.91	3,58 ± 0,89	2,78 ± 1,56	3,04 ± 2,18	2,06 ± 0,35	1,16 ± 0,00
		24	3	7.07 ± 4.38	5.27 ± 4.65	1.98 ± 0.48	2.18 ± 1.39	5.47 ± 1.77	5.91 ± 1.52	4,41 ± 1,47	2,79 ± 0,87	3,15 ± 1,90	1,99 ± 0,03	1,16 ± 0,00
	Papain	12	3	8.42 ± 2.88	4.52 ± 1.80	2.02 ± 0.27	1.60 ± 0.40	5.14 ± 5.45	5.76 ± 3.55	3,74 ± 0,88	2,88 ± 1,10	3,15 ± 3,47	1,99 ± 0,00	1,16 ± 0,00
		24	3	8.64 ± 1.07	3.51 ± 6.72	1.89 ± 0.37	1.82 ± 0.20	5.09 ± 1.38	6.54 ± 1.89	4,45 ± 1,71	3,21 ± 0,56	3,26 ± 0,70	1,98 ± 0,00	1,16 ± 0,00

Yağlık çeşidinde; kontrol, selüloz, papain örneklerinde ortalama 5.08, 5.68, 4.05 mg/kg tirozol bulunmuştur. Yağlık çeşidinde kontrol ve selüloz enzimi ilave edilen örneklerin tirozol içeriği 12 saat bekletilen örneklerde 5.50, 6.14 mg/kg iken; 24 saat bekletilen örneklerde 4.66, 5.22 mg/kg olarak düşüş göstermiştir. Papain enzimi ilave edilen örnekte ise 12 saat işleme tâbi tutulan örneğin tirozol içeriği 3.70 mg/kg iken, 24 saat işleme tâbi tutulan örneğin tirozol içeriğinin 4.41 mg/kg'a yükseldiği belirlenmiştir. Yağlık çeşidi tirozol içeriği sonuçlarında dalgalanmalar görülmüştür. Gemlik çeşidinde kontrole göre 12 saat malaksasyonda enzim ilavesiyle bekletilmesi sonucu elde edilen zeytinyağı örneklerinin tirozol içeriğinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gemlik çeşidi 12 saat bekletilen kontrol örneğinin tirozol içeriği 3.48 mg/kg olarak bulunmuştur. Enzim uygulaması sonucu selüloz enzimi ilavesiyle 6.18 mg/kg'a, papain enzimi ilavesiyle 6.27 mg/kg'a yükseldiği gözlemlenmiştir. Gemlik çeşidi 24 saat işlem gören örneklerde ise durum tam tersi olup enzim ilavesi yapılan örneklerde tirozol içeriği daha yüksek sonuçlar vermiştir. Ayvalık çeşidinde en yüksek tirozol içeriğinin 5.24 mg/kg ile 12 saat papain enzimiyle bekletilip preslenen örneğe ait olduğu saptanmıştır. Ayvalık çeşidinde kontrol örneklerine göre papain ilave edilen örneklerin tirozol içeriği daha yüksek bulunmuştur. Selüloz ilave edilen örneklerin ise tirozol içeriklerinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Tirozol miktarının zeytin çeşidine göre farklılık gösterdiği ve yapılan bir çalışma da Portekiz zeytin çeşitlerinde tirozolün çok az miktarda veya hiç olmadığı bildirilmiştir (Kayahan ve Tekin, 2006).

Farklı çeşit zeytinlerden enzim ekstraksiyonu yoluyla elde edilen zeytinyağı örneklerinin oleuropein içeriklerine bakıldığında; 2.62 ile 4.32 mg/kg arasında değiştiği görülmüştür. Ayvalık, Gemlik, Yağlık ve Çöpaşı çeşitlerinin oleuropein içerikleri 12 saat bekletilen kontrol örneklerinde sırasıyla 3.01, 2.97, 2.59, 3.58 mg/kg olarak saptanmıştır. Bu dört çeşit zeytinyağına 12 saat selüloz uygulanması sonucu oleuropein içerikleri sırasıyla 2.77, 2.94, 3.19, 3.04 mg/kg olarak tespit edilmiştir. 12 saat papain uygulaması sonucu ise oleuropein içerikleri sırasıyla 3.69, 3.53, 2.62, 3.15 olarak bulunmuştur.

24 saat selüloz enzimi uygulanmış Ayvalık zeytinyağlarının oleuropein içeriği 4.32 mg/kg olup, bu değerin Çizelge 4.5.1.'de ki en yüksek oleuropein değeri olduğu belirlenmiştir. Bu durum sonucunda çeşitler arasında en acı lezzete sahip olan zeytinyağının 24 saat selüloz enzimi uygulanan Ayvalık örneği olduğu tahmin edilmektedir. Gemlik çeşidi zeytinyağlarının 24 saat bekletilmesi sonucu elde edilen zeytinyağlarının oleuropein içeriğinin enzim ilavesi sonucu arttığı belirlenmiştir. Yağlık

çeşidinde en fazla oleuropein içeriği 24 saat selülaaz uygulanan örnekte olup, en az oleuropein içeriği ise 2.54 mg/kg ile 24 saat papain enzimi uygulaması sonucu elde edilmiştir. Çöpaşı çeşidinde ise 24 saat süre uygulamasının oleuropein içeriğinde gözle görülür bir fark oluşturmadağı görülmüştür. 12 saat süre uygulaması sonucu Çöpaşı çeşidinde oleuropein içeriği 24 saat sonunda elde edilen örneklerin oleuropein içeriğine göre daha fazla düşüş göstermiştir.

Hidroksitirozolden sonra en yüksek değerlere sahip ikinci fenolik bileşenin verbaskozit olduğı belirlenmiştir. Çizelge 4.5.1.'de Ayvalık çeşidi zeytinyağlarının verbaskozit içerikleri incelendiğinde, 12 saat malaksasyonda bekletilen kontrol örneğinde 6.46 mg/kg, selülaaz enzimi ilavesi sonucu 5.53 mg/kg, papain enzimi ilavesi sonucunda ise 7.29 mg/kg olduğı tespit edilmiştir. Selülaaz enzimi uygulamasıyla verbaskozit içeriği daha düşük bulunmuş olsada, papain enzimi uygulaması sonucu daha yüksek bulunmuştur. Ayvalık çeşidine 24 saat enzim uygulanmasıyla verbaskozit içeriğinde artış olduğı görülmüştür. Ayvalık çeşidinde en yüksek verbaskozit değeri 7.67 mg/kg ile 24 saat papain enzimi uygulaması yapılan örnekte tespit edilmiştir. Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinde kontrol, selülaaz ve papain ilaveli örneklerin 12 saat bekletilmesi sonucu Fenolik bileşen analizinde verbaskozit içerikleri sırasıyla 6.48, 5.77, 6.46 mg/kg; 24 saat bekletilmesi sonucu ise sırasıyla 6.36, 5.62, 7.51 mg/kg olarak bulunmuştur. Ayvalık çeşidinde de görüldüğü gibi Gemlik çeşidi zeytinyağlarında da selülaaz enzimi uygulaması ile verbaskozit miktarı azalırken, papain enzimi uygulaması sonucu artış gözlenmiştir. Yağlık çeşidinde verbaskozit içeriği diğerlerinden daha farklı sonuçlar göstermiştir. 12 saat bekletilen Yağlık kontrol örneğinde 5.18 mg/kg olan miktar, selülaaz uygulamasıyla 5.86 mg/kg'a, papain enzimi uygulaması sonucu ise 6.22 mg/kg'a yükselmiştir. Yağlık çeşidinde en yüksek verbaskozit miktarının 7.79 mg/kg olduğı ve bu değerin 24 saat papain enzimi uygulaması yapılan örneğe ait olduğı bulunmuştur. Çöpaşı çeşidinde ise kontrolde 12 ve 24 saat olmak üzere sırasıyla 7.80 ve 6.63 mg/kg olan verbaskozit miktarı, selülaaz ve papain enzimi uygulaması sonucu azalma göstermiştir. Çöpaşı çeşidinde en düşük verbaskozit miktarı 5.76 mg/kg olup, 12 saat selülaaz ve papain enzimi uygulaması sonucu elde edilmiştir.

Çeşitlere göre rutin trihidrat verileri değerlendirildiğinde Ayvalık çeşidi zeytinyağlarında 4.31 ile 6.44 mg/kg arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Gemlik çeşidi zeytinyağlarına bakıldığında rutin trihidrat içeriğinin 4.86 ile 5.62 mg/kg arasında değiştiğı tespit edilmiştir. Yağlık çeşidi zeytinyağlarında da rutin-trihidrat içeriği 3.84 ile 6.26 mg/kg arasında bulunmuştur. Son olarak Çöpaşı çeşidi

zeytinyağlarında ise rutin trihidrat içeriği 4.89 ile 5.47 mg/kg arasında değişim göstermiştir.

Luteolin-7-glikozit içerikleri Çizelge 4.5.1.'de görüldüğü gibi 3.51 ile 4.97 mg/kg arasında değişim göstermiştir. Çeşitler arasında en düşük luteolin-7-glikozit içeriğinin Yağlık çeşidi 12 saat bekletilen kontrol örneğine ait olduğu belirlenmiştir. En yüksek luteolin-7-glikozit içeriğinin ise 4.97 mg/kg ile Yağlık çeşidi 24 saat selülaaz enzimi uygulanan örneğe ait olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5.1.'de Apigenin-7-glikozit miktarı sonuçları değerlendirmeye alındığında 4 farklı çeşit zeytinyağının sonuçları 2.51 ile 3.21 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Enzim uygulaması ile Apigenin-7-glikozit içerikleri arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır.

Fenolik bileşen analizi sonucunda bulunan kafeik asit içerikleri 1.80 ile 2.11 mg/kg arasında değişim göstermiştir. Sirinjik asit miktarları ise 1.59 ile 2.81 arasında değerler almıştır. Ayvalık ve Gemlik çeşidi zeytinyağı örneklerinde 12 saat selülaaz enzimi etkisiyle sirinjik asit içeriğinde azalma gözlenirken, papain enzimi etkisi sonucu artış gözlenmiştir. Yağlık ve Çöpaşı çeşidi zeytinyağlarında ise enzim etkisiyle önemsenmeyecek kadar küçük artışlar meydana gelmiştir.

Fenolik bileşen analizi sonuçlarında luteolin içeriği sonuçları çeşitler değerlendirmeye alındığında ortalama 1.98 mg/kg olarak tespit edilmiştir. *trans*-Sinamik asit miktarları ise bütün çeşitlerde aynı olup 1.16 mg/kg olarak bulunmuştur.

Üç çeşit zeytin hamuruna pektolitik enzimlerin ilavesiyle yapılmış bir çalışmada üretilen zeytinyağlarında yapılan analizler sonucu, zeytinyağlarının daha yüksek toplam polifenol ve orto-difenol içerikleri sergiledikleri gözlemlenmiştir. Benzer sonuçlar tirozol ve hidroksitirozol için de gözlenmiştir. Zeytin hamurlarının enzimatik sistemle işleminden geçirilmesiyle elde edilen yağlar için fenolik maddelerin yüksek olması, enzimin zeytin meyvesinin kompleks moleküler yapıları üzerine uygulayabildiği biyokimyasal etkiye atfedilebileceğini göstermiştir (Ranalli ve De Mattia, 1997). Zeytinyağı ekstraksiyonunda enzim denemesi yapılmış bir başka çalışma da ise; fenolik bileşen analizi sonucu hidroksitirozol, tirozol ve luteolin içerikleri kontrol örneklerinde sırasıyla (mg/kg) 0.6, 1.6, 6.2 bulunmuşken, enzim ekstraksiyonu sonucu 1.0, 2.0, 6.6 mg/kg olarak daha yüksek içerikte bulunmuştur (García ve ark., 2001). Vierhuis ve ark. (2001) ise sızma zeytinyağının mekanik ekstraksiyon işlemi sırasında hücre duvarı tahrip edici enzim preparatlarının kullanımının fenolik bileşikler ve polisakkaritler üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Ticari enzim preparatlarının eklenmesinin, fenolik

bileşiklerin polisakkaritlerle kompleksleşmesini azalttığını ve böylece fenolik bileşiklerin yağda salınımının arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi genelde enzim kullanımı sonucu fenolik bileşen içeriklerinde artış gözlenmiştir. 24 saat muamele edilen örneklerde enzim kullanılan örneklerin bazılarında düşüş olmasının sebebinin sadece süre veya enzimden kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Zeytin çeşidinde fenolik bileşen üzerinde enzimlerin etkisinin olduğu söylenebilir.



5. SONUÇLAR

Çalışmamızın amacı zeytinyağı üretiminde sağlığa zararı olmayan, çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemi ile mümkün olduğu kadar yüksek verimle kaliteli yağ elde etmektir. Bunun için enzim destekli ekstraksiyon yönteminden yararlanılmıştır. Zeytinlerden Malaksasyon aşamasında iki farklı enzim kullanılarak manuel soğuk pres yardımıyla zeytinyağları çıkarılarak örnekler hazırlanmıştır. Elde edilen zeytinyağı örneklerinde fizikokimyasal ve biyoaktif bileşen analizleri yapılmıştır.

Zeytinyağında kalite parametrelerinden biri olan serbest yağ asidi sonuçları değerlendirildiğinde; kontrol ve selüloz örnekleri %2'nin altında değerler alırken, papain denemesi yapılan örneklerin asitlikleri çok daha yüksek bulunmuştur. Ayvalık, Yağlık ve Çöpaşı zeytin çeşitlerinde 12 saatte selüloz enzimi kullanımı asitliği düşürürken, papain enzimi kullanımı asitliği çok yükseltmiştir. Papain enziminin serbest yağ asitliği üzerine olumsuz etki oluşturduğu düşünülmektedir. Bir diğer kalite unsuru olan peroksit değerleri incelendiğinde, Çöpaşı zeytin çeşidi diğer çeşitlere göre yine en yüksek sonuçları vermiştir. Her iki enzim uygulamasının da iki ayrı malaksasyon süresinde peroksit değerini çok düşük de olsa arttırdığı tespit edilmiştir. Zeytin çeşidi ve enzimin etkisinin yanısıra sıcaklık, tampon çözelti, depolama koşulları, muamele süresi uzunluğunun da serbest yağ asidi ve peroksit değeri sonuçlarını olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Enzim ekstraksiyonu sonucu, Gemlik ve Yağlık çeşidi zeytinyağı örneklerinin 12 saat süre uygulamasında her iki enzimle de yağ verimini arttırdığı gözlenmiştir. Ayvalık çeşidi hariç diğer çeşitlerde 24 saat enzim uygulaması sonucu yağ veriminde bir azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın sebebi olarak muamele süresinin uzaması ile enzimlerin sıcaklık ve su varlığında diğer enzimleri aktif hale getirerek yağın parçalanmasına sebep olması gösterilebilir. Çöpaşı çeşidinde ise yağ verimi sonuçlarında önemli bir değişiklik olmamıştır.

İncelenen L^* , a^* ve b^* değerlerinde çeşitler arasında en güzel parlaklık ve renk değerleri Gemlik çeşidinde görülmüştür. Tüm çeşitler için 12 saat muamele süresi olumlu sonuçlar verirken 24 saat muamele süresi değerlerde düşüş olmasına neden olmuştur. Enzim çeşidinin renk üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir.

Çeşitler arasında tokoferol içeriği en yüksek Ayvalık çeşidi zeytinyağı örneklerinde tespit edilmiştir. Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde selüloz enzimi kullanımı tokoferol içeriğini olumlu yönde arttırmıştır. Papain enzimi diğer analizlerde de olduğu

gibi sonuçlarda dalgalanmalara sebep olduğundan enzim ekstraksiyonu için önerilmemektedir.

Zeytinyağı örneklerinin yağ asidi kompozisyonuna bakıldığında oleik, palmitik, linoleik ve stearik asit en yüksek değerlerde bulunan bileşenlerdir. Genel olarak çeşitler arasında süre ve enzim uygulamasıyla sonuçlar artan yönde değerler olsa da, selüloz enzimi yağ asidi kompozisyonu üzerinde önemli bir etki yaratmamıştır. Diğer analiz sonuçlarının aksine yağ asidi kompozisyonunda Çöpaşı çeşidinin en yüksek yağ asidi içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Hidroksitirozol, tirozol, rutin trihidrat ve verbaskozit gibi fenolik bileşenlerde enzim uygulamasıyla genellikle artış gözlense de selüloz enzimiyle 12 saat muamele edilen örnekler kontrole göre düşük sonuçlar vermiştir. Hidroksitirozol ve tirozol sonuçlarının enzim ekstraksiyonu ile arttığı örneklerde oleuropein içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir.

6. ÖNERİLER

Fizikokimyasal açıdan bakıldığında papain enzimi zeytinyağı ekstraksiyonu için olumsuz sonuçlar doğurmuştur. Selüloz enzimi ise serbest asitlik ve peroksit değerinde artışa sebep olsada, diğer analiz sonuçlarıyla kıyaslandığında selüloz enziminin kullanımı önerilebilir. Çünkü analiz sonuçlarındaki olumsuz artışların tek sebebinin enzim kullanımı olmadığı, ortam sıcaklığı, muamele süresi, depolama koşulları, oksidasyona maruz kalması gibi durumlarında olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

İnsan sağlığı üzerine çeşitli yararlı etkisi olan zeytinyağının tüketimi her geçen gün artmaktadır. Artan tüketici ihtiyaçlarını karşılayabilmek için zeytinyağı üretiminde yardımcı katkı maddesi kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Yardımcı katkı maddesi olarak enzim kullanımı ise giderek yaygınlaşmaktadır. Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi diğer ekstraksiyon yöntemleriyle kıyaslandığında çevre, güvenlik ve insan sağlığı bakımından avantaj sağlamaktadır. Bu yöntem sayesinde zeytinyağı üretiminde de kullanılması uygun olmayan çözücüler kullanılmamış olur. Enzim ekstraksiyonu için malaksasyon sıcaklığı ve süresinin fizikokimyasal açıdan çok önemli olduğu tespit edilmiştir. İyi kalite de yüksek verimle yağ elde etmek için enzimlerin rahatlıkla kullanılabilmesi, fakat enzimlerin çalışabileceği optimum koşullara dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmadan çıkan sonuçlar doğrultusunda enzim ekstraksiyonu için malaksasyon süresinin 12 saati aşmaması ve malaksasyon sıcaklığının ise 40°C'nin altında olması önerilmektedir. Ayriyeten her enzimin çalışma koşullarının ve optimum çalışma pH'sının farklı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Alba Mendoza, J., Izquierdo, J. ve Gutiérrez Rosales, F., 1997, Aceite de olive virgen: Análisis sensorial (Editorial Agrícola Española, SA Artes Gráficas COIMOFF, SA Madrid).
- Alpay, P., 2014, Manyetik nanopartiküllere papain enziminin immobilizasyonu ve proteinlerin enzimatik hidrolizinde kullanımı, *Adnan Menderes Üniversitesi*.
- Anonim, Fatty acids, <https://www.oliveoilsource.com/page/chemical-characteristics>, [25 Haziran].
- Anonim, 1973, Yemeklik zeytinyağı muayene metotları (Methods of analysis for edible olive oils), *Türk Standartları Enstitüsü*, p.
- Anonim, 2018, 2017 yılı zeytin ve zeytinyağı raporu, *Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü*, 4-5.
- AOAC, 1990, Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists(15th Edition), AOAC International Suite Suit 400, 2200 Wilson Boulevard Arlington, Virginia. USA, p.
- Armutcu, F., Namuslu, M., Yüksel, R. ve Kaya, M., 2013, Zeytinyağı ve sağlık: Biyoaktif bileşenleri, antioksidan özellikleri ve klinik etkileri, *Konuralp Tıp Dergisi*, 5 (1), 60-68.
- Avcı, H., Uğur, Y. ve Erdoğan, S., 2018, Evaluation of fatty acid compositions and physicochemical quality parameters of ancient and recent olive (*Olea europaea* L.) oil varieties of Southeast Anatolia, *International Journal of Chemistry Technology*, 2 (2), 76-88.
- Bayer, E. A., Shimon, L. J., Shoham, Y. ve Lamed, R., 1998, Cellulosomes—structure and ultrastructure, *Journal of Structural Biology*, 124 (2-3), 221-234.
- Beltrán, G., del Rio, C., Sánchez, S. ve Martínez, L., 2004, Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from cv. Picual, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52 (11), 3434-3440.
- Chih, H. J., James, A. P., Jayasena, V. ve Dhaliwal, S. S., 2012, Addition of enzymes complex during olive oil extraction improves oil recovery and bioactivity of Western Australian Frantoio olive oil, *International Journal of Food Science Technology*, 47 (6), 1222-1228.
- Çevik, S., Ozkan, G. ve Kıralan, M., 2016, Optimization of malaxation process using major aroma compounds in virgin olive oil, *Brazilian Archives of Biology Technology*, 59.
- Çevik, Ş., Özkan, G. ve Kıralan, M., 2015, Çeşit, olgunluk ve yoğurma şartlarının zeytinyağı verimi, bazı kalite parametreleri ve aroma profili üzerine etkisi, *Akademik Gıda*, 13 (4), 335-347.
- Dell'agli, M. ve Bosisio, E., 2002, Minor polar compounds of olive oil: composition, factors of variability and bioactivity, In: *Studies in Natural Products Chemistry*, Eds: Elsevier, p. 697-734.
- Demirci, A. Ş., Taşan, M. ve Gülcü, M., 2008, Zeytinyağlarında önemli bir minör bileşen olarak squalen. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*. Edremit-Balıkesir: 122-125.
- Dominguez, H., Nunez, M. ve Lema, J., 1993, Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: range of operational variables, *Food Chemistry*, 46 (3), 277-284.
- Erinç, H. ve Kıralan, M., 2008, Zeytinyağı bileşiminin oksidatif stabiliteye etkisi. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*. Edremit-Balıkesir: 168.
- Fang, X., Fei, X., Sun, H. ve Jin, Y., 2016, Aqueous enzymatic extraction and demulsification of camellia seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) and the oil's physicochemical properties, *European Journal of Lipid Science Technology*, 118 (2), 244-251.
- Foscolou, A., Critselis, E. ve Panagiotakos, D., 2018, Olive oil consumption and human health: A narrative review, *Maturitas*.
- García, A., Brenes, M., Moyano, M. a. J., Alba, J., García, P. ve Garrido, A., 2001, Improvement of phenolic compound content in virgin olive oils by using enzymes during malaxation, *Journal of Food Engineering*, 48 (3), 189-194.

- Gavahian, M., Khaneghah, A. M., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Garcia-Mantrana, I., Carmen Collado, M., Melendez-Martinez, A. J. ve Barba, F. J., 2019, Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases, *Trends in Food Science Technology*, 88, 220-227.
- Genovese, A., Yang, N., Linforth, R., Sacchi, R. ve Fisk, I., 2018, The role of phenolic compounds on olive oil aroma release, *Food Research International*, 112, 319-327.
- Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A.-H. ve Saari, N., 2012, Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review, *International journal of molecular sciences*, 13 (3), 3291-3340.
- Giner, E., Recio, M. C., Ríos, J. L., Cerdá-Nicolás, J. M. ve Giner, R. M., 2016, Chemopreventive effect of oleuropein in colitis-associated colorectal cancer in c57bl/6 mice, *Molecular nutrition food research*, 60 (2), 242-255.
- Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crişan, G. ve Ferreira, I. C., 2019, Enzyme-assisted extractions of polyphenols—a comprehensive review, *Trends in Food Science Technology*.
- Hadj-Taieb, N., Grati, N., Ayadi, M., Attia, I., Bensalem, H. ve Gargouri, A., 2012, Optimisation of olive oil extraction and minor compounds content of Tunisian olive oil using enzymatic formulations during malaxation, *Biochemical Engineering Journal*, 62, 79-85.
- Haliskaranfil, S. ve Arıkan, B., 2012, Termoalkalik amilaz ve selüloz enzim (multienzim) üreticisi *Bacillus* sp. izolasyonu, enzimlerin karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulanabilirliği, *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 28-3.
- Hepsağ, F. ve Ruken, K., 2018, Natürel Zeytinyağı Üretim Aşamalarının Aroma Bileşenleri Üzerine Etkileri, *Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8 (1/2), 47-58.
- Hişil, Y., 1998, Instrumental Analysis Techniques (Eng Fac Publ 55), *Bornova, İzmir: Ege University (in Turkish)*, p.
- Iconomou, D., Arapoglou, D. ve Israilides, C., 2010, Improvement of phenolic antioxidants and quality characteristics of virgin olive oil with the addition of enzymes and nitrogen during olive paste processing, *Grasas Y Aceites*, 61 (3), 303-311.
- Işık, B., 2014, Biyosensörlere farklı bir bakış açısı: Enzim aktivitesi tayinlerine yönelik sistemler, *Namık Kemal Üniversitesi*.
- Kahyaoglu, T. ve Kaya, S., 2006, Modeling of moisture, color and texture changes in sesame seeds during the conventional roasting, *Journal of Food Engineering*, 75 (2), 167-177.
- Kaplan, M. ve Arıkan, S. K., 2017, Antikçağdan günümüze bir şifa kaynağı: Zeytin ve zeytinyağının halk tıbbında kullanımı, *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 52 (2).
- Kayahan, M. ve Tekin, A., 2006, Zeytinyağı üretim teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, p. 70-120.
- Kiritsakis, A., Elizabeth, L. B., Ruben, H. J. ve Walter, W. C., 1998, Olive Oil From the Tree to the Table *Food & Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut*, p.
- Kıvrak, M., 2019, Zeytincilik ve zeytin işleme teknolojisi programı, <http://www.mucahitkivrak.com.tr/>, [20 Ağustos 2019].
- Köylüoğlu, F. ve Özkan, G., 2012, Yardımcı katkı maddeleri kullanımının zeytinyağı verim ve kalite parametreleri üzerine etkisi, *Electronic Journal of Food Technologies*, 7 (3), 32-45.
- Liu, J.-j., Gasmalla, M. A. A., Li, P. ve Yang, R., 2016, Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application, *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 35, 184-193.
- Lopez-Huertas, E., 2010, Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies, *Pharmacological Research*, 61 (3), 200-207.

- Lopez, S., Bermudez, B., Montserrat-de la Paz, S., Jaramillo, S., Varela, L. M., Ortega-Gomez, A., Abia, R. ve Muriana, F. J., 2014, Membrane composition and dynamics: a target of bioactive virgin olive oil constituents, *Biochimica et Biophysica Acta -Biomembranes*, 1838 (6), 1638-1656.
- Man, Y. C., Asbi, A., Azudin, M. ve Wei, L., 1996, Aqueous enzymatic extraction of coconut oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (6), 683-686.
- Montedoro, G., Bertuccioli, M. ve Petrouccioli, G., 1976, The effects of treatment with enzymatic preparations and tannin phenolic absorbent agents in extracting the olive oil by single pressure process on the oil yield, on the analytical characteristics of the oils of the vegetation waters and of the waste waters, *Acta vitaminologica et enzymologica*, 30 (3), 13-27.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. ve Miniati, E., 1992, Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil, their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 40 (9), 1571-1576.
- Nadar, S. S., Rao, P. ve Rathod, V. K., 2018, Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review, *Food Research International*, 108, 309-330.
- Najafian, L., Ghodsvali, A., Khodaparast, M. H. ve Diosady, L. L., 2009, Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes, *Food Research International*, 42 (1), 171-175.
- Nas, S., Gökalp, H. Y. ve Ünsal, M., 1992, Bitkisel yağ teknolojisi, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi*, p. 123.
- Oliveras-López, M. J., Granados, J. J. Q., Bermudo, F. M., de la Serrana, H. L. G. ve Martínez, M. d. C. L., 2008, Influence of milling conditions on the α -tocopherol content of Picual olive oil, *European Journal of Lipid Science Technology*, 110 (6), 530-536.
- Özata, E. ve Cömert, M., 2016, Zeytinyağı ve sağlıklı yaşam, *Zeytin Bilimi*, 6 (2), 105-110.
- Pacetti, D., Scortichini, S., Boarelli, M. C. ve Fiorini, D., 2019, Simple and rapid method to analyse squalene in olive oils and extra virgin olive oils, *Food Control*, 102, 240-244.
- Pagliarini, E. ve Rastelli, C., 1994, Sensory and instrumental assessment of olive oil appearance, 2 (20133), 62-64.
- Pirisi, F. M., Cabras, P., Cao, C. F., Migliorini, M. ve Muggelli, M., 2000, Phenolic compounds in virgin olive oil, reappraisal of the extraction, HPLC separation, and quantification procedures, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48 (4), 1191-1196.
- Polmann, G., Badia, V., Frena, M., Teixeira, G. L., Rigo, E., Block, J. M. ve Feltes, M. M. C., 2019, Enzyme-assisted aqueous extraction combined with experimental designs allows the obtaining of a high-quality and yield pecan nut oil, *LWT*, 113, 108283.
- Portarena, S., Leonardi, L., Scartazza, A., Lauteri, M., Baldacchini, C., Farinelli, D., Famiani, F., Ciolfi, M. ve Brugnoli, E., 2019, Combining analysis of fatty acid composition and $\delta^{13}\text{C}$ in extra-virgin olive oils as affected by harvest period and cultivar: Possible use in traceability studies, *Food Control*, 105, 151-158.
- Rallo, L., Díez, C. M., Morales-Sillero, A., Miho, H., Priego-Capote, F. ve Rallo, P., 2018, Quality of olives: A focus on agricultural preharvest factors, *Scientia Horticulturae*, 233, 491-509.
- Ranalli, A. ve Serraiocco, A., 1996, Quantitative and qualitative effects of a pectolytic enzyme in olive oil production, *Grasas Y Aceites*, 47 (4), 227-236.
- Ranalli, A. ve De Mattia, G., 1997, Characterization of olive oil produced with a new enzyme processing aid, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74 (9), 1105-1113.
- Ranalli, A., Sgaramella, A. ve Surricchio, G., 1999, The new "Cytolase 0" enzyme processing aid improves quality and yields of virgin olive oil, *Food Chemistry*, 66 (4), 443-454.

- Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Lucera, L. ve Del Re, P., 2003, Enhancing the quality of virgin olive oil by use of a new vegetable enzyme extract during processing, *European Food Research Technology*, 216 (2), 109-115.
- Ranalli, A., Lucera, L., Contento, S., Simone, N. ve Del Re, P., 2004, Bioactive constituents, flavors and aromas of virgin oils obtained by processing olives with a natural enzyme extract, *European Journal of Lipid Science Technology*, 106 (3), 187-197.
- Ranalli, A., Malfatti, A., Lucera, L., Contento, S. ve Sotiriou, E., 2005, Effects of processing techniques on the natural colourings and the other functional constituents in virgin olive oil, *Food Research International*, 38 (8-9), 873-878.
- Ryan, D. ve Robards, K., 1998, Critical Review. Phenolic compounds in olives, *Analyst*, 123 (5), 31R-44R.
- Servili, M. ve Montedoro, G., 2002, Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality, *European Journal of Lipid Science Technology*, 104 (9-10), 602-613.
- Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S. ve Montedoro, G., 2003, Volatile compounds and phenolic composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time of exposure of olive pastes to air contact during the mechanical extraction process, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51 (27), 7980-7988.
- Sevim, D., 2011, Antioksidanlar ve zeytinyağı, *Zeytin Bilimi*, 2 (1), 43-47.
- Sofi, F., Cesari, F., Abbate, R., Gensini, G. F. ve Casini, A., 2008, Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis, *Bmj*, 337, a1344.
- Tano-Debrah, K. ve Ohta, Y., 1994, Enzyme-assisted aqueous extraction of fat from kernels of the shea tree, *Butyrospermum parkii*, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71 (9), 979-983.
- Topuz, U., Kiran, Ö. E. ve Çömlekçiöğlu, U., 2007, Selüloz üreticisi *Bacillus* suşlarının enzimatik özelliklerinin araştırılması, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 10 (2), 13-16.
- Vierhuis, E., Servili, M., Baldioli, M., Schols, H. A., Voragen, A. G. ve Montedoro, G., 2001, Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49 (3), 1218-1223.
- Vinha, A. F., Ferreres, F., Silva, B. M., Valentao, P., Gonçalves, A., Pereira, J. A., Oliveira, M. B., Seabra, R. M. ve Andrade, P. B., 2005, Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin, *Food Chemistry*, 89 (4), 561-568.
- Yemişçiöğlu, F., Gümüşkesen, A. ve Otağ, R., 2001, Zeytinyağı üretiminde kullanılan sürekli sistemler ve bu sistemlerin klasik presleme yöntemi ile karşılaştırılması, *TMMOB Gıda Mühendisliği Dergisi*, 9, 26-31.
- Yıldız, G. ve Uylaşer, V., 2011, Doğal bir antimikrobiyel: oleuropein, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25 (1), 131-142.
- Yorulmaz, A. ve Tekin, A., 2008, Zeytin ve zeytinyağı fenolikleri. I. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi. Edremit-Balıkesir: 24-31.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fadimana MOTUK
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya / 06.09.1993
Telefon : 05327486203
Faks :
e-mail : fdmngndz@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Özel Envar Lisesi / KONYA	2011
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu/KONYA	2017
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu/KONYA	2020

YABANCI DİLLER

İngilizce (Yökdil: 43,75)

YAYINLAR

Özcan, M. M., Motuk, F., 2019, Papain Enziminin Soğuk Pres Zeytin Yağlarının (Ayvalık, Yağlık) Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi, *4th International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Congress*, Afyon, 57-62