



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NATÜREL BİRİNCİ ZEYTİNYAĞININ LAVANDULA
STOECHAS BİTKİ EKSTRESİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

ELİF KANIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BESLENME VE BİYOKİMYASI PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞERİN TETİK

İSTANBUL-2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NATÜREL BİRİNCİ ZEYTİNYAĞININ *LAVANDULA*
STOECHAS BİTKİ EKSTRESİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

ELİF KANIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BESLENME VE BİYOKİMYASI PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞERİN TETİK

İSTANBUL-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

ELİF KANIK

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve bu çalışmanın her aşamasında yardım, katkı ve desteğini esirgemedi beni yönlendiren, bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım danışman hocam **Prof.Dr. Sayın Şermin TETİK'e**,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca katkılarından dolayı **Prof. Dr. Sayın Derya ÖZSAVCI** ve **Doç. Dr. Sayın Özlem BİNGÖL ÖZAKPINAR'a**,

Tezin deneysel aşamalarında bana büyük yardımları olan, bilgilerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen **Doç. Dr. Ali ŞEN** ve **Dr. Öğr. Üyesi Turgut ŞEKERLER'e**,

Çalışmalarımızı birlikte yürüttüğümüz değerli arkadaşlarım **Arş. Gör. Melike SARE BULUT** ve **Arş. Gör. Gamze Nur ÖTER'e**,

Ayrıca çalışmalarım süresince ilgi, sabır ve manevi desteklerini eksik etmeyen sevgili babam **Abdullah KANIK**, annem **Meliha KANIK**, kardeşim **Ece KANIK** ve çok değerli arkadaşım **Dyt. Hatice GÖK'e** teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
RESİMLER LİSTESİ.....	xiv
1. ÖZET	15
2. SUMMARY	16
3. GİRİŞ ve AMAÇ	17
4. GENEL BİLGİLER.....	19
4.1. Zeytinyağı.....	19
4.1.1. Zeytinyağının sınıflandırılması	21
4.1.1.1. Natürel zeytinyağları	21
4.1.1.2. Rafine zeytinyağı.....	22
4.1.1.3. Riviera zeytinyağı.....	22
4.1.1.4. Yemeklik rafine prina yağı.....	22
4.1.1.5. Prina yağı:.....	22
4.2. Zeytinyağının Bileşenleri	23
4.2.1. Triasilgliseroller ve yağ asitleri	23
4.2.2. Polifenoller.....	24
4.2.3. Antioksidanlar	25
4.2.4. Steroller	26
4.2.5. Pigmentler	26

4.2.6.	Aroma bileşikleri.....	27
4.3.	Zeytinyağının İnsan Sağlığına Etkileri.....	28
4.3.1.	Zeytinyağı ve Akdeniz diyeti	31
4.3.2.	Zeytinyağının oksidatif stabilitesi	33
4.3.3.	Natürel birinci zeytinyağı.....	36
4.4.	Oksidasyon	37
4.4.1.	Oto-oksidasyon mekanizması	38
4.4.2.	Serbest radikaller.....	39
4.5.	Lipit Oksidasyonu	46
4.5.1.	Enzimatik Lipit Oksidasyonu.....	50
4.5.2.	Non-Enzimatik Lipit Oksidasyonu	51
4.5.1.	Lipit oksidasyonunun insan sağlığına etkisi	56
4.6.	Antioksidanlar	58
4.7.	<i>Lavandula Stoechas</i> Bitkisinin Özellikleri.....	61
5.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	65
5.1.	Kullanılan Kimyasallar.....	65
5.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler.....	65
5.3.	Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	66
5.3.1.	TBA çözeltisinin hazırlanması.....	66
5.3.2.	% 7,5'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisinin hazırlanması.....	66
5.3.3.	Hacimce 3/2'lik kloroform-glasiyel asetik asit çözeltisinin hazırlanması 67	
5.3.4.	Doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisinin hazırlanması	67
5.3.5.	%1 'lik nişasta çözeltisinin hazırlanması	67
5.3.6.	0,1 M sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) çözeltisinin hazırlanması	68
5.4.	Materyal.....	69

5.5. Yöntem	69
5.5.1. <i>Lavandula stoechas</i> bitki ekstresinin hazırlanması.....	69
5.5.2. Natürel Birinci Zeytinyağının <i>Lavandula Stoechas</i> Ekstresi İle Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Zenginleştirilmesi	73
5.5.3. Natürel birinci zeytinyağı örneklerinin termal oksidasyona maruz bırakılması	78
5.6. Natürel birinci zeytinyağı örneklerine uygulanan kimyasal analizler	79
5.6.1. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tayini.....	79
5.6.2. Toplam fenolik bileşik miktar tayini.....	82
5.6.3. Peroksit değeri analizi	85
5.7. Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerine Uygulanan Fiziksel Analizler	88
5.7.1. Natürel birinci zeytinyağı örneklerinin renk değişiminin değerlendirilmesi	88
5.8. İstatistiksel Analiz	90
6. BULGULAR.....	91
6.1. Kimyasal Parametreler	91
6.1.1. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tayini sonuçları	91
6.1.2. Toplam fenolik bileşik miktarı.....	93
6.1.3. Peroksit değeri.....	95
6.2. Fiziksel Parametreler	97
6.2.1. Renk değişimi	97
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	99
8. KAYNAKLAR	106
9. EKLER	117
10. ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

VOO	Natürel birinci zeytinyağı (Virgin Olive Oil)
EVOO	Natürel Sızma Zeytinyağı
MDA	Malondialdehit
ROS	Reaktif oksijen türleri
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri (Poly Unsaturated Fatty Acids)
MUFA	Tekli doymamış yağ asitleri (Mono Unsaturated Fatty Acids)
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
IOOC	Uluslararası Zeytinyağı Konseyi
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
IL	İnterlökin
TNF	Tümör nekroz faktör
HbA1c	Hemoglobin A1c
CRP	C Reaktif Protein
TXB2	Tromboksan B2
LTB4	LTB4
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
BHA	Bütillenmiş hidroksianizol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
TBHQ	Tersiyer bütıl hidrokinon
HT	Hidroksitirozol
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC-MS	Kromatografi-kütle spektrometresi
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasitesi
K232	232 nanometrede özgül soğurma değeri
K270	270 nanometrede özgül soğurma değeri

UV	Ultraviyole
SPPKY	Soğuk pres portakal kabuğu yağı
DKPK	Dondurularak kurutulan portakal kabuğu
HE	Hegzan
AE	Aseton
4-HN	4-hidroksinonenal
TBA	Tiyobarbütirik asit
GSH	Aktif glutatyon
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
TCA	Trikloroasetik asit
HCl	Hidroklorik asit
HOCl	Hipoklorik asit
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
Na ₂ S ₂ O ₃	Sodyum tiyosülfat
KI	Potasyum iyodür
pH	Potansiyel hidrojen
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
TAG	Triaçilgliserol
SYA	Serbest yağ asidi
RA	Romatoid artrit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
KVH	Kardiyovasküler hastalık
OA	Osteoartrit
GİS	Gastrointestinal sistem
E. Coli	Escherichia Coli
Kg	Kilogram
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram

mL	Mililitre
μ l	Mikrolitre
L	Litre
V	Hacim
nm	Nanometre
$^{\circ}$ C	Santigrat
rpm	Dakikadaki devir sayısı
mbar	Milibar
mEq	Milliequivalent
SD	Standart sapma
$\bar{x}$	Ortalama
SPSS	İstatistiksel yazılım platformu (Statistical Package For The Social Sciences)
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
O ₂	Oksijen
¹ O ₂	Singlet oksijen
³ O ₂	Triplet oksijen
O ₃	Ozon
OH	Hidroksil grubu
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ROOH	Hidroperoksit
COOH	Karboksil grubu
LOOH	Lipit hidroperoksiti
R·	Alkil radikali
RO·	Alkoksil radikali
ROO·	Peroksil radikali
RCOO ⁻	Organik peroksit radikali
HO ₂ ⁻	Perhidroksil radikali
OH·	Hidroksil radikali

L·	Lipit radikali
LOO·	Lipit peroksil radikali
RH	Organik molekül
AH	Antioksidan molekül
LH	Doymamış lipit
LOX	Lipooksijenaz
Fe	Demir
Fe (II)	+2 oksidasyon durumundaki demir elementi
Fe (III)	Ferrik
Cu	Bakır
Cu (I)	Bakır (I)
Cu (II)	Bakır (II)
Mo	Molibden

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Oto-oksidasyon Mekanizması	38
Şekil 2. Oksijenin İndirgenme Mekanizması.....	40
Şekil 3. Hidroperoksitler (ROOH)'in Oksidasyon Zincir Reaksiyonlarını Başlatma Mekanizmaları.....	41
Şekil 4. Hidroperoksi Radikallerinin Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve Hidroksil Radikalinin ($OH\cdot$) Reaksiyonundan Oluşma Mekanizması.....	43
Şekil 5. Hidroperoksitin (H_2O_2) Perhidroksil Radikali ($HO_2\cdot$) ve Hidroperoksitin (ROOH) Reaksiyonundan Oluşum Mekanizması.....	44
Şekil 6. Hidroksil Radikalinin ($OH\cdot$) Oluşum Mekanizmaları.....	45
Şekil 7. Demir ve Bakır Metallerinin Prooksidan Olarak Lipit Oksidasyonuna Etkisi	49
Şekil 8. Primer ve Sekonder Antioksidanların Lipit Oksidasyonuna Biyoaktif Etkileri	49
Şekil 9. PUFA'ların Lipit Oksidasyonundan Sekonder Oksidasyon Ürünlerinin Oluşumu	50
Şekil 10. Lipit Oksidasyonunda LOX Enziminin Etkisi.....	51
Şekil 11. Oto-Oksidasyon Mekanizmasının Başlangıç, Yayılma ve Sonlanma Basamakları. [Başlangıç aşamasında, prooksidanlar substrattankarbon merkezli bir lipit radikalini oluşturmak üzere hidrojen atomunu almaktadırlar (1).Yayılma aşamasında lipit radikali hızla oksijenle reaksiyona girerek bir lipit peroksi radikalini oluşturmaktadır (2). Oluşan lipit peroksi radikali başka bir lipit molekülünden hidrojen atomu alarak lipit radikali ve lipit hidroperoksidi oluşturmaktadır (3). Sonlanma aşamasında antioksidanlar lipit peroksi radikale bir hidrojen atomu bağışlayarak radikal olmayan ürünlerin oluşumunu sağlamaktadır (4).].....	53
Şekil 12. Foto-Oksidasyonun Tip 1 Reaksiyon Mekanizması.....	54
Şekil 13. Foto-Oksidasyonun Tip 2 Reaksiyon Mekanizması.....	54
Şekil 14. Primer Antioksidanların Biyoaktif Faaliyet Mekanizması	60
Şekil 15. % 7,5'lik Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) Çözeltisi için Gerekli Distile Su ve Tuz Miktarının Hesplanması	66

Şekil 16. Hacimce 3/2'lik Kloroform-Glasiyel Asetik Asit Çözeltisi için Gerekli Kloroform ve Glasiyel Asetik Asit Miktarlarının Hesaplanması.....	67
Şekil 17. 0,1 M Sodyum Tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) Çözeltisi için Gerekli $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ Tuzu ve Distile Su Miktarlarının Hesaplanması	68
Şekil 18. Distilasyon İşlemiyle Elde Edilen Bitki Ekstresi Veriminin Hesaplanması.	73
Şekil 19. TBARS Tayininde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna Uygun Zeytinyağının Miktarları	75
Şekil 20. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayininde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna	76
Uygun Zeytinyağının Miktarları	76
Şekil 21. Peroksit Değeri Analizinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna Uygun Zeytinyağının Miktarları.	77
Şekil 22. MDA Standart Eğri Grafiği	80
Şekil 23. TBARS Tayininde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal Oksidasyona Maruz Bırakılacak Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması.....	81
Şekil 24. Gallik Asit Standart Eğri Grafiği.....	83
Şekil 25. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayininde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal Oksidasyona Maruz Bırakılan Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması	84
Şekil 26. Peroksit Değeri Analizinde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal.....	86
Oksidasyona Maruz Bırakılacak Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması.	86
Şekil 27. Kontrol Grubu ve <i>Lavandula stoechas</i> Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin MDA Miktarları	92
Şekil 28. Kontrol Grubu ve <i>Lavandula stoechas</i> Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Toplam Fenolik Bileşik Miktarları.....	94
Şekil 29. Kontrol Grubu ve <i>Lavandula stoechas</i> Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Peroksit Değerleri.....	96

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. <i>Lavandula stoechas</i> Bitki Türünün Sistematığı	64
Tablo 2. Distilasyon İşleminde Kullanılan Rotary Evaporatörün Çalışma Koşulları	72
Tablo 3. Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri için Hazırlanan Renk Değişimi	89
Tablosu (Kuru ve ark., 2020'den değiştirilerek kullanılmıştır)	89
Tablo 4. Kontrol Grubu ve <i>Lavandula stoechas</i> Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Renk Değişim Skalası Sonuçları	98



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. <i>Lavandula stoechas</i> bitkisine ait görünümeler.....	63
Resim 2. Maserasyon için Elde Edilen Öğütülmüş <i>Lavandula Stoechas</i> Bitkisi ve % 96'lık Saf Etanol İçeren Karışım.....	70
Resim 3. Maserasyon İşlemine Tabi Tutulan Karışımın Pileli Filtre Kağıdı Yardımıyla Nuçe Erlenine Süzülerek Aktarılması.....	71
Resim 4. Distilasyon İşleminin Gerçekleştirildiği Rotary Evaporatör Cihazı.....	72
Resim 5. Termal Oksidasyona Maruz Bırakılmak Üzere Hazırlanan Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri ve Isıl İşlem İçin Kullanılan Etüv.....	78
Resim 6. TBARS Tayini için Spektrofotometrede 532 nm Dalga Boyunda Okutulmak Üzere Mikroplaklara Konulan Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri.....	80
Resim 7. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini için Gece Boyunca Beklemeye Bırakılan Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri	83
Resim 8. Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Titrimetrik Analizle Peroksit Değeri Analizi	87

1. ÖZET

Tezin Başlığı: Natürel Birinci Zeytinyağının *Lavandula Stoechas* Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmesi

Öğrencinin Adı, Soyadı: Elif KANIK

Danışmanın Adı, Soyadı: Prof. Dr. Şermin TETİK

Programın Adı: Biyokimya (ECZ) Anabilim Dalı, Beslenme ve Biyokimyası

Amaç: Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda *Lavandula stoechas* bitki ekstresi ile zenginleştirilen natürel birinci zeytinyağının lipid oksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin gözlemlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: 20, 40 ve 60 µg/mL konsantrasyonlarında *Lavandula stoechas* bitki ekstresi içerecek şekilde hazırlanan natürel birinci zeytinyağı örnekleri ve ekstre içermeyen natürel birinci zeytinyağı (kontrol grubu) örneği 100°C ve 150 °C sıcaklıklarda termal oksidasyona 0, 30, 60 dakika inkübasyon süreleri ile maruz bırakılmıştır. Kimyasal analizde toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile, antioksidant kapasitesi TBARS tayiniyle ve peroksit değeri titrasyon işlemi ile tayin edilmiştir. Fiziksel analiz 8 panelist tarafından örneklerin renk değişimlerinin değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışma sonuçlarına göre 100 °C’de 0 dakika inkübe edilen 40 µg/mL bitki ekstresi içeren örneğin MDA miktarı kontrol grubuna nazaran önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). 40 µg/mL *Lavandula stoechas* ekstresi içeren 100°C’de 30 dakika inkübe edilen örneğin toplam fenolik bileşik miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0,05$). Peroksit değeri 60 µg/mL ekstre içeren ve 100 °C’de 0 dakika okside edilen örnekte kontrol grubuna kıyasla azalmıştır ($p<0,05$).

Sonuç: Elde edilen veriler neticesinde *Lavandula stoechas* bitki ekstresinin natürel birinci zeytinyağının hızlandırılmış oksidasyon koşullarında toplam fenolik bileşik miktarını, antioksidan aktivitesini ve peroksit değerini koruduğu gözlemlenmiştir. Bitki ekstresi ile zeytinyağı zenginleştirme çalışmalarında *Lavandula stoechas*’ın iyi bir ajan olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Zeytinyağı, *Lavandula stoechas* ekstresi, antioksidan aktivite, oksidatif stabilite, termal lipid oksidasyonu

2. SUMMARY

Title of Thesis: Enrichment of Virgin Olive Oil with *Lavandula Stoechas* Herbal Extract

Student Name, Surname: Elif KANIK

Supervisor Name, Surname: Prof. Dr. Şermin TETİK

Program Name: Department of Biochemistry, Nutrition and Biochemistry

Objective: In this study, the protective effect of natural virgin olive oil containing *Lavandula stoechas* extract against lipid oxidation was aimed to observe.

Material and Methods: Olive oil samples containing *Lavandula stoechas* extract at 20, 40 and 60 µg/mL concentrations, and the control group without extract were oxidized at 100°C and 150°C for 0, 30, 60 minutes. Total phenolic compound amount, antioxidant capacity and peroxide value was determined by Folin-Ciocalteu method, TBARS determination and titration process respectively. Color changes of the samples were evaluated by 8 panelists.

Results: According to the results, MDA amount in the sample containing 40 µg/mL plant extract incubated for 0 minutes at 100°C significantly less than the control group. Total phenolic compound amount increased in the sample incubated for 30 minutes in 100°C containing 40 µg/mL extract compared to the control group. Peroxide value decreased significantly in the sample containing 60 µg/mL extract and oxidized at 100°C for 0 minutes.

Conclusion: It was observed that *Lavandula stoechas* herbal extract preserved the total phenolic compound amount, antioxidant activity and peroxide value of natural first olive oil under accelerated oxidation conditions. *Lavandula stoechas* is thought to be a good agent in olive oil enrichment studies with plant extracts.

Keywords: Olive oil, *Lavandula stoechas* extract, antioxidant activity, oxidative stability, thermal lipid oxidation

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Zeytinyağı ve özellikle natürel birinci zeytinyağı (VOO) , benzersiz yağ asidi profili, insan sağlığını olumlu yönde etkileyen özelliklere sahip fenolik bileşikleri içermesi ve değerli bir aroma profiline sahip olması nedeniyle dünya çapında büyük ilgi görmektedir. Bununla birlikte, VOO bileşimi, zeytin çeşidine, tarla yönetimine, zeytin meyvesinin olgunluk derecesine, hasat ve zeytinyağının kimyasal bileşimine, meyvelerden yağ elde etmek için uygulanan ekstraksiyon teknolojisine bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir ve bu da nihai karakteristik lezzetini etkilemektedir. VOO Akdeniz diyetinin temel bir bileşenidir, dengeli yağ asidi bileşimi ve fenolik bileşiklerin varlığı ve benzersiz duyu kalitesi nedeniyle mükemmel beslenme özellikleri sağlayan bir besindir. Lipit oksidasyonu yenilebilir yağları etkileyen majör sorun olarak kabul edilmektedir. Ayrıca besinlerin kalitesinin bozulmasının temel sebebi olarak değerlendirilmektedir. Besin lipitleri oksidasyona en yatkın olan besin bileşenleridir ve bu sebeple genellikle besinlerin işlenmesi, saklanması, dağıtımı ve hazırlanması gibi aşamalarda oksidasyona bağlı bozulmalar meydana gelebilmektedir. Kimyasal, duyu ve besleyici özellikler olarak tanımlanan besinin (yağların) raf ömrünü, lezzetini, kokusunu, tadını, besin değerini ve genel kalitesini etkilemektedirler. Lipitler oksitlendiğinde, yapılarında oksidasyona daha fazla yatkın olan aldehitler, ketonlar, asitler ve alkoller gibi sekonder reaksiyon ürünlerine ayrılan hidroperoksit adı verilen bileşikler oluşmaktadır. Oluşan sekonder reaksiyon ürünleri yüksek oranda reaktif özellik göstermektedirler. İnsan sağlığına zararlı olan bu ürünlerin oluşumunu ve buna paralel olarak yağların oksidasyona karşı stabilitesini artırmak adına gıda sanyisinde doğal ve sentetik koruyucular kullanılmaktadır. Ancak sentetik koruyucuların bazı sağlık sorunlarına neden olabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir, buna istinaden gıdaların zenginleştirilmesinde doğal koruyucular daha fazla kullanılmaya başlanmıştır. Doğal koruyucu olarak yüksek fenolik bileşik içeriğe ve antioksidan kapasiteye sahip bitki ekstraktları ve bitkisel esansiyel yağlar tercih edilmektedir.

Lamiaceae familyasına ait türler Akdeniz havzasında en yaygın kullanılan şifalı aromatik bitkiler arasındadır. *Lamiaceae* familyası türlerinden olan *Lavandula stoechas* Türkçede yerel olarak "lavanta" ve "karabaş otu" olarak bilinmektedir. Ayrıca yaprak dökmeyen, çok yıllık bir çalıdır. Yaygın anlamda ağrı kesici, antiseptik, sedatif (astım ve epilepside), balgam söktürücü, egzama yaralarını iyileştirici ve sinirleri ve kalbi güçlendirici olarak kullanılır. Buna ek olarak geleneksel yemeklerin ve bitki çaylarının hazırlanmasında ve kozmetik amaçlı da kullanılmaktadır. Bitkinin fenolik bileşenleri ve esansiyel yağı doğal antioksidan olarak öne çıkmaktadır, bu nedenle terapötik aktiviteler için önemli görülmektedir. Lavanta yağının antibakteriyel, antifungal, gaz giderici, düz kas gevşetici, sedatif, antidepresan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir ve yanıklara ve böcek ısırıklarına karşı da etkili olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca geleneksel kullanımı hem klinik hem de bilimsel verilerle desteklenmektedir.

Zeytinyağının termal oksidasyona maruz bırakılması sonucunda insan sağlığını, besinlerin duyu kalitesini ve raf ömrünü olumsuz yönde etkileyebilecek ürünler meydana gelebilmektedir. Bu sebeple yağların termal oksidasyona karşı direncini artırmak adına bitki ekstresi ile zenginleştirme uygulamaları önem arz etmektedir.

Bu çalışmada natürel birinci zeytinyağının yüksek fenolik bileşik içeriğe ve güçlü antioksidan kapasitesine sahip *Lavandula stoechas* bitki ekstresi ile zenginleştirilmesinin yağın termal oksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Zeytinyağı

Zeytin ağacı olarak bilinen *Olea europaea L.*, tipik olarak Akdeniz ülkelerinde bulunan küçük bir ağaç türüdür (Jimenez-Lopez ve ark., 2020). Bu ağaç türünde yetişen zeytin tanesinden elde edilen ve aromatik, sarı-yeşil renginde ve yarı saydam bir sıvı olan zeytinyağı Akdeniz beslenme biçiminin çok önemli bir bileşenidir (Muzammil ve ark., 2020; Silva ve Schmiele, 2021). Organoleptik özellikleri ve bununla ilişkili faydalı sağlık etkileri nedeniyle popülaritesi gittikçe artış göstermektedir (Jimenez-Lopez ve ark., 2020). Dünya ticaretinde en çok fermente edilen sebzelerden biri, yıllık 2-2,5 milyon ton üretim ile sofralık zeytindir ve günümüzde çok yaygın olarak tüketilmektedir. Diğer bitkisel yağlardan doğal hali ile kullanılması ve kendine özgü tat ve farklı özelliklerinin olması nedeniyle ayrılmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinyağı üretimi büyük oranda Fas, İspanya, Yunanistan, İtalya ve Türkiye gibi Akdeniz ülkelerinde gerçekleşmekte ve dünya çapında yıllık üretimi 2,6 ile 3 milyon ton arasında değişmektedir (Silva ve Schmiele, 2021). Zeytinyağı dünyada yemek pişirme işleminde, salata sosu olarak veya kızartmalarda, kozmetik ürünlerinde, sabunların ve ilaçların üretiminde ve geleneksel lambalarda yakıt olarak kullanılmaktadır, ayrıca yan ürünleri sayesinde dolaylı yoldan enerji üretiminde kullanılmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinyağının duyuşal ve kimyasal profili, zeytin çeşidi, iklim ve yetiştirme koşulları, meyvenin olgunluk derecesi, ekstraksiyon yöntemi, rafinasyon süreci (uygulandığında) ve ürün depolama koşullarına göre farklılık göstermektedir ve bu özellikler ekonomik zeytinyağının değerini doğrudan etkilemektedir (Silva ve Schmiele, 2021). Günümüzde zeytinyağının zeytin meyvesinden ayrılmasında basınç, santrifüj ve süzme olmak üzere üç ekstraksiyon metodu kullanılmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinyağı çıkarma işlemi, zeytinlerin ezilmesine ve daha sonra yağın meyve özünden yüksek basınç altında sıcak su kullanılarak veya kullanılmayarak ayrılması temeline bağlıdır. Bu tür bir işlemde elde edilen zeytinyağı genellikle yoğun renk, daha zayıf aroma ve daha yüksek serbest yağ asidi

içeriği ile karakterizedir. Kimyasal ekstraksiyon metodu ile elde edilen zeytinyağı yalnızca rafinasyon işleminden sonra tüketime uygun olabilmektedir. Rafinasyon işlemi ekstrakte edilen zeytinyağının çözücülerden ve diğer kalıntılardan arındırılması için uygulanmaktadır. Rafine zeytinyağı düşük vitamin, polifenol ve fitosterol içeriğine sahiptir. Zeytinyağının yararlı özelliklerini etkileyecek potansiyelde bir diğer faktör ise filtreleme (süzme) işlemidir. Filtrelenmemiş zeytinyağlarında filtreleme işleminde kullanılan az miktarda su ile kaybolabilecek polifenoller korunmaktadır (Mazzocchi ve ark., 2019). Zeytinyağı ayrıca, fonksiyonel bir besin olmakla beraber biyolojik yararları olan çoklu minör komponentleri içermektedir (Sabri ve Rajabi, 2017). Bileşimi ile bağlantılı olarak antioksidan, anti-inflamatuar, antialerjen, antiaterojenik, antimutajenik ve antitrombotik özelliğe sahiptir, bunun yanı sıra immün sistemi de desteklemektedir (Muzammil ve ark., 2020). Bu sayede Akdeniz diyetinin ana bileşenlerinden biridir ve hastalıkların önlenmesine önemli katkı sağlamaktadır (Jacobsen ve ark., 2019). Zeytinyağının sağlığa yararlı olması en çok içerdiği fenolik bileşiklere atfedilmektedir. Bu bileşikler ise en fazla natürel sızma zeytinyağlarında ve natürel birinci zeytinyağlarında bulunmaktadır (Sabri ve Rajabi, 2017). Zeytinyağı aynı zamanda kronik dejeneratif hastalıklarda sekonder risk faktörleri olan insülin duyarlılığı, lipid bozuklukları ve lipid oksidasyonu, DNA oksidasyonu, enflamasyon, endotelial disfonksiyon, trombotik faktörler ve yüksek kan basıncı gibi komplikasyonlara karşı yararlı etki göstermektedir (Covas ve ark., 2015). Kimyasal olarak triaçilgliserol (TAG) (~%98), serbest yağ asitleri (SYA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) (%4-20), doymuş yağ asitleri (%8-14), hidrokarbonlar, alifatik alkoller, tokoferoller, steroller ve pigmentler gibi minör komponentlerden (%1-2) oluşmaktadır (Muzammil ve ark., 2020; Covas ve ark., 2015). Tüm bu bileşenler, yağın benzersiz özelliklerine katkıda bulunmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Minör komponentler ise steroller, tokoferoller ve pigmentler gibi nonpolar ve fenolik bileşikler gibi polar minör komponentler olmak üzere iki fraksiyona sınıflandırılmaktadır (Covas ve ark., 2015). Zeytinyağında ağırlıklı olarak tekli doymamış yağ asidi olan ve miktarı, olgunlaşma aşamasına, zeytin ağacının çeşidine ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebilen oleik asit bulunmaktadır (Mazzocchi ve ark., 2019; Javier ve Botham, 2013). Palmitik, stearik, palmitoleik,

linoleik ve linolenik asitler zeytinyağı içerisinde bulunan diğer yağ asitlerindendir. Natürel sızma zeytinyağı, natürel birinci zeytinyağı, prina yağı, rafine zeytinyağı ve lampante zeytinyağı (yemeklik olmayan ham zeytinyağı) olmak üzere beş çeşit zeytinyağı bulunmaktadır (Muzammil ve ark., 2020).

4.1.1. Zeytinyağının sınıflandırılması

4.1.1.1. Natürel zeytinyağları

1. Natürel Sızma Zeytinyağı (EVOO): Zeytin ağacının meyvesinden yalnızca mekanik ve diğer fiziksel işlemlerle elde edilen, işlenmesi esnasında yıkama, dekantasyon, santrijüleme ve filtrasyon gibi yağın bileşiminde önemli değişikliklere neden olmayan yöntemlerin kullanıldığı türdür (Silva ve Schmieie, 2021). Üretiminde kimyasal çözücüler kullanılmamaktadır, yeniden esterleştirme ve diğer tip yağlar ile karıştırma işlemi uygulanmamaktadır (Silva ve Schmieie, 2021; Mazzocchi ve ark., 2019). Asitlik içeriğinin üst limiti %0.8'dir ve peroksit değeri düşüktür (Silva ve Schmieie, 2021; Gavahian ve ark., 2019). Bu sayede zeytinyağı türleri arasında fizyokimyasal ve duyusal özellikleri en iyi olanıdır (Gavahian ve ark., 2019).
2. Natürel Birinci Zeytinyağı (VOO): Zeytin ağacının meyvesinden yalnızca mekanik ve diğer fiziksel işlemlerle elde edilen, işlenmesi esnasında yıkama, dekantasyon, santrijüleme ve filtrasyon gibi yağın bileşiminde önemli değişikliklere neden olmayan yöntemlerin kullanıldığı türdür (Silva ve Schmieie, 2021). Üretiminde kimyasal çözücüler kullanılmamaktadır, yeniden esterleştirme ve diğer tip yağlar ile karıştırma işlemi uygulanmamaktadır (Silva ve Schmieie, 2021; Mazzocchi ve ark., 2019). Asitlik içeriğinin üst limiti %2.0'dir (Silva ve Schmieie, 2021).

3. Natürel İkinci Zeytinyağı: Asitliği %2-3.3 arasında olan ve doğrudan tüketiciye gönderildiğinde önceden paketlenmeyip, mutlaka rafine edildikten sonra tüketiciye sunulan zeytinyağı türüdür (Silva ve Schmiele, 2021).

4. Lampante Zeytinyağı: Zeytin ağacının meyvesinden yalnızca mekanik ve diğer fiziksel işlemlerle elde edilen, işlenmesi esnasında yıkama, dekantasyon, santrijüleme ve filtrasyon gibi yağın bileşiminde önemli değişikliklere neden olmayan yöntemlerin kullanıldığı türdür. Üretiminde kimyasal çözücüler kullanılmamaktadır, yeniden esterleştirme ve diğer tip yağlar ile karıştırma işlemi uygulanmamaktadır (Mazzocchi ve ark., 2019). İşlem görmeden tüketilmesi tavsiye edilmemektedir (Gavahian ve ark., 2019). Asitlik içeriği %2.0' den fazladır (Mazzocchi ve ark., 2019). Kalitesi düşüktür (Gavahian ve ark., 2019).

4.1.1.2. Rafine zeytinyağı: Natürel birinci zeytinyağından başlangıç gliserit yapısını değiştirmeden rafinasyon yöntemiyle elde edilmektedir. Asitlik içeriğinin üst limiti %0.3'tür (Silva ve Schmiele, 2021).

4.1.1.3. Riviera zeytinyağı: Rafine zeytinyağı ve natürel zeytinyağların (lampante zeytinyağı hariç) karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Asitlik içeriğinin üst limiti %0.1'dir (Mazzocchi ve ark., 2019).

4.1.1.4. Yemeklik rafine prina yağı: Prina yağından başlangıç gliserid yapısını değiştirmeden rafinasyon ile üretilmektedir. Asitlik içeriğinin üst limiti %0.3'tür (Silva ve Schmiele, 2021).

4.1.1.5. Prina yağı: Rafine prina yağı ve natürel zeytinyağların (lampante zeytinyağı hariç) karışımıdır ve asitlik içeriğinin üst limiti %1.0'dir (Silva ve Schmiele, 2021).

4.2. Zeytinyağının Bileşenleri

4.2.1. Triaçilgliseroller ve yağ asitleri

Esasen zeytinyağı, triaçilgliserol (TAG) ve ikincil olarak serbest yağ asitleri (SYA)'leri, steroller, aroma bileşikleri ve polifenollerden oluşmaktadır. Uluslararası Zeytinyağı Konseyi (IOOC) zeytinyağı bileşimi için sınırlar belirlemektedir ve bütün bu bileşenler zeytinyağının karakteristiğini oluşturmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Yağ asidi ve gliserolün birleşmesiyle meydana gelen trigliseritler zeytinyağının %98'lik bir kısmını oluşturmaktadır (Muzammil ve ark., 2020; Boskou, 2015). Hidrolitik reaksiyonlar sonucunda serbest yağ asitlerine parçalanmaktadır. Yağ asitleri zeytinyağının %55-83'lük kısmını oluşturmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Bunlar palmitik ($C_{16:0}$), palmitoleik ($C_{16:1}$), stearik ($C_{18:0}$), oleik ($C_{18:1}$), linoleik ($C_{18:2}$) ve linoleniktir ($C_{18:3}$) asittir. Miristik ($C_{14:0}$), heptadekanoik ve eikosanoik asitler ise zeytinyağında eser miktarlarda bulunmaktadır. Majör yağ asidi %70-85 oranla oleik asittir. Zeytinyağındaki bu yağ asitleri doymuş asitler (palmitik, stearik vb.) ve doymamış asitler (oleik, linoleik ve linolenik) olarak sınıflandırılmaktadır. Doymamış yağ asitleri ise tekli doymamış ve çoklu doymamış asitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Linoleik asit ve palmitoleik asit gibi doymamış yağ asitlerini içermesi nedeniyle %85'e kadar doymamış yağ asidi ihtiva etmektedir (Ben-Noun, 2018). Tekli doymamış yağ asitlerinden de zengin olması nedeniyle ayçiçeği yağı, kanola yağı ve fıstık yağı gibi bitkisel yağlardan farklılık göstermektedir (Silva ve Schmiele, 2021). %14'lük doymuş yağ bileşimini de palmitik asit ve stearik asit gibi doymuş yağlar oluşturmaktadır (Jimenez-Lopez ve ark., 2020). Bu yağ asidi bileşimi fındık ve ayçiçek yağlarına benzerlik gösterse de diğer yemeklik yağlardan farklıdır (Muzammil ve ark., 2020). Genel olarak doymamış yağlar sıvı formda iken, doymuş olanlar katıdır. Zeytinyağı doymamış yağ asitlerinden zengin olması nedeniyle oda sıcaklığında sıvı haldedir. Düşük sıcaklıklarda, donma noktasının altında yağda mumsu kristaller oluşabilmektedir, fakat bu durum yağın kalitesine tesir etmemektedir (Ben-Noun, 2018).

4.2.2. Polifenoller

Zeytinyağının %2'den az bir kısmını oluşturan minör komponentlerin en önemlisi olan polifenoller, bitkisel gıdalardan elde edilen organik kimyasalların yapısal bir sınıfıdır (Muzammil ve ark., 2020; Jimenez-Lopez ve ark., 2020). İçeriklerindeki benzolik gruba bağlı bir hidroksil grubu içeren organik moleküllerdir (Papanikolaou ve ark., 2019). Polifenoller çay, kırmızı şarap, kahve, yağlı tohumlar, baharatlar, tam tahıllar, sebze ve meyve gibi besinlerde de bulunmaktadır (Muzammil ve ark., 2020; Ben-Noun, 2018). Zeytinyağı en az 30 fenolik bileşik ihtiva etmektedir ve içeriğindeki polifenol konsantrasyonu zeytin çeşidi, çevresel faktörler, hasat ve ekstraksiyon zamanı ve depolama koşulları gibi faktörlerden etkilenmektedir (Muzammil ve ark., 2020; Jimenez-Lopez ve ark., 2020). En kaliteli zeytinyağı kg başına 100-250 mg polifenol içermektedir (Muzammil ve ark., 2020). Başlıca fenolik bileşenler oleuropein, tirozol ve hidroksitirozoldür, fakat o-kumarik asit, kafeik asit, gallik asit ve vanilik asit zeytinyağındaki spesifik fenolik bileşenlerdir (Muzammil ve ark., 2020; Ben-Noun, 2018). Bu fenolik bileşikler, sıvı yağlar arasında farklılık göstermektedir ve çeşitli zeytinyağı türlerinde antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olmakla beraber mikrobiyal saldırıları önleyici özelliktedirler. Polifenoller zeytinyağına keskin ve acı tadını vermektedir, ayrıca yağın aromasını da etkilemektedir. Fakat daha yüksek fenolik içerik, yağın raf ömrü için avantajlıdır ve aynı zamanda yağın kalitesini belirlemenin daha kolay bir yolunu sağlamaktadır (Muzammil ve ark., 2020). Polifenollerin ayrıca hem çeşitli hücrel hem de biyokimyasal süreçlere dahil olarak reaktif oksijen türlerini azaltmaları sayesinde morbiditeyi azalttığına ve/veya kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra kanserin gelişimini yavaşlattığına inanılmaktadır (Ben-Noun, 2018; Papanikolaou ve ark., 2019). Bu bileşikler ile ilgili keşfedilen en önemli özelliklerden bir tanesi Alzheimer hastalığına karşı nöroprotektif etki gösterebileceğidir. Aynı zamanda ateroskleroz gibi kalp hastalıklarına karşı etkili oldukları düşünülmektedir (Papanikolaou ve ark., 2019). Bilimsel çalışmalar, polifenollerin beyaz kan hücrelerinin çoğalmasını ve ayrıca sitokinlerin veya immünolojik savunmaya katılan diğer faktörlerin üretimini etkileyerek insan bağışıklık sistemini modüle etme yeteneğini ortaya koymaktadır (Ben-Noun, 2018).

Bu sayede romatoid artrit (RA) ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün enflamatuvar hastalıklara karşı etkili olabilmektedirler (Papanikolaou ve ark., 2019). Zeytinyağındaki polifenollerin çoğunluğunu oluşturan hidroksitirozol (HT) ise anti-inflamatuvar, anti-teratojenik, lipid profilini geliştirici, oksidatif stresi azaltıcı ve enflamatuvar hücreleri aktive edici özelliğe sahiptir (Jacobsen ve ark., 2019). Ayrıca adipositlerin boyutunu azaltan bileşiklerin ekspresyonunda yardımcı olmaktadır (Al-Asmari ve ark., 2020).

4.2.3. Antioksidanlar

Zeytinyağının antioksidan aktivitesinden sorumlu olan α - tokoferol, β - karoten ve likopen gibi bileşikler yüksek biyolojik aktiviteye sahiptirler. A vitamini prekürsörü olan β - karoten ve likopen zeytinyağının sarımtırak zenginden sorumludur. E vitamini aktivitesine sahip α -tokoferol ise zeytinyağında en bol miktarda bulunan tokoferoldür, fakat diğer tohum yağları ile karşılaştırıldığında miktarı düşüktür (Javier ve Botham, 2013). E vitamini zeytinyağının stabilitesini ve besin değerini artırmasının yanı sıra zeytinyağının duyuşal özelliklerini de geliştirmektedir (Al-Asmari ve ark., 2020). Zeytinyağındaki tokoferollerin büyük bir kısmını α -tokoferoller oluştururken, beta-tokoferol, delta-tokoferol ve gamma-tokoferoller daha küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Bunların miktarları ise zeytinyağının ekstraksiyon yöntemi ve saklanma koşulları gibi özelliklerine bağlıdır (Boskou, 2015). Olgunlaşmamış zeytin meyvesinde yüksek oranda bulunan bir diğer antioksidan olan oleuropein ise bir çok enflamasyon durumunda inflamatuvar parametreler ve anti-proliferatif ve anti-tümör etkisiyle kanser hücrelerinin apoptozu (özellikle kolon bölgesinde) ile ilişkilendirilmektedir (Jacobsen ve ark., 2019). Aynı zamanda birçok bakteri, virüs, parazit ve mantara karşı da koruma sağlamaktadır (Al-Asmari ve ark., 2020).

4.2.4. Steroller

Steroidlerin bir alt grubu olan steroller, bitkilerde ve hayvanlarda doğal olarak bulunmaktadır ve farklı bakteri türleri tarafından üretilabilmektedir. Kimyasal olarak, steroller kolesterole benzerlik göstermektedirler ve zeytinyağındaki miktarı kg başına 358 ila 1092.33 mg arasında değişebilmektedir. Fitosteroller, zeytinyağının fonksiyonel bileşenleridir ve zeytinyağında 4- α -metilsteroller, triterpen dialkoller ve 4,4-dimetilsteroller şeklinde dört farklı türde bulunmaktadırlar. Yüksek sıcaklıklarda, belirli steroller hızlı bozulmaya karşı dirençten sorumludur (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinlerin saflık derecesi ve kalitesi, sterollerinin kompozisyon analizi ile belirlenmektedir (Muzammil ve ark., 2020; Mazzocchi ve ark., 2019).

4.2.5. Pigmentler

Zeytinyağının renginden sorumlu olan pigmentler, seçici absorpsiyon sonucu ışığın rengini değiştiren maddelerdir (Muzammil ve ark., 2020). Lipofilik karotenoid ve klorofil pigmentleri zeytinyağının karakteristik renginden sorumludur (Mazzocchi ve ark., 2019). Zeytinyağında eser miktarda klorofil a ve b ve bunların oksidasyon ürünleri olan feofitin “a” ve “b” bileşikler doğal olarak bulunmaktadır ve yağa yeşil rengini vermektedir (Muzammil ve ark., 2020; Javier ve Botham, 2013). Zeytinyağında yaklaşık olarak 10-30 mg/kg miktarında bulunmaktadırlar (Boskou, 2015). Olgunlaşmamış zeytin meyvelerinde klorofil daha yüksek oranda bulunmaktadır, bunlardan elde edilen yağlarda yeşil renk yoğunluğu daha fazladır (Mazzocchi ve ark., 2019). Klorofil fraksiyonunun temel bileşeni olan feofitin “a” toplam pigment bileşiminin %42’sini oluşturmaktadır (Muzammil ve ark., 2020). β -karoten, violaksantin, lutein, neoksantin ve diğer ksantofiller karotenoid grubundan olan bileşiklerdir (Mazzocchi ve ark., 2019). Zeytinyağında en fazla bulunan karotenoidler ise lutein ve β -karotendir (Boskou, 2015). Karotenoidlerin total miktarı zeytinyağında genelde 10mg/kg’ı geçmemektedir. Ayrıca olgunlaşmış meyvelerde karotenoid içeriği daha yüksektir, bu zeytin tanelerinden elde edilen yağlar sarımtırak bir renge sahiptirler (Mazzocchi ve ark., 2019; Boskou, 2015). Karotenoidler singlet

oksijenin ($^1\text{O}_2$) aktivitesini bastırma kabiliyetine sahiptirler, fakat oksidatif stabiliteye etkileri henüz bilinmemektedir. Bunun yanı sıra karotenoidler ve singlet oksijen aracılı fotooksidasyon arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir (Boskou, 2015). Zeytinyağındaki pigmentlerin konsantrasyonu büyük ölçüde yağın fizyokimyasal özelliği ile ilişkilidir ve zeytin meyvesinin yetiştiği jeografik konum, çevresel koşullar (iklim ve sulama gibi) ve ekstraksiyon yöntemine göre değişebilmektedir. Ayrıca yağı saklama koşulları da içerisindeki pigmentlerin türünü ve miktarını etkileyebilmektedir (Özen ve Uncu, 2020).

4.2.6. Aroma bileşikleri

Ketonlar, alkoller, esterler ve furanlar gibi tanımlanmış farklı bileşenler zeytinyağının benzersiz lezzetinden sorumludur (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinyağının en önemli aromatik bileşikleri zeytin meyvesinde PUFA'lardan lipooksijenaz ve transferaz enzimleri tarafından katalizlenmiş reaksiyonlar dizisi ile üretilen C_6 aldehitler ve alkollerdir (Boskou, 2015). Yeşil zeytin %50, siyah zeytin %75 aldehit içeriğine sahiptir (Muzammil ve ark., 2020). Zeytinyağının duyu kalitesi uçucu ve uçucu olmayan aroma bileşenleri ile ilişkilidir (Boskou, 2015). Duyusal kalite, gıda maddelerinin kabul edilebilirliğinde önemli bir rol oynamaktadır ve renk ve lezzet gibi belirli özellikler, müşteri kabulüne katkıda bulunan kilit faktörlerdir (Muzammil ve ark., 2020).

4.3. Zeytinyağının İnsan Sağlığına Etkileri

Zeytinyağı tüketimi primer ve sekonder kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi, lipid profilinin ve insülin duyarlılığının düzenlenmesi, oksidatif stabilitenin artırılması, inflamatuvar biomarkerların geliştirilmesi ve arteriyel basıncın düzenlenmesiyle ilişkilendirilen bir besindir. Zeytinyağının yüksek oranda antioksidan ve tekli doymamış yağ asitlerini içermesine istinaden, yapılan birçok çalışmada zeytinyağı tüketiminin düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerini düşürürken, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerinde artışa neden olarak lipid profilini düzenlediği ve bu sayede primer veya sekonder faktör olarak kardiyovasküler hastalıklara (KVH) karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Jacobsen ve ark., 2019). Bu etkinin ayrıca zeytinyağının çeşidine göre farklılık gösteren antioksidan içeriği sayesinde de gerçekleştiği düşünülmektedir (Ben-Noun, 2018). Zeytinyağındaki fenolik bileşikler genel olarak aterojenik etkiye sahip okside LDL-Kolesterolün oluşumunu ve oksidasyonunu engellemektedir, oleik asit ise bu süreci minimize etmektedir (Jacobsen ve ark., 2019; Al-Asmari ve ark., 2020). Bu işlemi kolesterol akışını sürdürerek ve bu sayede dolaşımdaki LDL-Kolesterol seviyesini düşürerek gerçekleştirmektedirler, buna bağlı olarak ise dolaşımdaki LDL-Kolesterolün okside olması ve endotelial bariyeri geçmesi zorlaşmaktadır (Jacobsen ve ark., 2019). Fenolik bileşikler ayrıca ağır metaller veya serbest radikaller ile tetiklenen lipid oksidasyonunu engellemektedirler ve HDL-Kolesterolün de oksidasyonunu azaltmaktadırlar (Al-Asmari ve ark., 2020).

Zeytinyağı vücudun hastalık, stres ve enfeksiyon gibi durumlara doğal yanıtı olarak tanımlanan enflamasyon durumunda da etkili olmaktadır (Sabri ve Rajabi, 2017). Pro-enflamatuvar ajan olarak bilinen IL-6 ve tümör TNF markerları düzenlemektedir (Jacobsen ve ark., 2019). Anti-enflamatuvar bileşenler de ihtiva eden zeytinyağı ayrıca yaşlı popülasyonunda majör morbidite sebebi ve eklemlerin lokal enflamasyonu, oksidatif stres, otofaji nedeniyle bozulmuş kondrosit onarım mekanizmaları ve kırıkta hasarı ile karakterize dejeneratif bir hastalık olan osteoartrit (OA) önemli roller oynamaktadır. Anti-inflamatuvar, antioksidan ve otofajiyi tetikleyici aktivitelere sahip olan zeytinyağının, osteoartritte terapötik

müdahaleler için uygun aday olduğu düşünülmektedir (Ben-Noun, 2018). Ayrıca artan zeytinyağı tüketiminin enflamasyon ve ağrı ile karakterize otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit riskinin azalmasıyla da ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Zeytinyağının enflamasyonda etkili olmasının sebeplerinden birinin de içerdiği fenolik bileşiklerin enflamatuar yanıtlardan sorumlu gen ekspresyonu üzerindeki etkisinin olduğu düşünülmektedir (Sabri ve Rajabi, 2017). Yaşlanmaya bağlı iskelet dejenerasyonu olarak da bilinen ve dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olan osteoporozda zeytinyağının kemik sağlığını geliştirmesi ve enflamatuar durumlarda rol oynaması nedeniyle etkili olabileceği düşünülmektedir (Ben-Noun, 2018). Postmenapozal kadınlarda östrojen seviyelerinin azalmasına bağlı olarak kemiklerin yapısı zayıflayabilmektedir, bunun sonucunda ise osteoporoz oluşabilmektedir. Zeytinyağının ise postmenapozal osteoporoz riskini azaltabileceği düşünülmektedir (Sabri ve Rajabi, 2017).

Zeytinyağı içeriğindeki komponentler aracılığıyla bağırsaktaki yararlı bakterilerin çeşitliliğini artırarak ve bakteriyel dengeyi sağlayarak bağırsak sağlığını da desteklemektedir (Jacobsen ve ark., 2019). Vücudun bağışıklığının %70'i bağırsaklarda bulunmaktadır, bu sebeble bağırsak sağlığı genel sağlık durumunun sürdürülmesinde ve kronik hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yüzyıllarca zeytinyağı sindirim hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Bağırsaklardan yağda eriyen vitaminler en fazla olmak üzere birçok besin ögesinin emilimini ve sindirimini kolaylaştırmanın yanı sıra, içerdiği polifenollerin %55-60'nın ince bağırsakta emildiği düşünülmektedir (Sabri ve Rajabi, 2017). Anti-bakteriyel ve anti-mikrobiyal özellikte olması nedeniyle de bağırsak sağlığı üzerinde pozitif etkileri bulunmaktadır (Sabri ve Rajabi, 2017). Zeytinyağındaki yağ asitlerinin bağırsak dengesinin önemli bir göstergesi olan *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı üzerinde etkili olduğu gözlemlenmişken, HT gibi bazı polifenollerin bu oran üzerinde etkili olmadığı bulunmuştur. Fakat polifenollerin genel anlamda üst gastrointestinal bölgelerde emilmemeleri ve bu sayede kolona geçmeleri nedeniyle mikrobiyota bileşimini etkilediği ve *E. Coli* gibi patojenik bakterilerin büyümesini engelleyip, *Bifidobacterium* gibi probiyotik bakterilerin büyümesini destekleyerek prebiyotik özellik gösterdikleri bilinmektedir (Jacobsen ve ark., 2019). Bazı

zeytinyağı komponentlerinin de *Helicobacter pylori* bakterisine karşı antibakteriyel etki gösterdiği bilinmektedir. *Helicobacter pylori* antibiyotik tedavisine karşı dirençli olan peptik ülser ve gastrik kanser gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir (Sabri ve Rajabi, 2017).

Tip 2 diyabet üzerinde de etkili olduğu düşünülen zeytinyağının içerisindeki polifenoller dokularda glikoz alımının teşvik edilmesi ve buna bağlı olarak insülin duyarlılığının geliştirilmesini sağlayabilmektedirler (Ben-Noun, 2018). Ayrıca bağırsaklarda glukoz emilimini engelleyerek insulin direncini geliştirmektedirler (Guasch-Ferré ve ark., 2017). Zeytinyağı adiponektin hormonunun seviyelerinde artışa neden olarak da insülin duyarlılığını etkileyebilmektedir (Khazrai ve ark., 2014). Zeytin bitkisi yaprakları (*Olea europaea* L.), geleneksel hekimlikte diyabet tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır, ancak zeytin polifenollerinin insanlarda glikoz homeostazı üzerindeki etkilerini inceleyen çok sınırlı sayıda veri bulunmaktadır (Ben-Noun, 2018).

Vücudun bir bölgesinde hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla gelişen kanser küresel çapta en temel ölüm sebeplerinden biridir. Potansiyel tümörjenik faktörlere maruz kalınması durumunda kanser riski artmaktadır. Bu faktörlerden sağlıksız beslenmenin ve yetersiz fiziksel aktivitenin kanser vakalarının 1/3'ünden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu olmaları nedeniyle tekli doymamış yağ asitlerini (MUFA) yüksek oranda içeren yağların bazı kanser türlerinin riskini azaltabileceği düşünülmektedir (Sabri ve Rajabi, 2017). Lipit oksidasyonuna karşı antioksidan ve radikal süpürme aktivitesi gösteren hidroksitirozol ve tokoferoller gibi minör komponentler de vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu minimize etmektedirler (Borzi ve ark., 2018). Zeytinyağı düşük göğüs kanseri, özellikle postmenapozal göğüs kanseri, insidansı ile ilişkilendirilmektedir. Kemopreventif etkisini tümör gelişimini, anormal hücre proliferasyonunu ve güçlendirilmiş apoptozu inhibe ederek göstermektedir (Al-Asmari ve ark., 2020).

4.3.1. Zeytinyağı ve Akdeniz diyeti

Düzenli beslenme, bağışıklık hücrelerinin korunmasında ve optimal düzeyde işlev göstermelerinde kilit bir rol oynamaktadır (Mazzocchi ve ark., 2019). İlk olarak 1993 yılında ABD Ziraat Dairesi'nin besin piramidinin revize edilmesi ile geliştirilen Akdeniz beslenme biçimi, ihtiyatlı bir yaşam tarzı seçiminin iyi bir örneğidir ve KVH ve kolon ve meme kanseri gibi bazı kanser türleri gibi majör kronik ve inflamatuvar hastalıklara karşı insan sağlığını koruduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır (Mazzocchi ve ark., 2019; Jacobsen ve ark., 2019; Gaforio ve ark., 2019). Bunu ise enflamatuvar ve oksidatif biomarkerları azaltarak ve lipid profilini, insülin duyarlılığını, endotelial fonksiyonu ve antitrombotik özellikleri geliştirerek gerçekleştirmektedir (Ditano-Vázquez ve ark., 2019). Bu yararları polifenoller, MUFA ve PUFA gibi yağ asitleri (özellikle zeytinyağından alınan oleik asit) ve posa gibi besin öğelerine atfedilmektedir (Ditano-Vázquez ve ark., 2019). "Akdeniz diyeti" (MedDiet) terimi, 1960'larda Akdeniz çevresinde zeytin ağacının yetiştiği ülkelerde, özellikle Yunanistan/Girit ve İtalya'nın güneyinde yaygın olan beslenme düzenini ifade etmektedir. Akdeniz'e sınırı olan 16 ülke bulunmasına rağmen, bu ülkelerde kültürel, sosyal veya dinsel faktörlerin etkisiyle farklı beslenme biçimleri benimsenmiştir. Akdeniz diyeti ise meyve, sebze, salata, ekmek ve tam tahıllar, patates, baklagiller, kabuklu yemişler ve yağlı tohumların ağırlıklı olarak tüketildiği bir beslenme biçimidir. Peynir ve yoğurt gibi süt ürünleri, balık, kabuklu deniz ürünleri, kümes hayvanları düşük ila orta miktarlarda tüketilirken, kırmızı ve işlenmiş et az miktarda yenir. Yumurta haftada dört defaya kadar, şarap ve diğer fermente içecekler ise öğünlerde düşük ila orta miktarlarda tüketilmektedir. Lezzeti artırma amacıyla yağ ve tuz ilavesi kısıtlanmaktadır, bunun yerine baharatlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Mazzocchi ve ark., 2019). Zeytinyağı KVH, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik hastalıkların insidansını azalttığı düşünülen bu beslenme biçiminde yağ tüketiminin %85'ni oluşturmaktadır ve bitkisel yağın, özellikle MUFA'ların temel kaynağıdır (Javier ve Botham, 2013; Sabri ve Rajabi, 2017). MUFA'lar sadece bir tane çift bağ içermeleri nedeniyle trans veya PUFA'lara nazaran serbest radikal hasarına karşı daha dayanıklıdır. Yağlardaki çift bağ sayısının artmasına paralel olarak oksidasyona olan eğilim artmaktadır.

Zeytinyağı ayrıca E vitamini, polifenoller, tokoferoller, hidroksitirozol ve oleuropein gibi antioksidanlar, squalen ve demir gibi önemli besin öğelerini ihtiva etmektedir. İçeriğindeki yüksek sterol seviyeleri sayesinde LDL-Kolesterol seviyelerini azaltıp, HDL-Kolesterol seviyelerini artırabilmektedir ve ateroskleroz ile ilişkili gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir (Sikalidis ve ark., 2021). Aynı zamanda düşük kanser riski ile de ilişkilendirilmektedir, kanser üzerindeki etkisini ise apoptozu destekleyerek, epigenetik yapıların modülasyonu, hücre siklusunun bloklanması ve anjiogenezi regüle ederek gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Zeytinyağı içeriğindeki yağ asitleri ve antioksidanlar sayesinde ısıl işlemlere karşı stabildir ve bu nedenle pişirme işlemlerinde polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve heterosiklik aminler gibi pro-kanserojen maddeler diğer yağlara nazaran daha az oranda oluşmaktadır (Farràs ve ark., 2021). Ayrıca fibrinojen seviyelerini azaltarak platelet agregasyonu ve koagülasyon üzerinde ve oksidatif DNA hasarını ve okside LDL- Kolesterol seviyelerini azaltarak oksidatif strese etkilidir. Ek olarak açlık kan glukozunu ve Hemoglobin A1c (HbA1c) seviyelerini düşürerek insülin duyarlılığını artırmaktadır. C reaktif protein (CRP), tromboksan B2 (TXB2) ve lökotrien B4 (LTB4) gibi enflamatuar sitokinleri azaltarak enflamasyonda önemli bir rol oynamaktadır (Schwingshackl ve ark., 2019).

Akdeniz havzasındaki bölgelerde bazı besinler birbirinden farklılık gösterse dahil, zeytinyağı bu kültürler arasındaki ortak unsurdur ve bu beslenme tipini diğer beslenme modellerinden ayıran en önemli faktördür (Javier ve Botham, 2013). Genel olarak Akdeniz beslenme tipinde enerjinin %30-40'ı yağlardan alınmaktadır (Sabri ve Rajabi, 2017). Doymuş yağ oranı düşüktür ve yüksek oranda antioksidan ve posa alımı sağlanmaktadır. Hepsinden önemlisi yüksek oranda zeytinyağının tüketilmesiyle tekli doymamış yağ asitleri ve n-3 çoklu doymamış yağ asidi alımı fazladır (Mazzocchi ve ark., 2019). Zeytinyağı hem birçok faydalı özelliğinden dolayı hem de sebze ve baklagillerin bol miktarda salata ve pişmiş yemek şeklinde tüketilmesine olanak sağladığı için önemlidir (Ben-Noun, 2018). Zeytinyağının Akdeniz diyetinin sağlığı geliştirici etkilerine katkısının araştırılması, zeytinyağının çok çeşitli süreçler ve risk faktörleri üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğunu

göstermiştir (Javier ve Botham, 2013). Toplam yağ tüketimi, Yunanistan'da olduğu gibi toplam enerji alımının yaklaşık %40'ı kadar yüksek veya İtalya'da olduğu gibi toplam enerji alımının yaklaşık %30'u kadar orta düzeyde olabilmektedir, fakat her durumda, tekli doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranı, kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika dahil olmak üzere dünyanın diğer yerlerine göre çok daha yüksektir (Ben-Noun, 2018).

4.3.2. Zeytinyağının oksidatif stabilitesi

Depolama esnasında zeytinyağı kalitenin düşmesine neden olabilecek degradasyon sürecine maruz kalabilmektedir (Sanaeifar ve Jafari, 2019). Oksidatif stabilite zeytinyağının kalitesinin korunmasında ve sürdürülmesinde en önemli parametrelerden biridir ve yağın hem organoleptik özelliklerini ve buna bağlı olarak kabul edilebilirliğini hem de market değerini etkilemektedir (Sanaeifar ve Jafari, 2019; Cavazza ve ark., 2015). Sıcaklık ve yağlardaki çözünmüş oksijenin konsantrasyonu depolama esnasında oksidasyon reaksiyonu için gerekli olan aktivasyon enerjisini ve bu reaksiyonun mekanizmasını etkilemektedir. Zeytinyağının degradasyonunu zeytin tanelerinden ekstrakte edildiği andan itibaren başlamaktaadır. Yağın degradasyonuna neden olan lipit oksidasyonu besinde ransidite ve hidrolitik degradasyona neden olmaktadır (Sanaeifar ve Jafari, 2019). Yağların lipit oksidasyon derecesi kimyasal ve fiziksel yöntemler ile doğrudan değerlendirilebilmektedir, fakat bu yöntemler oldukça zaman alıcı ve pahalı olmakla beraber yöntemlerin gerçekleştirilmesi için konu ile ilgili eğitimli kişilerin yardımını gerektirmektedir. Yağlı besinlerin oksidasyonu ayrıca dolaylı yoldan farklı testler ile de değerlendirilebilmektedir. Bu testler hızlandırılmış oksidasyon koşullarında (sıcaklığın artırılması gibi) saatler içerisinde besinlerin oksidasyonunu ölçebilmektedir. Testlerde genellikle oksidasyonun başlaması için gerekli olan süre olarak tanımlanan indüksiyon periyodu ile karakterize oksidasyon eğrileri oluşturulmaktadır.

Zeytinyağının oksidatif stabilitesinin büyük oranda içerisindeki doğal antioksidanların varlığına bağlı olması sebebiyle yağın bozulmasını engellemek ve raf ömrünü uzatmak adına doğal öğelerin ilavesi yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Tarihte antimikrobiyal, antioksidan ve diğer biyolojik yararları olan esansiyel yağları ihtiva eden aromatik bitkiler besinlerin korunmasında sıklıkla kullanılmıştır. Örneğin dağ kekiği ve biberiyeden elde edilen esansiyel yağlar peynir, zeytinyağı ve uskumru yağında oksidasyona ve sıcaklığa olan direnci artırmak amacıyla yaygın olarak kullanılmıştır. Baharatlar da besinlerin korunmasında kullanılan öğelerden biridir ve özellikle acı kırmızı biber (*Capsicum ss. vv.*) flavonoidler (kuersetin, luteolin), fenolik asitler, karotenoidler ve vitaminler (A vitamini, askorbik asit ve tokoferoller) açısından zengin olan bir baharattır (Cavazza ve ark., 2015). Yağ asidi bileşimi de birçok uygulama için yağların uygunluğunu belirlemektedir. Zeytinyağı içerisindeki doymuş yağ asitlerinin ve PUFA'ların (özellikle linolenik asit) düşük olması ve MUFA/PUFA oranının yüksek olması nedeniyle kızartma işlemleri için diğer bitkisel yağlara nazaran daha uygun görülmektedir. Ayrıca dumanlanma noktasının da düşük olması kızartılan besinlerden yağın kolaylıkla akmasını sağlamaktadır, bu sayede kızartılan besinlerin içerisinde tutulmuş yağ miktarı daha az olmaktadır (Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Natürel birinci zeytinyağı soğuk sıkım uygulaması ile üretildiği için sıcaklık ile ekstrakte edilen yağlara nazaran normal depolama koşullarında (12-18 ay) oksidasyona daha fazla direnç gösterebilmektedir (Sanaeifar ve Jafari, 2019). Sıcaklık ile ekstrakte edilen yağların aksine natürel birinci zeytinyağında yağ eldesi sırasında polifenoller ve tokoferoller gibi fenolik antioksidanların kaybı daha az olmaktadır, bu sayede oksidasyona yüksek direnci içeriğindeki doğal antioksidanlara ve yağ asitleri kompozisyonuna (daha yüksek oranda oleik asit, daha düşük oranda PUFA) atfedilmektedir (Sanaeifar ve Jafari, 2019; Madhujith ve Sivakanthan, 2018).

Yağların oksidatif stabilitesi antioksidanların kullanılması, yağ asidi bileşiminin modifiye edilmesi, yağların birbirine karıştırılması ve yağların işleme metodlarının değiştirilmesi gibi yöntemler ile artırılabilir. Antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya oluşum sürecini bölerek oksidasyon sürecine etki etmektedirler. Yağların işlenmesi esnasında

antioksidanların eklenmesi lipid oksidasyonuna karşı en etkili yöntemlerden biridir. Yağ asitleri bileşiminin doğal bitki ıslahı veya genetik modifikasyonlar ile değiştirilmesi sıvı yağların oksidatif stabilitesinin geliştirilmesi için başka bir yöntemdir. Soya yağı, kolza tohumu yağı, ayçiçeği yağı ve yer fıstığı yağı gibi rafine yemeklik yağlar yüksek oranda PUFA, linoleik asit ve linolenik asit ihtiva etmeleri nedeniyle tekrarlı ısı işlemler için uygun değildirler. Bu yöntemde temel olarak oleik asit içeriğinin artırılması, linolenik ve doymuş yağ asidi içeriğinin azaltılması amaçlanmaktadır. Yüksek oranda doymamış olan yağların kısmi hidrojenizasyonu oksidatif stabiliteyi artırabilmektedir, fakat bu metodun trans yağ asidi oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Oksidatif stabilitenin ve besin değerinin artırılması için soya yağı, ayçiçeği yağı, mısır özü yağı, aspir yağı ve kolza tohumu yağının yeni fenotipleri üretilmiştir. Farklı yağların birbirine karıştırılması yöntemi ise yağ asidi bileşiminin, fizyokimyasal ve fonksiyonel yararların herhangi kimyasal bir değişikliğe neden olmadan modifiye edilmesi için kullanılmaktadır. Sıcaklık uygulamaları yağların işlenmesi esnasında yağlarda doğal antioksidanların maksimum kaybına neden olmaktadır. Soğuk sıkım uygulaması sıvı yağlarda doğal antioksidanların daha yüksek oranda tutulmasını ve herhangi sentetik antioksidanlar ilave etmeden kabul edilebilir bir raf ömrünün olmasını sağlamaktadır (Madhujith ve Sivakanthan, 2018).

4.3.3. Natürel birinci zeytinyağı

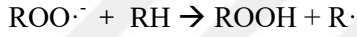
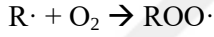
Diğer bitkisel yağlarda olduğu gibi natürel birinci zeytinyağı %99 oranında triaçilgliserollerden oluşmaktadır ve özellikle MUFA açısından zengindir (çoğunlukla oleik asit-C_{18:1}) (Koidis ve Boskou, 2015; Chiou ve Kalogeropoulos, 2017). Ayrıca mono- ve diaçilgliseroller ve bitkisel steroller, skualen, tokoferoller, pigmentler ve alifatik alkoller gibi diğer lipofilik bileşenleri de az miktarda ihtiva etmektedir. Buna ek olarak diğer tohum yağlarının birçoğundan farklı olarak çeşitli polar fenolik bileşik de içerisinde bulunmaktadır (Chiou ve Kalogeropoulos, 2017). Zeytin tohumlarından yalnızca kırma, ekstraksiyon ve santrifüjleme gibi yağ bileşiminde herhangi bir değişikliğe neden olmayan fiziksel yöntemler ile elde edilmektedir (Koidis ve Boskou, 2015; Chiou ve Kalogeropoulos, 2017). Natürel birinci zeytinyağındaki serbest asit miktarı oleik asit cinsinden 2/100 g'dan az veya bu değere eşit olması gerekmektedir (Chiou ve Kalogeropoulos, 2017). “Birinci” kelimesi natürel birinci zeytinyağının kalitesi ve sahiciliği ile alakalı olarak kullanılmaktadır. Rafinasyon işleminde koku giderme, asit nötralizasyonu ve zatkı giderme gibi metodlar uygulanmaktadır ve bu metodlarda yağlarda bazı bioaktif bileşenler ile beraber klorofilin bir kısmı kayba uğramaktadır. Bu sebeple rafinasyon işlemine tabi tutulan yağların rengi natürel birinci zeytinyağına kıyasla daha açıktır. Natürel birinci zeytinyağının stabilitesi içeriğindeki polar fenolik bileşiklere atfedilmektedir. Raf ömrü ve fenolik içerik arasında güçlü bir stabilite korelasyonu bulunmaktadır (Koidis ve Boskou, 2015).

4.4. Oksidasyon

Oksijen 1775 yılında Joseph Priestley tarafından keşfedilmiştir, 1811 yılında ise Avogadro oksijenin diatomik bir molekül olduğunu bulmuştur (Mib ve Boff, 2002). Aerobik organizmaların metabolizmasında önemli bir kimyasal elementtir, ancak istenmeyen tepkileri tetikleyebilmektedir. Oksijenin reaktif türleri olarak tanımlanan reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu, singlet oksijen, lipid peroksitler ve hidroksil radikali gibi serbest radikalleri kapsamaktadırlar. Normal hücresel enerji üretimi ve fonksiyonel aktivitelerin neticesinde yan ürün olarak oluşan bu reaktif türler hücresel sinyal iletimi, apoptoz, gen ekspresyonu ve iyon taşınmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Sadece insan vücudunda hasara neden olmamakla beraber havaya, ısıya veya ışığa maruz kalan birçok besinde oksidatif reaksiyona neden olmaktadır (Lourenço ve ark., 2019). Oksidasyon, gıda maddelerinin bozulmasının en önemli nedenlerinden biridir. Acılaşma, tat ve renk bozulması, doku bozulması gibi olumsuzluklara yol açabilir ve doğal maddelerin oksidasyonu sonucu toksik maddeler oluşabilmektedir. Örneğin kolesterolün okside olması sonucu oluşan kolesterol epoksitler ve hidroperoksitlerin karsinojenik veya mutajenik olduğu düşünülmektedir. Gıdalara zarar vermesinin yanı sıra bazı maddeler gıdayı tüketen organizmanın da oksidatif hasara uğramasına vesile olabilmektedir. Örneğin bitkilerde muhtemelen savunma görevi gören fotokimyasal olarak aktif olan “fotodinamik“ duyarlılaştırıcılar bitkiyle beslenen organizmalarda cilt lezyonları ile karakterize fotooksidatif hasara neden olabilmektedir. Bütün bunların yanında bazı besinlerde tokoferol (E vitamini), β -karoten, askorbik asit ve tiyoller gibi hem gıdayı hem de gıdayı tüketeni oksidatif hasara karşı koruyan maddeler de mevcuttur. Ayrıca metal şelatörler de bazı metallerin katalitik etkisinin olduğu oksidasyon sürecini de baskılayabilmektedirler. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler sırasıyla süperoksit iyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve organik hidroperoksitler (ROOH) gibi zararlı reaktif türlere karşı koruma sağlamaktadırlar (Foote, 1985).

4.4.1. Oto-oksidasyon mekanizması

Bir serbest radikal zincir reaksiyon mekanizması olan oto-oksidasyon, egzotermik bir reaksiyondur ve bu süreçte oksijen gereklidir (Coletti ve ark., 2015). Reaksiyonun ilk basamağında serbest bir radikal ($X\cdot$) organik bir molekülden (RH) hidrojen atomu (elektron) ayırmaktadır. Oksijen bir sonraki basamakta oluşan substrat radikal ($R\cdot$) ile birleşerek peroksi radikalleri ($ROO\cdot$) oluşturmaktadır. Peroksi radikallerin organik bir molekülden hidrojen atomu almasıyla hidroperoksitler ($ROOH$) ve bir radikal ($R\cdot$) açığa çıkmaktadır. Hidroperoksitlerdeki ($ROOH$) zayıf oksijen (O-O) bağlarının homolizi ile organik moleküllerden hidrojen atomunun ayrılmasında görev alan daha fazla serbest radikal oluşmaktadır. Oto-oksidasyon mekanizması Şekil 1’de verilmiştir (Coletti ve ark., 2015).



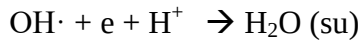
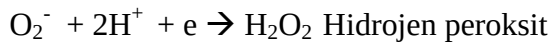
Şekil 1. Oto-oksidasyon Mekanizması

4.4.2. Serbest radikaller

Radikal terimi bir yörüngede tek bir eşlenmemiş elektronu bulunan moleküller için kullanılmakta olup, serbest radikaller bağımsız olma özelliğine sahiptirler. Örneğin reaksiyon sırasında enzimatik olarak aktif bir bölgede oluşan radikaller, diğer moleküller ile etkileşime girmek için proteinden ayrılamıyor ise, bu radikaller serbest radikal olarak tanımlanamaz (Liebermann ve Peet, 2007). Radikaller eşlenmemiş elektronları bulunması nedeniyle kararsız yapıdadırlar (Karabulut ve Gülay, 2016). Oldukça reaktif olan bu moleküller kendi yörüngelerini tamamlayıp kararlı duruma geçme eğiliminde olduklarından komşu moleküllerden elektron (genellikle hidrojen atomu) çekerek zincirleme reaksiyonları tetiklemektedirler (Liebermann ve Peet, 2007; Karabulut ve Gülay, 2016). Demir (Fe), bakır (Cu) ve molibden (Mo) gibi geçiş metalleri yörüngelerinde tek bir eşlenmemiş elektron bulunmasına rağmen oldukça kararlı (stabil) olmaları, zincir reaksiyonlarını başlatmamaları ve hücrelerde proteinlere bağlı olarak bulunmaları nedeniyle serbest radikal olarak kabul edilmemektedirler (Liebermann ve Peet, 2007). Biradikal özelliğinde, yani farklı yörüngelerde eşlenmemiş iki tane elektronu bulunan oksijen atomundan oluşan O_2 molekülü termodinamik açıdan çok reaktif olmasına rağmen organik moleküllerin kovalent bağlarında bulunan çift elektronlar ile hızlıca reaksiyona girememektedir. Bu sebeple O_2 , kofaktörü bir metal olan enzimler gibi katalizör gerektiren reaksiyonlara yavaşça dahil olmaktadır (Liebermann ve Peet, 2007).

Serbest radikaller lipidler, karbonhidratlar, proteinler ve nükleik asitler gibi makromolekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olabilen reaktif kimyasal ürünlerdir ve reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Reaktif oksijen türleri (ROS) enzimatik, fotokimyasal, besinlerin ışığa maruz kalması, ROS'ların ayrışmaları veya kendi içerisinde birbirleriyle etkileşime girmeleri yoluyla oluşmaktadır (Choe ve Min, 2007). Süperoksit iyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($OH\cdot$), hipoklorik asit ($HOCl$), singlet oksijen ($^1O_2$), ozon (O_3), alkil radikali ($R\cdot$), peroksil radikali ($ROO\cdot$), organik peroksit radikali ($RCOO\cdot$), perhidroksil (hidroperoksi)

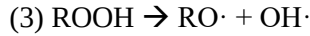
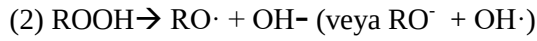
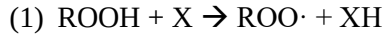
radikali ($\text{HO}_2^\cdot$), alkoksil radikali ($\text{RO}^\cdot$) gibi bileşikler reaktif oksijen türleridir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). En reaktif olanları sırasıyla hidroksil radikali ve singlet oksijendir (Choe ve Min, 2007). Hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), ozon (O_3) ve hipoklorik asit (HOCl) radikal özellik taşımayıp non-radikaldirler (Karabulut ve Gülay, 2016). Reaktif oksijen türleri endojen ve ekzojen kaynaklar tarafından oluşmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Endojen en önemli üretim yeri canlılarda mitokondri iken en önemli ekzojen kaynakları UV ışınlar ve çeşitli kimyasal maddelerdir (Karabulut ve Gülay, 2016). Besin bileşenleri ile reaksiyona girerek istenmeyen uçucu bileşiklerin ve karsinojenlerin oluşmasına, esansiyel besin öğelerinin bozulmasına ve proteinlerin, lipidlerin ve karbonhidratların fonksiyonlarının değişmesine neden olmaktadır. Lipitleri okside ederek düşük molekül ağırlıklı uçucu aldehitleri, alkolleri ve hidrokarbonları oluşturmaktadır, proteinlerin yapısını bozmaktadır, karbonhidratların oksidasyonu ile düşük molekül ağırlıklı karbonilleri oluşturmaktadır. Vitaminler ise reaktif oksijen türleri tarafından, özellikle singlet oksijen, okside edilebilmektedirler. Bu sebeple ROS'ların kontrol altına alınması besinlerin kalitesinin geliştirilmesi adına önem arz etmektedir (Choe ve Min, 2007). Oksijenin indirgenme mekanizması Şekil 2'de verilmiştir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013).



Şekil 2. Oksijenin İndirgenme Mekanizması

4.4.2.1.Peroksi ve alkoksi radikaller

Oksijen alkil radikalleri ($R\cdot$) ile hızlıca reaksiyona girerek peroksil radikallerini ($ROO\cdot$) oluşturmaktadır. Oluşan peroksil radikaller ($ROO\cdot$) daha reaktif olan alkoksil radikallerine ($RO\cdot$) dönüşmektedirler ve her iki bileşik oksidasyon zincirinin devamı için önem arz etmektedir (Foote, 1985). Ayrıca iyi birer okside edici ajandırlar (Maurya, 2014). Hidroperoksitler ($ROOH$) zincir reaksiyonları üç farklı mekanizma ile başlatabilmekte olup bu mekanizmalar Şekil 3'te verilmiştir: (1) Hidroperoksitler ($ROOH$) bizzat kendileri bir radikal ile reaksiyona girerek peroksil radikallerini ($ROO\cdot$) oluşturabilmektedirler. (2) Hidroperoksitler ($ROOH$) metal iyonları veya başka bir indirgeyici tarafından indirgenerek alkoksil radikalini ($RO\cdot$) (daha düşük ihtimalde hidroksil radikali) açığa çıkarabilmektedir. (3) Çoğunlukla yüksek sıcaklıklarda hidroperoksitlerdeki ($ROOH$) O-O bağı parçalanarak alkoksil ($RO\cdot$) veya hidroksil radikalleri ($OH\cdot$) meydana gelebilmektedir (Foote, 1985). Peroksitlerin UV-ışınlarına veya metal iyonlarına maruz kalması sonucu peroksil ve alkoksil radikalleri oluşmaktadır (Maurya, 2014).



Şekil 3. Hidroperoksitler ($ROOH$)'in Oksidasyon Zincir Reaksiyonlarını Başlatma Mekanizmaları

4.4.2.2.Süperoksit iyonu (O_2^-)

Süperoksit iyonunun (O_2^-) birçok biyolojik oksijen toksisitesi durumunda önemli olduğu öne sürülmektedir ve temel olarak enzimatik ve kimyasal yol ile atmosferik oksijen türü olması nedeniyle oksijenin en yaygın ve stabil formu olan triplet oksijenin güçlü bir indirgeyiciden bir tane elektron almasıyla oluşmaktadır (Foote, 1985; Liebermann ve Peet, 2007; Choe ve Min, 2007). Bu indirgeyici, bir metal, bağları sıkı olmayan bir elektron taşıma sistemi, enzimatik bir tür veya başka bir tür güçlü indirgeyici olabilmektedir (Foote, 1985). Oluşan süperoksit iyonu (O_2^-) serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir (Karabulut ve Gülay, 2016). Bu molekülün bir elektron almasıyla beraber bir radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelmektedir. H_2O_2 bir radikal olmamasına rağmen okside edici ajan olması ve hidroksil radikalini ($OH\cdot$) oluşturması sebebiyle bir reaktif oksijen türü olarak kabul edilmektedir. Süperoksit bu bileşik ile non-enzimatik bir yol ile reaksiyona girerek kendisinden daha reaktif olan hidroksil radikalini ($OH\cdot$) veya hidroperoksil radikallerini ($HO_2\cdot$) oluşturabilmektedir (Liebermann ve Peet, 2007). Süperoksitlerin reaksiyonları çok fazla olmamakla beraber, askorbik asit gibi güçlü hidrojen atomu donörlerinin haricinde hiçbir molekülden hidrojen atomu (elektron) almamaktadır. Temel olarak indirgeyici olarak görev almaktadırlar ve hidroperoksil (perhidroksil) radikali ($HO_2\cdot$) ile denge halindedir. Hidroperoksil radikali ($HO_2\cdot$) süperoksit iyonunun konjuge asididir ve iyonun kendisinden daha fazla oksidan özellik göstermektedir (Foote, 1985).

4.4.2.3.Perhidroksil (hidroperoksil) radikali ($\text{HO}_2^\cdot$)

Hidroperoksi radikalleri süperoksit iyonunun ($\text{O}_2^\cdot$) protonlanmış formudur ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) ve hidroksil radikalının ($\text{OH}^\cdot$) reaksiyona girmesiyle oluşmaktadır (Şekil 4) (Choe ve Min, 2007). Hidroperoksil radikalleri hem diğer hidroperoksil radikalleri ve peroksil radikalleri ($\text{ROO}^\cdot$) ile oksidasyona neden olabilmektedirler hem de bu iki tür tarafından inaktive edilebilmektedirler (Guo ve ark., 2021). En önemli okside edici ajanlardan biri olmakla beraber uçucu bileşenler ile kolaylıkla reaksiyona girebilmektedirler (Zu ve Lin, 2001).

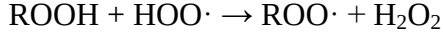


Şekil 4. Hidroperoksi Radikallerinin Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve Hidroksil Radikalının ($\text{OH}^\cdot$) Reaksiyonundan Oluşma Mekanizması

4.4.2.4.Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) canlı hücrelerde enzimatik yol ile hipoklorik aside (HOCl) dönüşebilmektedir ve bu sırada geçiş metallerinin oksidasyonu yoluyla da hidroksil radikalinin ($\text{OH}^\cdot$) oluşmasına neden olarak ROS moleküllerinin üretilmesinde bir aracı olarak rol oynamaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Nötr bir moleküldür ve ROS'lar arasında en az reaktif olanıdır. Metal iyonlarının olmadığı ortamlarda sıcaklığa ve pH'a karşı dayanıklıdır (Ozcan ve Ogun, 2015). Hidrojen peroksit, süperoksit iyonuna ($\text{O}_2^\cdot$) bir elektron ilavesiyle ya da moleküler oksijene (O_2) iki elektron eklenmesiyle de doğrudan meydana gelebilmektedir. Yukarıda adı geçen mekanizmalar tarafından üretilen hidrojen peroksit; katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olarak adlandırılan antioksidan enzim sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Suyun radyasyona maruz kalması veya perhidroksil radikali ($\text{HO}_2^\cdot$) ve hidroperoksitin (ROOH) birbirleriyle etkileşime girmesi hidrojen peroksitin yanı sıra peroksi radikalının ($\text{ROO}^\cdot$) meydana geldiği diğer mekanizmalardandır (Şekil 5) (Choe ve Min, 2007).

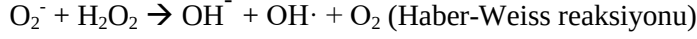
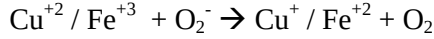
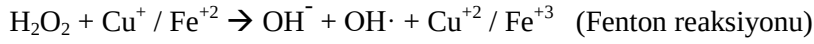
Hidrojen peroksit (H_2O_2) süperoksit iyonu ile metal iyonlarının katalizasyonu aracılığıyla hidroksil radikallerini oluşturabilmektedir (Ozcan ve Ogun, 2015).



Şekil 5. Hidroperoksitin (H_2O_2) Perhidroksil Radikali (HO_2^-) ve Hidroperoksitin ($ROOH$) Reaksiyonundan Oluşum Mekanizması

4.4.2.5. Hidroksil radikali ($OH\cdot$)

Hidroksil radikali hidrojen peroksit (H_2O_2)’ten bazı indirgeyiciler aracılığıyla non-enzimatik olarak oluşmaktadır (Fenton reaksiyonu) (Foote, 1985; Liebermann ve Peet, 2007; Karabulut ve Gülay, 2016). Ayrıca suyun (H_2O) yüksek enerjili γ -ışınlarına maruz kalması sonucu da meydana gelebilmektedir (Choe ve Min, 2007). Hidroksil radikalının reaktivitesi son derece yüksektir, hatta reaktif oksijen türleri arasında en güçlü reaktiviteye sahip olanıdır (Foote, 1985; Liebermann ve Peet, 2007). Birkaç çarpışmada tüm organik substratlarla reaksiyona girme kabiliyetine sahip olup lipid peroksitleri ve organik radikalleri oluşturan zincir reaksiyonları tetiklemektedir. Hidroksil radikallerinin oluşması aşamasında demir, bakır ve manganez gibi metaller rol oynamaktadır ve belirli şelatörler bu metallerin aktivitesini inhibe edebildiği gibi destekleyebilmektedir de (Foote, 1985). Hidrojen peroksitin (H_2O_2) veya süperoksit iyonunun (O_2^-) demir metali ile indirgenerek hidroksil radikalının ($OH\cdot$) oluşmasına Haber-Weiss reaksiyonu adı verilmektedir (Choe ve Min, 2007). Süperoksit iyonu (O_2^-) fenton reaksiyonu ile bağlantı kurarak oluşan metal iyonlarının yeniden kullanılmasını sağlamaktadır. Hidroksil radikalının ($OH\cdot$) oluşum mekanizmaları Şekil 6’da verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016).



Şekil 6. Hidroksil Radikalinin (OH·) Oluşum Mekanizmaları

4.4.2.6. Singlet oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen eşlenmemiş elektronları bulunmaması nedeniyle bir radikal değildir (Choe ve Min, 2007). Işığa duyarlılığı olan metilen mavisi, eozin ve zerdeçal sarısı gibi boyaların, klorofil ve hematoporfirin gibi pigmentlerin, rubren ve antrasen gibi aromatik hidrokarbonların ve riboflavinin ışıya maruz kalması sonucu triplet oksijenden oluşmaktadır (Choe ve Min, 2007; Mib ve Boff, 2002). Ayrıca hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit iyonunun (O₂⁻) etkileşime girmesiyle Haber-Weiss reaksiyonu yolu ile de meydana gelebilmektedir (Choe ve Min, 2007). Singlet oksijen düşük aktivasyon enerjisi gerektirmesi nedeniyle besinlerle kolayca reaksiyona girebilmektedir (Mib ve Boff, 2002). Bunun yanı sıra protein, DNA ve lipitleri (özellikle kolesterol) okside edebilmektedir (Ozcan ve Ogun, 2015). Besinlerin singlet oksijen ile oksidasyonu büyük önem arz etmektedir, bunun sebebi ise singlet oksijenin atmosferik oksijene nazaran besinlerde daha yüksek oranda oksidasyona neden olmasıdır (Mib ve Boff, 2002). Tokoferoller, karotenoidler, ürat, askorbik asit ve zerdeçal gibi maddelerin singlet oksijeni baskıladığı bilinmektedir. Lipitler de singlet oksijeni baskılama kabiliyetine sahip olup, doymuş yağ asitleri singlet oksijenden yağ asitlerinin CH- ve COOH gruplarına enerji transferini gerçekleştirmektedir (Choe ve Min, 2007).

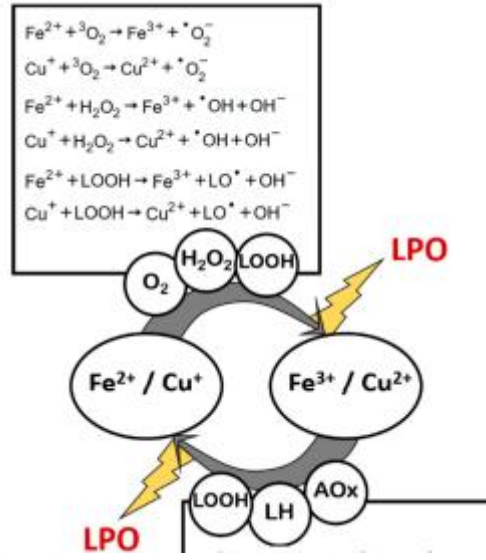
4.5. Lipit Oksidasyonu

Besinsel lipidler, temel olarak gıda olarak tüketilen biyolojik materyallerin çoğunda doğal olarak bulunan ve birçok işlenmiş gıdaya fonksiyonel bileşen olarak ilave edilen triaçilgliseritler, fosfolipidler ve sterollerdir. Bir besin ögesi olarak lipidler, özellikle trigliseritler, iyi bir enerji ve yağ asidi kaynağıdır. Ayrıca yağda çözünen vitaminler veya diğer besin öğelerinin çözünmesine ve absorpsiyonuna aracılık etmektedirler. Yağın varlığı, gıdaların organoleptik algısını önemli ölçüde artırmaktadır, bu durum yağdan zengin besinlerin yüksek oranda tercihini ve pazar avantajını kısmen açıklamaktadır (German, 1999). Lipitler besinlerin doku, lezzet, yapı, renk, kalori yoğunluğu ve besin değeri gibi birçok özelliğine katkıda bulunmaktadır ve besinlerde nonpolar (trigliseritler ve kolesterol) ve polar (fosfolipitler) yapıdadırlar (German, 1999; Estévez ve ark., 2017). Bununla birlikte, kimyasal anlamda çok kararsız bileşiklerdir ve lipidlerin yapısını bozmanın yanı sıra bazı uçucu ve istenmeyen tatların oluşumuna neden olan maddeler gibi oksidatif bileşenlerin üretildiği serbest radikal zincir reaksiyonlarına kolaylıkla maruz kalabilmektedirler (German, 1999). Serbest radikal zincir reaksiyonlarında oluşan ara ürünler (serbest radikaller) ve son ürünler (reaktif aldehytler) besinlerdeki diğer öğelerden protein, vitamin ve pigmentler ile etkileşime girerek bunların besleyici olmayan polimerlerini oluşturabilmektedir veya özelliklerini olumsuz anlamda etkileyebilmektedir (German, 1999; Mozuraityte ve ark., 2016). Lipidlerin bu reaksiyonlara maruz kalması sonucu oluşan lipid oksidasyonu, yağ asitleri ve oksijen arasında, lipidlerin oksidatif bozunmasıyla sonuçlanan, ransidite olarak da bilinen oldukça karmaşık bir süreçtir (Mozuraityte ve ark., 2016). Dioksin, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi kimyasalların ve kontaminantların aksine oluşan oksidasyon ürünleri besinlerin işlenmesi, depolanması ve hazırlanması aşamalarında oluşmaktadır (Estévez ve ark., 2017).

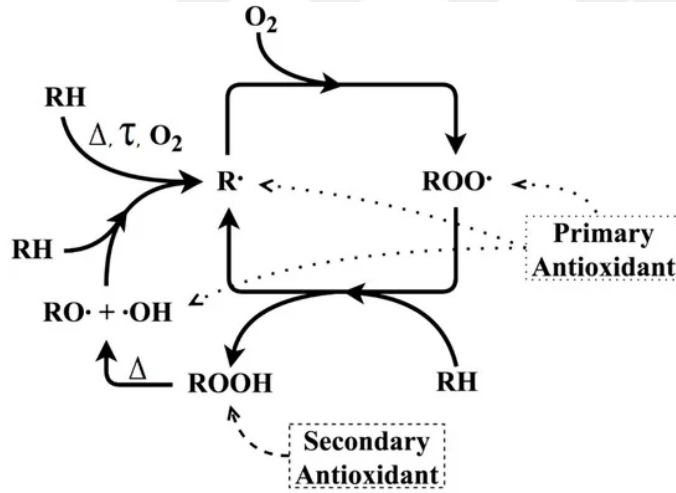
Lipit kompozisyonu, prooksidanların ve antioksidanların varlığı, lipid türü (triaçilgliserol, fosfolipitler ve diğerleri), sıcaklık, ışık, yüksek oksijen seviyeleri, nem oranı gibi depolama koşulları ve işleme yöntemleri besinlerin lipid oksidasyonuna yatkınlığını etkilemektedir (Tao, 2015; Mozuraityte ve ark., 2016).

Prooksidanlar lipit oksidasyonunu başlatan, kolaylaştıran veya hızlandıran bazı geçiş metalleri (serbest demir veya bakır iyonları gibi) gibi bileşenlerdir ve düşük miktarlarda dahil lipit oksidasyonunu katalizleyebilmektedirler. Demir bakırdan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen, bakır iyonları daha güçlü prooksidanlardır (Mozuraitye ve ark., 2016). Demir ve bakır metallerinin lipit oksidasyonuna etkisi Şekil 7’de verilmiştir (Félix ve ark., 2020). Antioksidanlar ise lipit oksidasyonunu inhibe eden bileşenlerdir ve primer ve sekonder olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Primer antioksidanlar peroksil veya alkoksil radikallerine elektron/hidrojen verip bunların başka serbest yağ asitleriyle tepkimeye girmelerini, buna bağlı olarak otooksidasyonu bloke etmeleri nedeniyle serbest radikal tutucuları olarak görev almaktadırlar. Sekonder antioksidanlar ise metal şelasyon ve singlet oksijen ve reaktif oksijen türlerinin yakalanması gibi farklı mekanizmalar ile fonksiyon göstermektedirler (Mozuraitye ve ark., 2016). Primer ve sekonder antioksidanların lipit oksidasyonuna biyoaktif etkileri Şekil 8’de gösterilmiştir (Fiorio ve ark., 2018). Lipit oksidasyonu sıklıkla doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından zengin olan yağların (rafine mısır yağı, genetiğiyle oynanmamış doğal mısır yağı, soya yağı ve ayçiçeği yağı gibi) özellikle yüksek sıcaklıklarda işlenmesi ve ortam sıcaklığında uzun süre muhafaza edilmesi sırasında gerçekleşmektedir (Tao, 2015; Grootveld ve ark., 2020). PUFA’ların oksidasyona çok yatkın olmalarının aksine MUFA’ların oksidasyonu sonucu daha az sayıda primer, sekonder ve aldehidik lipit oksidasyon ürünü meydana gelmektedir (Grootveld ve ark., 2020). PUFA’ların oksidasyonu sonucu hidrokarbonlar, aldehitler ve ketonlar gibi sekonder oksidasyon ürünlerinin oluşumu Şekil 9’da verilmiştir (Kumari ve ark., 2020). Lipidlerin oksidasyonunda en çok etkili olan iki reaktif oksijen türü küçük boyutlu, hareketli, suda çözünür ve aktif oksijenin kimyasal olarak en reaktif türü olan kısa ömürlü hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) ve çoklu doymamış yağ asitlerinin zincir oksidasyonunu başlatma kabiliyetine sahip olan hidroperoksildir ($\text{HO}_2\cdot$) (Ayala ve ark., 2014).

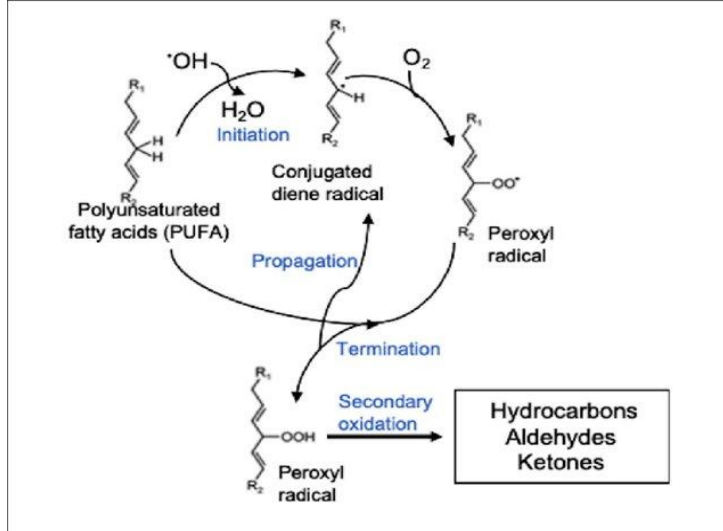
Lipit oksidasyonu ışığa maruziyet, enzim aktivitesi ve metal katalizi aracılığıyla başlatılmaktadır, fakat basınç, yüksek oksijen seviyeleri ve yüksek sıcaklık bu süreci hızlandıran faktörlerdir (Skibsted, 2010; Tao, 2015). Lipit oksidasyonu enzimatik ve non-enzimatik olarak gerçekleşebilmektedir. Non-enzimatik oksidasyon serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşen otooksidasyon, fotooksidasyon ve termal oksidasyon olmak üzere üçe ayrılmaktadır (Tao, 2015). Buna istinaden lipitler üç majör yolak aracılığıyla oksidasyona uğrayabilmektedir: 1) Hidroksil radikalının oluşmasını sağlayan oksijen aktivasyonu ile başlatılan serbest radikal zincir reaksiyonu. 2) Lipit hidroperoksidin lipooksijenaz veya siklooksijenaz aktivitesi ile enzimatik oluşumu. 3) Işığa duyarlı lipit hidroperoksit oluşumu (Skibsted, 2010; Estévez ve ark., 2017). Lipit oksidasyonunun esansiyel yağ asitlerinin ve yağda çözünen A, D, E ve K vitaminlerinin yapısının bozarak gıdaların besin değerini düşürmesi ve oksidasyon reaksiyonlarında oluşan serbest radikallerin ve metabolitlerin insan sağlığına zararlı olabilmesi nedeniyle, besinlerin kalitesini artırmak ve bu süreci engellemek adına birçok yöntem geliştirilmiştir. En çok tercih edilen yöntem ise antioksidanların besinlere ilavesidir. E vitamini, β -karoten ve askorbik asit gibi vitamin ve vitamin prekürsorlerinin gıdalarda antioksidan aktivite gösterdikleri bilinmektedir. Buna ek olarak bitkilerdeki bioaktif bileşenler de, özellikle polifenoller, antioksidan etki göstermektedirler. Gıdalara oksijenin uzaklaştırılması adına nitrojen püskürtülmesi veya gıda ambalajının ışığı daha az geçiren maddelerden yapılması gibi farklı yöntemler de lipit oksidasyonun önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Tao, 2015).



Şekil 7. Demir ve Bakır Metallerinin Prooksidan Olarak Lipit Oksidasyonuna Etkisi



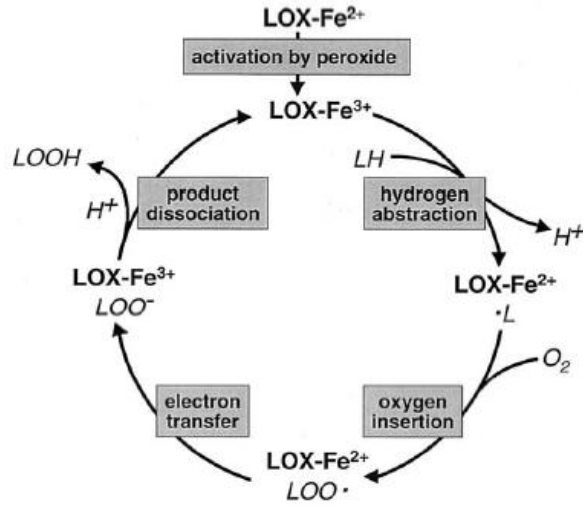
Şekil 8. Primer ve Sekonder Antioksidanların Lipit Oksidasyonuna Biyoaktif Etkileri



Şekil 9. PUFA'ların Lipit Oksidasyonundan Sekonder Oksidasyon Ürünlerinin Oluşumu

4.5.1. Enzimatik Lipit Oksidasyonu

Singlet oksijen ile meydana gelen lipit oksidasyon oranı otooksidasyon aracılığıyla oluşan lipit oksidasyon oranına nazaran yüksektir ve düşük sıcaklıklarda bile gerçekleşebilmektedir (Mozuraitye ve ark., 2016). Enzimatik reaksiyonlarda doymamış yağ asitleri, demir içeren lipooksijenaz (LOX) aktivitesi ile hidroperoksit dönüştürülebilmektedirler (Tao, 2015; Mozuraitye ve ark., 2016). LOX enzimi ayrıca doymamış yağ asitlerinin içerisine moleküler oksijenin yerleştirilmesini katalizleyen dioksijenaz enzim ailesine aittir (Tao, 2015). Bir substratın (LH) LOX enzimi oksidasyonu sonucu hidroperoksit (LOOH) oluşum mekanizmasında LOX enziminin etkisi Şekil 10'da verilmiştir (Kühn ve Borchert, 2002). Lipid oksidasyonundan sorumlu bir diğer enzim grubu olan miyeloperoksidazlar ise hidrojen peroksit ve bromürler ve iodyürler gibi halojenürlerin varlığında oksidasyonu başlatabilmektedirler (Tao, 2015)..



Şekil 10. Lipit Oksidasyonunda LOX Enziminin Etkisi

4.5.2. Non-Enzimatik Lipit Oksidasyonu

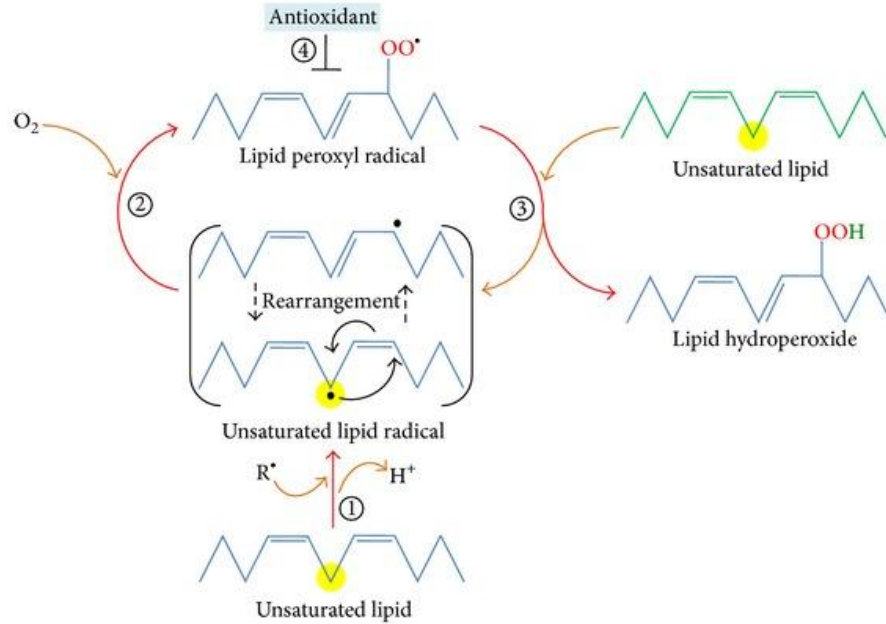
4.5.2.1.Oto-Oksidasyon

Non-enzimatik oksidasyonun ototoksidasyon mekanizmasına serbest radikaller aracılık etmektedir ve sonucunda primer oksidasyon ürünü olarak lipit hidroperoksitleri (LOOH) oluşmaktadır (Tao, 2015). Otooksidasyon lipit oksidasyonunun en önemli mekanizmasıdır ve otokatalitik olarak gerçekleşmektedir. Doymamış yağ asitlerinin atmosferik oksijen ile reaksiyona girmesi temeline dayanmaktadır (Mozuraitye ve ark., 2016). Lipit oksidasyonunun otooksidasyon mekanizması başlangıç, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç basamakta gerçekleşmektedir (Mozuraitye ve ark., 2016). Başlangıç basamağında hidroksil radikali gibi prooksidanlar, zayıf karbon-hidrojen (C-H) bağı içeren doymamış lipitten (LH) alilik hidrojeni uzaklaştırarak karbon merkezli lipid radikalini (L·) oluşturmaktadır (Ayala ve ark., 2014; Skibsted, 2010; Grootveld ve ark., 2020). Termodinamik olarak atmosferik oksijen çift bağlara spin durumlarının farklı olması nedeniyle direkt olarak etki edememektedir. Yağ asitlerindeki çift bağlar singlet durumundayken, oksijen triplet ($^3\text{O}_2$) durumundadır. Bu sebeple ya okside olacak substratın reaktif formda (L·) olması gerekmektedir veya oksijenin aktif formda (singlet oksijen, hidroksil radikali, süperoksit anyon) bulunması gerekmektedir

(Mozuraityte ve ark., 2016). Yayılma aşamasında lipit radikali atmosferik dioksijen ile (O_2) birleşerek lipit peroksil radikalini ($LOO\cdot$) oluşturmaktadır (Ayala ve ark., 2014). $LOO\cdot$ radikali ise başka bir lipit molekülünde PUFA'lar ile etkileşime girerek bir hidrojen molekülünü ayırıp reaksiyonun devamını sağlayan $L\cdot$ radikalini ve daha stabil bir yapıya sahip lipit hidroperoksidini ($LOOH$) meydana getirmektedir (Ayala ve ark., 2014; Grootveld ve ark., 2020). Lipit oksidasyonunun son aşamasında E vitamini gibi antioksidanlar $LOO\cdot$ radikaline bir tane hidrojen atomunu vererek radikal olmayan bileşikler oluşturmak üzere başka bir $LOO\cdot$ radikali ile tepkimeye giren E vitamini radikalini oluşturmaktadır (Ayala ve ark., 2014). Lipit oksidasyonu başladıktan sonra zincir reaksiyonlar, hidrojen donorü olan ve reaksiyon zincirini kırabilen lipofilik bir antioksidan (α - tokoferol gibi fenolik bileşikler gibi) tarafından sonlandırılmadığı sürece son ürünler oluşana kadar devam etmektedir (Ayala ve ark., 2014; Grootveld ve ark., 2020). Oto-oksidasyon mekanizması başlangıç, yayılma ve sonlanma basamakları ile Şekil 11'de verilmiştir (Ayala ve ark., 2014).

Oksijenin doymamış lipitlerle reaksiyonu sonucu alkoller, ketonlar, okso-asitler, alkanlar, alkenler, epoksi- yağ asitleri ve lökotoksinler gibi çok sayıda oksidasyon ürününün oluşumu söz konusudur. Oluşan başlıca (primer) bileşikler ise tatsız ve kokusuz özellikteki lipit hidroperoksitleridir ($LOOH$) (Ayala ve ark., 2014; Grootveld ve ark., 2020; Mozuraityte ve ark., 2016). Doymamış yağ asidi bileşimindeki çift bağ sayısı arttıkça daha kompleks $LOOH$ karışımları meydana gelebilmektedir (Mozuraityte ve ark., 2016). Hidroperoksitler Fe (II), Fe (III), Cu (I) veya Cu (II) gibi metallerin katalizasyonu aracılığıyla lipit alkoksil radikali ($LO\cdot$) ile tepkimeye girerek peroksil radikalini ($LOO\cdot$) oluşturabilmektedir veya bozulmuş lipitlere karakteristik duyusal özelliklerini veren aldehit ve ketonlar gibi sekonder lipit oksidasyon ürünlerini verebilmektedir (Skibsted, 2010). Aldehit türlerinden malondialdehit (MDA) lipit oksidasyonunun en mutajenik ürünü iken, n-6 PUFA'lardan oluşan 4-hidroksinonenal (4-HNE) ise en toksik olanıdır (Ayala ve ark., 2014; Estévez ve ark., 2017). MDA tiyobarbütirik asit (TBA) ile kolayca reaksiyona girebilmesi nedeniyle yıllar boyunca omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin oksidasyonunda biyomarker olarak kullanılmıştır (Ayala ve ark., 2014). 4-HNE'nin yüksek toksisitesi ise tiyoller ve amino gruplarıyla hızlıca reaksiyona girmesiyle

açıklanabilmektedir (Ayala ve ark., 2014). Akrolien de yağlı gıdaların ısı ile muamele edilmesinden oluşan doymamış yapıda olan başka bir aldehit türüdür ve özellikle omega-3 açısından zengin olan besinlerde oluşmaktadır (Grootveld ve ark., 2020). Bu bileşik hem serbest radikallerin ikincil toksik mesajcısı hem de fizyolojik olarak en aktif lipit peroksitlerinden biri olma özelliğini taşımaktadır (Ayala ve ark., 2014). Sonuç olarak besinlerdeki lipit oksidasyonu sonucu sağlığa zararlı bileşiklerin oluşumu, gıdaların duyuusal özelliklerinin olumsuz etkilenmesi, raf ömrünün azalması ve besin israfı söz konusudur. Mevcut beslenme önerilerini karşılamak adına gıdalardaki çoklu doymamış yağ asidi içeriğinin arttırılması besinlerin oksidatif stabilitesinin azalmasına neden olmaktadır (Jacobsen ve ark., 2019).

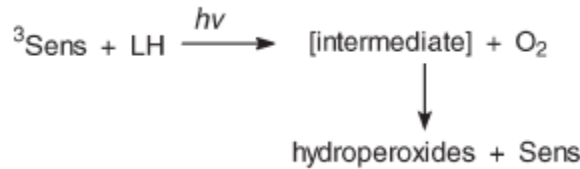


Şekil 11. Oto-Oksidasyon Mekanizmasının Başlangıç, Yayılma ve Sonlanma

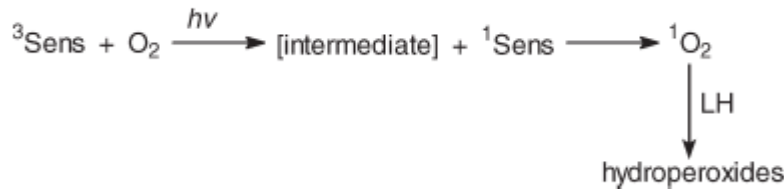
Basamakları. [Başlangıç aşamasında, prooksidanlar substrattankarbon merkezli bir lipit radikalini oluşturmak üzere hidrojen atomunu almaktadırlar (1).Yayılma aşamasında lipit radikali hızla oksijenle reaksiyona girerek bir lipit peroksi radikalini oluşturmaktadır (2). Oluşan lipit peroksi radikali başka bir lipit molekülünden hidrojen atomu alarak lipit radikali ve lipit hidroperoksidi oluşturmaktadır (3). Sonlanma aşamasında antioksidanlar lipit peroksi radikale bir hidrojen atomu bağışlayarak radikal olmayan ürünlerin oluşumunu sağlamaktadır (4).]

4.5.2.2.Foto-oksidasyon

Fotooksidasyon fotokimyasal oksidasyon ve ışığa duyarlı oksidasyon olmak üzere iki gruba sınıflandırılmaktadır (Tao, 2015). Fotokimyasal oksidasyon ultraviyole ışınlar maruziyet ile ışığa duyarlı oksidasyon ise klorofiller, hemprotein, riboflavin ve sentetik boyalar gibi ışığa duyarlılığı artıran etkenler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Işığa duyarlı oksidasyonun Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki türü bulunmaktadır (Tao, 2015). Tip 1 reaksiyonu riboflavin gibi duyarlaştırıcıların triplet durumunda bir substrat ile tepkimeye girerek serbest radikalleri oluşturması temeline dayanmaktadır (Tao, 2015; Mozuraityte ve ark., 2016; Frankel, 2012). Tip 2 reaksiyonlarında klorofil, metilen mavisi, protoporfirinler ve eritrosin ışığa duyarlılaştırıcılar triplet durumunda enerji transferi yoluyla oksijen ile etkileşime girerek, doymamış lipidlerle daha fazla reaksiyona giren, oldukça reaktif bir moleküler oksijen türü olan radikal olmayan singlet oksijeni vermektedir (Frankel, 2012). Bu bilgiler doğrultusunda klorofil benzeri pigment içeren bitkisel yağların fotooksidasyona yatkın olduğu söylenebilmektedir (Tao, 2015). Foto-oksidasyonun Tip 1 ve Tip 2 reaksiyon mekanizmaları sırasıyla Şekil 12 ve Şekil 13'te verilmiştir (Frankel, 2012).



Şekil 12. Foto-Oksidasyonun Tip 1 Reaksiyon Mekanizması



Şekil 13. Foto-Oksidasyonun Tip 2 Reaksiyon Mekanizması

4.5.2.3.Termal Oksidasyon

Sıcaklık, oksijen ve ışık gibi çevresel koşullar oksidasyon sürecini hızlandırmaktadır (Rotich ve ark., 2020). Özellikle ticari kızartma işlemleri sırasında, kızartma yağları, hidroliz, termal oksidasyon ve polimerizasyon reaksiyonunu indükleyebilecek yüksek sıcaklıklarda tekrar tekrar ve sürekli olarak kullanılmaktadır. Sıcaklığın 100°C'nin üstüne çıktığı durumlarda zeytinyağının temel bileşenlerinden biri olan oleik asit kolayca oksitlenebilmektedir (Chen ve ark., 2019). Bu açıdan yağların termal oksidasyona karşı stabilitesi, gıda kalitesi ve güvenliği açısından birincil öneme sahiptir (Rotich ve ark., 2020). Kızartma koşulları altında yağ kalitesinin düşmesinden en çok sorumlu olan kimyasal reaksiyonlar hidroliz, oksidasyon ve polimerizasyondur. Hidroliz reaksiyonları, triağılgiserollerini tek tek yağ asitlerine, diasilgiserollere, monoasilgiserollere veya gliserole parçalamaktadır. Oksidasyon reaksiyonları, ayrıca aldehitler ve alkoller oluşturmak üzere reaksiyona giren peroksit ürünlerinin oluşumunu teşvik etmektedir. Oksidasyon reaksiyonlarının ürünleri genellikle birbirleriyle reaksiyona girerek moleküllerin dimerizasyonuna ve polimerizasyonuna yol açabilmektedir (Erickson ve ark., 2022). Ayrıca 180°C ve üzeri sıcaklıklarda akrilamid, oksitlenmiş triağılgiserol polimerleri ve oksitlenmiş triağılgiserol monomer gibi birçok tehlikeli madde oluşabilmektedir (Xu ve ark., 2020). Yağların termal stabilitesi, çoğunlukla trigliseritlerdeki tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlıdır. Doymamışlık derecesi ne kadar yüksek olursa, termal staabilitesi o kadar düşük olur. Ayrıca polifenollerin konsantrasyonu da, aktif antioksidanları içermesi nedeniyle yağ oksidasyonunun önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Rotich ve ark., 2020).

4.5.1. Lipit oksidasyonunun insan sağığına etkisi

Mutfakta kullanılan PUFA içeriğı yüksek olan sıvı yağların yüksek sıcaklığına maruziyeti sonucunda yüksek oranda oluşan aldehitler ve epoksi-yağ asitleri gibi sitotoksik ve genotoksik lipit oksidasyon ürünleri bu tür yağlarda kızartılan besinlere hızlıca nüfuz edebilmektedirler ve böylelikle insanlar tarafından tüketilerek insan sağığına zarar verebilmektedirler (Grootveld ve ark., 2020). Bazı çalışmalarda (Anderson ve ark.) oksidasyon ürünlerinin sitotoksik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağılayan antioksidan yollarını aktive ettikleri ve muhtemelen bu sebeple PUFA içeriğı zengin sıvı yağlarda kızartma yapmanın sağılıklı bir tercih olduğı ileri sürölse de, gıda ile aktarılabilen lipit oksidasyon ürünlerinin bu çalışmalarda göz önünde bulundurulmadığı düşünölmektedir (Tao, 2015; Grootveld ve ark., 2020). Lipit oksidasyon ürünlerinin aynı zamanda bağışıklık sisteminde savunmayı tetikleyen oksidasyona özgü epitopların öncöleri olarak hareket ettikleri de düşünölmektedir. Bu mekanizmanın disfonksiyonu durumunda birikip kronik inflamatuvar süreçler ile ilişkilendirilmektedirler (Estévez ve ark., 2017). Gastrointestinal sistemde (GİS) emilip sistemik dolaşıma girdikten sonra diğler iç organlara taşınmaktadırlar, böylelikle kanser, kardiyovasköler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bulaşıcı olmayan hastalıkların riskini artırabilmektedirler. Özellikle küresel sağık rehberlerinde insan sağığı için kabul edilebilir maksimum tüketimi çok sınırlı olan veya hiç mevcut olmayan aldehitler kimyasal olarak çok reaktif olmaları nedeniyle DNA gibi önemli biyomoleköllelerde hasara, daha yüksek konsantrasyonlarda ise birçok hücresele işlevi baskılayarak, homeostazı bozarak veya biyolojik fonksiyonları değıştirerek hücresele hasara ve bunun sonucunda apoptoza neden olabilmektedirler (Grootveld ve ark., 2020; Estévez ve ark., 2017). Bu sebeple aldehitlerden MDA'nın bir alt türö olan HNE'nin ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalıkta etkili olduğı bilinmektedir (Tao, 2015; Grootveld ve ark., 2020). Bu ürün ayrıca proteinin yapısını değıştirebilme kabiliyetine sahiptir ve yüksek konsantrasyonlarda aktif glutatyon (GSH) antioksidanı ile reaksiyona girebilen elektrofilik bir bileşiktir.

Oksidatif reaksiyonlar sadece besinlerde oluşmamakla beraber sindirim sırasında besinlerin kendilerine özgü bir ortamı olan ve oksidatif süreci etkileyebilen gastrointestinal bölmelerde farklı reaksiyonlara maruz kalmaları sonucu da oluşabilmektedir. Örneğin düşük pH'ından ve içerisinde çözünmüş oksijen bulundurmasından dolayı midenin lipit oksidasyon ürün miktarının artırılmasında çok etkili olduğu düşünülmektedir (Estévez ve ark., 2017). Yalnızca sekonder lipit oksidasyon ürünlerinin (özellikle aldehitler ve epoksi-yag asitleri) yüksek sıcaklıkta kızartma işlemlerinde besinlere geçtiğini ve burada uzun süre kalabildiklerini gösteren veriler bulunmaktadır. Lipid hidroperoksitleri ise potansiyel olarak kolorektal kanser gibi intestinal hastalıklara zemin hazırlayabilmektedirler ve moleküler ve hücrel süreçler ile etkileşim halinde olmaları nedeniyle intestinal bütünlüğü etkileyebilmektedirler (Grootveld ve ark., 2020). İnsan sağlığına önemli ölçüde zarar verebilen lipit oksidasyonunun önlenmesi ve yağların stabilize edilmesi amacıyla bazı önlemler alınabilmektedir: 1) Oksijenin yağların işlenmesi ve depolanması aşamalarında uzaklaştırılması. Bu sebeple yağların uzun ve dar tenekelerde muhafaza edilmesi ve yağın üst kısmında kalan hava boşluğunun minimuma indirilmesi ve var olan boşlukların atıl gazlar ile doldurulması önerilir. 2) Fotokimyasal oksidatif değişiklikler doğrudan ışığın kaynağına, ışığın dalga boyuna ışığın yoğunluğuna, ışığa maruz kalma süresine ve sıcaklığa bağlıdır. UV ışığın görülebilir ışıktan daha zararlı olduğu bilinmektedir, bu sebeple yağların koyu renkli camlarda veya UV ışığı absorbe edici plastik kaplarda muhafaza edilmesi önerilmektedir. 3) Otooksidasyon yüksek sıcaklıklarda artış göstermektedir, hatta her 10 °C'de bir iki katına çıktığı düşünülmektedir. Sıcaklık değişiklikleri ise raf ömrünü önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Mozuraityte ve ark., 2016).

4.6. Antioksidanlar

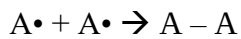
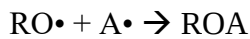
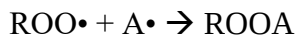
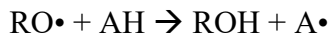
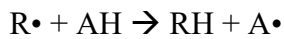
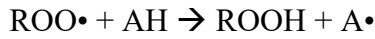
Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu azaltma veya önleme kabiliyetine sahip moleküllerdir. Sağlığı korumak, kanser veya kalp damar hastalıkları gibi bazı hastalıkları önlemek için gıda takviyelerinin önemli bir parçası olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca gıda endüstrisinde de koruyucu madde olarak tercih edilmektedirler (Petrescu ve ark., 2020). Gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılacak olan antioksidan maddeler ülkelerin düzenleyici yasaları veya uluslararası standartlar doğrultusunda seçilmektedir (Lourenço ve ark., 2019). Antioksidanlar primer antioksidanlar, sekonder antioksidanlar, sentetik antioksidanlar ve doğal antioksidanlar olmak üzere dört grupta incelenebilmektedir. Primer antioksidanlar zincir-koparan antioksidanlardır ve serbest radikallere hidrojen atomu vererek bu moleküllerin radikal durumlarını nötrleme kabiliyetine sahiptirler. (Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksil toluen (BHT), tersiyer bütül hidrokinon (TBHQ), tokoferoller ve flavonoidler primer antioksidanlara örnektir. Bu antioksidanların biyoaktif faaliyet mekanizması Şekil 14'te verilmiştir (AH antioksidan molekül). Propil gallat, proantosiyanidinler ve askorbik asit gibi bazı primer antioksidanlar serbest radikallerin yakalanması, oksijenin ayrılması, metal şelasyon ve ışık enerjisinin absorpsiyonu gibi birden fazla mekanizma ile antioksidan aktivite gösterebilmektedirler. Sekonder antioksidanlar (koruyucu antioksidanlar) metal şelasyon, singlet oksijenin, ışığa duyarlılaştırıcıların ve lipoksijenazın inaktive edilmesi gibi mekanizmalar ile oksidasyona etki etmektedirler. Metaller özellikle başlangıç aşamasında oksidasyonun aktivasyon enerjisini düşürerek ve oksidasyonu hızlandırarak prooksidan olarak davranmaktadırlar. Metal şelatörler çözünmeyen metal kompleksler meydana getirmektedirler veya metaller ve besinler arasında yapısal engeller oluşturmaktadırlar. Metal şelatörlere sitrik asit, etilendiamintetraasetikasit (EDTA), polifenoller, lignanlar ve askorbik asit gibi antioksidanlar örnek olarak verilebilmektedir. Tokoferoller, karotenoidler, fenolik bileşikler ve askorbik asit singlet oksijeni deaktive ederek triplet oksijene dönüştürerek veya kendilerini singlet oksijen ile okside ettirerek oksidasyona karşı korumaktadırlar. Klorofil ve riboflavin gibi ışığa duyarlı olan bileşenler singlet

oksijen oluşturmak adına enerjilerini triplet oksijene taşımaktadırlar veya lipit ile reaksiyona girebilecek serbest radikalleri oluşturmak adına triplet oksijene elektron vererek süperoksit iyon radikalini oluşturmaktadırlar. Karotenoidler ise bu ışığa duyarlı olan bileşenleri inaktive edebilme yeteneğine sahip antioksidanlardır (Madhujith ve Sivakanthan, 2018).

Stabil, düşük maliyetli, kolay ulaşılabilir ve yenabilir bitkisel yağların oksidasyona karşı korunmasında oldukça etkili olmaları nedeniyle BHA, BHT ve THBQ gibi sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktaydı (Lourenço ve ark., 2019; Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Fakat bazı çalışmaların sentetik antioksidanların uzun süreli kullanımının cilt alerjileri, gastrointestinal sistem sorunları ve bazı kanser türleri gibi bir takım sağlık sorunları ile ilişkili olduğunu göstermesiyle sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların gıda endüstrisinde kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Lourenço ve ark., 2019). Sentetik antioksidanlar ile karşılaştırıldıklarında doğal antioksidanların daha yüksek oranda antioksidan aktivite sergiledikleri ve daha fazla termal stabiliteye sahip oldukları bilinmektedir (Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Doğal antioksidanların birçoğu hidrojen donörü olarak görev alan çoklu OH gruplarını içermektedirler (Mozuraityte ve ark., 2016). Bu özellikler ise yağlarda kullanılan antioksidanların sahip olması gereken en önemli kriterler olarak tanımlanmaktadır. Bitkisel ekstraktlar flavonoidler (kuersetin, kaempferol, mirisetin), kateşinler veya fenoller (karnosol, rosmanol, rosmaridifenol) ve fenolik asitler (karnosik asit, rosmarinik asit) gibi antioksidanlar içermektedirler (Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Bazı fenolik bileşikler antioksidan aktivitenin yanı sıra antimikrobiyal ve antifungal özellik de göstermektedirler ve besinlerin tat ve dokusunda önemli etkileri bulunmaktadır. Antioksidan aktiviteye sahip en önemli vitaminler ise ağırlıklı olarak baklagiller ve tahıllarda bulunan hidrofobik E vitamini ve meyve ve sebzelerin yüksek oranda içerdiği hidrofilik C vitaminleridir (askorbik asit) (Lourenço ve ark., 2019). Tokoller her biri alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört tokoferol ve dört tokotrienol izomerine sahiptir. Biyolojik olarak en aktif izomer α -tokoferoldür, fakat γ -tokoferol en iyi antioksidan aktiviteye sahip olanıdır. Bütün tokoller arasında en stabil olmayanı α -tokoferoldür, bu sebeple yüksek sıcaklıklarda kolayca tahrip olmaktadır

(Madhujith ve Sivakanthan, 2018). Askorbik asit demir ve bakır iyonları ile kompleks oluşturarak lipid oksidasyonunun metaller aracılığıyla katalizlenmesini engellemektedir. Karotenoidler ise singlet oksijen moleküllerinden enerjiyi absorbe ederek triplet oksijen moleküllerine kimyasal yapılarını değiştirmeden aktarmaktadır ve bu sayede sıvı yağları ışık-indüklü oksidasyona karşı korumaktadır (Mozuraitye ve ark., 2016). Karotenoid sınıfının en önemli bileşenleri β -karoten, α -karoten, likopen ve luteindir. Bu bileşikler aynı zamanda gıdalarda renklendirici olarak da kullanılabilmektedirler (Lourenço ve ark., 2019). Katı ve sıvı yağlar, özellikle yüksek düzeyde doymamış yağ asitleri içerenler, bilhassa şiddetli ısı işlemlerden sonra tehlikeli sekonder ürünlerin oluşumu ile oksidasyon reaksiyonlarına girebilmektedirler.

Günümüzde depolama ve gıda işleme sırasında oksidasyona karşı yağ stabilitesinin sağlanmasında kullanılan doğal antioksidanların temel kaynağı meyve ve sebzelerin işlenmesinden elde edilen yan ürünlerdir (Blasi ve Cossignani, 2020). Antioksidanların yağlara oksidasyon ürünlerinin ve prooksidanların büyük ölçüde uzaklaştırıldığı rafinasyon işleminden sonra ilave edilmesi daha etkili olmaktadır. Oksidasyon başladıktan sonra antioksidanların eklenmesi yağlarda oksidasyonu biraz yavaşlatabilmektedir veya hiç etkili olmayabilmektedir (Mozuraitye ve ark., 2016).



Şekil 14. Primer Antioksidanların Biyoaktif Faaliyet Mekanizması

4.7. *Lavandula Stoechas* Bitkisinin Özellikleri

Akdeniz bölgesine özgü olan Lavanta (*Lavandula*) cinsi Fransa, İspanya gibi ülkelerde yetişen türleri içerir (Charles, 2013). *Lamiaceae* familyasına ait olan bu cins 39 türden oluşmaktadır ve 400 çeşit geniş bir yelpazede hasat edilmektedir (Insawang ve ark., 2019). Genellikle tropikal ve ılıman iklimlerde yetişmekte olan çok yıllık bir bitkidir (Özcan ve ark., 2018). Bu bitkiden uçucu yağ üretiminde ve bu yağların ihraç edilmesinde en önemli iki ülke Bulgaristan ve Fransa'dır (Insawang ve ark., 2019). Özellikle stres kaynaklı baş ağrısı ve depresyon gibi durumlarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Lavanta yağı romatizma ağrılarını hafifletmek için merhem olarak kullanılmaktaydı. Ayrıca gaz giderici, kas gevşetici (spazmolitik), antiseptik, antibakteriyel ve kan akışını uyarıcı özellikleri de bulunmaktadır. Kesikleri, morarmaları ve cilt tahrişlerini de tedavi edebilmektedir. Lavanta sinirleri yatıştırıcı etkisi sayesinde bitki çayı olarak da tercih edilebilmektedir. Lavanta yağı aromaterapide ve geleneksel kullanım alanında en çok bilinen esansiyel yağdır. En çok yaprakları ve esansiyel yağı kullanılmaktadır. *Lavandula* ismi eski dönemlerde banyo suyuna hoş kokusu nedeniyle katılmasından dolayı Latince de "yıkama" anlamına gelen *lavare* kelimesinden türemektedir. Lavanta çok çiçeksi, meyvemsi ve otsu bir aromaya sahip olmakla beraber, tatlı, çiçeksi otsu, ferahlatıcı, hoş rahatlatıcı-odunsu bir alt tona sahiptir (Charles, 2013).

Oldukça aromatik olan bu bitkinin önemli türleri *Lavandula intermedia* (Lavandin), *Lavandula latifolia* (Portekiz lavantası), *Lavandula angustifolia* (İngiliz lavantası) ve *Lavandula stoechas* (İspanyol lavantası)'dır (Charles, 2013; Insawang ve ark., 2019). Bu türler arasında majör olanlardan *Lavandula angustifolia* temel olarak koku endüstrisinde kullanılıyorken, *Lavandula stoechas* daha çok terapötik ajan olarak kullanılmaktadır (Insawang ve ark., 2019). Lavanta bitkisinin çiçeği ve yaprakları tatlandırılmış sirkelerde, peltelerde ve bazen salatalarda tercih edilmektedir. Lavanta yağı ve bitkinin kendisi doğal bir tatlandırıcı olarak pişmiş ürünlerde, yumuşak şekerde, jelatinde, dondurulmuş süt ürünlerinde ve alkollü ve alkolsüz meşrubatlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Lavanta yağından ayrıca kolonyalarda, bitkisel parfümlerde ve sabunların üretiminde de yararlanılmaktadır.

Lavanta yağının koklanmasının serbest radikal aktivitesini artırdığı, kortizol adlı stres hormonunu azalttığı ve bu sayede vücudu oksidatif strese karşı koruduğu bilinmektedir (Charles, 2013). Uçucu bileşenlerinin solunmasının aynı zamanda migren, anksiyete, yorgunluk ve uykusuzluğun semptomlarını azalttığı bilinmektedir. Lavanta yağının en önemli uçucu bileşenleri linalool, linalil asetat, 1,8-sineol, cis-ve trans-osimen, terpinen-4-ol ve kamfordur (Insawang ve ark., 2019).

Lavantanın önemli türlerinden olan ve Türkçede “karabaş otu” olarak da adlandırılan *Lavandula stoechas*’ın esansiyel yağı geçmiş tarihlerde yaygın olarak kozmetik ve tıp alanında, özellikle epilepsi ve migren gibi santral sinir sistemi hastalıklarında kullanılıyorken, modern tarihte aromaterapide, pişirmede, mumlarda, kozmetikte, deterjanlarda, yumuşak şekerlerde, masaj yağlarında, parfümlerde, pudralarda, şampuanlarda, sabunlarda ve çaylarda tercih edilmektedir (Özcan ve ark., 2018; Kırmızıbekmez ve ark., 2009; Sebai ve ark., 2013). Uçucu bileşenlerinin iştahı uyarıcı olduğu ve geleneksel tıpta astım, bronşit, kolik, soğuk algınlığı ve yorgunluk için kullanıldığı bilinmektedir (Özcan ve ark., 2018). Çiçekli kısımları çoğunlukla analjezik, antiseptik, sedatif ve balgam sökücü olarak işlev görmektedir, ayrıca hiperlipidemi tedavisi, kanser tedavisi ve kan şekerini düşürmede de yardımcı olabilmektedir (Kırmızıbekmez ve ark., 2009; Sebai ve ark., 2013). Soğuk algınlığı, romatizma ve sindirim sistemi hastalıklarına karşı ise daha çok yaprakları ve sapları kaynatılarak tüketilebilmektedir. Bitkinin ekstraktlarının yaralarda, üriner enfeksiyonlarda, kardiyak hastalıklarda ve egzema da kullanımı yaygındır (Sebai ve ark., 2013). Hücre membran hasarına ve parçalanmasına neden olarak antifungal ve patojenleri öldürücü etki gösteren *Lavandula stoechas* bitkilerde mantar patojenlerinin misel büyümesini engellemektedir (Özcan ve ark., 2018; Kırmızıbekmez ve ark., 2009). Bu özelliklerinin yanı sıra *Lavandula stoechas* esansiyel yağının toksik olmaması ve dönüşümünün kolay olması besinlerde de antifungal koruyucu olarak kullanılabilmesini sağlamaktadır (Özcan ve ark., 2018). Esansiyel yağında bazı fenilpropanoidler ve alkoller, eterler, aldehytler, ketonlar veya esterler gibi birçok organik fonksiyonel grupları ihtiva eden uçucu monoterpenoidler ve seskiterpenoidler bulunmaktadır. Bileşenin %80’ini monoterpenler oluşturmaktadır ve bunlardan en fazla keton grupları bulunmaktadır. Fakat farklı

lkelerde yetişen aynı bitkinin fenkon ve kamfor (kafur) gibi majör bileşenlerinin oranları bile farklılık gösterebilmektedir. Bitkinin esansiyel yağının antioksidan aktivitesi içeriğindeki linalool ve timol gibi bileşiklerin yüksek oranda bulunmasına atfedilmektedir. *Lavandula stoechas* esansiyel yağı aynı zamanda anti-enflamatuardır ve LOX aktivitesini inhibe edebilmektedir (Carrasco ve ark., 2015). Yapılan alışmalar ayrıca *Lavandula stoechas* esansiyel yağının özellikle *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilere ve *Candida* mantarının bazı cinslerine karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır (Wells ve ark., 2018). Linalool ve timol bileşikleri, *Lavandula stoechas* uçucu yağlarının antioksidan aktivitesinden sorumlu görülmektedir (Ez zoubi ve ark., 2020). *Lavandula stoechas* bitkisine ait görünümler Resim 1’de ve bitkinin sistemat­içi ise Tablo 1’de verilmiştir (<https://www.itis.gov/>, Erişim tarihi 26 Haziran 2022).



Resim 1. *Lavandula stoechas* bitkisine ait görünümler

Tablo 1. *Lavandula stoechas* Bitki Türünün Sistematığı

Alem	Plantae
Alt Alem	Viridiplantae
Bölüm	Tracheophyta
Alt Bölüm	Spermatophytina
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Lamiales
Familya	Lamiaceae
Cins	<i>Lavandula</i> L.
Tür	<i>Lavandula stoechas</i> L.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1.Kullanılan Kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasallar Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Çalışmada; natürel birinci zeytinyağı (Tariş), saf etanol (%96) (Merck, ABD), metanol (Merck, ABD), trikloroasetik asit (TCA) (Merck, ABD), hidroklorik asit (HCl) (Merck, ABD), 1-bütanol (Merck, ABD), n-hegzan (Merck, ABD), Folin-Ciocalteu Reaktifi (Merck, ABD), sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck, ABD), kloroform (Merck, ABD), glasiyel asetik asit (Merck, ABD), potasyum iyodür (KI) (Merck, ABD), nişasta (Yazgan), sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (Merck, ABD), distile su kullanılmıştır.

5.2.Kullanılan Araç ve Gereçler

Tez kapsamında bitki ekstralarının hazırlanması aşamasında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı araştırma laboratuvarın bulunan; hassas terazi (Scaltec, ABD), kahve öğütücüsü (Sinbo, Türkiye), metal spatula, plastik kap, cam erlen (250 ml, BoruCam), cam mezür (100 ml, BoruCam), alüminyum folyo, nuçe erleni (500 ml, İSOLAB), filtre kağıdı, cam huni, cam balon (250 ml, Dilex), rotary evaporatör (Buchi B-300 Base), Eppendorf tüp (4 ml) kullanılmıştır. TBARS tayini, toplam fenolik bileşik miktar tayini, ve peroksit değeri analizi için Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında bulunan; cam beher (250 ml ve 500 ml, BoruCam), cam beher (25 ml, GRASSO), cam beher (50 ml, 100 ml ve 500 ml), balon joje (2000 ml), havan, kapaklı plastik falkon tüp (45 ml, BD), cam erlen (250 ml ve 500 ml), kapaklı cam şişe, cam büret (2000 ml), cam tüp, kapaklı plastik falkon tüp (14 ml), tüp standı, parafilm kağıdı, otomatik pipet (Biohit PROLINE 100-1000 μl , ABD), titrasyon büreti (45 ml), vortex cihazı (Janke – Kunkell IKA Labor Technik, Almanya), etüv (Binder, Almanya), santrifüj (Hettich EBA 20,

Kanada), ısıtıcı manyetik karıştırıcı (Janke – Kunkell, IKA Labor Technic, Almanya), su banyosu (Memmert- WNB 22, Almanya), mikropilaka spektrofotometresi (Biotek Epoch, ABD) kullanılmıştır.

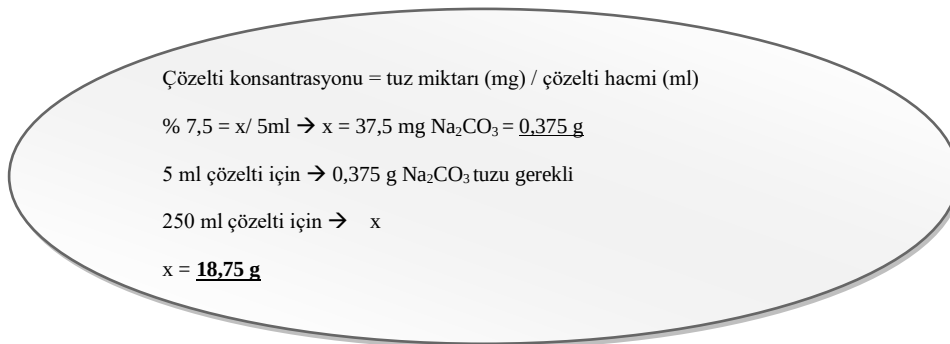
5.3.Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

5.3.1. TBA çözeltisinin hazırlanması

Cam beherde 0,375 g TBA 15 ml TCA çözeltisiyle karıştırıldıktan sonra üzerine 2,1 ml HCl eklenmiştir. Karışım 100 ml'ye kadar distile su ile tamamlanmıştır. TBA çözeltisi analize kadar vida kapaklı cam bir şişede 4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

5.3.2. % 7,5'lik sodyum karbonat (Na₂CO₃) çözeltisinin hazırlanması

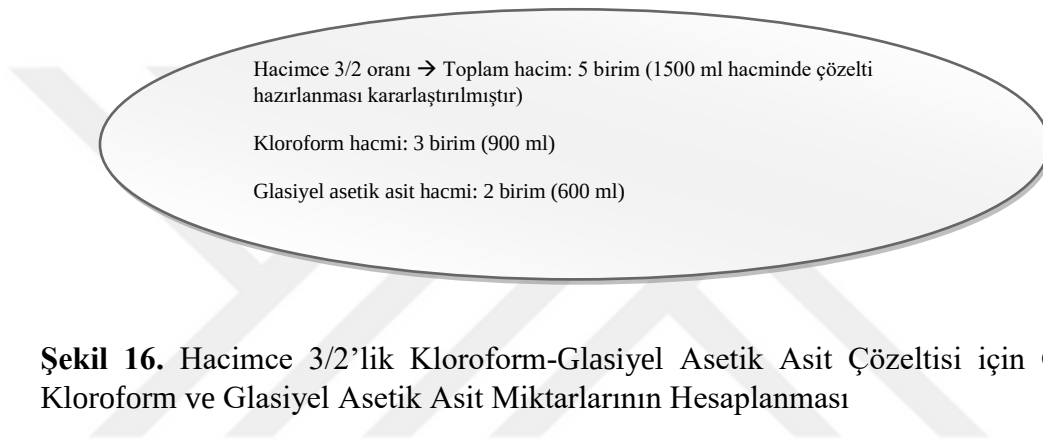
%7,5'lik Na₂CO₃ çözeltisi için gerekli distile su ve Na₂CO₃ tuzu miktarı Şekil 15'teki hesaplama ile bulunmuştur. Na₂CO₃ tuzunun gramajı hassas terazide (SCALTEC) ölçülüp metal spatula ile cam erlene konulduktan sonra distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.


$$\begin{aligned}\text{Çözelti konsantrasyonu} &= \text{tuz miktarı (mg)} / \text{çözelti hacmi (ml)} \\ \% 7,5 &= x / 5\text{ml} \rightarrow x = 37,5 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3 = \underline{0,375 \text{ g}} \\ 5 \text{ ml çözelti için} &\rightarrow 0,375 \text{ g Na}_2\text{CO}_3 \text{ tuzu gerekli} \\ 250 \text{ ml çözelti için} &\rightarrow x \\ x &= \underline{18,75 \text{ g}}\end{aligned}$$

Şekil 15. % 7,5'lik Sodyum Karbonat (Na₂CO₃) Çözeltisi için Gerekli Distile Su ve Tuz Miktarının Hesaplanması

5.3.3. Hacimce 3/2'lik kloroform-glasiyel asetik asit çözeltisinin hazırlanması

Her örneğe 30 ml kloroform-glasiyel asetik asit çözeltisi kullanılacağı ve toplamda 20 adet örnek mevcut olduğu için gerekli olan kloroform ve glasiyel asetik asit miktarları Şekil 16'da gösterilen hesaplamaya göre bulunmuştur. Kloroform ve glasiyel asetik asit maddeleri bulunan miktarlarda cam bürete konduktan sonra, balon jojeye aktarılarak hafif çalkalanarak birbirine karışması sağlanmıştır.



Şekil 16. Hacimce 3/2'lik Kloroform-Glasiyel Asetik Asit Çözeltisi için Gerekli Kloroform ve Glasiyel Asetik Asit Miktarlarının Hesaplanması

5.3.4. Doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisinin hazırlanması

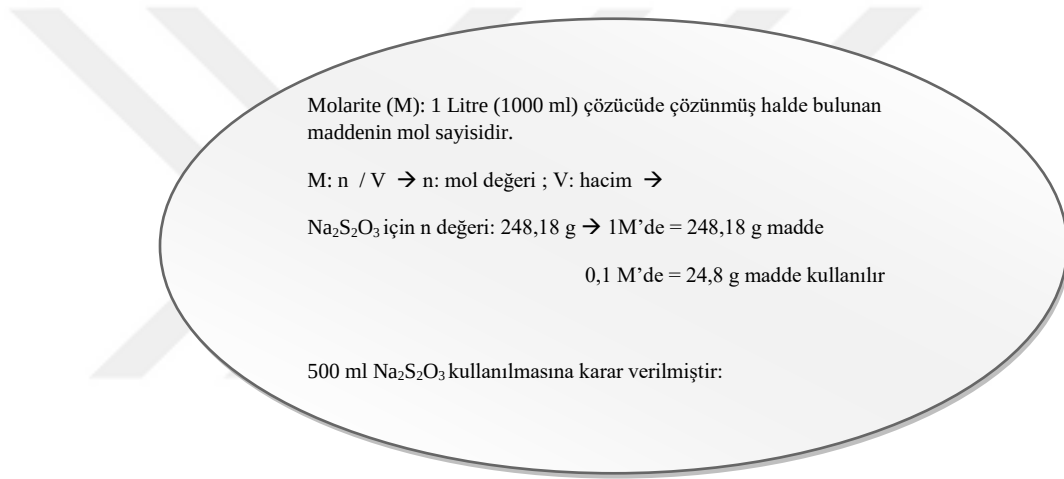
Cam beher içerisine metal spatula ile bir miktar potasyum iyodür (KI) tuzu konulup üzerine tuz suda tamamıyla çözülene kadar çökme olmayacak şekilde distile su eklenmiştir. Ardından çözeltinin ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karışması sağlanmıştır (sıcaklık: 0; Hız: 6).

5.3.5. %1 'lik nişasta çözeltisinin hazırlanması

Hassas terazide tartılan 2 g nişasta metal spatula yardımıyla cam erlene konulduktan sonra üzerine 200 ml'ye kadar distile su ilave edilmiştir. Son olarak karışım spatula yardımıyla karıştırılmıştır.

5.3.6. 0,1 M sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) çözeltisinin hazırlanması

0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ çözeltisi için $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ tuzu ve distile su kullanılmıştır. Çözeltinin hazırlanması için gerekli olan bu malzemelerin miktarları Şekil 17'deki formüle göre hesaplanmıştır. Hassas terazide ölçülen 12,4 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ metal spatula yardımıyla cam behere konulduktan sonra üzerine 500 ml'yi tamamlayana kadar distile su ilave edilmiştir. Ardından karışımın ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda (karışması sağlanmıştır).



Şekil 17. 0,1 M Sodyum Tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) Çözeltisi için Gerekli $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ Tuzu ve Distile Su Miktarlarının Hesaplanması

5.4. Materyal

Tez çalışmasında Tariş marka natürel birinci zeytinyağı ve kurutulmuş *Lavandula stoechas* bitkisi kullanılmıştır. Zeytinyağı bölgesel bir süpermarketten temin edilmiştir. *Lavandula stoechas* bitkisinin toprak üstü kısımları, 30.05.2017 tarihinde İstanbul ilinin Şile ilçesinden Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ali ŞEN ve Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr.Öğr. Üyesi Ahmet DOĞAN tarafından toplanmış ve Dr. Öğr. Üyesi Ahmet DOĞAN tarafından teşhis edilmiştir. Bitkinin birkaç örneği, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda kayıt altına alınmıştır (MARE No: 17865). Çalışmada bitkinin gölgede kurutulmuş hali kullanılmıştır.

5.5. Yöntem

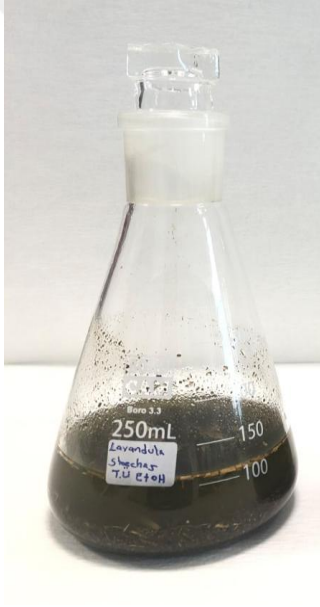
Çalışmada farklı konsantrasyonlarda *Lavandula stoechas* bitki ekstresi ile zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağı örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan yağ örnekleri 100 °C ve 150 °C sıcaklıklarda farklı inkübasyon sürelerinde (0, 30, 60 dakika) termal oksidasyona maruz bırakılmıştır. Oksidasyon işleminin ardından her inkübasyon süresi ve sıcaklık için birer örnek alınıp kimyasal analizlerde TBARS tayini, toplam fenolik bileşik miktar tayini ve peroksit değeri analizi yapılmıştır. Fiziksel analizlerde renk değişimi gözlemlenmiştir.

5.5.1. *Lavandula stoechas* bitki ekstresinin hazırlanması

5.5.1.1. Maserasyon

Maserasyon işlemi Marmara Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarında Doç. Dr. Ali Şen'in yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Gölgede kurutulmuş *Lavandula stoechas* bitkisinin toprak üstü kısmın (çiçek, gövde ve yaprak) Sinbo marka kahve öğütücüsünde öğütülmüştür. Toz haline getirilen ve

hassas terazide tartılan 15 g bitki metal spatula yardımıyla plastik bir kaba aktarılmıştır. Cam erlenin (250 ml) içi % 96'lık saf etanol ile temizlendikten sonra plastik kapta bulunan bitki tozunun tamamı spatula yardımıyla erlene konulmuştur ve üzerine 100 ml'lik bir mezür yardımıyla 110 ml saf etanol eklenmiştir. Maserasyon işlemine tabi tutulmuş öğütülmüş *Lavandula stoechas* bitkisi ile % 96'lık saf etanol içeren karışımın görünümü Resim 2'de verilmiştir. Erlenin ağzı cam kapak ile kapatıldıktan sonra ağız ve kapak arasına sıkışmayı engellemek amacıyla bir parça alüminyum folyo konulmuştur. Maserasyon için elde edilen karışım 24 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir.



Resim 2. Maserasyon için Elde Edilen Öğütülmüş *Lavandula Stoechas* Bitkisi ve % 96'lık Saf Etanol İçeren Karışım

5.5.1.2. Distilasyon

Distilasyon işlemi Marmara Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarında Doç. Dr. Ali Şen'in yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Maserasyon işlemine tabi tutulan örnek 500 ml'lik nuçe erlenine (ISOLAB) içerisinde pileli filtre kağıdı bulunan bir cam huni yardımıyla süzülerek aktarılmıştır. Yapılan bu işlemin görüntüsü Resim 3'te verilmiştir. Nuçe erlenindeki süzöntü 250 ml'lik bir cam balona konulmuştur. Cam balonun rotary evaporatör cihazına takılmasıyla distilasyon süreci başlatılmıştır. Kullanılan cihaza ait görüntü Resim 4'te yer almaktadır. Rotary evaporatörün distilasyon işlemi boyunca çalışma koşulları Tablo 2'de yer almaktadır. Çözücü, vakumlama gücü 10 mbar'a indirilerek kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, % 3 verimle bitki ekstresi elde edilmiştir. İşlemin sonunda bitki ekstresi içeren cam balon hassas teraziye konularak tartım yapılmıştır. Cam balonun içerisinde bulunan ekstre metal spatula yardımıyla kazılarak dörder mg tartılarak kapaklı Eppendorf tüplerine aktarılmıştır ve analize kadar + 4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Elde edilen bitki ekstresinin yüzde verim hesaplaması Şekil 18'de verilmiştir.



Resim 3. Maserasyon İşlemine Tabi Tutulan Karışımın Pileli Filtre Kağıdı Yardımıyla Nuçe Erlenine Süzülerek Aktarılması

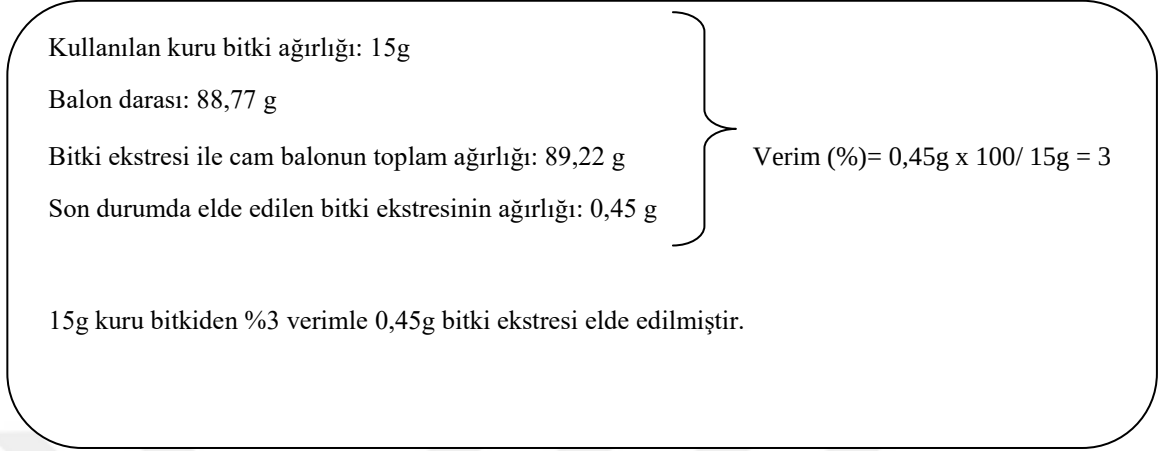


Resim 4. Distilasyon İşleminin Gerçekleştirildiği Rotary Evaporatör Cihazı (Buchi B-300 Base)

Tablo 2. Distilasyon İşleminde Kullanılan Rotary Evaporatörün Çalışma Koşulları

Vakumlama gücü	300 mbar → 250 mbar → 200 mbar → 190 mbar → 180 mbar → 170 mbar*
Dakikada devir sayısı	100 rpm
Su banyosu sıcaklığı	50 °C
Chiller (soğutucu) sıcaklığı	10°C

*Vakumlama gücü, maksimum verimle bitki ekstresinin eldesi için, kademeli olarak düşürülmüştür.



Şekil 18. Distilasyon İşlemiyle Elde Edilen Bitki Ekstresi Veriminin Hesaplanması.

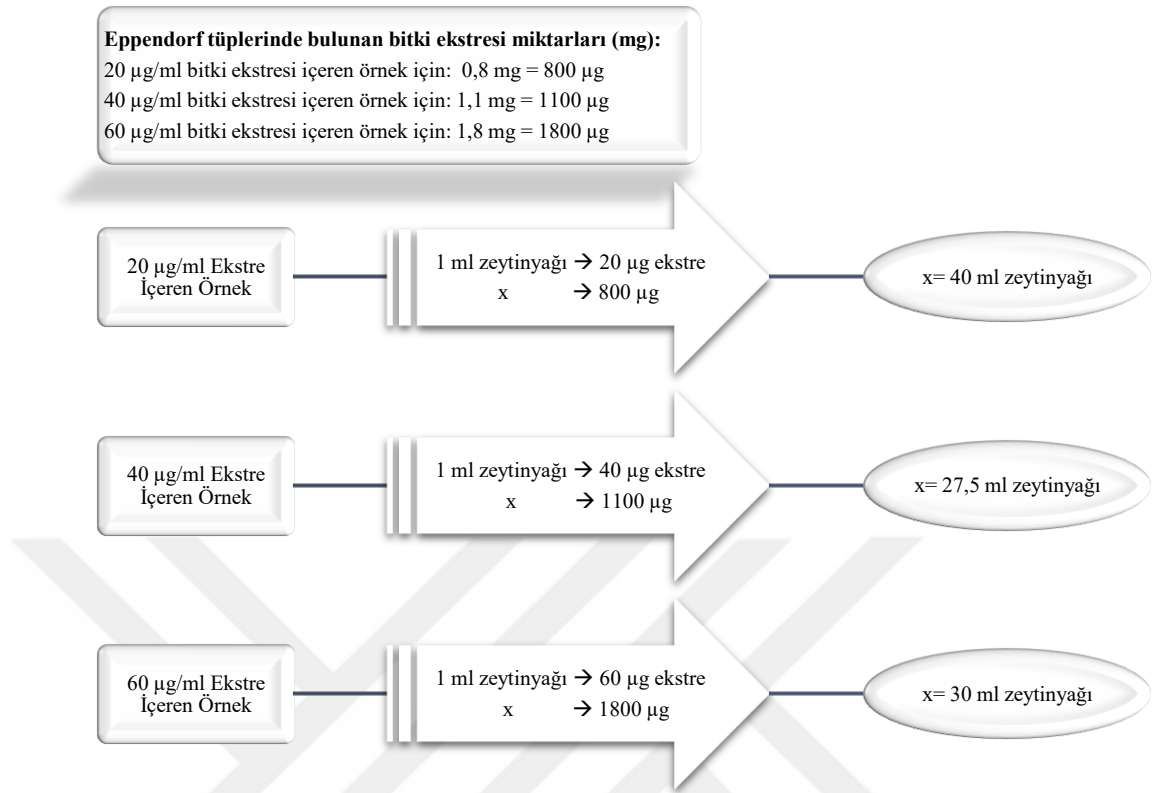
5.5.2. Natürel Birinci Zeytinyağının *Lavandula Stoechas* Ekstresi İle Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Zenginleştirilmesi

Her bir analiz için zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağı örnekleri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Analizlerde 20 µg/ml, 40 µg/ml ve 60 µg/ml olmak üzere üç konsantrasyonda bitki ekstresi içeren üçer adet zenginleştirilmiş örnek ve birer kontrol grubu (bitki ekstresi içermeyen) hazırlanmıştır. Analizler gerçekleştirilene kadar zeytinyağı karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Eppendorf tüplerinde bulunan bitki ekstresi miktarlarına uygun hacimde (mililitre olmalı) zeytinyağı kullanılmıştır. Eppendorf tüplerinin içerisinde bulunan bitki ekstrelerinin miktarlarını saptamak için her birinin hassas terazide tartımı gerçekleştirilmiştir. Eppendorf tüplerinin içerisindeki bitki ekstrelerinin miktarları ve bunlara uygun hacimde kullanılacak zeytinyağı miktarları hesaplanmıştır. Her bir analiz için bu hesaplamalar ayrı ayrı yapılmıştır. Eppendorf tüplerinin içerisinde bulunan ekstreler uygun hacimde zeytinyağına aktararak havan yardımıyla homojen karışımlar elde edilmiştir. 45 ml'lik kapaklı plastik falkonlara (BD) aktarılan örnekler 10-20 saniye vortekslendikten sonra 0. dakika örnekleri alınmıştır.

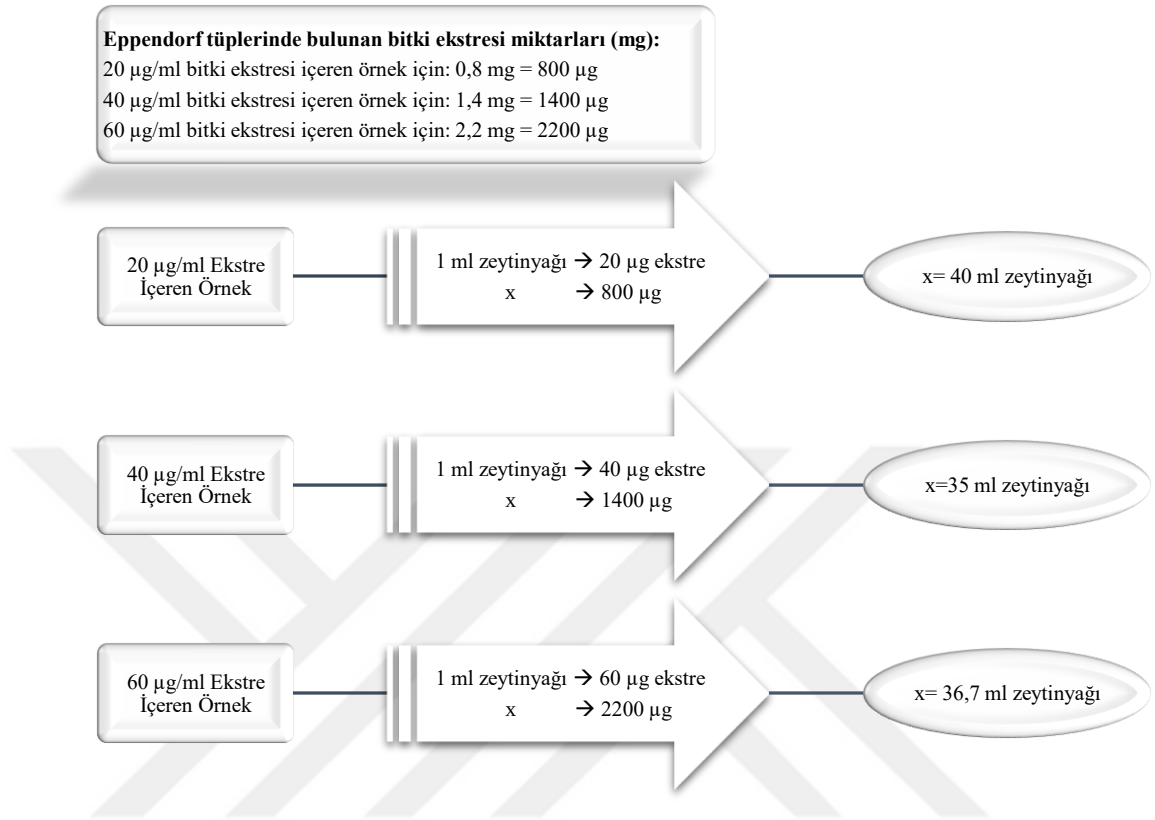
TBARS tayininde kontrol grubu olarak 40 ml zeytinyağı kullanılmıştır. 20 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 0,8 mg ekstreye 40 ml zeytinyağı, 40 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 1,1 mg ekstreye 27,5 ml zeytinyağı, 60 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 1,8 mg ekstreye 30 ml zeytinyağı kullanılmıştır (Şekil 19).

Toplam fenolik bileşik miktar tayininde kontrol grubu olarak 40 ml zeytinyağı kullanılmıştır. 20 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 0,8 mg ekstreye 40 ml zeytinyağı, 40 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 1,4 mg ekstreye 35 ml zeytinyağı, 60 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 2,2 mg ekstreye 36,7 ml zeytinyağı kullanılmıştır (Şekil 20).

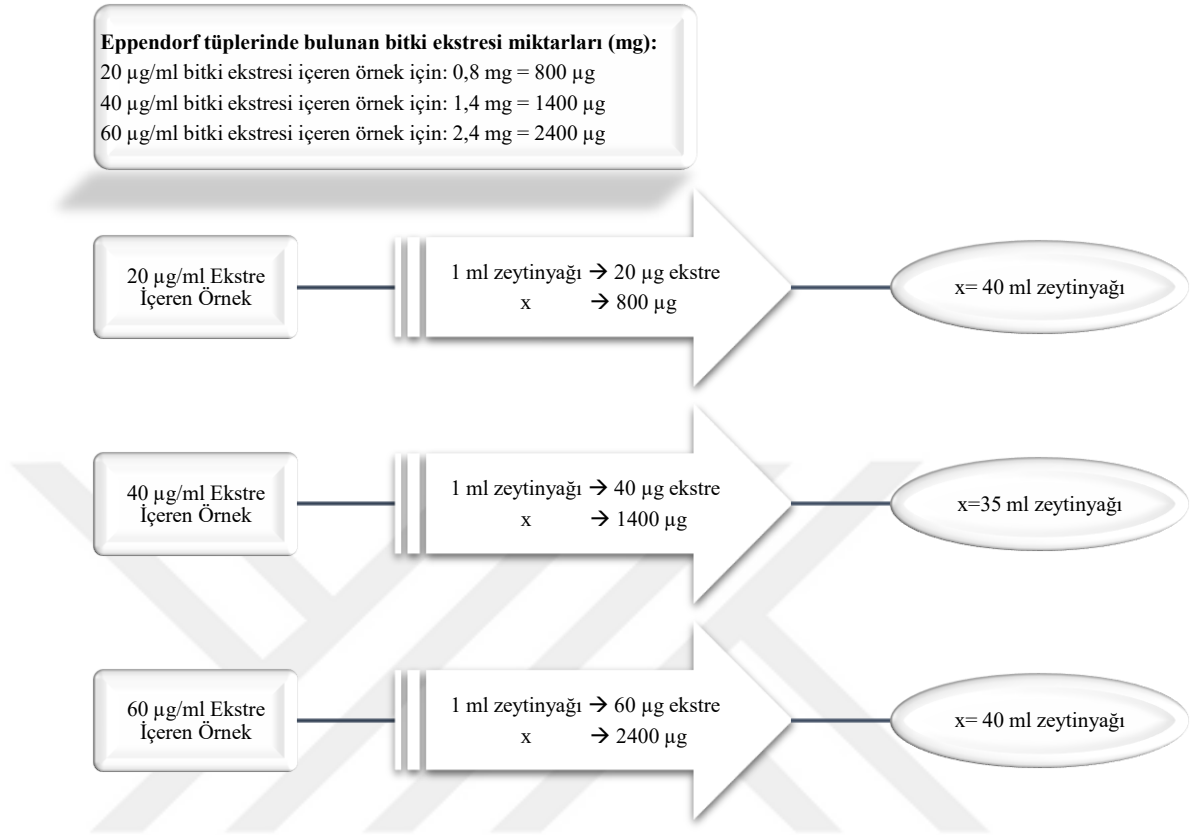
Peroksit değeri analizinde kontrol grubu olarak 40 ml zeytinyağı kullanılmıştır. 20 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 0,8 mg ekstreye 40 ml zeytinyağı, 40 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 1,4 mg ekstreye 35 ml zeytinyağı, 60 µg/ml konsantrasyonunda ekstre içeren örneğin eldesi için 2,4 mg ekstreye 40 ml zeytinyağı kullanılmıştır (Şekil 21).



Şekil 19. TBARS Tayininde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna Uygun Zeytinyağının Miktarları



Şekil 20. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayininde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna Uygun Zeytinyağının Miktarları



Şekil 21. Peroksit Değeri Analizinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin ve Buna Uygun Zeytinyağının Miktarları.

5.5.3. Natürel birinci zeytinyağı örneklerinin termal oksidasyona maruz bırakılması

Örnekler 100 °C ve 150 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta termal oksidasyon işlemi yapılmak amacıyla 25 ml'lik cam beherlere (GRASSO) konulmuştur. Bütün analizlerde 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml ekstre içeren örnekler ve kontrol grubu olmak üzere 4 örnek 100 °C için, 4 örnek ise 150 °C için ayrılmıştır (Resim 5). 100 °C ve 150 °C sıcaklıklarda termal oksidasyon işlemleri Binde marka etüvde gerçekleştirilmiştir. Etüve konulan beherlerden 30. dakika dolduktan sonra örnek alınıp tekrar etüve konulmuştur. Örnekler 30 dakika daha termal oksidasyona maruz bırakılıp oksidasyon süresi 60 dakikaya tamamlandıktan sonra etüvden tekrar çıkarılıp örnek alınmıştır. Örneklerin termal oksidasyona maruz bırakılması işlemi her bir analiz için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.



Resim 5. Termal Oksidasyona Maruz Bırakılmak Üzere Hazırlanan Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri ve Isıl İşlem İçin Kullanılan Etüv

5.6.Natürel birinci zeytinyağı örneklerine uygulanan kimyasal analizler

Natürel birinci zeytinyağının zenginleştirilmesinde kullanılan *Stachys lavandulifolia* ekstraktının termal oksidasyona karşı konsantrasyona bağlı koruyucu etkisini incelemek amacıyla Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik bileşen miktar tayini, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tayini yöntemi ile antioksidan aktivite tayini ve toplam peroksit değeri analizleri gerçekleştirilmiştir.

5.6.1. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tayini

Örneklerin antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi için TBARS tayini uygulanmıştır. Spektrofotometrik bir yöntem olan TBARS tayini örnekteki lipidlerin oksidasyonu nedeniyle oluşan malondialdehitin (MDA) tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe renkli ürünün miktarının tayin edilmesi temeline dayanmaktadır. TBARS analizi, Tabar ve Baştürk (2018)'ün uyguladığı Amerikan Yağ Kimyagerleri Birliği (American Oil Chemists' Society-AOCS) (1994) yönteminden uyarlanarak gerçekleştirilmiştir.

TBARS tayini için toplam 8 adet örneğin (4 adet 100 °C, 4 adet 150 °C için) hazırlanışı Şekil 23'te şematize edilmiştir. 100°C ve 150°C sıcaklıklarda 0, 30, ve 60 dakika inkübe edilen örnekler oda sıcaklığına soğumaya bırakılmıştır (100°C için 15 dakika; 150 °C için 30 dakika). Her bir örnekten 150 mg pipet yardımıyla alınıp 25 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır ve son hacme kadar 1-bütanol ile tamamlanmıştır. Örnekler ultrasonik su banyosuna yerleştirilerek homojen karışımlar sağlanmıştır. Örneklerden 5 ml vida kapaklı cam tüplere aktarılıp, üzerine 1-bütanolde hazırlanmış 5 mL %0,2'lik TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımlar vortekslenerek 95 °C sıcaklıkta 2 saat su banyosunda inkübe edilmiştir. Örneklerin 10 dakika boyunca musluk suyu altında bekletilerek oda sıcaklığına soğutulduktan sonra birkaç saniye vortekslenip her örnekten 150 µl alınıp mikropiplara yerleştirilmiştir (Resim 6). Örnekler spektrofotometre cihazında 532 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen sonuçlar ile MDA standart eğri grafiği kullanılarak örneklerin TBARS değeri MDA

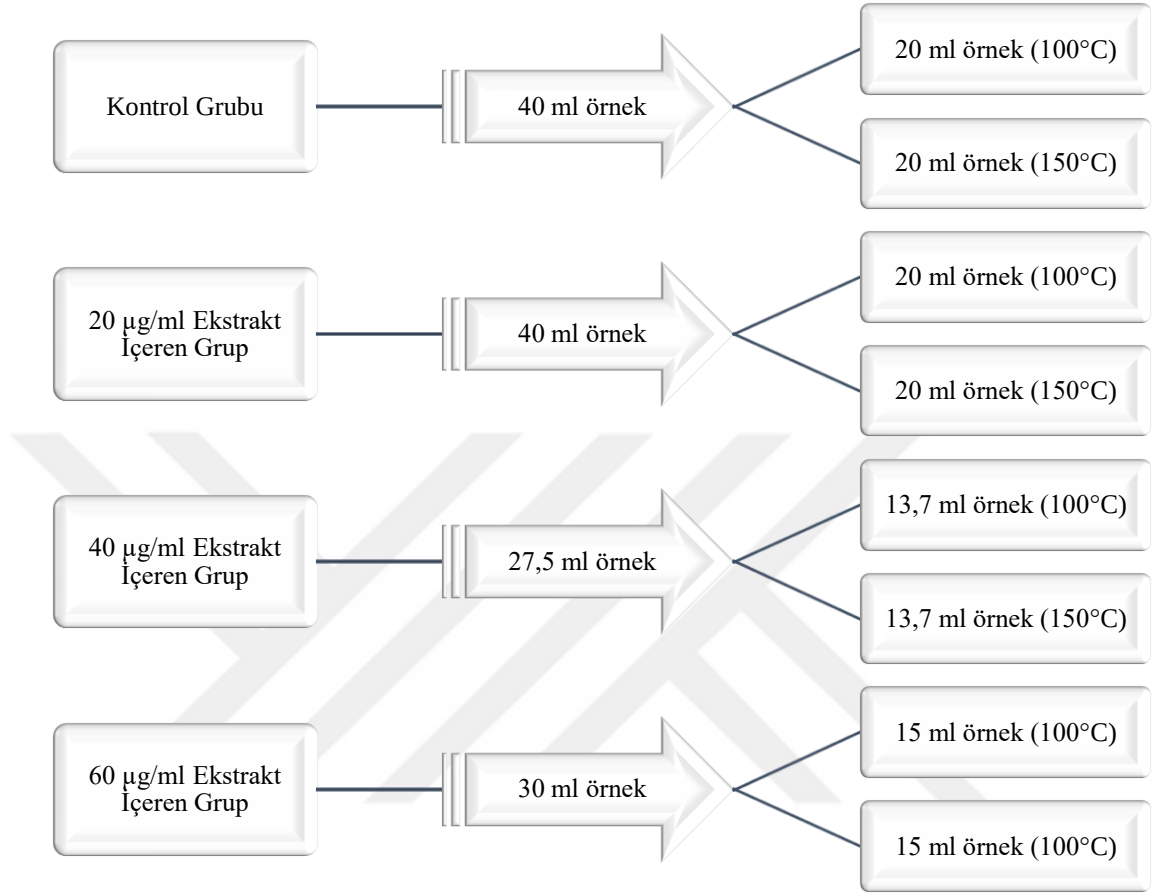
A 96-well microplate is shown, oriented horizontally. The plate is divided into two main sections. The left section contains yellow liquid in the wells, while the right section is empty. Handwritten blue ink labels are present: '60', '30', and '0' are written in the top row of the yellow section, and '60', '30', and '0' are written in the top row of the empty section. The label 'S. aureus' is written vertically on the right side of the plate.

Graph 1: Determination of Lead (Pb) using the dithionite-sulfuric acid method.

The graph shows a linear relationship between Absorbance (nm) and Concentration (mg/mL). The regression equation is $y = 0,0649x - 0,0362$ with $R^2 = 0,9949$.

Konsantrasyon (mg/mL)	Absorbans (nm)
1	0,08
2	0,12
5	0,28
10	0,60
20	1,25

80

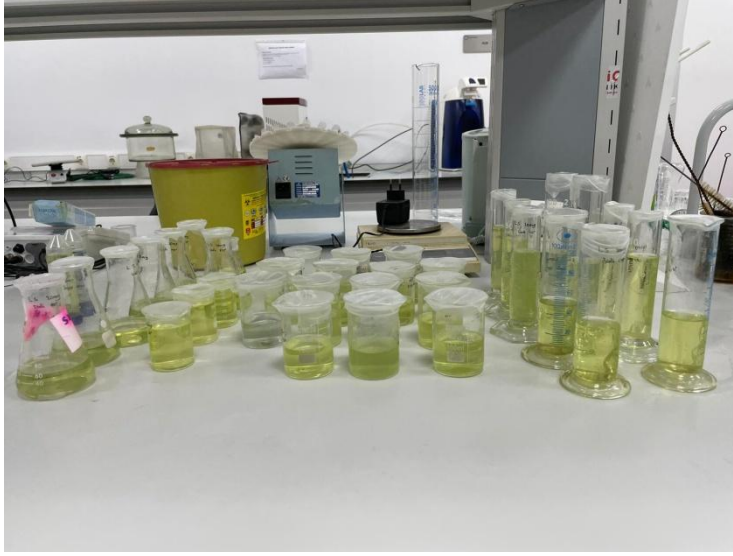


Şekil 23. TBARS Tayininde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal Oksidasyona Maruz Bırakılacak Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması.

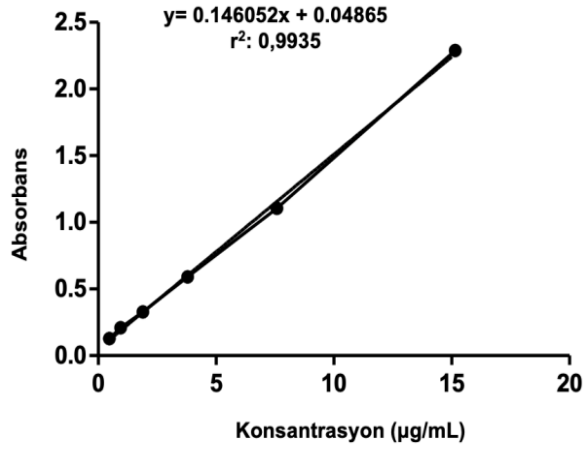
5.6.2. Toplam fenolik bileşik miktar tayini

Toplam fenolik bileşiklerin miktarının kolorimetrik olarak saptanması için Folin-Ciocalteu yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem kısaca fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici özelliğe sahip bileşiklerden molibdenyuma elektron transfer edilmesi temeline dayanmaktadır. Oluşan kompleksin vermiş olduğu mavi renk spektrofotometrik olarak saptanmaktadır. Standart olarak gallik asit veya fenolik standart kullanılabilmektedir. Bu çalışmada standart olarak gallik asit kullanılmıştır. (Bayram ve ark., 2012; Fuentes ve ark., 2012; Capannesi ve ark., 2000).

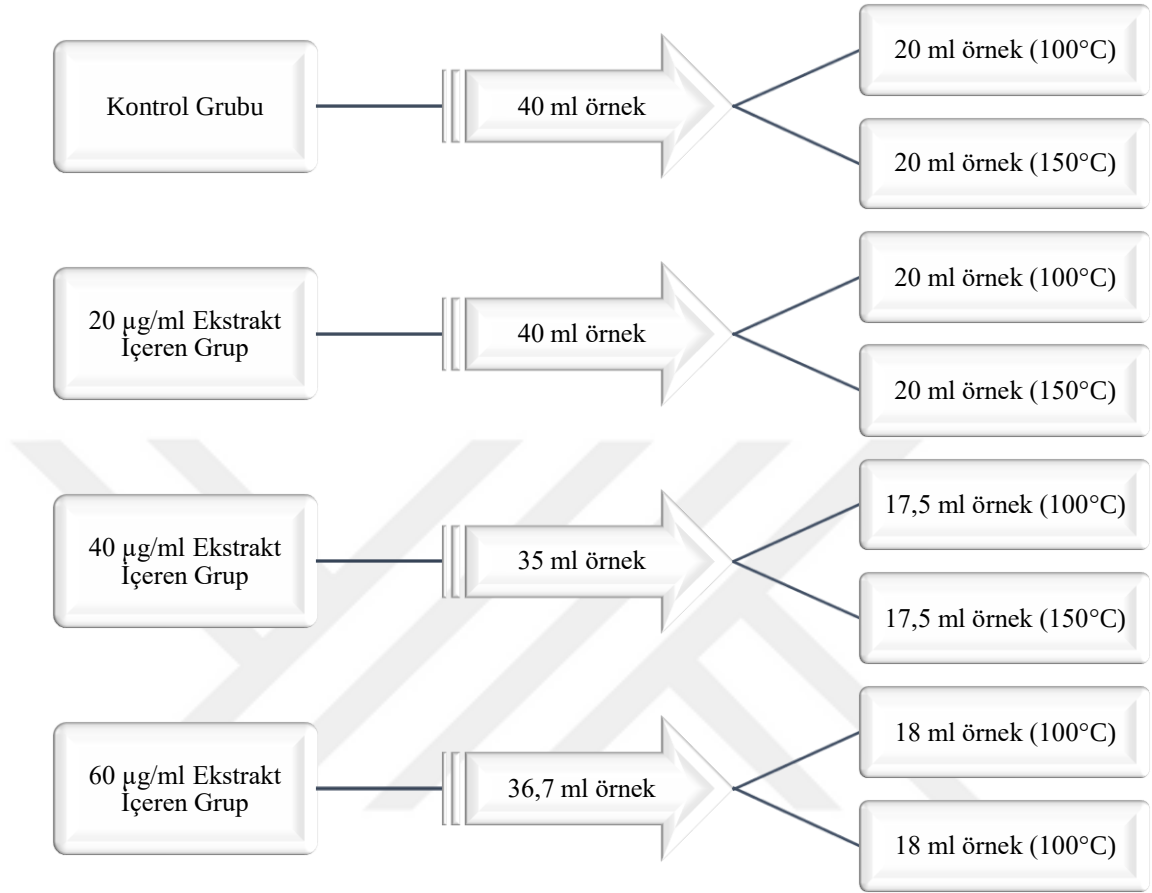
Toplam fenolik bileşik miktar tayini için toplam 8 adet örneğin (4 adet 100 °C, 4 adet 150 °C için) hazırlanışı Şekil 25'te verilmiştir. 100°C ve 150°C sıcaklıklarda 0, 30, ve 60 dakika inkübe edilen örnekler oda sıcaklığına soğumaya bırakılmıştır (100°C için 15 dakika; 150 °C için 30 dakika). Örneklerden pipet yardımıyla 2,5 g alınarak 14 ml'lik kapaklı plastik falkon tüplere aktarılmıştır ve 2,5 ml n-hegzan ile seyreltilmiştir. Karışımlar 2,5 ml metanol-su (80:20 v/v) çözeltisi ile 5 dakika (5000 rpm) santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra her tüpten pipet yardımıyla örneklerin üzerinde kalan metanol (çözücü) fazı çekilip başka bir cam tüpe aktarılmıştır. Santrifüj tüplerinde oluşan hegzan fazı iki kez 2,5 ml metanol-su (80:20 v/v) çözeltisi ile 5 dakika (5000 rpm) santrifüjlenerek ekstrakte edilmiştir. Örneklerin metanolik fazları cam tüplerde birleştirilerek elde edilen metanol ekstraktından 2 ml alınıp cam behere (50 ml) konulmuştur. Metanolik ekstraktlar distile su ile 25 ml'ye tamamlandıktan sonra sırasıyla 2,5 ml Folin reaktifi, 5 ml %7,5'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ilave edilmiştir. Örnekler distile su ile son hacme tamamlanarak gece boyunca inkübe edilmiştir (Resim 7). Örneklerin absorbans değerleri 720 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri 0,47- 15,15 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında hazırlanan gallik asit çözeltisinin standart kalibrasyon eğrisi denkleminde kullanılarak örneklerin toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri cinsinden bulunmuştur. Hesaplamalarda kullanılan gallik asit standart eğri grafiği Şekil 24'te verilmiştir.



Resim 7. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini için Gece Boyunca Beklemeye Bırakılan Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri



Şekil 24. Gallik Asit Standart Eğri Grafiği



Şekil 25. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayininde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal Oksidasyona Maruz Bırakılan Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması

5.6.3. Peroksit değeri analizi

Peroksit değeri yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalen gram (mEq/g) olarak miktarını ifade etmektedir. Ayrıca yağlarda oksidasyonun başlangıç düzeyinin ölçülmesinde kullanılmakta olup birincil oksidasyon ürünleridir. Peroksit değeri analizi Uçak (2018)'ın yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır (Uçak, 2018).

Peroksit değeri analizi için toplam 8 adet örneğin (4 adet 100 °C, 4 adet 150 °C için) hazırlanışı Şekil 26'da verilmiştir. 100°C ve 150°C sıcaklıklarda 0, 30, ve 60 dakika inkübe edilen örnekler oda sıcaklığına soğumaya bırakılmıştır (100°C için 15 dakika; 150 °C için 30 dakika). Örneklerden 2 g alınarak cam beherlerde veya erlenlerde 30 ml hacimce 3/2'lik kloroform- glasiyel asetik asit çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışımlara 1 ml potasyum iyodür (KI) çözeltisi ilave edilip örnekler oda sıcaklığında karanlık ortamda 5 dakika inkübe edilmiştir. Örneklerle 75 ml distile su ve birkaç damla %1'lik nişasta çözeltisi eklenmiştir. Lacivert-siyah rengini alan karışımlar 45 ml'lik büret yardımıyla 0,1 M sodyum tiyosülfat (Na₂S₂O₃) çözeltisi ile titre edilmiştir. Her örnek için kullanılan Na₂S₂O₃ miktarı kaydedilerek örneklerin peroksit değerleri aşağıdaki formüle** göre hesaplanmıştır. Titrasyon işlemine ait görüntü Resim 8'de verilmiştir.

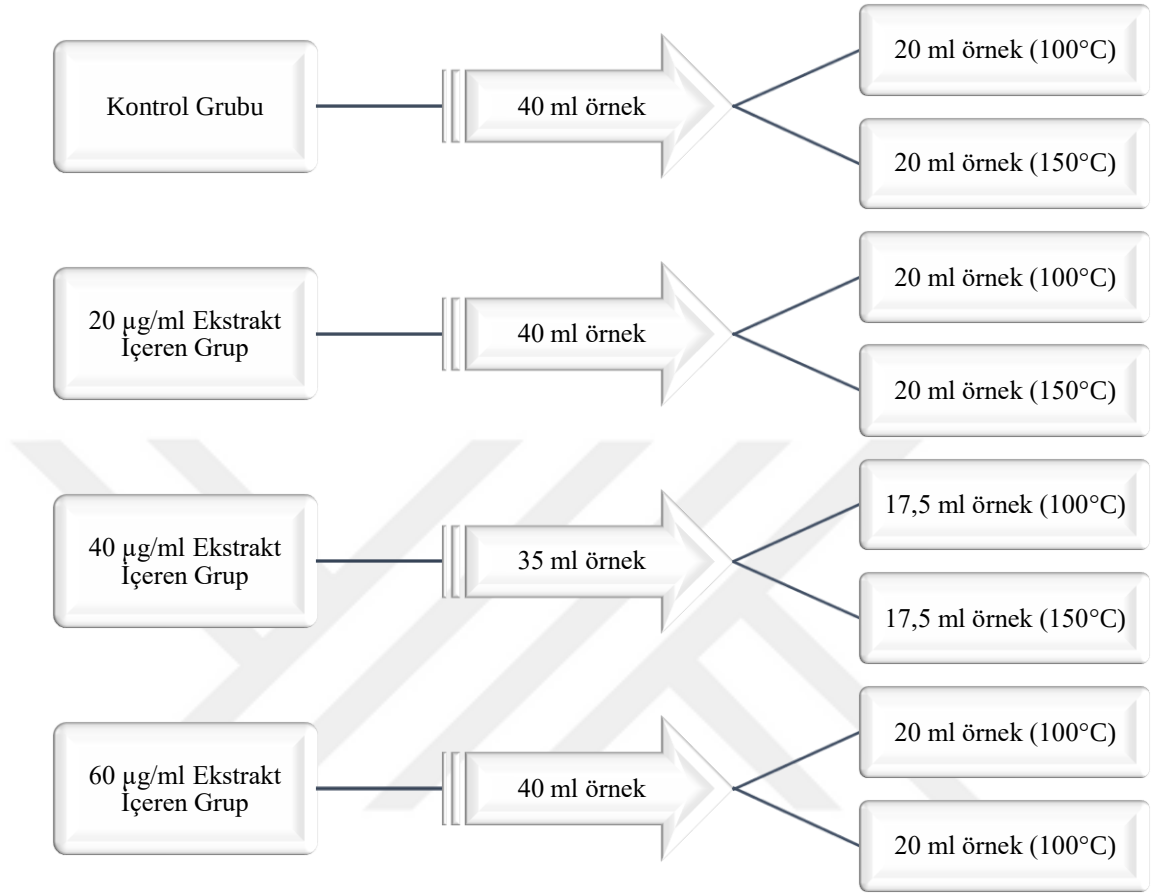
**

$$PV \text{ (mEq/kg)} = K \times (V - V_0) \times 12.69 \times 78.8 / w$$

“K” → titrasyonda mol/lit harcanan Na₂S₂O₃'un konsantrasyonu (mol/L)

“V” → titrasyonda ml cinsinde harcanan Na₂S₂O₃'un miktarı (ml)

“w” → gram cinsinden örnek miktarı (g)



Şekil 26. Peroksit Değeri Analizinde 100°C ve 150°C Sıcaklıklarda Termal Oksidasyona Maruz Bırakılacak Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Hazırlanması.



Resim 8. Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Titrimetrik Analizle Peroksit Değeri Analizi

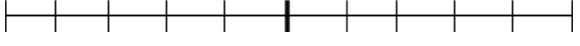
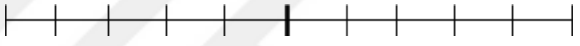
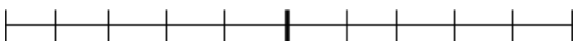
5.7.Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerine Uygulanan Fiziksel Analizler

Lipit oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünleri kimyasal, duyu ve besleyici özellikler olarak tanımlanan besinin (yağların) lezzetini, kokusunu, tadını, besin değerini ve genel kalitesini etkilemektedirler (Morales ve Przybylski, 2013). Bu nedenle, termal oksidasyona tabi tutulan zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağı örneklerinin renk değişimleri değerlendirilmiştir. Her bir örneğin renk değişimi 8 kişilik jüri tarafından değerlendirilmiştir.

5.7.1. Natürel birinci zeytinyağı örneklerinin renk değişiminin değerlendirilmesi

Hızlandırılmış termal oksidasyona maruz bırakılan 20, 40 ve 60 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan *Lavandula stoechas* ekstresi içeren yağ örneklerinin renk değişimleri Kuru ve ark. yönteminin temel alınmasıyla oluşturulan Tablo 3'teki renk değişim skalası kullanılarak 8 kişilik bir jüri tarafından puanlanmıştır (Kuru ve ark., 2020). Panelistlerden, zenginleştirilmiş örneklerin renk değişimlerinin kontrol grubu ile kıyaslayarak -5 (açılma), 0 (değişiklik yok), 5 (koyulaşma) olacak şekilde bitki puanlanması istenilmiştir (Kuru ve ark., 2019). Kontrol grubunun renk değişim skalası üzerindeki değeri 0 olarak kabul edilmiştir.

Tablo 3. Natürel Birinci Zeytinyağı Örnekleri için Hazırlanan Renk Değişimi Tablosu (Kuru ve ark., 2020’den değiştirilerek kullanılmıştır)

Termal Oksidasyon Süresi (dk)	Termal Oksidasyon Sıcaklığı (°C)	Örnek (µg/ml)	Renk Değişimi Skalası
0	100-150	20 40 60 20 40 60	-5 0 5 Açılma Değişiklik yok Koyulaşma 
30	100 150	20 40 60 20 40 60	-5 0 5 Açılma Değişiklik yok Koyulaşma 
60	100 150	20 40 60 20 40 60	-5 0 5 Açılma Değişiklik yok Koyulaşma 

5.8. İstatistiksel Analiz

Analizler iki tekrarlı olarak yürütülmüştür. Grafiklerin çizimi için GraphPad Prism 5 00 288 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) paket programı kullanılmıştır. Verilerin analizi Package for Social Science Statistics (SPSS) 15.0 istatistiksel paket programı ile gerçekleştirilmiştir. ANOVA tek yönlü varyans analizi ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testleri uygulanarak termal oksidasyon sıcaklığı ve termal oksidasyona maruziyet süresine bağlı farklar ortaya konulmuştur. Sonuçlar, ortalama ($\bar{x}$) $\pm$ standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Önem seviyesi aksi belirtilmediği sürece $p < 0.05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ olarak verilmiştir.



6. BULGULAR

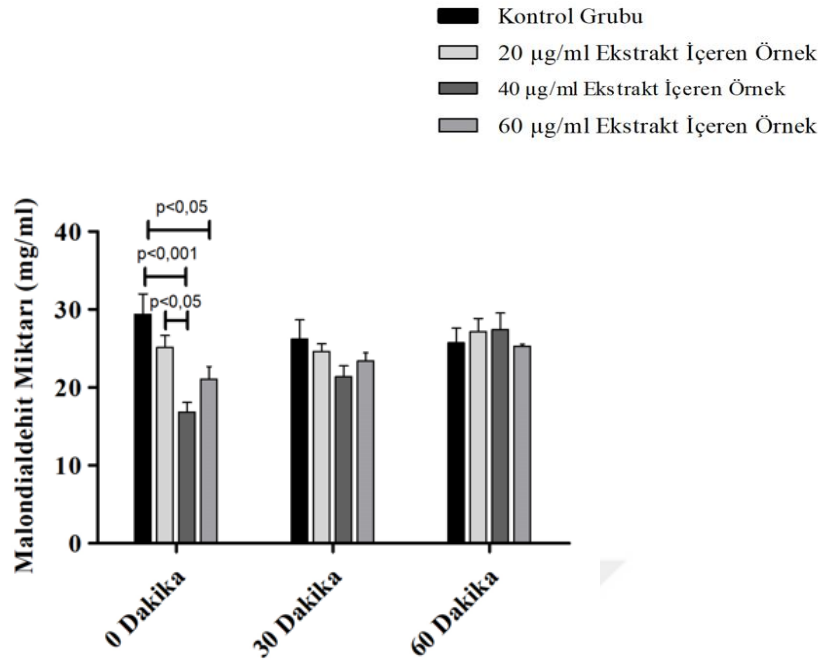
Araştırma kapsamında 20, 40 ve 60 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan *Lavandula stoechas* ekstresi içeren yağ örnekleri ve bitkisel ekstre içermeyen yağ örnekleri (kontrol grubu)'nin 100°C ve 150°C olmak üzere iki sıcaklıkta 0, 30 ve 60 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılmasının ardından total kimyasal ve fiziksel analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerin sonucunda elde edilen veriler grafik halinde verilmiş olup her bir grafiğin açıklaması yapılmıştır.

6.1.Kimyasal Parametreler

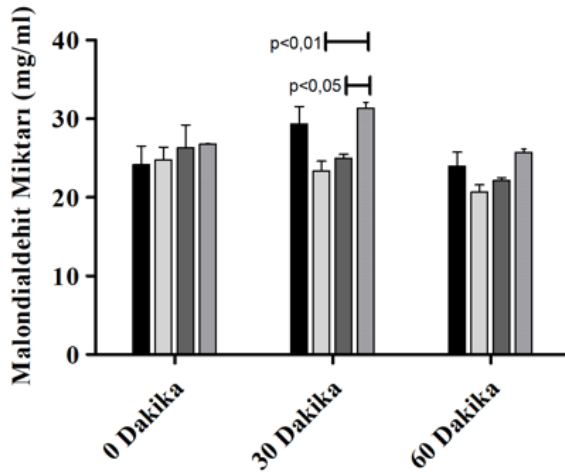
Çalışmada her bir örneğin TBARS tayini ile MDA içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik bileşik miktarı ve peroksit değeri analiz edilmiştir.

6.1.1. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tayini sonuçları

100 °C sıcaklıkta 0 dakika süreyle inkübe edilen 40 µg/mL *Lavandula stoechas* bitki ekstresi içeren natürel birinci zeytinyağı örneğinin MDA içeriği kontrol grubu ve 20 µg/mL ekstre içeren örneğe kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). Aynı sıcaklıkta 60 µg/mL ekstre içeren örneğin MDA içeriği kontrol grubuna nazaran önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). 150 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılan 60 µg/mL ekstre içeren örneğin MDA miktarının 20 µg/mL ve 40 µg/mL bitki ekstresi içeren örneklerle göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Her iki sıcaklık için en yüksek MDA miktarı 150 °C'de 30 dakika boyunca ısıtılma tabi tutulan 60 µg/mL ekstre içeren örnekte tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve bitki ekstresi içeren natürel birinci zeytinyağı örneklerinin MDA içeriklerinin karşılaştırılması Şekil 27'de verilmiştir.



100°C'de Termal Oksidasyon Süresi (Dakika)

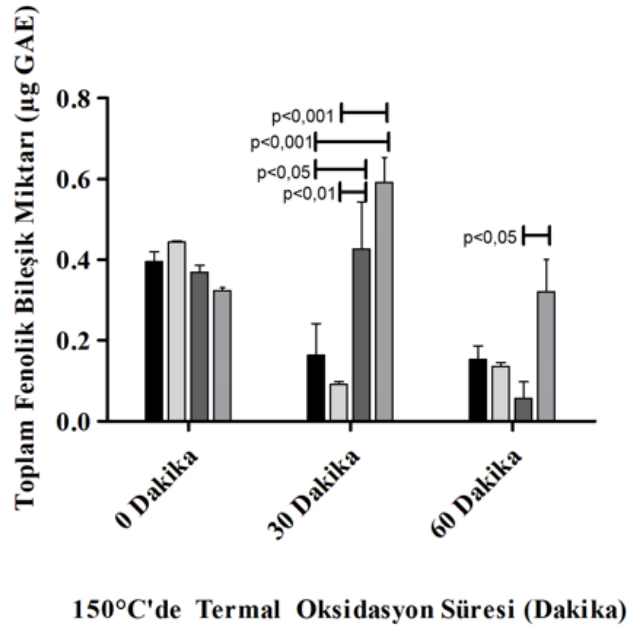
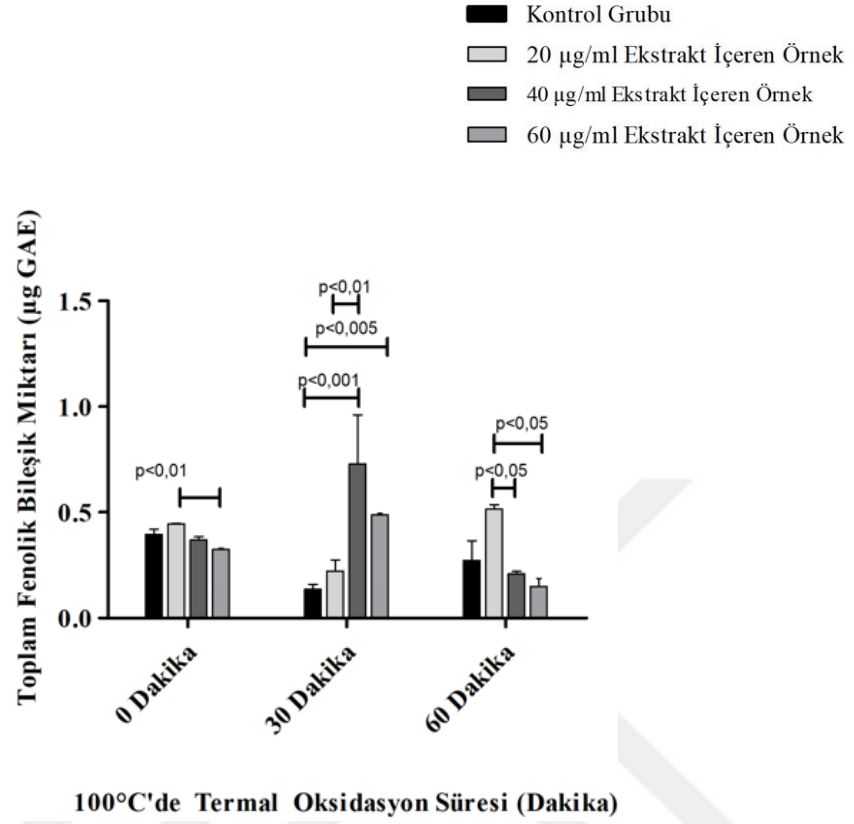


150°C'de Termal Oksidasyon Süresi (Dakika)

Şekil 27. Kontrol Grubu ve *Lavandula stoechas* Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin MDA Miktarları (100°C ve 150°C'de termal oksidasyon uygulanmıştır. Değerler ortalama± standart sapma şeklinde verilmiştir.*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001: Kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.)

6.1.2. Toplam fenolik bileşik miktarı

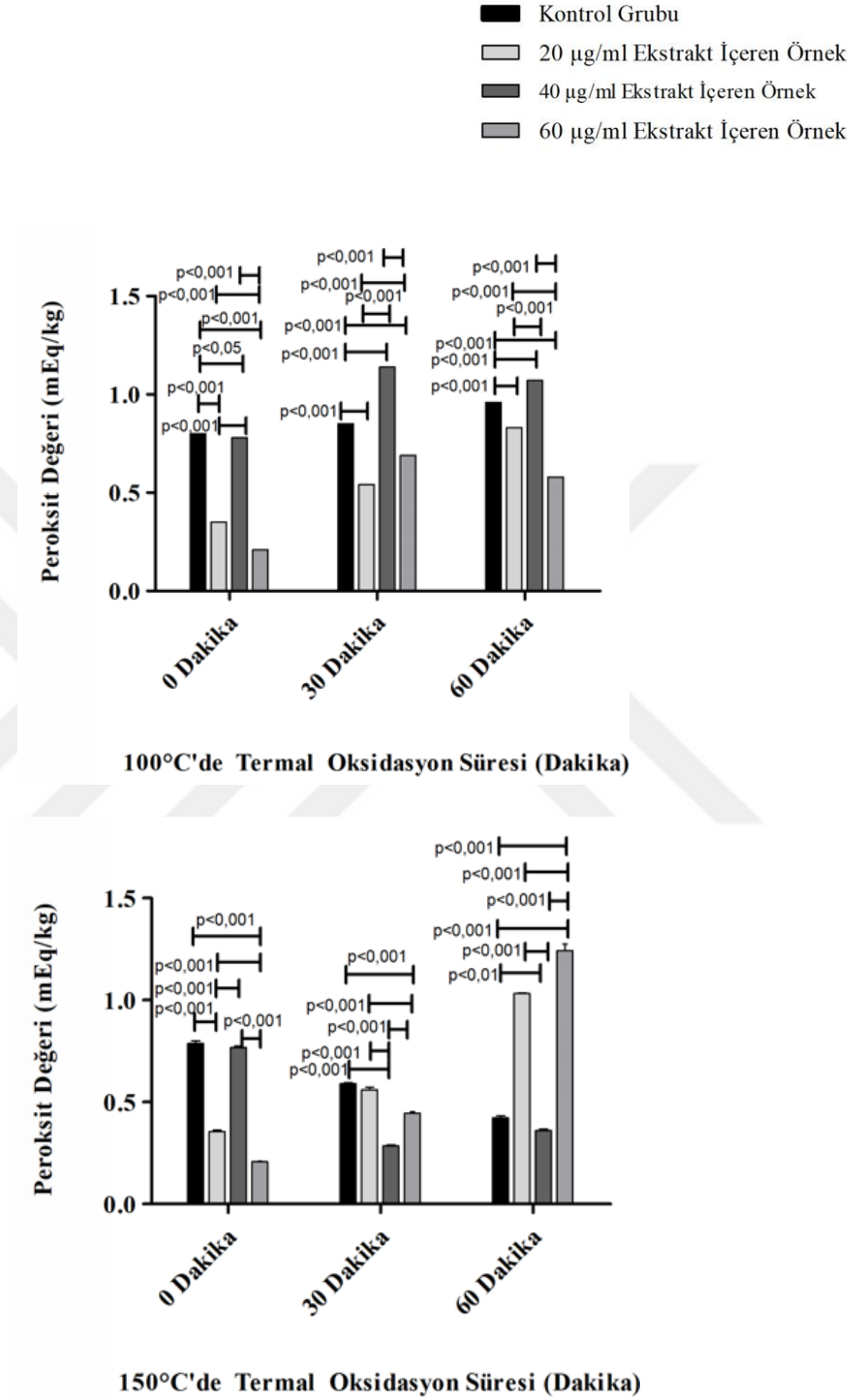
İki farklı sıcaklıkta (100 °C ve 150 °C) farklı sürelerde (0, 30 ve 60 dakika) termal oksidasyona maruz bırakılan 20, 40 ve 60 µg/mL *Lavandula stoechas* bitki ekstresi içeren natürel birinci zeytinyağı örneklerinin ve bitki ekstresi ile zenginleştirilmemiş kontrol grubunun toplam fenolik bileşik miktarları karşılaştırıldığında 100 °C sıcaklıkta 0 dakika boyunca inkübe edilen 20 µg/mL bitki ekstresi içeren grubun 60 µg/mL ekstre içeren gruba göre fenolik bileşik miktarının önemli ölçüde arttığı saptanmıştır ($p < 0,05$). 100°C'ın 30 dakika örneklerinde kontrol grubunun toplam fenolik bileşik miktarı 40 µg/mL ve 60 µg/mL ekstre içeren örneklerle nazaran önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca 40 µg/mL ekstre içeren örneğin toplam fenolik bileşik miktarı 20 µg/mL ekstre içeren örneğe göre istatistiksel anlamda artış göstermiştir ($p < 0,05$). 20 µg/mL bitki ekstresi içeren örnek aynı sıcaklıkta 60 dakika boyunca okside edilen 40 µg/mL ve 60 µg/mL bitki ekstresi içeren örnekler ile karşılaştırıldığında toplam fenolik bileşik miktarında istatistiksel olarak önemli bir artış bulunmuştur ($p < 0,05$). 150 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca inkübe edilen 20 µg/mL ekstre içeren natürel birinci zeytinyağı örneğinin fenolik bileşik miktarı 60 µg/mL ekstre içeren örneğe kıyasla önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0,05$). 100°C ve 150°C'de okside edilen örnekler arasında en yüksek total fenolik bileşik miktarı 40 µg/mL ekstre içeren örnekte saptanmıştır. Kontrol grubu ve bitki ekstresi içeren natürel birinci zeytinyağı örneklerinin toplam fenolik bileşik miktarlarının karşılaştırılması Şekil 28'de gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinde verilmiştir.



Şekil 28. Kontrol Grubu ve *Lavandula stoechas* Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Toplam Fenolik Bileşik Miktarları (100°C ve 150°C'de termal oksidasyon uygulanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001: Kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.)

6.1.3. Peroksit değeri

Natürel birinci zeytinyağı örneklerinde yapılan peroksit değeri analizinden elde edilen veriler 100 °C sıcaklıkta 0 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılan örneklerden 60 µg/mL ekstre içeren grubun peroksit değerinin diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). 30 dakika boyunca okside edilen örneklerinin her birinin peroksit değerleri arasında önemli farklılıklar bulunmakla beraber en düşük peroksit değeri 20 µg/mL ekstre içeren grupta tespit edilmiştir ($p<0,05$). 60 dakika boyunca inkübe edilen örneklerin de her birinin peroksit değerleri arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0,05$). En düşük peroksit değeri ise 60 µg/mL ekstre içeren örnekte saptanmıştır ($p<0,05$). 150 °C sıcaklıkta termal oksidasyona maruz bırakılan örneklerden 0 dakika boyunca okside edilen grupta 60 µg/mL ekstre içeren örneğin peroksit değeri diğer örneklerle nazaran önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ve 40 µg/mL ekstre içeren örneğin peroksit değeri arasında ise kayda değer bir fark bulunmamıştır. 30 dakika boyunca okside edilen grupta 40 µg/mL ekstre içeren örneğin peroksit değeri diğer örneklerle göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$), kontrol grubu ve 20 µg/mL ekstre içeren örneğin peroksit değeri arasında önemli bir fark saptanmamıştır. 60 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılan örnekler arasında 60 µg/mL ekstre içeren grubun peroksit değeri diğer örneklerle göre önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0,05$). Bu gruptaki her örneğin peroksit değerleri arasında birbirine göre önemli farklılıkları bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu ve bitki ekstresi içeren natürel birinci zeytinyağı örneklerinin peroksit değerlerinin karşılaştırılması Şekil 29'da verilmiştir.



Şekil 29. Kontrol Grubu ve *Lavandula stoechas* Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Peroksit Değerleri (100°C ve 150°C'de termal oksidasyon uygulanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: Kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.)

6.2.Fiziksel Parametreler

6.2.1. Renk değişimi

Yapılan renk değişimi değerlendirmelerini sonucunda bitki ekstresi ile zenginleştirilmiş örneklerin kontrol grubuna göre belirgin bir renk değişimi olmadığı gözlemlenmiştir. En çok 100 °C sıcaklıkta 60 dakika boyunca inkübe edilen 40 µg/ml bitki ekstresi içeren örnekte olmak üzere ($1,13 \pm 0,64$) 30 dakika ve 60 dakika boyunca okside edilen bütün örneklerde herhangi bir işleme tabi tutulmamış natürel birinci zeytinyağı örneğine nazaran hafif bir koyulaşma meydana gelmiştir. 100 °C-150 °C sıcaklıklarda 0 dakika inkübe edilen örneklerin diğer örneklere göre daha açık bir sarı-yeşil rengine sahip oldukları saptanmıştır. Kontrol grubuna göre en belirgin renk açılması 100 °C-150 °C sıcaklığa 0 dakika boyunca maruz bırakılan ve 60 µg/ml bitki ekstresi içeren örnekte saptanmıştır ($-1,00 \pm 0,53$). 100 °C ve 150 °C sıcaklıkta 0, 30 ve 60 dakika termal oksidasyona maruz bırakılan örneklerin renkleri kendi içinde çok farklılık göstermemiştir. Natürel birinci zeytinyağı örneklerinin renk değişimlerinin toplam puanları, ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 4'te yer almaktadır.

Tablo 4. Kontrol Grubu ve *Lavandula stoechas* Bitki Ekstresi ile Zenginleştirilmiş Natürel Birinci Zeytinyağı Örneklerinin Renk Değişim Skalası Sonuçları

Termal Oksidasyon Süresi (dk)	Termal Oksidasyon Sıcaklığı (°C)	Örnek	Toplam Puan	$\bar{x}$	SD
0	100-150	20 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	-4	-0,50	±0,93
		40 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	-4	-0,50	±0,76
		60 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	-8	-1,00	±0,53
30	100	20 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	3	0,38	±0,52
		40 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	2	0,25	±0,71
		60 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	3	0,38	±0,74
	150	20 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	3	0,38	±0,74
		40 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	2	0,25	±0,89
		60 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	1	0,12	±0,83
60	100	20 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	5	0,63	±0,74
		40 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	9	1,13	±0,64
		60 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	7	0,88	±0,64
	150	20 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	6	0,75	±0,71
		40 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	7	0,88	±1,13
		60 µg/mL Ekstre İçeren Örnek	7	0,88	±0,83

$\bar{x}$: Ortalama, SD: Standart Sapma. Kontrol grubu baz alınarak, -5 puan: açılma, 0 puan: değişiklik yok, 5 puan: koyulaşmayı ifade etmektedir. Toplama puan, 8 panelistin skala değerlendirmesi puanlarından elde edilmiştir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yağlı ürünler, raf ömrü boyunca depolama sırasında otooksidasyona ve kimyasal bozulmaya karşı koruyucu bir madde gerektirir. Bu nedenle, gıda endüstrisinde antioksidan ajanların eklenmesi, sadece arzu edilen tat, renk ve aromayı korumak için değil, aynı zamanda stabilite problemlerinin üstesinden gelmek ve yağların ve türevlerinin raf ömrünü artırmak için de oldukça gereklidir (El-Hadary ve Taha, 2020). Antioksidanlar, otoksidasyonun başlangıç ve yayılma aşamalarında oluşan serbest radikallere hidrojenlerini vererek sıvı ve katı yağların otooksidasyonunu önleyen bileşenlerdir (Taghvaei ve Jafari, 2015). Yağların stabilite problemlerine çözüm olması adına bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), ve ter-bütillhidroquinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar uzun yıllardır besin katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Fakat yapılan araştırmalar yapay katkı maddelerinin kanser ve karsinogenez gibi sağlık problemlerinin oluşumuna etkisinin olabileceğini göstermektedir. Bu sebeple gıda bilimcileri arasında yapay antioksidanların yerine daha güvenli olan doğal antioksidanların kullanımı yaygınlaşmaktadır (Venturi ve ark., 2017). Çoğu araştırmaya göre, zeytin bitkisinin çoğu kısımları, yeşil çay, susam, şifalı bitkiler gibi düşük maliyetli kaynaklardan elde edilebilen çeşitli doğal antioksidanlar vardır (Taghvaei ve Jafari, 2015).

Bu çalışmada 20, 40 ve 60 µg/mL konsantrasyonlarında *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı ile zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağının iki farklı sıcaklıkta termal lipit oksidasyonuna karşı zeytinyağının antioksidan aktivitesini, toplam fenolik bileşik miktarını ve oksidatif stabilitesini koruyucu etkisinin gözlemlenmesi hedeflenmiştir. 20, 40 ve 60 µg/mL konsantrasyonlarında *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı içerecek şekilde zenginleştirilen natürel birinci zeytinyağı örnekleri ve zenginleştirme uygulaması yapılmamış natürel birinci zeytinyağı (kontrol grubu) örneği 100°C ve 150 °C sıcaklığa 0, 30, 60 dakika inkübasyon süreleri ile maruz bırakılarak TBARS tayini, toplam fenolik bileşik miktarı ve peroksit değeri analiz sonuçları, literatürdeki farklı araştırmaların sonuçları ile tartışmalı olarak verilmiştir.

Gerçekçi ev koşullarında (180°C sıcaklıkta 60 dakika) pişirme işleminden sonra natürel sızma zeytinyağı içerisinde havuç, soğan ve patates olmak üzere Akdeniz sebzelerinin ayrı ayrı ve hepsinin eşit oranda beraber karışık olarak kızartılması sonucu yağ kompozisyonunda (kalite parametreleri, yağ asidi, fenolik bileşenler ve antioksidant kapasite) oluşabilecek değişikliklerin değerlendirildiği bir çalışmada. ısıtıl işlemin, yağ oksidasyon parametrelerini arttırırken, kızartma sırasında sebze ilavesinin yağın ikincil oksidasyon derecesini azalttığı ve natürel sızma zeytinyağı yağ asitlerinin, eklenen sebze türlerinden bağımsız olarak ısınmaya karşı güçlü direnç gösterdiği görülmüştür. Yağ; havuç, patates, soğan ve karışık sebzelerle kavrulduktan sonra toplam fenolik içerikte majör kayıpların yaşandığı saptanmıştır. Flavonoidlerden ise bazıları ısıya karşı iyi direnç gösterirken bazıları önemli miktarda azalmıştır, fakat totalde flavonoid miktarında özellikle sebzeli kızartma yağlarında düşüş saptanmıştır. Çalışmada kullanılan sebze türlerinin kızartma yağlarının oksidatif stabilitesini önemli ölçüde etkilediği ve sebzelerin sekonder oksidasyonu belirli bir ölçüde önlediği bulunmuştur. Ayrıca antioksidan aktivitenin ısıtıl işleme bağlı olarak sebze içeren ve içermeyen örneklerde azaldığı saptanmıştır (Bubola ve ark., 2020). Bu çalışma verilerinde de zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağı örneklerinde peroksit değerinin iyi korunduğu bulunmuştur. Özellikle 100°C sıcaklıkta 60 µg/ml, 150°C sıcaklıkta ise 40 µg/ml konsantrasyonlarında bitki ekstrelerinin natürel birinci zeytinyağında peroksit değerinin yükselişini daha iyi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Şekil 29). Buna istinaden elde edilen sonuçların literatür ile paralellik gösterdiği söylenebilmektedir. Ayrıca elde edilen peroksit değerlerinin Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği'nde natürel birinci zeytinyağı için belirtilen üst sınırın altında kaldığı tespit edilmiştir T.C. Resmî Gazete, 17 Eylül 2017, sayı: 30183). Çalışmanın TBARS tayininden elde edilen bulgulara göre 100°C sıcaklıkta okside edilen kontrol grubu, 150°C sıcaklıkta okside edilen 20 µg/ml ve 40 µg/ml bitki ekstraktı içeren grupların MDA içeriği ısıtıl işlem süresi arttıkça düşüş göstermiştir (Şekil 27). Çalışma bu yönüyle literatür ile farklılık gösterirken, 40 µg/ml ve 60 µg/ml bitki ekstraktı içeren ve 100°C sıcaklığa maruz bırakılan örneklerde inkübasyon süresine paralel olarak MDA miktarının artmasıyla benzerlik göstermektedir. Çalışmada 100°C sıcaklıkta antioksidan aktivitenin

korunmasında bitki ekstraktının çok etkili olmadığı, 150°C sıcaklıkta ise 20 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstraktının etkili olduğu görülmüştür (Şekil 27).

Issaoui ve ark. yaptığı çalışmada Che'toui zeytinyağının oksidatif durumundaki değişiklikler, aromatik bitkilerden elde edilen bazı biyoaktif bileşiklerin, limon ve kekik bitkilerinin yağ ile farklı konsantrasyonlarda maserasyon işleminden sonra zeytinyağının stabilitesini geliştirmek için etkinliğini doğrulamak adına izlenmiştir. Çalışmada 2007/2008 yıllarında üç fazlı ekstraksiyon ile elde edilmiş sızma zeytinyağına farklı konsantrasyonlarda limon ve kekik bitkilerinin ilavesiyle yağın dörder saat boyunca 100 °C ve 200 °C sıcaklıklarda serbest asitlik, peroksit değeri, yağ asidi kompozisyonu, raf ömrü, pigmentler, totale fenoller ve uçucu bileşenler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bulanıklığın ve dozaj probleminin önlenmesi için bitkiler yağa doğrudan karıştırılmayıp 1 kg ayrı ayrı 5 Litre yağa eklenip ağzı kapalı konik şişelerde oda sıcaklığında karanlık ortamda muhafaza edilerek maserasyon yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Şişeler her gün çalkalanmıştır ve 2 ay sonrasında sırasıyla 20, 40, 60 ve 80 g/L konsantrasyonlarını elde edecek şekilde sızma zeytinyağı eklenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre oksidatif stabilite, termo-oksidasyon süreci sırasında hafif azalmıştır. Yağ asidi kompozisyonunun oksidasyon testi sırasında özellikle C_{16:0} (palmitik asit) ve C_{18:3} (linolenik asit) için değiştiği ve serbest yağ asidi miktarının olabilecek maksimum limiti (oleik asit için 0,8g/100g) aşmayacak şekilde artış gösterdiği bulunmuştur. Yağların ısıtılması uçucu bileşen profillerini değiştirmiş ve yeni uçucu bileşiklerin oluşumuna yol açmıştır. Peroksit değerleri de oksidatif süreç boyunca artış göstermiştir, fakat yine maksimum limitin (10 mEq/kg O₂) altında kalmıştır. K232 ve K270 UV özgül absorpsiyon değerlerinde artış söz konusu olmuştur, bu durum ise peroksit degradasyonu ile açıklanmıştır. 100 °C sıcaklıkta ısıtma işleminden sonra polifenol miktarında önemli bir düşüş gözlemlenmiştir, 200 °C sıcaklıkta ise daha da keskin bir düşüş olmuştur. Ayrıca yağların dumanlanma noktasının yağların kızartma sürecinde önemli bir limit olarak değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır (zeytinyağı için <200°C). Bitkilerin örneklere ilavesinin yağların duyu özelliklerini aromatik bileşiklerin yağa geçişi sebebiyle değiştirdiği düşünülmüştür (İssaoui ve ark., 2011). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara bakıldığında peroksit

değerlerinin oksidatif süreç boyunca çok fazla artış göstermediği, yalnızca 40 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstraktının peroksit değerini korumada 100°C sıcaklık için en az etkili olduğu söylenebilmektedir. Ancak 150 °C sıcaklığa maruz bırakılan örneklerde literatürde elde edilen verilerin aksine oksidatif süreçte peroksit değerlerinin artış göstermediği ve özellikle zenginleştirilmiş natürel birinci zeytinyağı örneklerinde korunduğu tespit edilmiştir (Şekil 29). Çalışmada toplam fenolik bileşik miktarlarının genel olarak 100 °C ve 150 °C sıcaklıkta termal oksidasyona maruz bırakılan örneklerde inkübasyon süresi arttıkça düşüş gösterdiği bulunmuştur, 20 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstresinin ise 100 °C sıcaklıkta inkübasyon süresine karşı diğer bitki konsantrasyonlarına nazaran daha iyi direnç sağladığı gözlemlenmiştir. 60 µg/ml konsantrasyonunda *Lavandula stoechas* bitki ekstresinin 150°C sıcaklıkta 100°C sıcaklığa göre toplam fenolik bileşik miktarını literatürdeki elde edilen sonuçların aksine daha iyi koruduğu saptanmıştır (Şekil 28).

Yapılan başka bir çalışmada kekik yapraklarından endojen (o-kumarik asit ve vanilik asit) ve ekzojen antioksidanların (rosmarinik asit) VOO'na ekstraksiyonunu optimize etmek için etkili bir yöntem geliştirmek amaçlanmıştır. Çalışmada Arbequina türü zeytinlerden elde edilen VOO ve kurutulmuş keklik (*Origanum vulgare* L.) yaprağı kullanılmıştır. Örneğin bileşen profilini ortaya koyabilmek için kapiler ektroforez metodu kullanılmıştır. VOO'yu zenginleştirme metodu keklik yaprağının yağ içerisine daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir ve fenolik bileşiklerin keklik yaprağından yağa geçişi optimize edilmeye çalışılmıştır. Bundan dolayı zenginleştirme işleminde birbirinden farklı yöntemler denenmiştir. Stabilite testi ise hem oda sıcaklığında hem de stres sıcaklığında (50°C) 45 günlüğüne gerçekleştirilmiştir. Test sırasında örnekler güneş ışığından uzak bir yerde muhafaza edilmişlerdir. Sonuç olarak oda sıcaklığındaki stabilite testinde örnekteki rosmarinik asit ve endojen antioksidan konsantrasyonları ilk haftada yarı yarıya düşmüşken, sonrasında sabitlik göstermiştir. Zenginleştirilmemiş (kontrol grubu) zeytinyağı ile yapılan analizde de endojen antioksidanlarda azalma saptanmıştır, bu azalmaların sebebinin ise örneklerin atmosferik oksijenle temasından kaynaklandığı düşünülmüştür. 50°C sıcaklık stresi altında rosmarinik asit seviyeleri neredeyse sıfırlanmıştır, o-kumarik asit ve vanilik asit seviyelerinde kayda değer değişiklikler

saptanmamıştır. Kontrol grubunda ise o-kumarik asit seviyesinde 45 gün sonrasında azalma saptanırken, vanilik asit seviyeleri 21 gün sonra düşüş göstermeye başlamıştır. Elde edilen bu veriler doğrultusunda zenginleştirilmiş zeytinyağının orijinal zeytinyağına nazaran degradasyon sürecine karşı daha stabil olduğu, o-kumarik asit ve vanilik asitlerin stabilitesinin, eksojen antioksidanların endojen VOO bileşenlerinin oksidatif stresine karşı koruyucu etkisine işaret ettiği kanısına varılmıştır. Elektroforetik olarak oluşturulan zeytinyağı profili örneklerin zenginleştirilmesiyle değişiklik göstermiştir. Elde edilen sonuçlar zenginleştirilmiş örneklerin profilinin oda sıcaklığında muhafazasından sonra çok fazla değişmediğini, 50°C’ de ise önemli farklılıkların meydana geldiğini göstermiştir. 50°C’ de bilinmeyen bazı bileşiklerin belirli bir süre sonra tamamıyla kaybolduğu gözlemlenmiştir, ayrıca farklı bilinmeyen bileşiklerin de olduğu saptanmıştır (Peñalvo ve ark., 2016). Bu çalışmada elde edilen veriler sıcaklık artışının kontrol grubu ve 60 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstraktı ile zenginleştirilmiş 30 dk boyunca inkübe edilen örneklerde toplam fenolik bileşik miktarının azalmadığını, ancak 60 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılan örneklerde sıcaklık artışının toplam fenolik bileşik miktarında, 60 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstraktı ile zenginleştirilmiş örneğin haricinde, düşüşe neden olduğunu göstermiştir (Şekil 28). Çalışma verileri bu bağlamda literatür ile bazı örnekler ve koşullar için benzerlik gösterirken, bazıları için farklılık göstermektedir.

Portakal kabuğu yağının, soğuk pres portakal kabuğu yağı (SPPKY), dondurularak kurutulan portakal kabuğu (DKPK) ve DKPK’dan hegzan (HE) ve aseton (AE) ile elde edilen ekstratlar kullanılarak rafine zeytinyağında 60°C hızlandırılmış oksidasyon koşullarına (24 gün) karşı antioksidan etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise örneklerde DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak antioksidan kapasite, toplam fenolik ve toplam karotenoid tayini ve duyusal değerlendirme yapılmıştır. Farklı günlerde alınan örneklerde primer oksidasyon ürünleri peroksit sayısı ve sekonder oksidasyon ürünleri ise p-anisidin sayısı ile belirlenmiştir. Duyusal analizlerde SPPKY içeren rafine zeytinyağı en yüksek beğeniyi kazanmıştır. Toplam karotenoid ve fenolik bileşik miktarları en fazla AE örneğinde saptanmıştır, ancak toplam karotenoidlerin yağ sistemindeki

antioksidan etkileri zayıf bulunmuştur. DPPH antiradikal aktivite en yüksek HE örneğinde bulunmuştur. ABTS testinde en yüksek antiradikal etkiyi ise AE örneği göstermiştir. Bunu sırasıyla; HE, DKPK, kontrol grubu, SPPKY örnekleri takip etmiştir. Genel olarak SPPKY 'nin en düşük antioksidan gücünü gösterdiği tespit edilmiştir. AE ve HE örneklerinde peroksit değeri hızlandırılmış oksidasyonun ilk dönemlerinde kontrol grubuna nazaran daha düşük bulunmuştur, ancak ileriki dönemlerde ekstraktların peroksit oluşumunu engelleme gücünün azaldığı gözlemlenmiştir. DKPK içeren örnekte p-anisidin değerinin kontrol grubuna kıyasla oksidasyon sürelerinin tamamında (24.gün hariç) daha düşük olduğu saptanmıştır (Yazlak, 2012). Bu çalışmada antioksidan aktivitenin korunmasında *Lavandula stoechas* bitki ekstraktının çok fazla etkili olmadığı, yalnızca 20 µg/ml konsantrasyonunda bitki ekstraktının 150°C'de MDA oluşumunu bir miktar inhibe ettiği söylenebilmektedir (Şekil 27).

Yapılan başka bir araştırmada natürel zeytinyağının yüksek sıcaklığa (180°C ± 5°C) maruz bırakılmasıyla oluşan oksidatif strese α-tokoferol ve askorbil palmitatın antioksidan etkisi asitlik, peroksit, benzidin, UV (ultraviyole) - absorpsiyon, kırılma indisi ve renk ölçümleriyle incelenmiştir. Örnekler 10 kez kızartılmıştır, kızartmalar hergün ve haftada bir olmak üzere tekrarlanmıştır. Sonuç olarak asitlik, peroksit, benzidin, UV-absorpsiyon ve kırılma indisi değerlerinin artış gösterdiği, renk değerlerinin ise azaldığı bulunmuştur. En fazla artış benzidin ve UV-absorpsiyon değerlerinde elde edilmiştir. Kırılma indisi değerlerinde ise antioksidan içeren ve içermeyen örnekler arasında önemli bir fark kaydedilmemişken, günlük ve haftalık kızartmalar arasındaki fark da önemsiz bulunmuştur. Lovibond tintometresiyle yapılan renk ölçümlerinde kırmızı ve sarı renk değerlerinin devamlı düştüğü saptanmıştır. Antioksidan içeren örneklerde ve kontrol grubunda asitlik değerlerinin hem günlük hem de haftalık kızartmalarda artış göstermiştir. Bu artışın antioksidan içeren gruplarda günlük kızartmalarda, kontrol grubunda ise haftalık kızartmalarda daha fazla olduğu bulunmuştur. Peroksit değerleri ise hem antioksidan içeren hem de antioksidan içermeyen örneklerde artış göstermiştir (Özdemir, 1985). Bu çalışmada *Lavandula stoechas*'ın zeytinyağının renk değişiminde önemli değişikliklere neden olmadığı kaydedilmiştir. Ancak bitki ektresinin 40 µg/ml

konsantrasyonunda yağın renginin korunmasında diğer konsantrasyonlara nazaran daha etkili olduğu söylenebilmektedir (Tablo 4). Çalışmada en koyu renk $1,6 \pm 0,768$ puanla 100°C sıcaklıkta 60 dakika boyunca okside edilen $40 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı içeren örnekte saptanmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında en belirgin açık renk ise $-1,7 \pm 0,789$ puanla 100°C sıcaklıkta 0 dakika boyunca inkübe edilen ve $60 \mu\text{g/ml}$ bitki ekstresi içeren örnekte gözlemlenmiştir. Peroksit değerinin artışına karşın zenginleştirme uygulamasının ise özellikle $40 \mu\text{g/ml}$ ve $60 \mu\text{g/ml}$ *Lavandula stoechas* bitki ekstresi içeren örneklerde etkili olmasına istinaden çalışma literatür ile bu anlamda farklılık göstermektedir (Şekil 29).

Elde edilen veriler neticesinde *Lavandula stoechas* bitki ekstresinin natürel birinci zeytinyağının hızlandırılmış oksidasyon koşullarında toplam fenolik bileşik miktarını ve antioksidan aktivitesini korumada etkili olabileceği, ayrıca renk değişimine zenginleştirme uygulamasının çok fazla katkısı olmayabileceği görülmüştür. Buna istinaden *Lavandula stoechas* bitki ekstresi zeytinyağının zenginleştirilmesi çalışmalarında iyi bir doğal katkı maddesi olabilir.

8. KAYNAKLAR

- Al-Asmari KM, Al-Attar AM, Abu Zeid IM. Potential health benefits and components of olive oil: An overview. *Journal by Innovative Scientific Information & Services Network*. 2020;17(4):2673-3687.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014;360438.
- Baştürk A, Tabar B. Farklı bitkisel ekstraktların ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri. *Gıda*. 2018;43(2):333-346.
- Bayram B, Esatbeyoglu T, Schulze N and et al. Comprehensive Analysis of Polyphenols in 55 Extra Virgin Olive Oils by HPLC-ECD and Their Correlation with Antioxidant Activities. *Plant Foods Hum Nutr*. 2012; 67: 326–336.
- Bendini A, Valli E, Barbieri S, Gallina T. Sensory Analysis of Virgin Olive Oil. In: Boskou D, eds. *Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. London, UK: InTech; 2012.
- Ben-Noun L. Health benefits of olive oil. Israel: B.N. Publication House; 2018.
- Blasi F, Cossignani L. An Overview of Natural Extracts with Antioxidant Activity for the Improvement of the Oxidative Stability and Shelf Life of Edible Oils. *Processes*. 2020;8:956.
- Bordin K, Kunitake MT, Aracava KK, Trindade CS. Changes in food caused by deep fat frying-A review. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 2013;63(1):5-13.
- Borzi AM, Biondi A, Basile F, Luca S, Vicari ESD, Vacante M. Olive Oil Effects on Colorectal Cancer. *Nutrients*. 2018;11(1):32.

- Boskou D. Olive oil: Properties and processing for use in food. In: Talbot G, eds. Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition. 1st ed. UK: Woodhead Publishing; 2015, 3-38.
- Bubola K B, Klisovis D, Lukic I, Novoselic A. Vegetable species significantly affects the phenolic composition and oxidative stability of extra virgin olive oil used for roasting. LWT - Food Science and Technology. 2020;129:109628.
- Buege JA & Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. In: Fleischer S, Packer L, eds. Methods in enzymology. Academic Press; 1978,p:302-310.
- Capannesi C, Palchetti I, Mascini M, Parenti A. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chemistry.2000;71(4):553-562.
- Carrasco A, Ortiz-Ruiz V, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. Industrial Crops and Products. 2015;73:16-27.
- Cavazza A, Salvadeo P, Laganá C, Corti S, Mancinelli C, Corradini C. Enhancing stability of olive oil by enrichment with natural ingredients. INFORM. 2015;26(10):620-659.
- Charles DJ. Lavender. In: Charles DJ, eds. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. 1st ed. New York: Springer; 2013, p:363-369.
- Chen, H., Wang, Y., Cao, P., & Liu, Y. (2019). Thermal Oxidation Rate of Oleic Acid Increased Dramatically at 140 °C Studied using Electron Spin Resonance and GC–MS/MS. Journal Of The American Oil Chemists' Society, 96(8), 937-944.
- Chiou A, Kalogeropoulos N. Virgin Olive Oil as Frying Oil. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2017;16:632-646.
- Choe E, Min DB. Chemistry and Reactions of Oxidative Oxygen Species in Foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2007; 46 (1): 1-22.

- Choe E, Min DB. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*. 2017;72(5):77-86.
- Coletti F, Crittenden BD, Macchietto S. Basic Science of Fouling Process. In: Coletti F, Hewitt GF, eds. *Crude Oil Fouling*. 1st ed. Oxford: Gulf Professional Publishing; 2015, p:23-50. Coletti F, Crittenden BD, & Macchietto S. (2015). Basic Science of the Fouling Process. *Crude Oil Fouling*, 23–50.
- Covas MI, Fitó M, De la Torre R. Minor Bioactive Olive Oil Components and Health: Key Data for Their Role in Providing Health Benefits in Humans. In: Boskou D, eds. *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents*. 1st ed. AOCS Press; 2015, p: 31-52.
- Ditano-Vázquez P, Torres-Peña JD, Galeano-Valle F, Pérez-Caballero AI, Demelo-Rodríguez P, Lopez-Miranda J, Katsiki N, Delgado-Lista J, Alvarez-Sala Walther LA. The fluid aspect of the Mediterranean Diet in the prevention and management of cardiovascular disease and diabetes: The role of polyphenol content in moderate consumption of wine and olive oil. *Nutrients*. 2019;11:2833.
- El-Hadary AE, Taha M. Pomegranate peel methanolic-extract improves the shelf-life of edible-oils under accelerated oxidation conditions. *Food science & nutrition*. 2020;8(4):1798–1811.
- Erickson, M., Yevtushenko, D., & Lu, Z. (2022). Oxidation and Thermal Degradation of Oil during Frying: A Review of Natural Antioxidant Use. *Food Reviews International*, 1-32.
- Estévez M, Li Z, Soladoye OP, Van-Hecke T. Health Risks of Food Oxidation. In: Toldrá F, eds. *Advances in Food and Nutrition Research*. 1st ed. Academic Press; 2017, p: 2-365.
- Ez zoubi Y, Bousta D, Farah A. A Phytopharmacological Review of a Mediterranean Plant: *Lavandula stoechas* L. *Clinical Phytoscience*. 2020;6;9.

- Farràs M, Almanza-Aguilera E, Hernáez Á, Agustí N, Julve J, Fitó M, Castañer O. Beneficial effects of olive oil and Mediterranean diet on cancer physio-pathology and Incidence. *Seminars in Cancer Biology*. 2021;73:178-195.
- Félix, R., Valentão, P., Andrade, P., Félix, C., Novais, S., & Lemos, M. (2020). Evaluating the In Vitro Potential of Natural Extracts to Protect Lipids from Oxidative Damage. *Antioxidants*, 9(3), 231.
- Fiorio, R., D'hooge, D., Ragaert, K., & Cardon, L. (2018). A Statistical Analysis on the Effect of Antioxidants on the Thermal-Oxidative Stability of Commercial Mass- and Emulsion-Polymerized ABS. *Polymers*, 11(1), 25.
- Foot CS. Chemistry of Reactive Oxygen Species. In: Richardson T, Finley JW, eds. *Chemical Changes in Food during Processing*. 1st ed. Boston: Springer; 1985, p: 17-32.
- Frankel, E. (2012). Photooxidation of unsaturated fats. *Lipid Oxidation*, 51-66.
- Fuentes E, Báez ME, Bravo M, Cid C, Labra F. Determination of total phenolic content in olive oil Samples by UV–visible spectrometry and multivariate calibration. *Food Anal. Methods* 2012; 5, 1311–1319.
- Gaforio JJ, Visioli F, Alarcón-de-la-Lastra C, Castañer O, Delgado-Rodríguez M, Fitó M, Hernández AF, Huertas JR, Martínez-González MA, Menendez JA, Osada J, Papadaki A, Parrón T, Pereira JE, Rosillo MA, Sánchez-Quesada C, Schwingshackl L, Toledo E, Tsatsaki AM. Virgin Olive Oil and Health: Summary of the III International Conference on Virgin Olive Oil and Health Consensus Report, JAEN (Spain) 2018. *Nutrients*.2019;11(9):2039.
- Gavahian M, Khaneghah AM, Lorenzo JM, Munekata PES, Garcia-Mantrana I, Collado Carmen M, Meléndez-Martínez AJ, Barba FJ. Health benefits of olive oil and its components: Impact on gut microbiota, antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;88:220-227.

- German JB. Food Processing and Lipid Oxidation. In: Jackson SL, Knize MG, Morgan JN, eds. Impact of Processing on Food Safety. 1st ed. Boston: Springer; 1999, p: 23-50.
- Grootveld M, Percival BC, Leenders J, Wilson PB. Potential Adverse Public Health Effects Afforded by the Ingestion of Dietary Lipid Oxidation Product Toxins: Significance of Fried Food Sources. *Nutrients*. 2020; 12: 974.
- Guasch-Ferré M, Merino J, Sun Q, Fitó M, Salas-Salvadó J. Dietary Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:6723931.
- Guo Y, Baschieri A, Amorati R, Valgimigli L. Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals. *Food Chemistry*. 2021; 345 (5):128468.
- Gülçin İ, Şat İG, Beydemir Ş, Elmastaş M, Küfrevioğlu Öİ. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem*. 2014;87(3):393–400.
- Gür E. Oregano Ekstraktlarının Rafine Zeytinyağındaki Antioksidatif Etkilerinin İncelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1995, İzmir (Danışman: Dr. Gülden Ova).
- Insawang S, Pripdeevech P, Tanapichatsakul, C, Khruengsai, S, Monggoot, S, Nakham T, Artrod A, D’Souza PE, Panuwet P. Essential Oil Compositions and Antibacterial and Antioxidant Activities of Five *Lavandula stoechas* Cultivars Grown in Thailand. *Chemistry Biodiversity*. 2019;16(10): e1900371.
- Issaoui M, Flamini G, Hajaij ME, Cioni PL, Hammami M. Oxidative Evolution of Virgin and Flavored Olive Oils Under Thermo-oxidation Processes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2011;88:1339-1350.

- Jacobsen C, Paiva-Martins F, Schwarz K, Bochkov V. Lipid Oxidation and Antioxidants in Food and Nutrition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019; 121 (9): 1900298.
- Javier S, Botham KM. Olive Oil as a Functional Food: Nutritional and Health Benefits. In: Aparicio R, Harwood J, eds. *Handbook of Olive Oil*. 2nd ed. Boston: Springer; 2013, p:677-714.
- Jimenez-Lopez C, Carpena M, Lourenço-Lopes C, Gallardo-Gomez M, Lorenzo JM, Barba FJ, Prieto MA, Simal-Gandara J. Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil. *Foods*. 2020;9(8):1014.
- Karabagias I, Karabagias V, & Riganakos, K. (2019). Physico-Chemical Parameters, Phenolic Profile, In Vitro Antioxidant Activity and Volatile Compounds of Ladastacho (*Lavandula stoechas*) from the Region of Saidona. *Antioxidants*, 8(4), 80.
- Karabulut H, Gülay M Ş. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağ. Bil. Enst. Derg.* 2016;4(1):50-59.
- Khazrai YM, Defeudis G, Pozzilli P. Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: a review. *Diabetes Metabolism Research and Reviews* 2014;30 (Suppl. 1):24-33.
- Kırmızıbekmez H, Demirci B, Yeşilada E, Başer KHC, Demirci F. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Growing Wild in Turkey. *Natural Product Communicaitons*. 2009;4(7):1001-6.
- Koidis A, Boskou D. Virgin Olive Oil: Losses of Antioxidant Polar Phenolic Compounds due to Storage, Packaging, and Culinary Uses. In: Preedy V, eds. *Processing and Impact on Active Components in Food*. 1st ed. Academic Press; 2015, p:267-274.
- Kumari, P., Cna'ani, A., Didi-Cohen, S., Tzin, V., & Khozin-Goldberg, I. (2020). Nitrogen Deprivation-Induced Production of Volatile Organic Compounds in the

Arachidonic-Acid-Accumulating Microalga *Lobosphaera incisa* Underpins Their Role as ROS Scavengers and Chemical Messengers. *Frontiers In Marine Science*, 7.

Kuru D, Akpinar Borazan A, Ay N. Effect of UV Irradiation on Storage of Riviera Olive Oil in Glass Bottles Coated with BNNSs/PVB Multilayer Thin Film. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 2020;9:39-46.

Kühn, H., & Borchert, A. (2002). Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes¹ This article is part of a series of reviews on “Regulatory and Cytoprotective Aspects of Lipid Hydroperoxide Metabolism.” The full list of papers may be found on the homepage of the journal. *Free Radical Biology And Medicine*, 33(2), 154-172.

Lamuela-Raventós, R. (2017). Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. *Measurement Of Antioxidant Activity & Capacity*, 107-115.

Liebermann M & Peet A. Basic Fuel Oxidation and the Generation of ATP. In: Liebermann M & Peet A, eds. *Mark's Essentials of Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. 2nd ed. Baltimore: Wolters Kluwer; 20015;2007, p: 274-296.

Lourenço SC, Moldão-Martins M, Alves VD. Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. *Molecules*. 2019;24(22), 4132.

Madhujith T, Sivakanthan S. Oxidative Stability of Edible Plant Oils. In: Mérillon JM, Ramawat KG, eds. *Bioactive Molecules in Food*. 1st ed. Cham: Springer; 2018, p:1-23.

Maurya PK. Animal Biotechnology as a Tool to Understand and Fight Aging. In: Verma AS, Singh A, eds. *Animal Biotechnology*. 1st ed. Waltham, MA: Academic Press; 2014, p: 177-191.

Mazzocchi A, Leone L, Agostoni C, Pali-Schöll I. The Secrets of the Mediterranean Diet. Does [Only] Olive Oil Matter? *Nutrients*. 2019;11(12):2941.

- Mib DB, Boff JM. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2002; 1(2): 58-72.
- Morales MT, Przybylski R. Olive Oil Oxidation. In: Aparicio R, Harwood J, eds. *Handbook of Olive Oil*. 2nd ed. Boston: Springer; 2013, p: 479-522.
- Mozuraityte R, Kristinova V, Rustad T. Oxidation of Food Components. In: Cabarello B, Finglas PM, Toldrá F, eds. *Encyclopedia of Food and Health*. 1st ed. Oxford: Academic Press; 2016, p: 186-190.
- Muzammil S, Kanwal H, Shahzad T, Hussain S, Ullah Nadeem H, Rasul I, Imran M, Afzal M, İftikhar K, Hussnain Siddique M. Olive Oil. In: Inamuddin, Boddula R, Asiri AM, eds. *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*. 1st ed. India: Elsevier; 2020, p:17-30.
- Nissiotis M, Tasioula-Margari M. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food Chemistry*. 2002;77(3):371-376.
- Özcan A, Ogun M. Biochemistry of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. In: Gowder Thatha SJ, eds. *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. 1st ed. Croatia: İntechopen; 2015, p: 37-58.
- Özcan MM, Starovic M, Aleksic G, Figueredo G, Al Juhaimi F, Chalchat JC. Chemical Composition and Antifungal Activity of Lavender (*Lavandula stoechas*) Oil. *Natural Product Communications*. 2018;13(7):895-898.
- Özdemir A. α -Tokoferol ve Askorbil Palmitatın Natürel Zeytinyağının Termik Oksidasyonuna Antioksidatif Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1985, Ankara (Danışman: Doç. Dr. Gürol Ergin).
- Özen B, Uncu O. Importance of some minor compounds in olive oil authenticity and quality. *Trends in Food Science & Technology*. 2020; 100:164-176.

- Papanikolaou C, Melliou E, Magiatis P. Olive Oil Phenols. In: Lagouri V, eds. Functional Foods. Intechopen; 2019.
- Peñalvo GC, Robledo VR, Sánchez-Carnerero Callado C, Santander-Ortega MJ, Castro-Vázquez L, Lozano M, Arroyo-Jiménez MM. Improving green enrichment of virgin olive oil by oregano. Effects on antioxidants. Journal of Food Chemistry. 2016;197:509-515.
- Perona, J., & Botham, K. (2013). Olive Oil as a Functional Food: Nutritional and Health Benefits. Handbook Of Olive Oil, 677-714.
- Petrescu FIT, Petrescu RVV, Buzea E.M. New Natural Antioxidants. Independent Journal of Management & Production. 2020;11(3):967-997.
- Rotich, V., Al Riza, D., Giametta, F., Suzuki, T., Ogawa, Y., & Kondo, N. (2020). Thermal oxidation assessment of Italian extra virgin olive oil using an UltraViolet (UV) induced fluorescence imaging system. Spectrochimica Acta Part A: Molecular And Biomolecular Spectroscopy, 237, 118373.
- Sabri A, Rajabi R. The Secret Miracle of Olive Oil. Int Food Research J. 2017;7:68-84.
- Sanaeifar A, Jafari A. Determination of the oxidative stability of olive oil using an integrated system based on dielectric spectroscopy and computer vision. Information Processing in Agriculture. 2019; 6(1):20-25.
- Schwingshackl L, Morze J, Hoffmann G. Mediterranean diet and health status: Active ingredients and pharmacological mechanisms. British Journal Pharmacology. 2019:1-17.
- Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Souli A, Gharbi N, Sakly M. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Lipids in Health and Disease. 2013;28(12):189.
- Sikalidis AK, Kelleher AH, Kristo AS. Mediterranean Diet. Encyclopedia. 2021; 1:371-387.

- Silva BS, Schmiele M. From Olive to Olive Oil. Research, Society and Development. 2021;10(3):e32210313408.
- Skibsted LH. Understanding oxidation process in foods. In: Decker EA, Elias RJ, McClements DD, eds. Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications: Volume 1: Understanding Mechanisms of Oxidation and Antioxidant Activity. Oxford:Woodhead Publishing; 2010, p: 3–35.
- Tabakoğlu E, Durgut R. Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri. AVKAE Derg. 2013;3(1): 69-75.
- Tabar B, Baştürk A. Effects of different herbal extracts on oxidative stability of sunflower oil. The Journal of Food. 2018;43(2):333-346.
- Taghvaei M, Jafari S.M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. Journal of food science and technology. 2015;52(3):1272–1282.
- Tao L. Oxidation of polyunsaturated fatty acids and its impact on food quality and human health. Adv Food Technol Nutr Sci Open Journal. 2015;1(6):135-142.
- Uçak İ. Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi. The Journal of Food. 2018;43:523-532.
- Venturi F, Sanmartin C, Taglieri I, Nari A, Andrich G, Teruoli E, Donnini S, Nicoletta C, Zinnai A. Development of Phenol-Enriched Olive Oil with Phenolic Compounds Extracted from Wastewater Produced by Physical Refining. Nutrients. 2017;9(8):916.
- Wells R., Truong F, Adal AM, Sarker LS, Mahmoud SS. Lavandula essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. Natural Product Communications. 2018;13(10):1403–1417.
- Xu, Z., Ye, Z., Li, Y., Li, J., & Liu, Y. (2020). Comparative Study of the Oxidation Stability of High Oleic Oils and Palm Oil during Thermal Treatment. Journal Of Oleo Science, 69(6), 573-584.

Yazlak DB. Portakal Kabuğu Yağı İlavesinin Rafine Zeytinyağının Oksidatif Stabilitesi ve Duyusal Özelliklerine Etkisinin Belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012, Malatya (Danışman: Doç. Dr. İhsan Karabulut).

Zu R, Lin MC. The self-reaction of hydroperoxyl radicals: ab initio characterization of dimer structures and reaction mechanisms. The Royal Society of Chemistry. 2001;4(23):1-6.



9. EKLER

Ek 1. 4. Uluslararası Tıp Bilimleri ve Multidisipliner Yaklaşımlar Kongresi Sözel Sunum Tam Metin



NATÜREL BİRİNCİ ZEYTİNYAĞININ *LAVANDULA STOECHAS* BİTKİ EKSTRAKTI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMESİElif KANIK¹, Şermin TETİK^{1,2}, Gamze Nur ÖTER^{1,3}, Melike ŞARE^{1,4}, Ali ŞEN¹¹Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul/Türkiye²Uluslararası Fırat Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Gırne/Kıbrıs³İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul/Türkiye⁴Biruni Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul/Türkiye

Öz: Zeytinyağının fenolik içeriği sayesinde antioksidan özelliğe sahip natürel birinci zeytinyağının (VOO) uygun koşullarda saklanması ve tüketilmesi lipit peroksidasyonunun önlenmesi ve buna bağlı olarak tüketici sağlığı açısından büyük bir önem taşımaktadır. Isıya maruziyete bağlı olarak lipit peroksidasyonu yağlı besinlerde besinlerin fiziksel ve kimyasal bileşimini, raf ömrünü ve besin değerini önemli ölçüde etkileyen bir faktördür. Yararlı içeriğe sahip yağlı besinlerin lipit peroksidasyonundan korunması için günümüzde gıda sanayisinde birçok doğal ve sentetik koruyucu kullanılmaktadır. Ancak sentetik koruyucuların bazı sağlık problemlerine neden olabileceği gerekçesiyle doğal koruyucular daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Doğal koruyucu olarak en çok antioksidan özelliğe ve yüksek fenolik içeriğe sahip bitki ekstraktları ve bitkisel esansiyel yağlar kullanılmaktadır. Yapılacak olan bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı içeren natürel birinci zeytinyağının lipit oksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin gözlemlenmesi hedeflenmiştir. **Yöntem:** Farklı konsantrasyonlarda (20, 40 ve 60 µg/mL) *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı içerecek şekilde hazırlanan natürel birinci zeytinyağı örnekleri ve bitki ekstraktı içermeyen natürel birinci zeytinyağı (kontrol grubu) örneği 100°C ve 150°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta termal oksidasyona 0, 30, 60 dakika inkübasyon süreleri ile maruz bırakılmıştır. Örneklerin kimyasal analizinde Folin-Ciocalteu yöntemi ile total fenolik bileşik tayini, Malondialdehit (MDA) tayini yardımıyla antioksidan aktivite analizi gerçekleştirilmiştir. **Bulgular:** 100 °C sıcaklıkta 60 dakika boyunca inkübe edilen 20 µg/mL bitki ekstraktı içeren grubun 40 µg/mL ve 60 µg/mL bitki ekstraktı içeren örneklerle nazaran total fenolik bileşik miktarında istatistiksel olarak önemli bir artış bulunmuştur ($p<0,05$). 40 µg/mL ve 60 µg/mL ekstrakt içeren grupların total fenolik içerikleri arasında da önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). 150 °C sıcaklıkta ise 30 dakika boyunca inkübe edilen 20 µg/mL ekstrakt içeren natürel birinci zeytinyağı örneğinin fenolik bileşik miktarı 60 µg/mL ekstrakt içeren örneğe kıyasla önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). MDA tayininde 40 µg/mL *Lavandula stoechas* bitki ekstraktı içeren natürel birinci zeytinyağı örneğinin MDA içeriği kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). 150 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca termal oksidasyona maruz bırakılan 20 µg/mL bitki ekstraktı içeren örneğin MDA miktarının 60 µg/mL ekstrakt içeren örneğe göre istatistiksel anlamda önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). **Sonuç:** Elde edilen veriler neticesinde *Lavandula stoechas* bitki ekstraktının natürel birinci zeytinyağının hızlandırılmış oksidasyon koşullarında total fenolik bileşik içeriğini ve antioksidan aktivitesini koruduğu gözlemlenmiştir. Fakat bitki ekstraktının konsantrasyona bağlı etkisinin belirlenmesi için daha fazla çalışmanın yapılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Zeytinyağı, *Lavandula stoechas* ekstraktı, Antioksidan aktivite, Oksidatif stabilite, Termal lipit oksidasyon