ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cemile BÜYÜKİKİZ

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT İLE ZEYTİNYAĞI ELDESİ VE BİYOFENOLİK İLE TRİGLİSERİD BİLEŞİMLERİ AÇISINDAN KONVANSİYONEL TEKNOLOJİLERLE ELDE EDİLEN ZEYTİNYAĞLAR İLE KIYASLANMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT İLE ZEYTİNYAĞI ELDESİ VE BİYOFENOLİK İLE TRİGLİSERİD BİLEŞİMLERİ AÇISINDAN KONVANSİYONEL TEKNOLOJİLERLE ELDE EDİLEN ZEYTİNYAĞLAR İLE KIYASLANMASI

Cemile BÜYÜKİKİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez ..../...../2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....……..	İmza……	İmza……
Öğr.Gör.Dr. Arif HESENOV	Dr. Sibel IRMAK	Yrd.Doç.Dr. Belgin GÖZMEN
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ

Enstitü Müdürü

İmza ve Mühür

Bu Çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FEF2006YL 75

• **Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT İLE ZEYTİNYAĞI ELDESİ VE BİYOFENOLİK İLE TRİGLİSERİD BİLEŞİMLERİ AÇISINDAN KONVANSİYONEL TEKNOLOJİLERLE ELDE EDİLEN ZEYTİNYAĞLAR İLE KIYASLANMASI

Cemile BÜYÜKİKİZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman: Öğr.Gör.Dr. Arif HESENOV

Yıl: 2007 Sayfa: 105

Jüri: Öğr.Gör.Dr. Arif HESENOV

Öğr.Gör.Dr. Sibel IRMAK

Yrd.Doç.Dr. Belgin GÖZMEN

Bu çalışmada Türkiye'nin yerel zeytinyağı üretimi yapan hemen her bölgesinden zeytinler toplanmış ve süperkritik karbondioksit ile ekstrakte (SCE) edilerek trigliserid ve biyofenol içeriği belirlenmiştir. Aynı zeytin örneklerinin konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında aynı parametrelere bakılarak SCE ile elde edilen zeytinyağları ile karşılaştırılmıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında oleik asit miktarı daha az iken palmitik, stearik ve linoleik asit miktarında artış gözlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında bu dört yağ asidinin değişimine bağlı olarak iyot değerinde az bir düşüş gözlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında en yüksek linoleik asit miktarı Burhaniye/Taylıeli, İzmir/Bornova ve Mut (Ayvalık tipi) zeytinlerinde sırasıyla %12,9; %12,4 ve %12 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında bu değerler sırasıyla %9,5; %9,7 ve %8,7 olarak belirlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında oleik asit miktarı konvansiyonel yönteme bakılarak %8-14 daha az belirlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında çok daha fazla biyofenolik madde belirlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında en yüksek toplam biyofenol İzmir/Bornova, Hatay/Altınözü ve Mut (Gemlik tipi) zeytinlerinde sırasıyla 117,0; 115,6 ve 102,3 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, SCE, biyofenol, yağ asidi içeriği

ABSTRACT

MSc THESIS

OLIVE OIL EXTRACTION BY SUPERCRITICAL CARBONDIOXIDE AND COMPRASION OF BIOPHENOLIC AND TRIGLYCERIDE COMPOSITION OF THE EXTRACTS WITH CONVENTIONAL EXTRACTED ONES

Cemile BÜYÜKİKİZ

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Dr. Arif HESENOV

Year: 2007, Pages: 105

Jury : Dr. Arif HESENOV

Dr. Sibel IRMAK

Assoc.Prof. Belgin GÖZMEN

Olives collected from the local olive oil producers situated almost in all olive producing geographic regions of Turkey were extracted with supercritical carbondioxide (SCE) and the oils obtained have been investigated with respect to trigliserid acid and biophenolics composition. Samples from oils extracted from the same olives by the local oil producers via the conventional methods and the results obtained from SCE and the conventional methods were compared. While the oleic acid contents were lower in SCE oils when compared with the conventionally extracted oils, the reverse was true for palmitic, stearic, and linoleic acid contents. Iodine value measurements has shown that there were slight decreases in unsaturated acid contents of SCE oils compared to the corresponding conventionally extracted oils due to the relative changes in the contents of these four major acids of the olive oils. The highest linoleic acid contents were %12.9, %12.4 and %12.0 in SCE oils obtained from Burhaniye/Taylieli olives, Izmir/Bornova olives and Mut olives (Ayvalik type) while the corresponding values for the conventionally extracted oils were %9.5, %9.7, and %8.7 mg/kg. SCE oils had oleic acid contents less than the corresponding values from conventionally extracted oils with a ratio varying between 8 to 14 percent. The biophenolic contents of SCE oils were many folds higher than the corresponding values obtained from the conventionally extracted oils. Three of the SCE oils, namely Izmir/Bornova, Hatay/Altinozu and Mut (Gemlik type) had the highest total biophenolic contents of 117.0, 115.6, and 102.3 mg/kg, respectively.

Key Words: Olive, SCE, biophenolics, fatty acid compositions

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam süresince her türlü desteği, yardımı ve anlayışı gösteren sayın hocam Prof.Dr. Oktay ERBATUR ve danışmanım Öğr. Gör. Dr. Arif HESENOV'a teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmam sırasında her türlü yardımı esirgemeden gösteren Arş. Görevlisi Osman Malik ATANUR'a ve katkılarından dolayı Öğr. Gör. Dr. Sibel IRMAK'a ve manevi desteğini esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Aileme ve özellikle de eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana maddi, manevi her konuda destek olan güvenlerini hiçbir zaman esirgemeyen annem ve babama çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER SAYFA

ÖZ.....I
ABSTRACT.....II
TEŞEKKÜR.....III
İÇİNDEKİLER..... IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....IX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....X
1.GİRİŞ.....1
1.1.Tarihçe.....1
1.2. Zeytinciliğin Dünya ve Ülke Ekonomisindeki Yeri.....1
1.3. Zeytin Meyvasının Fiziksel Özellikleri ve Bileşimi.....3
1.4. Zeytinyağının Bileşenleri.....4
1.4.1. Zeytinyağının Temel (Major) Bileşenleri.....4
1.4.1.1. Triaçilgliserollerin Biyolojik İşlevi.....8
1.4.2. Zeytinyağının Eser (Minör) Bileşenleri.....9
1.4.2.1. Zeytinyağının Fenolik Bileşenleri.....9
1.4.2.2. Skualen.....13
1.4.2.3. Tokoferol (E vitamini).....14
1.4.2.4. Steroller.....15
1.4.2.5. Klorofiller.....16
1.4.2.6. Aroma Bileşenleri.....16
1.5. Süperkritik Akışkanların Özellikleri.....16
1.5.1. Süperkritik Akışkanların Ekstraksiyonu.....19
1.5.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunun Üstünlükleri.....20
1.5.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Düzeneği.....21
1.5.4. Süperkritik Akışkanın Seçimi.....22
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....24
3.MATERYAL VE METOD.....30
3.1.Materyal.....30

3.1.1. Zeytin ve Zeytinyağı Örneklerinin Seçimi……30
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler……..30
3.1.3. Kullanılan Cihaz ve Düzenekler……....31
3.2.Metod.....32
3.2.1. Zeytin Örneklerinin Kurutulması……...32
3.2.2. Yağ Ekstraksiyonu…….33
3.2.2.1. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu……33
3.2.3. Biyofenol Ekstraksiyonu……34
3.2.3.1. Biyofenollerin HPLC Analizi……...35
3.2.4. Yağların Metil Esterlerinin Hazırlanması……..36
3.2.4.1. Yağ Asitlerinin GC Analizi……..36
3.2.5. Zeytinyağlarında İyot Değerlerinin Tayin Edilmesi……..36
3.2.6. Zeytinyağında Serbest Yağ Asidi Değerlerinin Tayin Edilmesi....37
4.BULGULAR VE TARTIŞMA.....38
4.1. Konvansiyonel Yöntem ve Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon (SCE) Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Yağ Asidi İçeriğinin Karşılaştırılması……..38
4.2. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Biyofenol İçeriğinin Belirlenmesi……..49
4.3. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının İyot Değerlerinin Karşılaştırılması…….58
4.4. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Serbest Yağ Asidi Değerlerine Ait Bulgular……..59
5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....63
5.1. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Yağ Asidi İçeriğine Ait Sonuçlar……63
5.2. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Biyofenol İçeriğine Ait Sonuçlar……64
5.3. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının İyot Değerine Ait Sonuçlar……64
5.4. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının

Serbest Yağ Asidi Değerlerine Ait Sonuçlar……..65
KAYNAKLAR.....66
ÖZGEÇMİŞ.....72
EKLER……...…….73

ÇİZELGELER DİZİNİ SAYFA

Çizelge 1.1. Zeytin meyvasının fiziksel özellikleri ve bileşimi……...3
Çizelge 1.2. Doymuş ve doymamış yağ asitleri…….....6
Çizelge 1.3. Süperkritik akışkanların özelliklerinin, sıvıların ve gazların özellikleri ile karşılaştırılması…….18
Çizelge 1.4. Bazı süperkritik akışkanların özellikleri…….18
Çizelge 4.1. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği……..39
Çizelge 4.2. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağının % yağ asidi içeriği……39
Çizelge 4.3. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği…….41
Çizelge 4.4. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen İzmir-Bornova zeytinyağının % yağ asidi içeriği……41
Çizelge 4.5. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Bursa-İznik zeytinyağının % yağ asidi içeriği……43
Çizelge 4.6. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının % yağ asidi içeriği……43
Çizelge 4.7. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği……..45
Çizelge 4.8. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağının % yağ asidi içeriği……45
Çizelge 4.9. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği……..47
Çizelge 4.10. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Hatay-Altınözü zeytinyağının % yağ asidi içeriği……..47
Çizelge 4.11. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Bursa-İznik zeytinyağının biyofenol içeriği……..……..50
Çizelge 4.12. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının biyofenol içeriği……...51

Çizelge 4.13. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği……...52
Çizelge 4.14. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen İzmir-Bornova zeytinyağının biyofenol içeriği…….53
Çizelge 4.15. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği……..54
Çizelge 4.16. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağının biyofenol içeriği……...55
Çizelge 4.17. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği……...56
Çizelge 4.18. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Hatay-Altınözü zeytinyağının biyofenol içeriği…….57
Çizelge 4.19. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Zeytinyağlarının iyot değerleri…….58
Çizelge 4.20. Konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerleri……61
Çizelge 4.21. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerleri……61

ŞEKİLLER DİZİNİ SAYFA

Şekil 1.1. Dünyada sofralık zeytin üretimi ve Türkiye'nin durumu…….2
Şekil 1.2. Türkiye'de zeytin üretimi yapan bölgeler…….3
Şekil 1.3. Triaçilgliserol'ün yapısı……....5
Şekil 1.4. Yağların hidrolizi……..5
Şekil 1.5. Fenolik asitlerin yapısı……10
Şekil 1.6. Fenolik alkoller……...12
Şekil 1.7. Secoiridoid: Oleuropein'in yapısı……...12
Şekil 1.8. Flavonoidlerin yapısı……..13
Şekil 1.9. Lignanların yapısı……...13
Şekil 1.10. Skualen'in yapısı……..14
Şekil 1.11. α-Tokoferol'ün yapısı……...15
Şekil 1.12. (a) Saf bir maddenin faz diyagramı……..18
(b) Saf CO_2 faz diyagramı…….19
Şekil 1.13. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon (SFE) şeması……..22
Şekil 3.1. Süperkritik ekstraksiyon gerçekleştirildiği sistem.…….34
Şekil 3.2. Biyofenol ekstraksiyonunun şematik gösterimi……..35

SİMGELER VE KISALTMALAR

CC-SFE : Counter Current-Supercritical Fluid Extraction (Ters Akım-Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu)

GC : Gas Chromatography (Gaz Kromatografisi)

GC-FID : Gas Chromatography-Flame Ionisation Dedector (Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü)

HPLC : High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

HPLC-MS : High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometri)

HPLC-DAD : High Perforformance Liquid Chromatograph-Diod Array Dedector

LC-MS : Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometri)

SCE : Supercritical Carbon dioxide Extraction (Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu)

SFE : Supercritical Fluid Extraction (Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu)

1.GİRİŞ

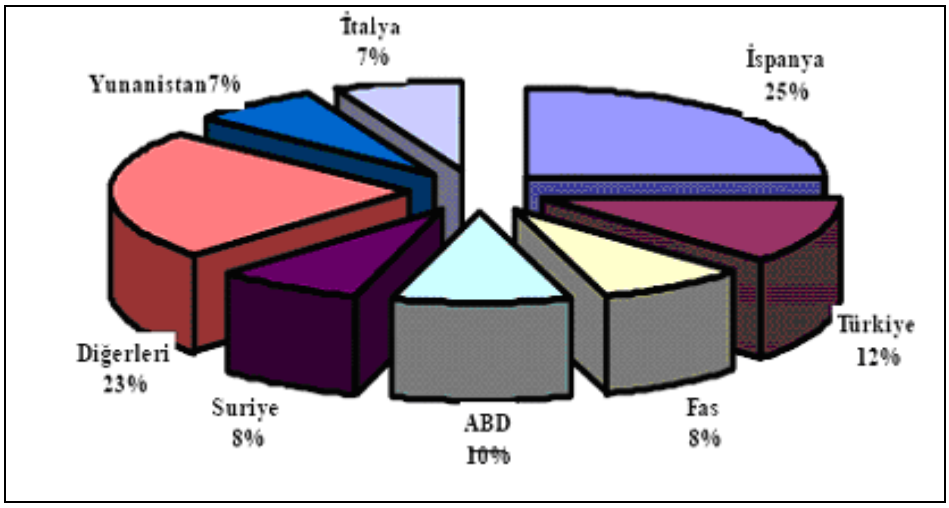
1.1. Tarihçe

Dünyanın en sağlıklı ve doğal bitkisel yağ kaynağı olan zeytinin tarihi, günümüzden 8.000 yıl öncesine dayanır. Tarihi gelişimi içinde birçok efsaneye kaynak olan zeytin, eski uygarlıkların yazıtları ve kutsal kitaplarda yer almıştır. Ayrıca, beyaz bir güvercinin Nuh'un gemisine tufan sonrası canlılık belirtisi olan zeytin dalı ile dönmesi nedeni ile zeytin yüzyıllardır barışın simgesi olarak kabul edilir.

Oleacea familyasının bir üyesi olan zeytinin (*Olea europaea L.*) anavatanı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ni içine olan Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya'dır. Dünyaya yayılma şekli iki yoldan olmuştur. Birincisi Mısır üzerinden Tunus ve Fas'a, ikincisi ise Anadolu boyunca Ege adaları, Yunanistan, İtalya ve İspanya'yadır. İlk kültüre alınışı ve ıslahı Samiler tarafından olmuştur (Ertem, H., 1987, Hehn, V., 1998, Anonim, 1996, Garibağaoğlu ve Baysal, 1998).

1.2. Zeytinciliğin Dünya ve Ülke Ekonomisindeki Yeri

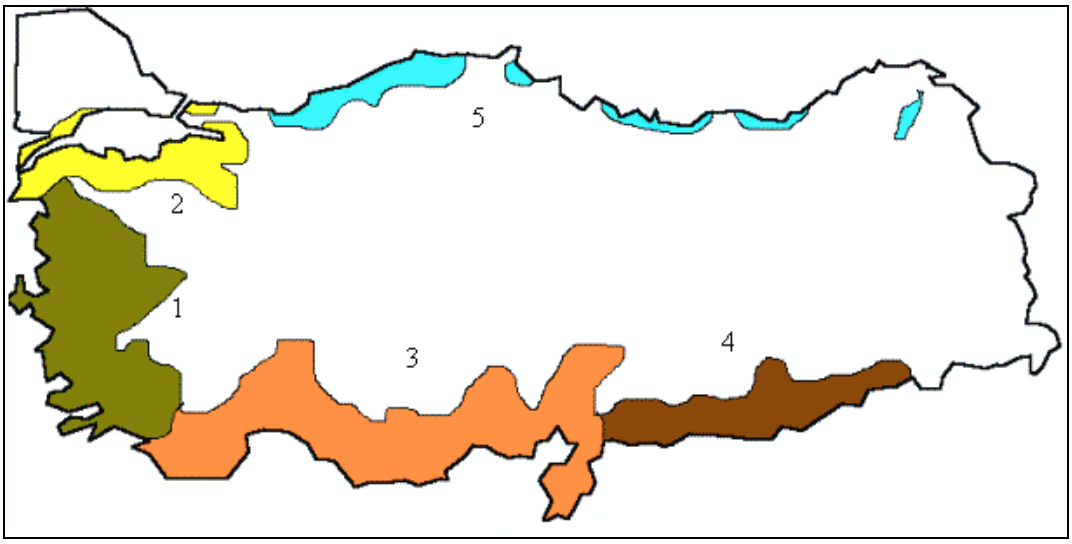
Dünyada 7,5 milyon hektar alanda 700 milyona yakın zeytin ağacı bulunmaktadır (Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, 1993/1994– 2002/2003). Dünya zeytin ağacı ve zeytin üretiminin yaklaşık % 97'si Akdeniz bölgesindedir. Dünyada zeytin ağaç varlığı ve dane zeytin üretimine paralel olarak sofralık zeytin üreten önemli ülkeler İspanya, Türkiye, İtalya, Yunanistan, ABD, Fas, Suriye ve Mısır'dır. Türkiye sofralık zeytin üretiminde İspanya'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye dünya sofralık zeytin üretiminde siyah sofralık zeytin üretimi ile ilk sırada yer alırken, yeşil sofralık zeytin üretiminde İspanya ilk sırada yer almaktadır. Önemli zeytin üreticisi ülkelerin, 1993/1994 – 2002/2003 yıllarında sofralık zeytin üretimine ait değerler Şekil 1.1'de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Dünyada sofralık zeytin üretimi ve Türkiye'nin durumu (Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, 1993/1994–2002/2003)

Türkiye'de üretilen sofralık zeytinin %85'i siyah, %15'i yeşil ve rengi dönük; İspanya'da üretilen sofralık zeytinin %70'i yeşil, %26'nın rengi dönük, %4'ü siyah; İtalya'da üretilen sofralık zeytinin %73'ü siyah, %22'si yeşil, %5'nin rengi dönük; Yunanistan'da üretilen sofralık zeytinin %65'i siyah, %27'si yeşil, %8'nin rengi dönük olarak işlenmekte ve değerlendirilmektedir (Tunalıoğlu, 1995).

Türkiye'de sofralık zeytin üretiminin %20'si Marmara Bölgesi'nde (üretimin %85'i sofralık ve sofralık üretimin tamamına yakını Gemlik çeşididir), %65'i Ege Bölgesi'nde (üretimin %28'i sofralıktır), %15'i Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz Bölgesi'nde gerçekleşmektedir. Şekil 1.2'de Türkiye'de zeytin üretim alanları ile ilgili harita sunulmaktadır (Tunalıoğlu, 2003, DİE, 1997).



Şekil 1.2. Türkiye'de zeytin üretimi yapan bölgeler (1. Ege 2. Marmara 3. Akdeniz 4. Güneydoğu Anadolu 5. Karadeniz. Numaralar bölgelerin ağaç sayısı ve üretim miktarına göre çoktan aza doğru verilmiştir)

1.3. Zeytin Meyvasının Fiziksel Özellikleri ve Bileşimi

Zeytin meyvasının genel fiziksel özellikleri ve bileşimi Çizelge 1.1'de gösterildiği gibidir. Çizelge 1.1'de ortalama %22 olarak gösterilen yağ içeriğinin aslında %13 ile %30 arasında değişebildiği ve yağ içeriğindeki bu farklılığa zeytin çeşidine bağlı olduğu dikkate alınmalıdır.

Çizelge 1.1. Zeytin meyvasının fiziksel özellikleri ve bileşimi (Ulaş, 2001)

Fiziksel özellikler		Tipik zeytin bileşimi	
Dane ağırlığı	2-12 g	Su	% 50
Çekirdek oranı	% 13-30	Yağ	% 22
Et (pulp) oranı	% 66-85	Protein	% 1.6
Meyva kabuğu	% 1.5-3.5	Selüloz	% 5.8
		Şeker	% 19.1
		Kül	% 1.5

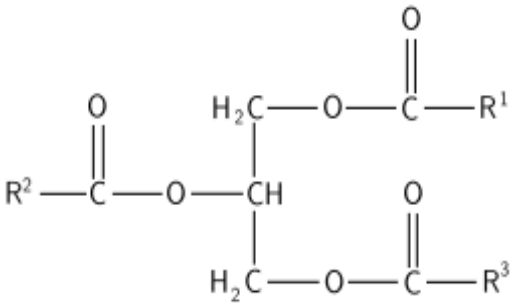
Siyah zeytinin yağ miktarı yeşil zeytine göre daha fazla iken, A vitamini, demir ve kalsiyum yönünden yeşil zeytin siyah zeytinden daha zengindir (www. tariszeytin.com.tr).

1.4. Zeytinyağının Bileşenleri

Zeytinyağı, zeytin ağacı (*Olea Europa L*) olgun meyvalarından elde edilir. Bileşiminin %99'nu sabunlaşabilen trigliseridler ve serbest yağ asitleri oluşturur. Yağ asitlerinin dağılımı %55-83 Oleik (Oleic) asit, %3,5-21 Linoleik (Linoleic) asit, %7,5-20 Palmitik (Palmitic) asit, %0,5-5 Stearik (Stearic) asit, %0,3-3.5 Palmitoleik (Palmitoleic) asit, %0-1,5 Linolenik (Linolenic) asit ve %0-0,8 Araşidik (Arachidic) asit şeklindedir. Bunlar zeytinin başlıca (major) bileşenleridir. Geriye kalan %1'lik kesim minör bileşenler olarak adlandırılır ve sabunlaşamayan lipidlerdir (Tsimidou ve ark, 2003). Yapılan pek çok çalışmada farklı zeytin türlerinin yağ asidi ve biyofenol içerikleri saptanmıştır. Zeytinin minör bileşenlerinden Tirosol (Tyrosol), Vanilik (Vanilic) asit, Luteolin ve Apigenin'in tanımlanmasında LC-MS kullanılmıştır (Murkovic ve ark, 2004). Manzanillo ve Cucco gibi iki farklı zeytin örneğinin fenolik madde içeriği kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Analizler HPLC ile UV, Floresans ve MS dedektörleri kullanılarak yapılmıştır. Oleuropein'in zeytindeki temel bileşen olduğu ve konsantrasyonunun olgunlaşma sürecine doğru azaldığı gözlenmiştir (Ryan ve ark, 1999). Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile 765 nm'de absorbansı okunarak belirlenmiştir (Shahidi ve Naczk, 1995).

1.4.1. Zeytinyağının Temel (Major) Bileşenleri

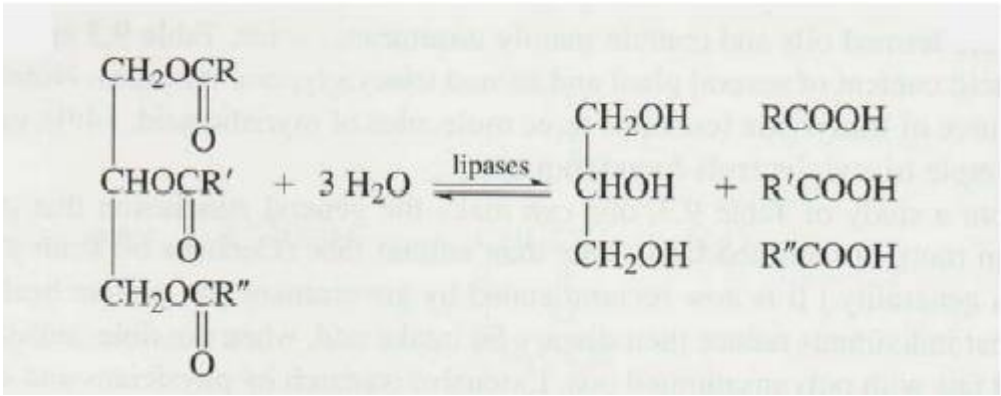
Biyolojik kökenli karboksilik asitlerin çoğu, gliserinin esterleri şeklinde bulunur ve triaçilgliseroller olarak adlandırılmaktadırlar. Triaçilgliseroller, bitkisel ve hayvansal yağlardır. Bunlar yer fıstığı, soya yağı, mısır yağı, ayçiçeği yağı, tereyağı ve domuz yağı gibi yağlardır. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan triaçilgliserollere sıvı yağlar, katı halde bulunanlara da katı yağlar denir. Şekil 1.3'te triaçilgliserolün yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Triaçilgliserolün yapısı. R_1, R_2 ve R_3 uzun alkil zincirleridir.

Üç açil grubu da aynı olan triaçilgliseroller basit triaçilgliserollerdir. Açil gruplarının farklı olduğu triaçilgliseroller ise karışık triaçilgliseroller olarak adlandırılırlar ve bunlar yaygın olarak bulunmaktadırlar.

Sıvı ya da katı yağların hidrolizi sonucu yağ asitlerinin bir karışımı oluşmaktadır.



Şekil 1.4. Yağların hidrolizi

Doğal halde bulunan yağ asitlerinin çoğu dallanmamış zincirlere sahiptir. Bu yağ asitleri ikili karbon birimlerinden sentezlenmiş olduklarından karbon atomlarının sayısı her zaman çifttir (Solomons ve Fryhle, 2000). Çizelge 1.2'de doymuş ve doymamış yağ asitlerinin listesi verilmiştir. Doğal olarak bulunan yağ asitlerini çoğu iki ya da üç çift bağ içerirler ve bu yağlara çoklu doymamış yağlar ya da sıvı yağlar denir. Doymamış yağ asitlerinde ilk çift bağ genellikle 9 ve 10 numaralı karbonlar arasında bulunur, geri kalan çift bağlar ise genellikle 12 ve 15 numaralı karbondan başlar (Linoleik ve Linolenik asitlerde olduğu gibi). İkili bağlar bundan dolayı konjuge değillerdir. Üçlü bağlar ise yağ asitlerinde nadiren bulunur.

Çizelge 1.2. Doymuş ve doymamış yağ asitleri (Solomons ve Fryhle, 2000)

Doymuş	Doymamış
C4:0 Bütirik(Butiric) asit	
C6:0 Kaproik (Caproic) asit	C16:1 Palmitoleik (Palmitoleic) asit (omega 7)
C8:0 Kaprilik (Caprilic)asit	C18:1 Oleik (Oleic) asit (omega 9)
C10:0 Kaprik (Capric) asit	C18:2 Linolenik (Linoleic) asit (omega 6)
C12:0 Laurik (Lauric) asit	C18:3 Alfa- Linolenik (Alfa-Linolenic) asit (omega 3)
C13:0 Tridecanoik (Tridecanoic) asit	C20:1 Eikosanoik (Eicosanoic) asit
C14:0 Miristik (Myristic) asit	
C15:0 Pentadecanoik (Pentadecanoic) asit	
C16:0 Palmitik (Palmitic) asit	
C18:0 Stearik (Stearic) asit	
C20:0 Araşidik (Arachidic) asit	
C22:0 Beheneik(Beheneic) asit	
C23:0 Trikosanoik (Tricosanoic) asit	
C24:0 Lignoserik (Lignoceric) asit	

Doymuş yağ asitlerindeki karbon zinciri birçok konformasyona sahip olabilir, ancak zincir, genellikle komşu metilen gruplarındaki sterik etkiyi en aza indirecek şekilde düzenlenmiştir. Doymuş yağ asitleri iyi bir şekilde kristallenirler ve Van-der Waals etkileşimlerinin büyük olmasından dolayı da bağıl olarak yüksek erime noktalarına sahiptirler. Molekül kütlesinin artması ile erime noktası artar. Doymamış yağ asitlerinin ikili bağlarının cis-konfigürasyonunda olmasından dolayı, karbon zincirindeki eğilme, kristal istiflenmeyi doğrudan etkiler ve moleküller arası Van-der Waals etkileşmesini zayıflatır. Bu yüzden doymamış yağ asitleri düşük erime noktasına sahiptir (Solomons ve Fryhle, 2000).

Yağ asitleri hakkında söylenenler triaçilgliseroller içinde geçerlidir. Yani doymuş yağ asitlerinden oluşan triaçilgliseroller yüksek erime noktasına sahiptir ve

oda sıcaklığında katıdır. Bu nedenle bunlara katı yağlar denir. Yüksek oranda doymamış ve birden çok doymamışlık içeren yağ asitlerinde oluşan triaçilgliseroller ise düşük erime noktasına sahiptirler. Bundan dolayı da bunlara sıvı yağlar denir (Solomons ve Fryhle, 2000).

Doymuş yağ asitleri kandaki kolesterolü artırırken, doymamış yağ asitleri tam tersi etki yapmaktadır. Bir steroid olan kolesterol, karaciğer tarafından sentezlendiği halde yiyeceklerle de alınır ve kanda belirli bir düzeyde olması gerekir. Kolesterolün kandaki taşıyıcısı olan lipoproteinin yüksek (high density lipoprotein = HDL) veya düşük (low density lipoprotein =LDL) yoğunlukta olması insan sağlığı açısından önemlidir. Kan kolesterolündeki yükseliş ile kalp-damar hastalıkları arasındaki ilişki araştırıldığında kalp-damar rahatsızlıkları olanlarda çoğunlukla kandaki LDL ile taşınan kolesterolün yüksek olduğu gözlenmiştir. Oysa HDL'nin kanda yükselmesi durumunda kolesterol karaciğere taşınarak safra ve benzer ürünlere indirgenmekte ve böylece damar sertliği olasılığı azalmaktadır. Sonuç olarak, sağlık açısından LDL değerinin düşük, HDL değerinin ise yüksek olması gerekmektedir (Violan ve Audisio, 1987, Anonymous, 1992).

Doymamış yağ asitleri, molekülde çift bağın sayısı ve bulunduğu yere göre dizilmektedir. Yağ asidi molekülünün sonundan başına doğru ilk çift bağın bulunduğu yer 'n' işaretiyle gösterilmektedir. Örneğin, Oleik asit (C 18:1 n-9) şeklinde ifade edilir. Bunun anlamı; Oleik asit 18 karbon atomundan oluşmakta, molekülde bir tane çift bağ bulunmakta ve bu çift bağ sondan dokuzuncu karbon atomunda bulunmaktadır. Yağ asitlerindeki çift bağ sayısı ve bu bağların yağ asidi molekülünde bulunduğu yer, yağ asidinin insan beslenmesindeki önemini belirler. İnsan vücudu ilk çift bağı sondan 3. ve 6. karbon atomunda olan (omega 3 ve omega 6), iki veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerini sentezleyememektedir. Bu tür yağ asitleri elzem yağ asitleri olarak bilinir ve dışarıdan alınması gerekir. Bu yağ asitleri bitkisel yağların yanı sıra, balık ve diğer su ürünleri ile insan sütünde bulunmaktadır (Violan ve Audisio, 1987).

Trans yağ asitleri, trans konfigürasyonunda en az bir çift bağa sahiptir. Bu asitlerde çift bağ açısı cis izomerlere göre daha küçük, açil zinciri daha doğrusaldır. Dolayısıyla, erime noktası ve termodinamik kararlılığı daha yüksek olan farklı

fiziksel özellikte sert bir molekül ortaya çıkmaktadır. Bu bileşikler, doymuş yağ asitleri gibi LDL kolesterol miktarını artırırken HDL kolesterol miktarını düşürür ve kalp hastalıkları riskini yükseltir. Trans yağ asitleri süt kaynaklı yağlarda ayrıca hidrojenasyonla oluşmaktadır. Margarinler kısmi hidrojenasyonla bitkisel yağlardan elde edilir. Hidrojenasyon işlemleri süresince, doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir. Doymuş ve trans yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir (FAO ve WHO, 1993).

1.4.1.1 Triaçilgliserollerin Biyolojik İşlevleri

Triaçilgliseroller hayvanlarda öncelikle bir enerji kaynağı olarak işlev görürler. Triaçilgliseroller biyokimyasal tepkimelerde karbondioksit ve suya dönüştüklerinde (yani metabolize olduklarında) protein ve karbonhidratların gram başına verdikleri kilokalorinin iki katında daha çok enerji üretirler. Bu durum, molekül başına düşen karbon-hidrojen bağlarının oranının yüksek olmasından ileri gelir. (Solomons ve Fryhle, 2000).

Hayvanlarda adipoksitez (yağ hücreleri) denilen özel hücreler triaçilgliserolleri sentezler ve depolarlar. Bu tür hücreleri bulunduran zarlar adipoz zarları olarak bilinirler; mide boşluğundaki ve derinin altındaki tabakalarda bolca bulunurlar. Erkeklerdeki yağ miktarı %21, kadınlarda ise %26'dır. (Solomons ve Fryhle, 2000).

Bu yağ oranları, bir insanın açlığa 2-3 ay dayanabilmesi için yeterlidir. Glikojen ve karbohidrat kaynakları ise ancak bir gün için gerekli olan enerji ihtiyacını karşılayabilirler.

Vücuttaki doymuş triaçilgliserollerin tamamı ve doymamış triaçilgliserollerin bazıları, karbohidrat ve proteinlerden sentezlenebilir. Yiyeceklerdeki yağ miktarı, özellikle doymuş yağ oranı, yıllardan beri sağlık için endişe verici olmuştur.

Yiyeceklerde bulunan çok miktardaki doymuş yağın, kalp hastalıkları ve kanserin ortaya çıkmasında etkili olduğuna dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (Solomons ve Fryhle, 2000).

1.4.2. Zeytinyağının Eser (Minör) Bileşenleri

Zeytinyağı bileşiminin %99 unu sabunlaşabilen trigliseridler ve serbest yağ asitleri oluşturur. Geriye kalan %1'lik kesim minör bileşenler olarak adlandırılan ve sabunlaşamayan lipidlerdir. Bunlar α-tokoferol (200-300 mg/kg yağ), steroller (180-260 mg/100 g yağ), fenolik bileşenler (500 mg/kg yağ), skualen: 0,7-12g/kg yağ, toplam karoten < 10mg/kg yağ, klorofiller > 30 mg/kg yağ ve aroma bileşenleridir (Tsimidou ve ark, 2003).

1.4.2.1. Zeytinyağının Fenolik Bileşenleri

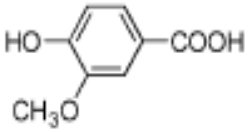
Zeytinyağında bulunan fenolik bileşenler fenolik asitler veya basit polifenoller olarak bilinmektedir. Ana fenolik bileşenler basit fenoller, sekoiridoidler (secoiridoids), lignanlar ve flavonoidler olmak üzere dört sınıfta toplanırlar. Basit fenoller hidroksitirosol (hydroxytyrosol), tirosol (tyrosol), p-koumarik (p-coumaric) ve vanilik (vanilic) asit, vb., sekoiridoidler (secoiridoids): Oleuropein (oleuropein), ligstrosayd (ligstroside) ve özellikle hidrolize olmuş türevleri, lignanlar [(+)-Pinoresinol ve (+)-1-Asetoxypinoresinol)], ve flavonoidler (apigenin ve luteolin). Bu dört grubun üyeleri güçlü antioksidan etkiye sahiptir ve oksitlenmeye karşı zeytinyağının kararlılığına olağan üstü katkı sağlamaktadır (Gonzales ve ark, 1977; Tsimodou, 1998). Pek çok epidemiyolojik çalışma fenolik bileşenlerin cilt, göğüs ve kolon kanserine ve kroner kalp hastalıklarına karşı önemli koruyucular olduğunu göstermektedir (Owen ve ark., 2000; Owen ve ark., 2000).

Fenolik bileşenler bitkilerde doğal olarak bulunan önemli bileşik gruplarıdır. Fenolik bileşenlerin miktarı zeytinyağının kalitesini belirler. Doğal fenoller oksitlenmeye karşı hücreleri korurlar (Vazquez ve ark., 1975; Baldioli ve ark., 1996). Fenolik bileşenler kendilerine özgü keskin acı tatları ile bilinmektedirler (Gutierrez ve ark., 1977, 1989).

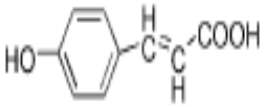
Zeytinyağının fenolik içeriği kültüre, olgunlaşma derecesine, iklime (Uceda ve Hermoso, 1997) ve ekstraksiyon sırasındaki gördüğü işlemlere bağlı olarak farklılık göstermektedirler (Catalono ve Caponio, 1996; Frega ve ark., 1997).

Oleuropein zeytin meyvasındaki ana fenolik bileşendir ve miktarı olgunlaşma ile birlikte azalır (Amiot ve ark., 1986). Kalorimetrik yöntemle belirlenen yağlardaki toplam fenol konsantrasyonunun olgunlaşma ile azaldığı iyi bilinir (Uceda ve Hermoso, 1997). İki flavonoid bileşiği olan luteolin ve apigenin zıt bir gelişme gösterirler. Yani, sızma (virgin) zeytinyağlarında luteolin konsantrasyonu olgunlaşma ile yükselirken, apigenin olgunlaşma ile tanımlanmış bir eğilim göstermemiştir (Amiot ve ark, 1986).

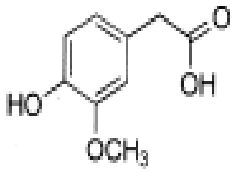
Tirosol ve hidroksitirosol bileşikleri zeytin meyvasının olgunlaşmasıyla birlikte daha yüksek molekül kütleli bileşenlere dönüşürler. Böylelikle tirosol ve hidroksitirosol konsantrasyonu meyva gelişimi ile birlikte artar (Cimato ve ark, 1990). Şekil 1.5-1.9'da fenolik asitler, fenolik alkoller, secoiridoid, flavonoid ve lignanların yapıları verilmiştir.



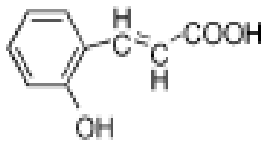
Vanilik asit
(4-hidroksi-3-metoksi benzoik asit)



p-koumarik asit
(3-(4-hidroksifenil)-2-propenoik asit)

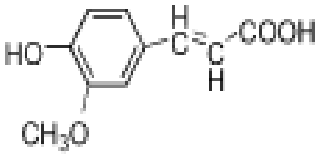


Homovanilik (homovanilic)asit
(4-hydroxy-3-metoxy phenilacetic asit)

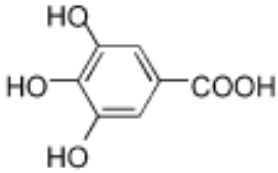


o-koumarik asit
(3-(2-hidroksifenil)-2-propenoik asit)

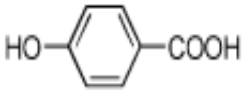
Şekil 1.5. Fenolik asitler ve yapısı (vanilik asit, p-koumarik asit, homovanilik asit ve o-koumarik asit)



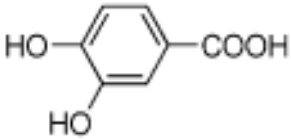
Gallik (gallic) asit
(3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-propenoik asit)



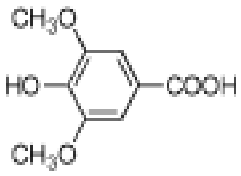
Ferrulik asit
(3,4,5-trihidroksibenzoik asit)



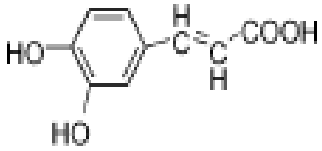
4-hidroksibenzoik asit



Protokatekhuik (protocatechuic) asit
(3,4-dihidroksibenzoik asit)

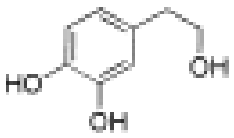


Siyrincik (syringic) asit
(4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoik asit)

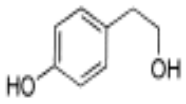


Kaffeik (caffeic) asit
(3,4-dihidroksicinnamic asit)

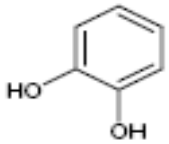
Şekil 1.5. Fenolik asitler ve yapısı (ferulik, gallik , 4-hidroksibenzoik, protokatekhuic, siyrincik ve kaffeik asit)



Hidroksitirosol
(3,4-dihydroxypheniletanol)

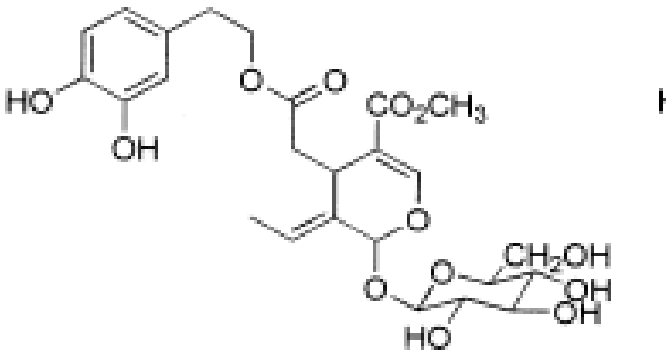


Tirosol
(4-hidroksifeniletilalkol)



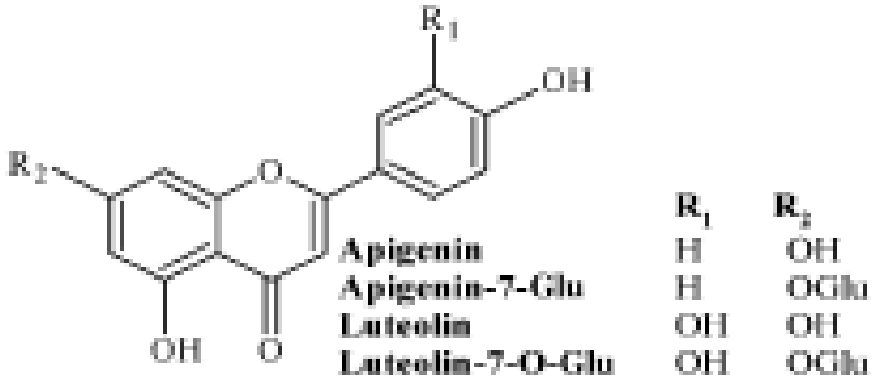
Katekol (catecol)
(1,2-dihidroksibenzen)

Şekil 1.6. Fenolik alkoller: Hidroksitirosol, tirosol ve katekol

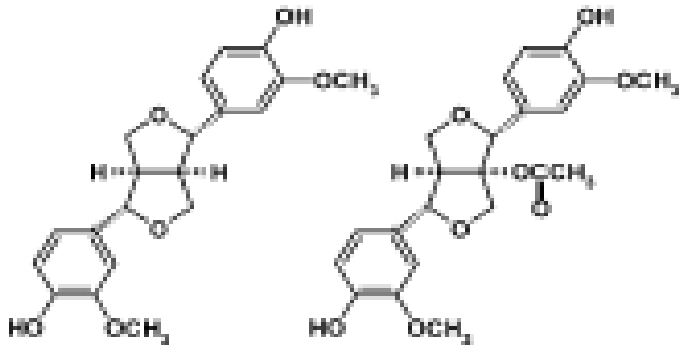


Oleuropein

Şekil 1.7. Secoiridoid: Oleuropein'in yapısı



Şekil 1.8. Flavonoidler: Apigenin, apigenin-7-glu, luteolin ve luteolin-7-O-glu



(+)-Pinoresinol ve (+)-1-Asetoxypinoresinol

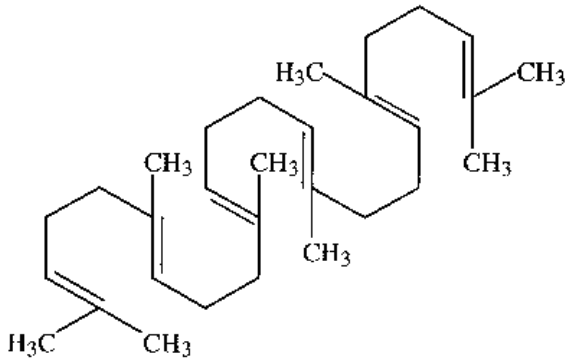
Şekil 1.9. Lignanlar ((+)-Pinoresinol ve (+)-1-Asetoxypinoresinol)

Zeytinyağında en çok bulunan fenolik bileşenler; oleuropein, hidroksitirosol ve tirosol'dür. Fenolik bileşenler güçlü antioksidan ve radikal deaktivatörleridir. Hidroksitirosol, oleuropein ve tirosol'den daha yüksek antioksidan ve radikal deaktive edici özelliğe sahiptir (Tuck ve Hayball, 2002).

1.4.2.2. Skualen (Squalene)

Skualen (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,20-tetracosahexane) terpenoid bir hidrokarbondur. Kolesterolün öncü maddesi olmasından dolayı biyolojik öneme sahiptir. Önemli skualen kaynağı köpek balığı yağıdır. Minör

içerikte zeytinyağında da bulunabilir. Zeytinyağının sabunlaşamayan kısmının % 60-75'ni oluşturur. İnsan derisini lipid peroksitlenmesine karşı koruyucu ve oksijen radikali tutucu özelliği vardır. Bunun yanı sıra hayvanlarda diyetle ek olarak alındığında kolesterol ve trigliserid seviyesini düşürdüğü ileri sürülmektedir (Kelly, 1999). İnsanlarda kolesterol düşürücü ilaçların etkisini artırıcı yararlı bir katkı olarak kullanılabilmektedir. (Smith ve ark., 1998).



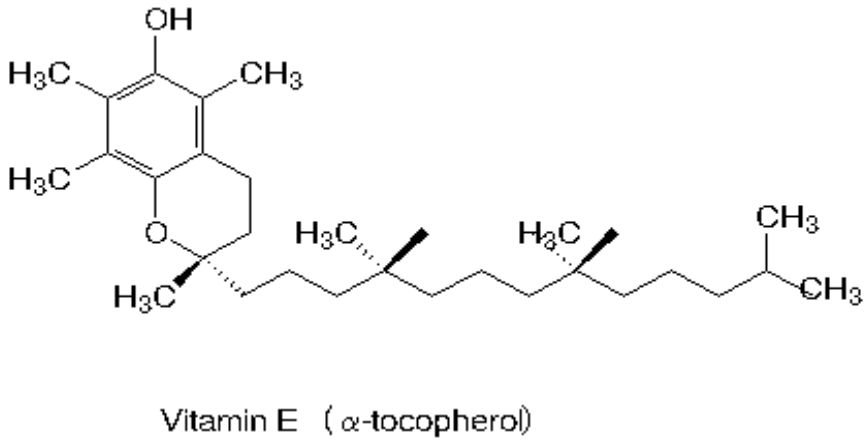
Şekil 1.10. Skualen'in (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,20-tetracosahexane) yapısı

Skualen'in çeşitli kaynaklardan eldesi ve saflaştırması işlemleri kozmetik ve farmokolojide yeni teknolojilerin gelişmesine sebep olmuştur. Moleküler destilleme, yüksek-hız ters akım kromatografi ve ters akım süperkritik akışkan ekstraksiyonu (CC-SFE) gibi çeşitli metotlar Skualen'in saflaştırılmasında kullanılan başlıca yöntemlerdendir. Köpek balığı yağından CC-SFE yöntemi ile Skualen'in izole edildiği bilinmektedir. Köpek balığı yağının temel bileşenleri; triaçilgliserol, alkoksigliserol, skualen, sterol esterleri ve pristan'dır. Skualen ve diğer bileşenler süperkritik karbondioksit içerisindeki farklı çözünürlük ve uçuculuk farklarından yararlanılarak, uygun ekstraksiyon koşullarında izole edilmiştir (Bondioli ve ark., 1993).

1.4.2.3. Tokoferol (E Vitamini)

Tokoferol; alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört homolog yapıya sahiptir. Genel olarak yağlarda beta, gama ve delta yapıları çok az bulunur. Zeytinyağının 100 gramında yaklaşık 1,2-43 mg arasında değişen, en yüksek E

vitamini aktivitesi gösteren α-tokoferol bulunmaktadır (Kiritsakis ve Markasis, 1987; Gutierrez ve ark, 1999; Psomiadou ve ark, 2000). Yapılan bir araştırmada 100 g yağda ortalama 12-25 mg arasında tokoferol bulunduğu gösterilirken (Psomidou ve ark, 2000), bir başka çalışmada 100 g yağda 24-43 mg gibi daha yüksek miktarda tokoferole rastlanmıştır (Gutierrez ve ark, 1999). Yağdaki α-tokoferol miktarı kültür çeşidi, meyvanın olgunluğu, saklama koşulları ve depolama süresine bağlıdır (Kiritsakis ve Markasis, 1987; Psomiadou ve ark, 2000). 1980'lerden beri, vitamin E alımıyla kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için birçok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda E vitaminince zengin gıdalar yerine yüksek dozda E vitamini desteği kullanılmıştır. Yüksek dozda E vitamini desteğinin (>67 mg α-tokoferol/gün) en az iki yıl içinde kroner kalp hastalığı riskini önemli ölçüde (risk azalması % 31-65) azalttığı gözlemlenilmiştir. Diğer taraftan kısa süreli düşük dozda (<67mg/gün) vitamin kullanımı kroner kalp hastalığı riskinde önemli bir etki yapmamıştır (Stampfer ve Rimm, 1995).



Şekil 1.11. α-tokoferol'ün yapısı

1.4.2.4. Steroller

Zeytinyağı içerisindeki steroller aşağıdaki gibi sıralanabilir: genel steroller (4-desmethylsterols), 4-α-methylsteroller, 4,4-dimethylsteroller ve triterpen dialkoller (erythrodiol ve uvaol). Phytosteroller metabolizma için gerekli bileşenlerdir. Kolesterolden 20 kat daha düşük absorbsiyon seviyesine sahiptirler. Phytosteroller'in

sindirim sırasında kolesterolün emilimine engel olduğu gözlemlenmiştir (Tsimidou ve ark, 2003).

1.4.2.5. Klorofiller

Klorofiller yağın yeşil-sarı renginin kaynağıdır. Zeytinyağına ana rengini veren α ve β Pheopephytin'lerdir. Eser miktarlarda klorofil α ve klorofil β taze yağlarda bulunur. Rafine edilmemiş zeytinyağlarındaki klorofil 30mg/kg'dan fazladır. Zeytinyağındaki klorofil ve karotenoid miktarı genetik faktörlere, meyva gelişimine ve ekstraksiyon metoduna bağlıdır. Bu maddelerin miktarı meyva gelişimi ile birlikte azalır. Işık yokluğunda klorofiller muhtemelen zayıf antioksidan olarak etkirler. Işık varlığında güçlü antioksidan oldukları kabul edilmektedir (Tsimidou ve ark, 2003).

1.4.2.6. Aroma Bileşenleri

Yetmişten fazla bileşiğin, zeytinyağının kendisine has tat ve lezzetin oluşmasına katkıda bulunduğu düşünülür. Bunlar arasında doymamış yağ asitlerinin yükseltgenerek bozulmalarından oluşan aldehitler gibi ürünler, örneğin hekzanal, nonanal, 1-hekzonal, yada 2,4-dekadienal bulunur. Ayrıca alifatik ve aromatik hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, eterler, furan ve tioterpen türevleri yağa farklı bir koku ve lezzet katar (Kiritsakis ve Markakis, 1987).

1.5 . Süperkritik Akışkanların Özellikleri

Bir madde için kritik sıcaklık, basınç ne olursa olsun, o sıcaklığın yukarısında maddenin sıvı bir faz olarak bulunamayacağı sıcaklıktır. Maddenin, kritik sıcaklığındaki buhar basıncına da kritik basınç denir, süperkritik akışkan, hem sıcaklığı hem de basıncı kritik noktanın üzerinde olan maddeler için kullanılan bir terimdir. Süperkritik akışkanların yoğunlukları, viskoziteleri ve diğer özellikleri, maddenin gaz ve sıvı hallerindeki özellikleri arasında yer alır. Çizelge 1.3'de süperkritik koşullardaki bazı akışkanların birtakım özellikleri, maddenin sıvı ve gaz hallerindeki özellikleri ile karşılaştırılmaktadır. Çizelge 1.3'te gösterilen üç özellik, gaz, sıvı ve

süperkritik akışkan kromatografilerinde ve ekstraksiyonlarında önemli olan özelliklerdir.

Çizelge 1.4'de ise, süperkritik akışkan kromatografide kullanılan yaklaşık iki düzine bileşikten dördünün özellikleri listelenmiştir. Bu maddelerin kritik sıcaklıklarının ve kritik basınçlarının yaygın HPLC uygulamalarındaki normal çalışma aralıklarına düştüğü dikkat çekmektedir.

Süperkritik akışkanların yüksek yoğunluklarından (0,2-0,5 g/cm^3) kaynaklanan önemli özelliklerinden biri, uçucu olmayan büyük molekülleri çözme yeteneklerinin oldukça iyi olmasıdır. Örneğin, süperkritik koşullardaki karbondioksit 5-30 karbonlu n-alkanları, 4-16 karbonlu alkil gruplan taşıyan di-n-alkil ftalatları ve çok halkadan oluşmuş polisiklik aromatik hidrokarbonları kolayca çözer. Pek çok endüstriyel sürecin de organik maddelerin süperkritik karbon dioksitteki yüksek çözünürlüğüne dayandığı bilinmektedir. Örneğin, kahveden kafein ekstrakte ederek kafeinsiz kahve elde ederken bu çözücü kullanılır. Düşük nikotinli sigara üretmek için, tütündeki nikotin de aynı şekilde ekstrakte edilir. Şerbetçi otu gibi çeşitli bitkisel kökenli doğal bileşiklerin ekstraksiyonuna kadar çok çeşitli uygulamaları içermektedir.

Süperkritik akışkanların ikinci bir önemli özelliği, bu akışkanlarda çözülmüş analitlerin, çözeltiler nispeten düşük sıcaklıkta atmosferle dengeye getirilerek kolayca geri kazanılabilmesidir. Örneğin, süperkritik karbondioksitte çözünmüş bir analit, çözeltinin üstündeki basınç düşürülüp çözücü normal laboratuar şartlarında uçurularak geri kazanılabilir. Analitlerin termal bakımdan kararsız olmaları halinde bu özellik özel önem kazanır. Pek çok süperkritik akışkanın bir başka üstünlüğü de ucuz ve zararsız olmaları, zehir etkisi göstermemeleridir. Bu akışkanlar, çevreye hiçbir zarar vermedikleri için rahatlıkla atmosfere verilebilirler. Ekstraksiyon için süperkritik karbondioksit özellikle çekicidir. Sonuç olarak, süperkritik akışkanların viskozitelerinin sıvı viskozitelerinden 10 kat düşük, çözünen moleküllerin bu ortamlardaki difüzlenme hızlarının da sıvılardakinden 10 kat büyük olmasıdır.

Çizelge 1.3. Süperkritik akışkanların özelliklerinin, sıvıların ve gazların özellikleri ile karşılaştırılması (veriler yaklaşık değerlerdir) (Lee ve Markides,1987)

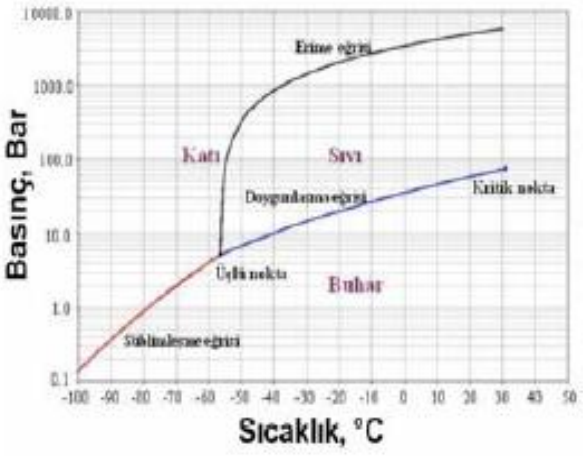
	Gaz (STP)	Süperkritik Akışkan	Sıvı
Yoğunluk (g/cm^3	(0,6-2) X 10^{-3}	0,2-0,5	0,6-2
Difüzyon katsayısı (cm^2/s)	(1-4) X 10^{-1}	10^{-3}-10^{-4}	(0,2-2) X 10^{-5}
Viskozite (g cm^{-1} s^{-1})	(1-3) X 10^{-4}	(1-3) X 10^{-4}	(0,2-3) X 10^{-5}

Çizelge 1.4. Bazı süperkritik akışkanların özellikleri (Lee ve Markides,1987)

Akışkan	Kritik Sıcaklık, ^{o}C	Kritik Basınç, atm	Kritik noktada Yoğunluk, g/ml	400 atm'de Yoğunluk, g/ml
CO_2	31,3	72,9	0,47	0,96
N_2O	36,5	71,7	0,45	0,94
NH_3	132,5	112,5	0,24	0,40
n-Butan	152,0	37,5	0,23	0,50



(a)



(b)

Şekil 1.12. (a) Saf bir maddenin faz diyagramı (b) Saf CO_2 faz diyagramı (http://www.chemicalogic.com/download/co2_phase_diagram)

1.5.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Karmaşık yapılı maddeler analiz edilirken, analitin veya analitlerin çoğu zaman bir ekstraksiyon işlemiyle numune matriksinden ayrılması gerekir. Bir analitik ayırma yönteminin idealde hızlı, basit ve ucuz olması istenmektedir. Analitleri kayıp veya bozunma problemi olmaksızın kantitatif olarak kazanmaya elverişli olması ve sonuçta ele geçen çözeltinin, deriştirmeye gerek kalmadan, nihai ölçmede kullanılabilecek kadar derişik olması istenir. Ayrıca ayırma işlemi sonucunda bertaraf edilmesi gereken atık maddeler ne kadar az olursa o kadar iyidir.

Çevreden toplanmış numuneler, ilaçlar, gıdalar ve petrol ürünleri gibi karmaşık yapılı karışımlarda, ayırma işlemi için yıllardır kullanıla gelen çözücüler hidrokarbon tipi veya klorlanmış organik sıvılardır ve soxhlet cihazında ekstraksiyon, genelde uygulanan işlemdir. Ne yazık ki sıvı ekstraksiyonları yukarıda anlatılan ideal ölçütlerin bir çoğuna uymaz. Örneğin, analitlerin tam olarak kazanımı saatler alabilir veya hiç mümkün olmayabilir; çözücüler pahalıdır; ekstraktlar çok seyreltik olabilir ve ölçümden önce bir deriştirme gerekebilir. Ayrıca, deriştirme sırasında analitin bozunması veya kaybı söz konusu olabileceği gibi, havanın kirletilmesi problemi de söz konusu olmaktadır.

1980'lerin ortalarından itibaren kimyacılar, endüstride ve kontrol amaçlı

resmi laboratuarlarda, karmaşık yapılı numunelerden analitleri ayırmak için süperkritik akışkanları kullanmaya başladılar. Çünkü bu akışkanlar, sıvıların kullanımında karşılaşılan problemlerin birçoğunu ortadan kaldırmaktadır.

1.5.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunun Üstünlükleri

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) tekniğinin bazı üstünlükleri aşağıda özetlenmiştir:

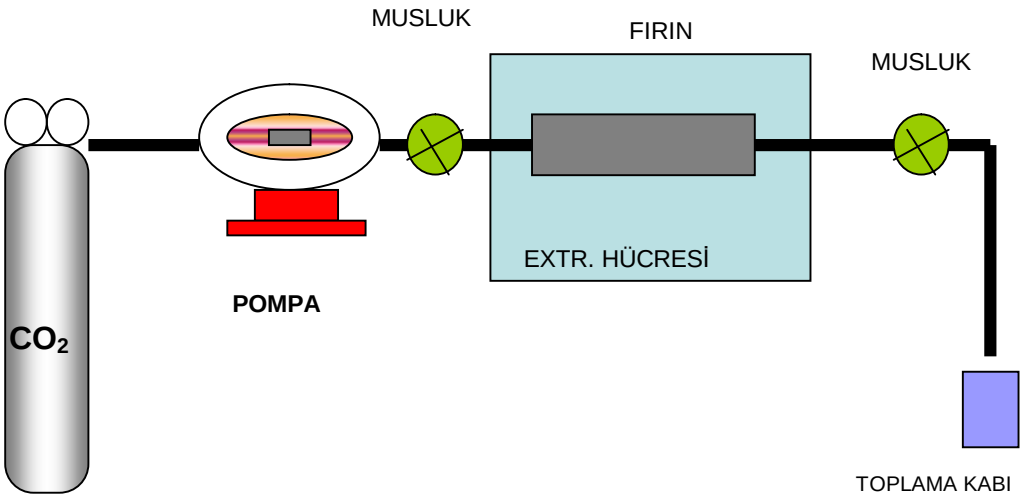
- SFE genelikle hızlı bir tekniktir. Bir numune matriksi ile ekstraksiyon akışkanı arasındaki kütle aktarım hızı, ekstrakte edilecek türün akışkandaki difüzyon katsayısına ve akışkanın viskozitesine bağlıdır (difüzyon hızı ne kadar büyük ve viskozite ne kadar küçükse, kütle aktarımı o kadar hızlı olur). Önceden de belirtildiği gibi, süperkritik akışkanlar her iki bakımdan da sıvılara üstündür. Sonuç olarak, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon genelde 10-60 dakikada tamamlanırken, sıvılarla gerçekleştirilen bir ekstraksiyon saatler, hatta günler alabilir.
- Bir süperkritik akışkanın çözücülük gücü basıncı ve daha az önemli olmakla birlikte, sıcaklığı değiştirerek geliştirilebilir. Aksine, sıvıların çözücülük güçleri basınçla artar ve sıcaklıktan fazla etkilenmez. Bu sebeple, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yapılırken, basınç ve sıcaklık, analit için en uygun değerlere ayarlanabilir.
- Pek çok süperkritik akışkan, oda koşullarında gazdır. Çözeltilerdeki analitlerin geri kazanılması, sıvı çözeltilere göre basittir. Çünkü sıvıları ısıtarak buharlaştırmak gerekir ve bu da bir yandan sıcaklığa duyarlı maddelerin bozunmasına, bir yandan da uçucu analitlerin kaybına yol açar. Halbuki süperkritik bir akışkanı, sadece basıncı kaldırarak analitten ayırmak mümkündür. Alternatif olarak, süperkritik akışkandaki analit çözeltisini, içine analiti iyi çözen bir sıvı çözücü konmuş küçük bir kaptan kabarcıklar halinde geçirmek ve böylece analitin derişik bir çözeltisini hazırlamak mümkündür.
- Bazı süperkritik akışkanlar ucuz, inert ve sağlığa ve çevreye zararsızdır.

Bu akışkanlar, ekstraksiyondan sonra kolayca bertaraf edilebilir. Bunu için, akışkanı atmosfere bırakmak yeterlidir.

1.5.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Düzeneği

Bir SFE düzeneği nispeten basittir. Düzenek bir akışkan kaynaktan (yaygın olarak bir karbon dioksit tüpü), basıncı 400 atm'den 15 atm'ye kadar ayarlayabilen ve basınçlı akışkanı en az 2ml/dk'ya kadar hızla akıtabilen bir pompadan, kritik akışkanın akış hızın kontrol eden musluktan, süperkritik çözeltinin basıncını düşürerek ekstrakte edilen örneğin bir toplama kabına gitmesini sağlayan uygun bir çıkış musluğundan oluşmaktadır. Düzeneklerin en basit tiplerinde, basınç ayar çıkışı, 10-50 cm'lik bir kılcal boru parçasıdır. Gelişmiş modern ticari cihazlarda, akış ayar çıkışları değiştirilebilir ve elle veya otomatik olarak ayarlanabilir şekilde dizayn edilmektedir.

Bir SFE cihazı, dinamik ve statik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı şekilde çalışmaktadır. Dinamik ekstraksiyon modunda, ekstraksiyon hücresi ile çıkış arasındaki musluk hep açıktır. Statik ekstrasiyon modunda ise, ekstraksiyon hücresi ile çıkışı arasındaki musluk kapalıdır ve ekstraksiyon hücresi, statik şartlarda istenen basınca getirilir. Uygun bir süre beklendikten sonra, bu musluk açılır ve ekstraksiyon hücresindeki süperkritik çözelti toplama kabına gider. Dinamik ekstraksiyon statik ekstraksiyondan daha yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.13. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon (SFE) şeması

1.5.4. Süperkritik Akışkan Seçimi

Ekstraksiyon ortamı olarak iki düzineyi aşkın süperkritik akışkan seçeneği vardır. Fakat SFC tekniğinde olduğu gibi, bugüne kadar en yaygın kullanılan madde karbondioksit veya düşük oranda organik bir madde ile çözme gücü geliştirilmiş karbondioksittir. En iyi akışkanın seçimi birçok faktöre bağlıdır. Bunlar arasında analitlerin ve matriksin polaritesi ve çözünürlüğü, analitlerin derişimi, numunedeki nem oranı ve kinetik parametreler gösterilebilir. Süperkritik ekstraksiyonun teorisi şimdilik tam olarak bilinmemektedir ve çoğu zaman en uygun şartların ampirik yoldan belirlenmesi gerekmektedir. Pek çok çalışmada akışkan olarak karbondioksit tercih edilmiştir. CO_2, apolar maddeler için çok iyi bir çözücüdür. Alkanlar ve terpenler bunların başlıcalarıdır. Polarlığı orta düzeyde olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, poliklorlanmış bifeniller, aldehitler, esterler, alkoller, organik kloropestisitler ve yağlar için de çözücülük gücü orta düzeyde olan CO_2 kullanılmıştır. Fakat CO_2, metanol gibi polar bir madde katılarak çözücülük gücü modifiye edilmedikçe çok polar analitler için iyi bir çözücü değildir. Modifiye çözücüler ya ikinci bir pompa ile sisteme beslenir, ya da ekstraksiyondan önce numuneye enjekte edilir.

Süperkritik akışkan karbondioksitin çözücülük gücünü modifiye etmek için

kullanılan birçok madde arasında düşük mol kütleli alkoller, propilen karbonat, 2-metoksi etanol, metilen klorür ve bazı organik asitler sayılabilir. En çok kullanılanı, yüzde birkaç oranında metanoldür. Toprak numunelerinden çeşitli maddeler ekstrakte edilirken az miktarda metanolün ekstraksiyona pozitif katkı sağladığı görülmüştür (Skoog, West ve Holler, 1996).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Maheshwari ve ark (1992), yaptıkları çalışmada süperkritik karbondioksit içindeki laurik, linoleik, miristik, oleik, palmitik ve stearik asitin farklı sıcaklık ve basınçlardaki çözünürlük değerlerini ölçmüşlerdir. Ölçümler 308-333 K sıcaklık aralığında yapılmıştır. Sıcaklık arttıkça yağ asitlerinin çözünürlüğünün daha iyi olduğu ve sabit sıcaklıkta artan basınçla çözünürlüğün arttığı gözlenmiştir. Çözünürlük verilerini Chrastil' in eşitliğini ($\ln y = (k-1)*\ln \rho + (a/T+b)$) kullanarak elde etmişlerdir. Buna bağlı olarak k, a ve b sabitlerini hesaplamışlar ve bunların çözünürlük üzerine etkisini incelemişlerdir. Sıcaklığın yağ asitlerinin çözünürlüğü üzerine etkisi a parametresine bağlı olduğunu ve bununda yağ asitlerinin kaynama noktaları ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Montedoro ve ark (1992), yaptıkları çalışmada sızma zeytinyağından biyofenol analizi için farklı solvent oranlarının ekstraksiyon verimine etkisini incelemişlerdir. Ekstraksiyonda saf metanol, metanol-su (%80-%20) ve metanol-su (%60-%40) çözücüleri kullanılmıştır. Biyofenol analizi bu çözücülerle doğrudan sızma zeytinyağından veya yağın aşağıda verilen belirli oranlardaki çözeltilerinden ekstrakte edilmişlerdir. Bu karışımlar; yağ/hekzan(1:1 a/h), yağ/petrol eteri (1:1 a/h), yağ/kloroform (10:1 a/h), yağ/[hekzan/petrol eteri (9:1 h/h)] (1:1 a/h) ve yağ/[hekzan/petrol eteri/kloroform (9:1:5 h/h)] (1:1 a/h)'dur. En iyi biyofenol kazanımı metanol-su (%80-%20) karışımı ile sağlanmıştır. Yağın hekzan, petrol eteri ve kloroform gibi çözücülerde çözülerek ekstrakte edilmesinin biyofenol miktarında bir artışa sebep olmadığını gözlemlemişlerdir.

Majewski ve ark (1994), çalışmalarında tereyağını süperkritik karbondioksit ile ekstrakte edip fraksiyonlamışlardır. 100, 150 ve 200 bar basınç ve 50-60 ^{0}C sıcaklık aralığında çalışmışlardır. Kısa zincirli ve polaritesi düşük yağ asitlerinin süperkritik karbondioksitteki çözünürlüğünün uzun zincirli ve polar karakterli yağ asitlerinden daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Floch ve ark (1997), yaptıkları çalışmada zeytin yaprağındaki fenolik maddelerin izolasyonu için oldukça seçici olan süperkritik ekstraksiyon metodunu kullanmışlardır. Toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak

belirlenmiş. Kurutulmuş, ezilmiş ve elenmiş 30 g zeytin yaprağına SCE uygulanmış. Süperkritik akışkan olarak karbondioksit ve co-solvent olarak metanol kullanılmıştır. 334 barda, 100 ^{0}C de 2ml/dk akış hızında 140 dk süre ile çalışılmış. Modifierin içeriği, basınç, sıcaklık, akış hızı ve ekstraksiyon süresinin ekstraksiyona etkisi çalışılmış. Süperkritik akışkan ekstraktındaki karboksilik asitler ve fenolik maddeler Elektrospray-MS (negatif iyon modunda) ile belirlenmiş. SFE ile hekzan, dietileter ve etilasetat gbi sıvı solventlerle ses dalgaları yardımıyla ekstraksiyondan daha fazla fenolik madde geri kazanılmıştır. Dietileter, hekzan, etilaset ve metanol ekstraksiyonu ile elde edilen toplam biyofenol miktarı sırasıyla 1,1; 0,18; 1,6 ve 16,8 mg/g olarak belirlenmiştir. SCE yönteminde karbondioksite %10 metanol katılarak yapılan ekstraksiyonda toplam fenol miktarı 7,6 mg/g olarak gözlenmiştir. Sadece metanol kullanılarak yapılan ekstraksiyonda ekstraksiyon ürünün, SCE ürününden daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda metanol gibi polar bir solventin co-solvent olarak kullanılmadığı sürece biyofenolik maddelerin tamamen alınamayacağı gözlemlenmiştir.

Endalkachew Sahle-Demessie (1997), yaptığı çalışmada süperkritik karbondioksit kullanarak örnek karışımındaki monoaçilgliseridler (MAGs), diaçilgliseridler (DAGs) ve triaçilgliseridlerin (TAGs) fraksiyonlanması üzerine sıcaklık ve basıncın etkisini incelemiştir. Basınç 20,7 MPa'dan 34,5 Mpa'a yükseltildiği zaman MAG'ların ayırma faktörü düşmüştür. 20,7 MPa'da kolon boyunca sıcaklık gradientinin kullanımı iç soğutmayı gerektirmiş ve ayırma faktörü 3,6'dan 8,7'ye yükselmiştir. Bu şartlar altında daha seçici bir ayırma sağlanmıştır.

Manninen ve ark (1997) çalışmalarında doymuş yağ oranı düşük, tokoferol ve karotenoid içeriği yüksek yağlı tohumu olan Rubus chamaemorus bitkisini süperkritik karbondioksit ile ekstrakte etmişler ve ekstraksiyon sonuçlarını dietil eter ile yapılan soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırmışlardır. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda 1350-4350 psi basınç ve 40-60 ^{0}C sıcaklık aralığında çalışmışlardır. Yağ asidi analizleri GC-FID ile, karotenoid ve tokoferol analizi HPLC ile yapılmıştır. Yağ asidi içeriği açısından her iki yöntem karşılaştırdıklarında önemli bir değişme gözlememişlerdir. Karotenoid miktarının 2100 psi basıncın üzerinde değişmediğini ve tokoferol miktarının artan basınç ile azaldığını gözlemlemişlerdir.

Cheung ve ark (1998), yaptıkları çalışmada süperkritik karbondioksit ile deniz yosunundan omega-3 yağ asidini ekstrakte etmişler ve sonuçlarını soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırmışlardır. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda 50 ^{0}C sıcaklık ve 5500 psi basınçta çalışmışlardır. Süperkritik karbondioksit ile yapılan ekstraksiyonda çoklu doymamış yağ asitlerinin önemli bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir.

Ryan ve ark (1999), yaptıkları çalışmada freeze-dryer da kurutulmuş zeytin örneğini katı-faz ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte etmişler. Ekstrakt bileşenleri UV ve fluoresans dedektörleri kullanılarak ters-faz sıvı kromatografisi ile ve elektrosprey iyonlaşma kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda oleuropeinin zeytin meyvesinin ana fenolik bileşeni olduğu desteklenmiştir. Bunun yanı sıra tirosol, siyrincik, ferulik ve homovanilik asit, quercetin-3'-rhamnoside, ligstroside ve verboscoside izomerleride saptamışlardır.

Ryan ve ark (1999), çalışmalarında iki farklı zeytin örneğinin (Manzanillo ve Cucco) fenolik madde içeriğini kalitatif ve kantitatif olarak belirlemişler. Fenolik madde analizleri HPLC yöntemi ile UV, fluoresans ve MS dedektörleri kullanılarak yapılmıştır. Oleuropeinin zeytindeki temel bileşen olduğunu ve konsantrasyonunun meyva gelişimi sırasında önemli bir şekilde değiştiğini gözlemişler. Tirosol, ligstroside ve verbascoside değişimide incelenmiş fakat oleuropeine göre daha az olduğu saptanmış. Zeytin yeşil, benekli, mor ve siyah iken analiz edilmiş. Meyva gelişimi sırasında oleuropein içeriğinde azalma saptanmıştır. Toplam fenol miktarı Shahidi ve Naczk (1995) metoduna göre Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak 765 nm de absorbans okunarak belirlenmiştir.

Coni ve ark (2000), yaptıkları çalışmada sızma zeytinyağı ile zengin diyetle beslenmiş tavşanların plazmalarını incelemişlerdir. Tavşanlar üç farklı diyetle beslenmiş. Birinci tür diyet (A) standart diyet, ikici tür (B) %10 sızma zeytinyağı eklenmiş diyet ve üçüncü tür (C) 7 mg/kg oleuropein içeren diyettir. 6 hafta sonunda kan örneklerinde biyofenol, vitamin E ve C, ürik asit ve toplam, serbest ve ester kolesterolün kantitatif tayini yapılmış. Sızma zeytinyağı eklenmiş diyetle beslenmiş tavşan plazmasında toplam biyofenol içeriğinin baskın olduğu gözlemlenmiştir. Oleuropein eklenmiş diyetle beslenen tavşanlarda toplam biyofenol içeriği daha da

arttığını saptamışlardır. E vitamini miktarı diyet C ve B'de sırasıyla %76 ve %83 olarak belirlenmiştir. Diyet B ve C plazmada vitamin C ve ürik asit miktarında azalmasına sebep olduğunu gözlemlemişlerdir. Diyet C toplam kolesterol miktarında B'ye göre %15 daha fazla bir azalmaya sebep olmuştur. Yapılan bu araştırma sonucunda oleuropein ve diğer zeytinyağı fenolik bileşenlerinin antioksidan kapasitelerinin geçerliliği kabul edilmiştir.

Catchpole ve Proells (2001), çalışmalarında skualen, oleik asit, soya yağı ve köpek balığı yağının subkritik R134a (1,1,1,2-tetrafluoroethane) içindeki çözünürlükleri ölçmüşlerdir. Ölçümler ters akım dolgu kolon ile 303-353 K, 60 bar'da ve 343 K, 40-200 bar basınç aralığında yapılmıştır. Çözünürlüğün sabit basınçta artan sıcaklıkla doğru orantılı ve sabit sıcaklıkta artan basınç ile logaritmik olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Çalışmalar sonucunda R134a'nın düşük basınçlarda karbondioksite alternatif olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çözünürlüğün azalan polarite ve molekül ağırlığı ile arttığını yani düşük molekül ağırlıklı bileşenlerin subkritik fazda daha fazla, yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerin ise yağ fazında daha fazla bulunduğunu saptamışlardır.

Margari ve Okogeri (2001), yaptıkları çalışmada sızma zeytinyağında fenolleri ve tocopherolü HPLC yöntemi ile analiz etmişlerdir. Fenolik maddelerin analizi Gutfinger (1981) metoduna göre yapılmıştır. Ekstraksiyon metanol ve metanol-izopropanol karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayırma ters-faz C_{18} kolonda, asetik asit/ su-metanol-ACN-izopropanol karışımı ile gradient elüsyon ile sağlanmış ve UV (280 nm) dedektörü kullanılmıştır. Bu metodla fenolikler çoğunlukla eksrakte edildiğini ve α-tokoferol için geri kazanım % 80 olduğunu gözlemlemişlerdir.

Mulinacci ve ark (2001), yaptıkları çalışmada zeytinyağı ekstraksiyonu sonrasındaki atık sularda polifenol analizi yapmışlardır. Bu maddelerin tanımlanmasında ve miktarlarının saptanmasında HPLC-DAD ve HPLC-MS metodları kullanılmıştır. Değişik ticari zeytinyağı atık sularıyla çalışılmış ve bunlardan biri olan İtalyan zeytinyağı atık sularının polifenolik maddece zengin olduğunu saptanmışlardır. Başlıca rastlanan maddeler verbascoside, flavonoidler ve deasetoksi oleuropein aglykon'dur ve toplam fenol miktarı 150 ile 400mg/100ml

arasında değiştiğini gözlemişlerdir.

Lucas ve ark (2001), yaptıkları çalışmada süperkritik karbondioksit ile zeytin yaprağından tokoferol ekstrakte etmişlerdir. 25-45 Mpa basınç aralığında 0.5-1.5 SL/min akış hızında ve 313-333 K sıcaklık aralığında çalışarak iki uygun ekstraksiyon koşulu belirlemişlerdir. Bu koşullarda tokoferol konsantrasyonu % 75.4 ve % 97.1 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar hekzan ile yapılan soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırılmıştır. Tokoferol analizi HPLC de UV(293nm) dedektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda sabit sıcaklıkta artan basınçla tokoferol'ün çözünürlüğünün arttığı gözlenmiştir. Hekzan ile yapılan soxhlet ekstraksiyonunda tokoferol içeriğine rastlanmadığını gözlemlemişlerdir.

Gutierrez ve Fernandez (2002), yaptıkları çalışmada depolama süresi boyunca sıcaklık ve aydınlatmanın zeytinyağındaki asitlik, peroksit değeri, toplam fenol, α-tokoferol ve yağ asidi içeriğine etkisini incelemişlerdir. İki farklı zeytinyağı ile çalışılmış. Bu zeytinyağlarının 2^0C'de karanlıkta 6 ay süresince depolandığında asitlik değerini koruduğu gözlemlenmiştir. 30^0C'de aydınlatma ile aynı süre korunduğunda asitlik değerinde artış gözlenmiş buna serbest yağ asitlerinin hidrolize olarak sebep olabileceği ileri sürülmüştür. Toplam fenol miktarında depolama süresi arttıkça azalma saptanmıştır. Zeytinyağının 2^0C'de karanlıkta depolandığı sürece α-tokoferol içerğini koruduğu, 30^0C'de aydınlatma ile depolandığında 180 gün sonunda α-tokoferol miktarının %97,3'e düştüğü gözlemlenmiştir. Depolama koşullarının yağ asidi içeriğinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmiş, 30^0C'de aydınlatma ile depolanmış yağda linoleik ve linolenik asit değerinde çok çok az bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş önemsenmeyecek kadar azdır. 30^0C'de aydınlatma ile depolandığında peroksit değerinin depolama süresi boyunca lineer bir düşüş gösterdiği gözlemlenmiştir.

Psomiadou ve Tsimidou (2002), yaptıkları çalışmada benzer oksitlenme kararlılığı ve yağ asiti içeriğine sahip 24 ay depolanmış sızma yağlarının α-tokoferol, pigment ve skualen içeriğindeki değişim ölçülmüşlerdir. Bu ölçümler HPLC kullanılarak yapılmıştır. Toplam polar fenolik madde içeriği kalorimetrik olarak ölçülmüştür. Karotenoid ve α-tokoferol içeriğindeki azalma polar fenolik madde

içeriği ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu saptamışlardır. Karotenoid ve α-tokoferol içeriğindeki azalmaya bu maddelerin aktif olarak otooksitlenmeye katılışından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür.

Murkovic ve ark (2004), çalışmalarında zeytinyağında tirosol, vanilik asit, luteolin ve apigenin fenolik bileşenleri ile Skulen'i kalitatif ve kantitatif olarak tayin etmişlerdir. Analizler LC-MS yöntemi ile yapılmıştır. Kullandıkları zeytin örneğinde fenolik madde olarak en çok tirosol'e rastlamışlardır. Analizlerde kullanılan zeytinyağı zeytinin presleme makinasından geçirilmesi ile edilmiştir. Buradan elde edilen yağdan 100 mg alınıp 2 ml eluentte (%70 aseton-%30 ACN) çözülerek santrifüj edilmiş ve squalene analizi için HPLC ye verilmiş. Ayırma LiChrospher 100 (5µm, 250X4 mm; Merk) ve LiChroCART 4-4 (Lichrospher 100; 5µm) prekolonda ve refraktif indeks dedektörü kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. Skualen'in kalitatif analizi bilinen standardın geliş zamanı ve MS spektrumları karşılaştırılarak, kantitatif analizi ise standart ekleme metodu kullanılarak yapılmıştır.

Tabera ve ark (2004), yaptıkları çalışmada zeytin yaprağının hekzan ekstraktındaki mumlar, hidrokarbonlar, skualen'in, β-karoten, trigliseridler, α-tokoferol, β-sitosterol ve alkolleri ters akım süperkritik akışkan ekstraksiyonu (CC SFE) ile fraksiyonlamışlardır. Eksraksiyon değişik sıcaklık basınç aralığında ve modifierin (etanolün) değişik oranlarında yapılmıştır. 50.4cm'lik sıcaklık kontroloündeki üç bölümden oluşan kolon (AISI 316 paslanmaz çelik ve i.d 3cm) 3mm lik Fenske halkaları ile doldurulmuş. Bu dolgu maddesinin steroller ve tokoferollerin ters akım süperkritik akışkan ekstraksiyonunda faydalı olduğu daha önceden kanıtlanmıştır (Ibanez ve ark, 2002). Zeytin yaprağındaki bileşenlerin çoğu için aynı kullarda (75 bar, 35^0C ve % 10 etanol) iyi sonuçlar elde edilmiş. En yüksek ekstraksiyon ürünü ise 200 barda sağlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Zeytin ve Zeytinyağı Örneklerinin Seçimi

Bu çalışmada Türkiye'nin önemli zeytin üretimi yapan bölgelerinden yağlık zeytinler kullanılmıştır. Değişik coğrafi bölgelerde yetiştirilen zeytinlerin ve bu zeytinlerin konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş zeytinyağlarının özellikle antioksidant içeriklerinin farklarını belirlemek için zeytin örnekleri ve zeytinyağları Balıkesir-Edremit, Balıkesir-Burhaniye, Mersin-Tarsus, Bursa-İznik, İzmir-Bornova, Mersin-Mut, Hatay-Altınözü ve Gaziantep-Nizip'ten temin edilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan zeytinler azot atmosferi altında buzdolabı poşetleri içerisinde yaklaşık 500'er gramlık paketler halinde derin dondurucuda -20 °C sıcaklıkta kullanılacakları zamana kadar muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sıvı karbondioksit: Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonlarında öğütülmüş zeytin örneklerinden zeytinyağını ekstrakte etmek için çözücü olarak kullanılmıştır.

Sıvı azot (AdvanSA A.Ş.): Zeytin örneklerinin kurutulması işleminde freeze dryer'a konmadan önce zeytinlerin dondurulması işleminde kullanılmıştır.

Benzen (Merck): Zeytinyağı örneklerinin metillenmesi işleminde kullanılmıştır.

Sülfürik asit (Merck): Zeytinyağlarının metillenmesi işleminde kullanılmıştır.

Asetonitril (Merck): Zeytinden biyofenol ekstraksiyon işleminde kullanılmıştır.

Asetik asit (Merck): Biyofenollerin HPLC analizlerinde hareketli faz bileşiminde kullanılmıştır.

Petrol eteri (Merck): Metilleme işlemi sonunda metilenmiş yağı sulu fazdan ayırma işleminde kullanılmıştır.

Hekzan (Merck): Biyofenol ekstraksiyonunda lipidli bileşenleri uzaklaştırmak için çözücü olarak kullanılmıştır.

Diklorometan (Merck): Metilenmiş yağ örneklerinin GC'de analiz için yağ asitlerinin ve standartların hazırlanmasında çözücü olarak kullanılmıştır.

Sodyum sülfat (Merck): GC analizi öncesinde örneklerdeki suyun giderilmesinde kullanılmıştır.

Metil alkol (Merck): Zeytinden biyofenollerin ekstraksiyonunda, metilleme işleminde ve biyofenollerin HPLC analizlerinde hareketli faz bileşeni olarak kullanılmıştır.

Yağ asidi standartları (AccuStandard): Kaproik, kaprik, undekanoik, laurik, tridekanoik, myristik, pentadekanoik, palmitik, heptadekanoik, stearik, oleik, nonadekanoik, linoleik, araşidik, linolenik, heneikosanoik, beheneik, tricosanoik, lignoserik ve eikasopentanoik asit metil esterleri GC analizlerinde yağ asidi standartları olarak kullanılmıştır.

Biyofenol standartları (Sigma): Gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, katecol, siyrincik asit, protokatehuik asit, vanilik asit, kaffeik asit, p-koumarik asit, ferulik asit, o-koumarik asit, oleuropein, hidroksitirosol ve homovanilik asit HPLC'de biyofenol standardı olarak kullanılmıştır.

Sodyum hidroksit (Merck): Serbest yağ asidi değerinin tayin edilmesinde, potasyumhidrojen ftalat (Merck) ise sodyumhidroksit çözeltisinin ayarlanmasında kullanılmıştır.

İyotmonoklorür (Merck), **sodyum tiyosülfat** (Merck), **potasyumdikromat** (Merck), **siklohekzan** (Merck) kimyasalları ise iyot değerinin tayin edilmesinde kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Düzenekler

Süperkritik akışkan ekstraksiyon (SFE) düzeneği: Farklı zeytin örneklerinden süperkritik koşullarda zeytinyağı ekstraksiyonları yapılmıştır. Ekstraksiyonlarda 500 mL hacimli Parr 4575 model HP/HT yüksek basınç reaktörü kullanılmıştır (Şekil 3.1).

Gaz Kromatografi Cihazı (Shimadzu GC-14A) (FID Dedektör**)**: Zeytin örneklerinden süperkritik karbondioksit koşullarında ve konvansiyonel yöntem ile elde edilen yağların yağ asidi içeriklerinin kalitatif ve kantitatif olarak saptanmasında kullanılmıştır. Bu amaçla SP^{TM}-2380 kapiler kolon (60mx0,25mmx0,2µm film kalınlığı) kullanılmıştır.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu 10 VP serisi**)**: Zeytin örneklerinden süperkritik karbondioksit koşullarında ve konvansiyonel yöntem ile elde edilen yağlardaki biyofenollerin kalitatif ve kantitatif olarak saptanmasında kullanılmıştır. Bu analizler için C_{18} ters-faz kolon (ACE-Advanced Chromatography Tecnologies, iç çap: 25cm x 4,6mm, partikül boyutu: 5µm, gözenek boyutu: 100Å) kullanılmıştır.

ISCO 260D Model Yüksek Basınç Pompası: Karbondioksitin reaktöre basılmasında kullanılmıştır.

Freeze Dryer (Labconco**)**: Zeytin örneklerinin kurutulmasında kullanılmıştır.

Dönerli vakum buharlaştırıcı: Deriştirme ve çözücü uzaklaştırma işlemlerinde kullanılmıştır.

Ultra turrax karştırıcı (Ultra Turrax IKA T18): Biyofenol ve yağ ekstraksiyonlarının etkin bir şekilde gerçekleştirilmesi için karıştırıcı olarak kullanılmıştır.

3.2. Metod

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu batch tipi, karıştırıcılı, paslanmaz çelikten yapılmış yüksek basınç reaktöründe gerçekleştirilmiştir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile elde edilen zeytinyağının fenolik madde içerikleri ve trigliseridlerin yağ asidi içerikleri belirlenerek, aynı zeytinlerin konvansiyonel teknolojiler ile elde edilen zeytinyağlarının fenolik ve yağ asidi içerikleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca her iki yöntem ile elde edilen zeytinyağlarının iyot ve serbest yağ asidi değerleri analiz edilerek karşılaştırma yapılmıştır.

3.2.1. Zeytin Örneklerinin Kurutulması

Çekirdekleri ile birlikte kırılan zeytin örneklerinin ekstraksiyon işleminden önce suyu uzaklaştırılmıştır. Kurutulacak zeytin örnekleri devar kabına konarak üzerine sıvı azot eklenmiştir. Sıvı azot içerisinde yaklaşık 5 dakika bekletildikten sonra zeytin örnekleri sıcaklığı önceden -48°C'ye kadar düşürülmüş "freeze dryer"a konarak suyun uzaklaştırılması sağlandı.

3.2.2. Yağ Ekstraksiyonu

Kurutulmuş zeytin örnekleri süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilerek yağ asidi ve biyofenol içeriği kalitatif ve kantitatif olarak kromatografik yöntemlerle tayin edilmiştir.

3.2.2.1. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda karıştırıcılı, 500 mL hacimli Parr 4575 model HP/HT yüksek basınç reaktörü kullanılmıştır. Reaktöre yaklaşık 150 g kurutulmuş zeytin örneği yüklendikten sonra reaktörün üst kısmına grafit gasket yerleştirilip sonra manometreli, karıştırıcılı ve valfli kapak kısmı reaktörün üstüne yerleştirilerek vidalı split ring ile sabitleştirilmiştir. Reaktör ısıtıcının içerisine yerleştirildikten sonra ısıl çifti (termocouple) kapak kısmındaki yuvasına daldırılrak basınç 7000 psi olana kadar kesiksiz çift şırıngalı ISCO yüksek basınç pompası ile reaktöre karbondioksit basılmıştır. Ekstraksiyon 40±5°C ve 7000 psi basınçta gerçekleştirilmiştir. Reaktör bu koşullarda yaklaşık 30 dakika bekletildikten sonra bu süre sonunda çıkış valfi açılarak ekstraktlar toplama kabına alınmıştır. Reaktör çıkışında sıvı karbondioksitin donmaması için reaktör çıkışı ile toplama kabı hattı arasındaki ısıtıcı şeritlerin sıcaklığı (60°C) sıcaklık kontrol ünitesi ile sağlanmıştır. Süperkritik ekstraksiyon düzeneği Şekil 3.1'de görülmektedir. Ekstraksiyon işlemi reaktörden toplama kabına yağ gelmeyinceye kadar sürdürülmüştür.

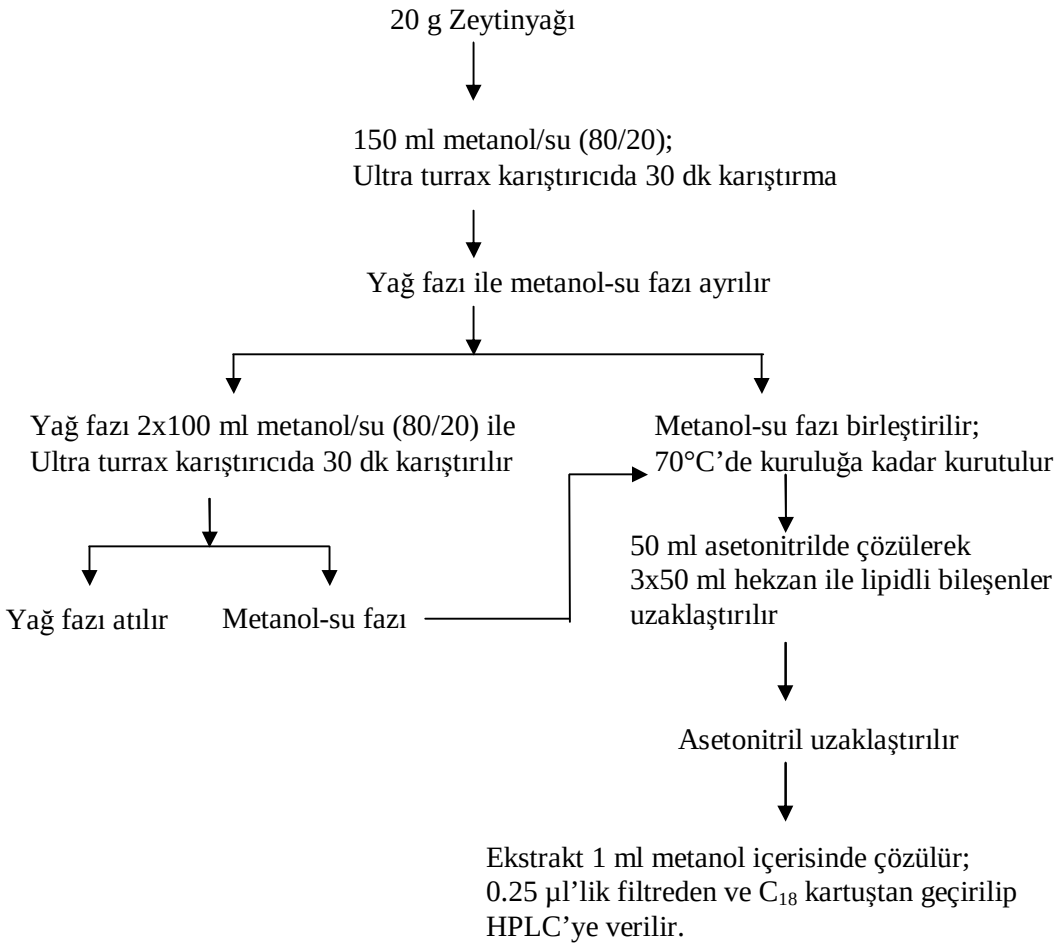


Şekil 3.1. Süperkritik ekstraksiyonun gerçekleştirildiği sistem

3.2.3. Biyofenol Ekstraksiyonu

Hem süperkritik karbondioksit, hem de konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarının biyofenol ekstraksiyonu yapılarak biyofenol içeriği bakımından yağ örnekleri karşılaştırılmıştır. Biyofenol ekstraksiyonu işleminde yaklaşık 20 g zeytinyağı örneği metanol-su (80:20, h/h) karışımı kullanılarak üç ardışık ekstraksiyon gerçekleştirildi. Birinci ekstraksiyon 150 ml, ikinci ve üçüncü ekstraksiyonlar ise 100 ml metanol-su (80:20, h/h) karışımıyla ultra turrax karıştırıcıda karıştırılarak yapıldı. Her bir ekstraksiyon işlemi 30 dk süreyle karıştırıldı. Elde edilen ekstraktlar birleştirildikten ve metanol-su çözücüsü 70 °C'de dönerli buharlaştırıcıda çözücünün tamamı kuruluğa kadar uzaklaştırılmıştır. Çözücüsü uzaklaştırılmış biyofenol örnekleri 50 ml asetonitrilde çözüldükten sonra lipidli bileşenleri uzaklaştırmak için üç defa 50 ml hekzan ile ardışık şekilde ekstrakte edilmiştir. Daha sonra asetonitril fazı (biyofenol örnekleri içermektedir) alınarak 35 °C'de dönerli buharlaştırıcıda çözücünün tamamının uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ekstrakt 1 ml metanolde çözülüp 0,2 μm lik filtreden ve C_{18} kartuştan geçirilerek HPLC'de analiz edilmek üzere hazır hale getirilmiştir. Biyofenol

ekstraksiyonunda kullanılan yöntemin şematik gösterimi Şekil 3.2'de gösterilmektedir.



Şekil 3.2. Biyofenol ekstraksiyonunun şematik gösterimi

3.2.3.1. Biyofenollerin HPLC Analizi

Biyofenol analizi Shimadzu 10VP serisi, DAD (278 nm) dedektörlü HPLC cihazı ile ters faz C_{18} kolon (ACE) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz A (%50 metanol, %50 asetonitril ve %1 asetik asit) ve B (%100 su ve %1 asetik asit) çözeltilerinin bileşimi ayırma sürecinde gradiyent olarak değiştirilmiştir. Toplam analiz süresi 120 dk ve analiz programı; 0.dk %90 B, 60. dk %60 B, 80. dk %50 B,

90. dk %10 B, 105. dk %90 B, 120. dk %90 B olacak şekilde çalışılmıştır Zeytinyağındaki biyofenolik bileşenlerin nitel analizleri standart biyofenollerin alıkonma süreleriyle karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Nicel analizler için farklı derişimlerdeki standart biyofenollerden hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Her bir örnek HPLC'de iki kez analiz edilerek ortalaması alınmıştır.

3.2.4. Yağların Metil Esterlerinin Hazırlanması

Yaklaşık 1 g yağ örneği 3-4 adet kaynama taşı ile birlikte balona aktarılıp üzerine 50 ml metilante çözeltisi (750 ml metanol+250ml benzen+10 ml derişik sülfürik asit) eklenilerek 30 dk geri soğutucu altında kaynatılmıştır. 30 dk sonunda 50 ml saf su eklenilerek reaksiyon durdurulmuş ve metilenmiş yağ örneği 25 ml petrol eteri ile iki defa ekstrakte edilerek sulu fazdan eter fazına alınmıştır. Daha sonra petrol eteri dönerli vakum buharlaştırıcıda 40°C'de kuruluğa kadar uzaklaştırılmıştır ve uygun miktarda diklorometanda çözünerek gaz kromatografisinde analiz edilmek üzere hazır hale getirilmiştir.

3.2.4.1. Yağ Asitlerinin GC Analizi

Yağ asitlerinin metil esterlerinin analizi Shimadzu GC-14-A cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dk akış hızında helyum gazı kullanılmıştır. Dedektör olarak FID dedektörü kullanılmıştır. Örnekler GC'ye Shimadzu AOC-17 oto örnekleyici ile 1 µl olarak enjekte edilmiştir. Analiz programı; 80°C'de 5 dk bekleme, 2.8°C/dk'lik artışla 280 °C'ye çıkış ve bu sıcaklıkta 5 dk bekleme şeklinde uygulanmıştır. Analiz süresince dedektör sıcaklığı 250 °C, enjeksiyon portunun sıcaklığı ise 225 °C'ye ayarlanmıştır.

3.2.5. Zeytinyağında İyot Değerinin Tayin Edilmesi

100 g yağın absorbe ettiği iyotun gram cinsinden miktarına "iyot sayısı" denir. Yani gliseridin absorbe ettiği halojen miktarı üzerinden yağların nisbi doymamışlıklarının hesaplanması için kullanılır.

$$ICl + R\text{-}H{=}CH\text{-}R^1 \longrightarrow R\text{-}CHI\text{-}CHCl\text{-}R^1$$

$$ICl + 2KI \longrightarrow KCl + KI + I_2$$

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

1 g yağ örneği tartılarak üzerine 15 ml siklohekzan-asetik asit (1/1 (h/h)) çözeltisi eklenerek tamamen çözünmesi sağlanmıştır. 0,2 ml iyotmonoklorür (ICI) çözeltisi eklenip ağzı kapatılarak oda koşulunda karanlıkta 1 saat bekletilmiştir. 1 saat sonra örnek üzerine 20 ml KI (100g/l) ve 100 ml destile su eklenerek ayarlı $Na_2S_2O_3$ ile titre edilmiştir. Aynı işlemler tanık deneyler için de yapılmıştır**.** Deneyler üç paralel olacak şekilde yapılmış ve ortalaması alınmıştır.

3.2.6. Zeytinyağında Serbest Yağ Asidi Değerinin Tayin Edilmesi

Serbest yağ asidi değeri zeytinyağında bulunan serbest yağ asidi miktarını gösterir. Serbest yağ asidi % oleik, palmitik ve laurik asit olarak verilir. Zeytinyağında serbest yağ asidi değeri maksimum %1 olmalıdır. Kaliteli zeytinyağında asidite çok düşük olur (IOOC).

Miktarı bilinen örnek % 95'lik etil alkolde çözülerek fenolftalein (% 1'lik) indikatörü yanında ayarlı NaOH ile titre edilmiştir. Her bir yağ örneği için üç tekrar yapılarak ortalama alınmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Konvansiyonel Yöntem ve Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon (SCE) Yöntemi İle Elde Edilen Zeytinyağlarının Yağ Asidi İçeriklerinin Karşılaştırılması

Hem konvansiyonel, hem de süperkritik karbondioksit ekstraksiyonundan elde edilmiş zeytinyağları metilleme işlemine tabi tutulduktan sonra, yağ içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak GC'de analiz edilerek saptanmıştır. Her bir yağ asidi standardı GC'ye enjekte edilerek alıkonma süreleri belirlenmiştir. Yağ asitlerinin kantitatif analizi için 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm ve 62,5 ppm olan beş farklı derişimdeki yağ asidi standardı GC'ye enjekte edilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Yağ asidi standartlarına ait kalibrasyon eğrileri ve zeytinyağı örneklerinin kromatogramları Ek B'de verilmiştir. Hem ekstraksiyon, hem de GC analizleri üçer paralel yapılarak ortalaması alınmıştır. Zeytinyağı örneğinin içeriği % yağ asidi cinsinden hesaplanmıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının % yağ asidi içerikleri Çizelge 4.1-10'da gösterilmiştir. Her iki yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında benzer yağ asitleri saptanmıştır. Konvansiyonel yöntem ve SCE yönteminde en bol bulunan yağ asitleri Oleik asit (%67,2-79,2), Palmitik asit (%8-15,2), Linoleik asit (%7,2-12,9) ve Stearik asit (%1,2-12,3) olarak belirlenmiştir.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde oleik asit %77 iken SCE sonucu %68,7 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %11,4 iken SCE sonucu %12,4 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde stearik asit %3 iken SCE sonucu %6,2'ye; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %7,6 iken SCE sonucu %8,7'ye; Araşidik asit ise konvansiyonel yöntemde %0,05 iken SCE sonucu %0,06'ya yükselmiştir.

Çizelge 4.1. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Tarsus (Sarulak cinsi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	11,4±0,1	3±0,7	77±0,7	7,6±0,1	0,5±0,01	0,3±0,01	0,1±0,02	0,1±0,01
SCE	0,1±0,01	0,1±0,01	12,4±0,3	6,2±0,4	68,7±0,6	8,7±0,1	0,6±0,01	0,7±0,01	0,2±0,02	0,3±0,01

Çizelge 4.2. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	12,2±0,03	1,7±0,02	75,6±0,04	9,5±0,1	0,5±0,01	0,3±0,01	0,1±0,01	0,1±0,01
SCE	0,03±0,01	0,01±0,01	14,5±0,7	2,5±0,03	69±0,4	12,9±0,05	0,6±0,04	0,6±0,02	0,1±0,02	0,2±0,01

Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu %0,7'ye yükselmiştir. Beheneik asit konvansiyonel yöntemde %0,1 iken SCE sonucu %0,2'ye; Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde %0,1 iken SCE sonucu %0,3'e yükselmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Miristik asit (%0,1) ve Pentadekanoik asit (%0,1) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında bu asitlere rastlanmamıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %75,6 iken SCE sonucu %69,0 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %12,2 iken SCE sonucu %14,5 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %1,7 iken SCE sonucu %2,5'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %9,5 iken SCE sonucu %12,9'a; Araşidik asit konvansiyonel yöntemde %0,5 iken SCE sonucu %0,6'ya; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,6'ya, Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde %0,1 iken SCE sonucu %0,2'ye yükselmiştir. Beheneik asit hem konvansiyonel hem de SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağında % 0,1 olarak belirlenmiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Miristik asit (%0,03) ve Pentadekanoik asit (%0,01) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında bu asitlere rastlanmamıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %74,5 iken SCE sonucu % 69,3 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %13,3 iken SCE sonucu %14,1 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %2,4 iken SCE sonucu %3,4'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %8,7 iken SCE sonucu %12'ye, Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,5'e; Miristik asit konvansiyonel yöntemde %0,01 iken SCE sonucu %0,02'ye yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem SCE ile elde edilen zeytinyağlarında Araşidik asit (%0,5); Beheneik asit (%0,1) ve Lignoserik asit (%0,1) miktarında bir değişme gözlenmemiştir.

Çizelge 4.3. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	0,01±0,01	-	13,3±0,2	2,4±0,5	74,5±0,3	8,7±0,02	0,5±0,02	0,3±0,01	0,1±0,04	0,1±0,01
SCE	0,02±0,01	0,01±0,01	14,1±0,01	3,4±0,4	69,3±0,4	12±0,9	0,5±0,01	0,5±0,1	0,1±0,01	0,1±0,01

Çizelge 4.4. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen İzmir-Bomova zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	0,01±0,01	-	10,2±0,01	2,4±0,2	76,8±0,03	9,7±0,1	0,4±0,01	0,3±0,01	0,1±0,03	0,1±0,01
SCE	0,02±0,01	0,04±0,04	12,1±0,1	5,6±0,7	68,7±1,8	12,4±0,1	0,4±0,04	0,5±0,01	0,1±0,01	0,3±0,1

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen İzmir-Bornova zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %76,8 iken SCE sonucu % 68,7 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %10,2 iken SCE sonucu %12,1 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %2,4 iken SCE sonucu %5,6'ya; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %9,7 iken SCE sonucu %12,4'e; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,5'e; Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde % 0,1 iken SCE ekstraksiyonu sonucu 0,3'e; Miristik asit ise konvansiyonel yöntemde %0,01 iken SCE sonucu %0,02'ye yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağlarında Araşidik asit (%0,4) ve Beheneik asit (%0,1) miktarında bir değişme gözlenmemiştir.. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,04) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında saptanmamıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Bursa-İznik zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %79,2 iken SCE sonucu % 68,3 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %8 iken SCE sonucu %9,7 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %4,5 iken SCE sonucu %12,3'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %7,2 iken SCE sonucu %8,5'e; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,5'e yükselmiştir. Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde % 0,2 iken SCE ekstraksiyonu sonucu 0,1'e; Araşidik asit konvansiyonel yöntemde % 0,5 iken SCE sonucu %0,4'e azaldığı gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,1) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) ve Miristik asit (%0,1) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında bu asitlere rastlanmamıştır.

Çizelge 4.5. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Bursa-İzmik zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	8±0,3	4,5±0,2	79,2±0,3	7,2±0,1	0,5±0,01	0,3±0,01	0,1±0,01	0,2±0,05
SCE	0,1±0,01	0,01±0,2	9,7±0,2	12,3±0,3	68,3±0,5	8,5±0,2	0,4±0,01	0,5±0,01	0,1±0,01	0,1±0,1

Çizelge 4.6. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	0,01±0,01	-	9,5±0,3	4,5±0,2	77±1,2	7,8±0,2	0,05±0,01	0,1±0,1	0,1±0,04	0,03±0,01
SCE	0,02±0,01	0,01±0,01	11,5±0,2	11,3±1,12	67,2±0,9	8,9±0,1	0,4±0,01	0,5±0,03	0,1±0,01	0,1±0,02

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %77 iken SCE örneğinde % 67,2 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %9,5 iken SCE sonucu %11,5 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %4,5 iken SCE sonucu %11,3'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %7,8 iken SCE sonucu %8,9'a; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,1 iken SCE sonucu % 0,5'e; Araşidik asit konvansiyonel yöntemde % 0,05 iken SCE sonucu %0,4'e; Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde %0,03 iken SCE sonucu %0,1'e; Miristik asit konvansiyonel yöntemde %0,01 iken SCE sonucu %0.02'ye yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,1) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında saptanmamıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %77,4 iken SCE sonucu % 72,3 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %12,7 iken SCE sonucu %14,1 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %1,2 iken SCE sonucu %3,7'ye; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %7,7 iken SCE sonucu %8,5'e; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,8'e yükselmiştir. Konvansiyonel yöntemde Lignoserik asit %0,1 iken SCE sonucu %0,01'e azalmıştır. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,1) ve Araşidik asit (%0,5) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) ve Miristik asit (%0,02) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında saptanmamıştır.

Çizelge 4.7. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	12,7±0,1	1,2±0,3	77,4±0,1	7,7±0,04	0,5±0,01	0,3±0,01	0,1±0,01	0,1±0,05
SCE	0,02±0,01	0,01±0,01	14,1±0,1	3,7±0,1	72,3±0,2	8,5±0,04	0,5±0,01	0,8±0,01	0,1±0,03	0,01±0,01

Çizelge 4.8. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	14,3±0,4	3,7±0,1	72,5±0,3	8,3±0,1	0,5±0,01	0,3±0,01	0,2±0,01	0,2±0,05
SCE	0,02±0,01	0,01±0,01	15,2±0,4	4,1±0,05	68,4±0,1	10,6±0,01	0,6±0,01	0,7±0,01	0,2±0,01	0,2±0,03

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %72,5 iken SCE sonucu % 68,4 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %14,3 iken SCE sonucu %15,2 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %3,7 iken SCE sonucu %4,1'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %8,3 iken SCE sonucu %10,6'ya; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu %0,7'ye; Araşidik asit konvansiyonel yöntemde %0,5 iken SCE sonucu %0,6'ya yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,2) ve Ligneserik asit (%0,2) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) ve Miristik asit (%0,02) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında bu bileşiklere rastlanmamıştır.

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %77,4 iken SCE sonucu %71,3 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %12,7 iken SCE sonucu %13,7 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %2,2 iken SCE sonucu %6,1'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %6,7 iken SCE sonucu %7,6'ya; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,3 iken SCE sonucu % 0,6'ya; Lignoserik asit konvansiyonel yöntemde %0,1 iken SCE sonucu %0,2'ye yükselmiştir. Konvansiyonel yöntemde Araşidik asit %0,5 iken SCE sonucu %0,4'e azalmıştır. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,1) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) ve Miristik asit (%0,01) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında bu asitler saptanmamıştır.

Çizelge 4.9. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	-	-	12,7±0,1	2,2±0,3	77,4±0,1	6,7±0,04	0,5±0,01	0,3±0,01	0,1±0,01	0,1±0,05
SCE	0,01±0,01	0,01±0,01	13,7±0,3	6,1±1,2	71,3±0,9	7,6±0,01	0,4±0,01	0,6±0,1	0,1±0,01	0,2±0,02

Çizelge 4.10. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile ede edilen Hatay-Altmözü zeytinyağının % yağ asidi içeriği

	Miristik asit	Pentadekanoik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Linolenik asit	Beheneik asit	Ligneserik asit
Konvansiyonel yöntem	0,01±0,01	-	11,7±0,1	2,5±0,1	77±0,1	8±0,1	0,5±0,01	0,2±0,01	0,1±0,01	0,01±0,01
SCE	0,02±0,01	0,01±0,01	13,2±0,2	3,8±0,01	72,1±0,2	9,5±0,01	0,6±0,7	0,7±0,1	0,1±0,01	0,01±0,01

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Hatay-Altınözü zeytinyağının % yağ asidi içeriği Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemde Oleik asit %77 iken SCE sonucu %72,1 olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemde Palmitik asit %11,7 iken SCE sonucu %13,2 olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Stearik asit %2,5 iken SCE sonucu %3,8'e; Linoleik asit konvansiyonel yöntemde %8 iken SCE sonucu %9,5'e; Linolenik asit konvansiyonel yöntemde %0,2 iken SCE sonucu % 0,7'ye; Araşidik asit konvansiyonel yöntemde %0,5 iken SCE sonucu %0,6'ya; Miristik asit konvansiyonel yöntemde %0,01 iken SCE sonucu %0,02'ye yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağında Beheneik asit (%0,1) ve Lignoserik asit (%0,01) miktarında bir değişme gözlenmemiştir. SCE ile elde edilen zeytinyağında Pentadekanoik asit (%0,01) saptanırken konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında saptanmamıştır.

Özetle SCE ile elde edilen zeytinyağlarında Oleik asit (C18:1) miktarının genel olarak azaldığı, Stearik asit (C18:0), Palmitik asit (C16:0), Linoleik asit (C18:2, omega-6) ve Linolenik asit (C18:3, omega-3) miktarının arttığı gözlenmiştir. Cheung ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada deniz yosunundan omega-3 yağ asidini hem SCE hem de soxhlet ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişlerdir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda 50 °C sıcaklık ve 5500 psi basınçta çalışmışlardır. SCE yöntemi ile yapılan ekstraksiyonda çoklu doymamış yağ asitlerinin (Linoleik ve Linolenik asit) soxhlet ekstraksiyonuna oranla önemli bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarındaki Linoleik asit ve Linolenik asit miktarındaki artışı Cheung ve arkadaşlarının (1998) yaptığı çalışmaya dayanarak açıklayabiliriz. Majewski ve ark (1994), yaptıkları çalışmada tereyağını süperkritik karbondioksit ile ekstrakte edip fraksiyonlamışlardır. Kısa zincirli ve polaritesi düşük yağ asitlerinin süperkritik karbondioksitte çözünürlüğünün uzun zincirli ve polaritesi yüksek yağ asitlerine oranla çok iyi çözündüğünü gözlemlemişlerdir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarındaki Stearik asit ve Palmitik miktarındaki artışı Majewski ve arkadaşlarının (1994) yaptığı çalışmaya dayanarak açıklayabiliriz. Stearik asit ve Palmitik asit oleik asitten daha apolardır. Ayrıca Palmitik asitin karbon zinciri uzunluğu Oleik asitten daha azdır. Bu nedenlerden

dolayı Stearik ve Palmitik asit süperkritik karbondioksitte daha fazla çözünmüştür. Oleik asit Stearik asitten daha polar ve palmitik asitten daha uzun karbon zincirine sahip olduğu için süperkritik karbondioksitte daha az çözünmüştür. Ayrıca kısa zincirli bir yağ asidi olan Pentadekanoik asit (C15:0) konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında gözlenmezken SCE ile elde edilen zeytinyağlarında eser miktarda gözlenmiştir. Konvansiyonel ve SCE yönteminde eser miktarda gözlenen Beheneik, Lignoserik ve Miristik asit miktarında çok önemli bir değişme gözlenmemiştir.

4.2. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Biyofenol İçeriğinin Belirlenmesi

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarından biyofenolik maddeler ekstrakte edilerek kalitatif ve kantitatif olarak Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiştir. Her bir biyofenol standardı HPLC'ye enjekte edilerek alıkonma süreleri belirlenmiş ve kantitatif analiz için 308 ppm,154 ppm, 77 ppm ve 39 ppm'lik biyofenol standartları kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Biyofenol standartlarına ait kalibrasyon eğrileri ve örnek kromatogramları EK C'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının biyofenolik madde içerikleri (mg fenolik madde/ kg yağ cinsinden) Çizelge 4.11-4.18'de görülmektedir.

Bursa-İznik zeytininin konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen zeytinyağının biyofenol içeriği (mg fenolik madde/ kg yağ olarak) Çizelge 4.11'de görülmektedir. Genel olarak bakıldığında SCE ile elde edilen zeytinyağının biyofenol içeriğinin konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağından çok daha fazla olduğu gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Gallik asit 1,01 mg/kg iken, SCE elde edilen zeytinyağında 1,33 mg/kg olarak saptanmıştır. Aynı şekilde SCE ekstraksiyonu ile Protokatehuik asit 0,29 mg/kg'dan 1,42 mg/kg'a; Hidroksitirosol 1,08 mg/kg'dan 4,1 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,04 mg/kg'dan 1,88 mg/kg'a; Vanilik asit 0,02 mg/kg'dan 1,22 mg/kg'a; Ferulik asit 0,05 mg/kg'dan 2,24 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,05 mg/kg'dan 0,11 mg/kg'a;

Oleuropein 0,48 mg/kg'dan 3,74 mg/kg'a yükselmiştir. Hem konvansiyonel, hem de SCE ekstraksiyonu ile elde edilen zeytinyağı örneğinde p-Hidroksibenzoik, Kaffeik ve p-Koumarik asit saptanmamıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağında Katekol ve Siyrincik asit miktarında hafif bir azalma gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında toplam biyofenol miktarı 6,69 mg/kg iken, SCE ekstraksiyonu sonucu yaklaşık 3 kat daha fazla biyofenol (17,26 mg/kg) elde edilmiştir.

Çizelge 4.11. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Bursa-İznik zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	1,01	1,33
Protocatechuik Asit	0,26	1,42
Katekol	0,72	0,54
Hidroksitirosol	1,08	4,1
p-Hidroksibenzoik Asit	-	-
Homovanilik Asit	0,04	1,88
Vanilik Asit	0,02	1,22
Kaffeic Asit	-	-
Siyrincik Asit	2,98	0,68
p-Koumarik Asit	-	-
Ferrulik Asit	0,05	2,24
o-Koumarik Asit	0,05	0,11
Oleuropein	0,48	3,74
**Toplam biyofenol	6,69	17,26

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.12'de verilmiştir. Konvansiyonel yöntemle elde edilen zeytinyağında Gallik asit 1,03 mg/kg iken, SCE ile elde edilen zeytinyağında 2,22 mg/kg olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde Protokatehuik asit konvansiyonel yöntemde 1,42 mg/kg'dan SCE sonucu 3,2 mg/kg'a; Hidroksitirosol 1,48 mg/kg'dan 7,11 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,54 mg/kg'dan 8,7 mg/kg'a; Vanilik asit 0,03 mg/kg'dan 1,44 mg/kg'a; Siyrincik asit 1,23 mg/kg'dan 3,83 mg/kg'a; Ferrulik asit 0,07 mg/kg'dan 33,7 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,04 mg/kg'dan 0,24 mg/kg'a; Oleuropein 2,93 mg/kg'dan 9,45 mg/kg'a yükselmiştir. Her iki yöntemle elde edilen zeytinyağında p-Hidroksibenzoik aside rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemle elde edilen zeytinyağında 0,02 mg/kg olarak saptanan

Gallik asite ve 0,09 mg/kg olarak saptanan p-Koumarik asite SCE ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Ayrıca SCE ile elde edilen zeytinyağında 0,54 mg/kg olarak saptanan Kaffeik asite konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 8,88 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 70,73 mg/kg olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.12. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Balıkesir-Edremit zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	1,03	2,22
Protocatechuik Asit	1,42	3,2
Katekol	0,02	-
Hidroksitirosol	1,48	7,11
p-Hidroksibenzoik Asit	-	-
Homovanilik Asit	0,54	8,7
Vanilik Asit	0,03	1,44
Kaffeik Asit	-	0,54
Siyrincik Asit	1,23	3,83
p-Koumarik Asit	0,09	-
Ferrulik Asit	0,07	33,7
o-Koumarik Asit	0,04	0,24
Oleuropein	2,93	9,45
**Toplam biyofenol	8,88	70,43

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE ile elde edilen Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.13'te görülmektedir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Gallik asit 0,1 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 1,40 mg/kg'a yükselmiştir. Aynı şekle konvansiyonel yöntemde Protokatehuik asit 2,09 mg/kg'dan SCE sonucu 10,5 mg/kg'a; Hidroksitirosol 2,11 mg/kg'dan 28,8 mg/kg'a; p-Hidroksibenzoik asit 0,6 mg/kg'dan 1,47 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,09 mg/kg'dan 4,82 mg/kg'a; Vanilik asit 0,04 mg/kg'dan 1,66 mg/kg'a; Kaffeik asit 0,19 mg/kg'dan 2,32 mg/kg'a; Siyrincik asit 2,74 mg/kg'dan 5,32 mg/kg'a; Ferulik asit 0,08 mg/kg'dan 7,01 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,06 mg/kg'dan 0,78 mg/kg'a; Oleuropein 4,88 mg/kg'dan 37,8 mg/kg'a yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında p-Koumarik asite rastlanmaz iken SCE ile elde edilen zeytinyağında p-Koumarik asit 0,39 mg/kg olarak

saptanmıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 13,04 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 102,27 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği.

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	0,1	1,40
Protocatechuik Asit	2,09	10,5
Katekol	0,06	0,002
Hidroksitirosol	2,11	28,8
p-Hidroksibenzoik Asit	0,6	1,47
Homovanilik Asit	0,09	4,82
Vanilik Asit	0,04	1,66
Kaffeik Asit	0,19	2,32
Siyrincik Asit	2,74	5,32
p-Koumarik Asit	-	0,39
Ferrulik Asit	0,08	7,01
o-Koumarik Asit	0,06	0,78
Oleuropein	4,88	37,8
*Toplam biyofenol	13,04	102,27

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen İzmir-Bornova zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.14'te görülmektedir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Protokatekhuik asit 3,66 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 20,66 mg/kg'a yükselmiştir, Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Katekol 0,02 mg/kg'dan SCE sonucu 1,87 mg/kg'a; Hidroksitirosol 4,52 mg/kg'dan 27,35 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,0001 mg/kg'dan 2,96 mg/kg'a; Vanilik asit 0,05 mg/kg'dan 0,87 mg/kg'a; Siyrincik asit 0,24 mg/kg'dan 0,53 mg/kg'a, Ferrulik asit 0,28 mg/kg'dan 1,20 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,14 mg/kg'dan 0,29 mg/kg'a; Oleuropein 5,55 mg/kg'dan 60,05 mg/kg'a yükselmiştir. Her iki yöntemle elde edilen zeytinyağında p-Hidroksibenzoik asite rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Kaffeik asite rastlanmaz iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 1,17 mg/kg olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 1,05 mg/kg olarak belirlenen Gallik asite ve 0,39 mg/kg olarak saptanan p-Koumarik asite SCE ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 15,9 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 116,95 mg/kg olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.14. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş İzmir-Bornova zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	1,05	-
Protocatechuik Asit	3,66	20,66
Katekol	0,02	1,87
Hidroksitirosol	4,52	27,35
p-Hidroksibenzoik Asit	-	-
Homovanilik Asit	0,0001	2,96
Vanilik Asit	0,05	0,87
Kaffeik Asit	-	1,17
Siyrincik Asit	0,24	0,53
p-Koumarik Asit	0,39	-
Ferrulik Asit	0,28	1,20
o-Koumarik Asit	0,14	0,29
Oleuropein	5,55	60,05
**Toplam biyofenol	15,9	116,95

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.15'te gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemle elde edilen zeytinyağında Gallik asit 1,01 mg/kg iken SCE'da 1,41 mg/kg'a yükselmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Protokatekhuik asit 0,8 mg/kg'dan SCE sonucu 0,93 mg/kg'a; Katekol 0,02 mg/kg'dan 0,12 mg/kg'a; Hidroksitirosol 0,89 mg/kg'dan 2,23 mg/kg'a; p-Hidroksibenzoik asit 0,76 mg/kg'dan 0,97 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,89 mg/kg'dan 1,98 mg/kg'a yükselmiştir. Her iki yöntemle elde edilen zeytinyağında Kaffeik asite rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 0,36 mg/kg olarak belirlenen p-Koumarik asit ve 0,05 mg/kg olarak belirlenen Ferulik asite SCE ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağında 0,93 mg/kg olarak belirlenen Vanilik asite ve 7,14 mg/kg olarak belirlenen Oleuropein'e konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 7,94 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 16,3 mg/kg olarak gözlenmiştir.

Çizelge 4.15. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	1,01	1,41
Protocatechuik Asit	0,8	0,93
Katekol	0,02	0,12
Hidroksitirosol	0,89	2,23
p-Hidroksibenzoik Asit	0,76	0,97
Homovanilik Asit	0,89	1,98
Vanilik Asit	-	0,93
Kaffeik Asit	-	-
Siyrincik Acid	2,8	0,38
p-Coumaric Asit	0,36	-
Ferrulik Asit	0,05	-
o-Koumarik Asit	0,36	0,21
Oleuropein	-	7,14
**Toplam biyofenol	7,94	16,3

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Protokatekhuik asit 0,73 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 4,85 mg/kg'a yükselmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Katekol 0,02 mg/kg'dan SCE sonucu 0,35 mg/kg'a; Hidroksitirosol 0,54 mg/kg'dan 7,37 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,14 mg/kg'dan 3,16 mg/kg'a; Vanilik asit 0,03 mg/kg'dan 0,7 mg/kg'a; Siyrincik asit 2,63 mg/kg'dan 3,94 mg/kg'a; Ferrulik asit 0,14 mg/kg'dan 4,36 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,04 mg/kg'dan 1,19 mg/kg'a; Oleuropein 2,24 mg/kg'dan 15,9 mg/kg'a yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 1,002 mg/kg olarak belirlenen Gallik asite SCE ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağında 1,55 mg/kg olarak belirlenen p-Hidroksibenzoik asit ve 0,12 mg/kg olarak belirlenen p-Koumarik asite konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında toplam biyofenol miktarı 7,51 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 43,67 mg/kg'a yükselmiştir.

Çizelge 4.16. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Gaziantep-Nizip zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	Konvansiyonel Yöntem, mg/kg*	SCE, mg/kg*
Gallik Asit	1,002	-
Protocatechuik Asit	0,73	4,85
Katekol	0,02	0,35
Hidroksitirosol	0,54	7,37
p-Hidroksibenzoik Asit	-	1,55
Homovanilik Asit	0,14	3,16
Vanilik Asit	0,03	0,7
Kaffeik Asit	-	0,28
Siyrincik Asit	2,63	3,94
p-Koumarik Asit	-	0,12
Ferrulik Asit	0,14	4,36
o-Koumarik Asit	0,04	1,19
Oleuropein	2,24	15,9
**Toplam biyofenol	7,51	43,67

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.17'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Gallik asit 1,05 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 3,88 mg/kg'a yükselmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Protokatekhuik asit 0,58 mg/kg'dan SCE sonucu 5,91 mg/kg'a, Katekol 0,04 mg/kg'dan 1,14 mg/kg'a; Hidroksitirosol 0,71 mg/kg'dan 10,45 mg/kg'a; Siyrincik asit 2,95 mg/kg'dan 5,46 mg/kg'a; p-Koumarik asit 0,04 mg/kg'dan 0,13 mg/kg'a; Ferrulik asit 0,08 mg/kg'dan 9,46 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,06 mg/kg'dan 0,22 mg/kg'a; Oleuropein 2,7 mg/kg'dan 7,99 mg/kg'a yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 0,402 mg/kg olarak belirlenen Kaffeik asite SCE ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağında 1,37 mg/kg olarak belirlenen p-Hidroksibenzoik asit, 1,31 mg/kg olarak belirlenen Homovanilik asit ve 0,42 mg/kg olarak belirlenen Vanilik asite konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 8,61 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 47,74 mg/kg'a yükselmiştir.

Çizelge 4.17. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	**Konvansiyonel Yöntem, mg/kg***	**SCE, mg/kg***
Gallik Asit	1,05	3,88
Protocatechuik Asit	0,58	5,91
Katekol	0,04	1,14
Hidroksitirosol	0,71	10,45
p-Hidroksibenzoik Asit	-	1,37
Homovanilik Asit	-	1,31
Vanilik Asit	-	0,42
Kaffeik Asit	0,402	-
Siyrincik Asit	2,95	5,46
p-Koumarik Asit	0,04	0,13
Ferrulik Asit	0,08	9,46
o-Koumarik Asit	0,06	0,22
Oleuropein	2,7	7,99
**Toplam biyofenol	8,61	47,74

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen Hatay-Altınözü zeytinyağının biyofenol içeriği Çizelge 4.18'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında Gallik asit 0,97 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında bu değer 11,76 mg/kg'a yükselmiştir. Aynı şekilde konvansiyonel yöntemde Protokatekhuik asit 1,47 mg/kg'dan SCE sonucu 10,05 mg/kg'a; Hidroksitirosol 0,19 mg/kg'dan 8,69 mg/kg'a; Homovanilik asit 0,16 mg/kg'dan 4,21 mg/kg'a; Vanilik asit 0,03 mg/kg'dan 2,12 mg/kg'a; Siyrincik asit 2,46 mg/kg'dan 65,91 mg/kg'a; p-Koumarik asit 0,05 mg/kg'dan 0,45 mg/kg'a; Ferrulik asit 0,19 mg/kg'dan 1,47 mg/kg'a; o-Koumarik asit 0,03 mg/kg'dan 0,52 mg/kg'a; Oleuropein 0,41 mg/kg'dan 9,31 mg/kg'a yükselmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 6,12 mg/kg olarak belirlenen p-Hidroksibenzoik asit SCE ile elde edilen zeytinyağında azalma göstermiş ve 0,7 mg/kg olarak belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında 0,19 mg/kg olarak belirlenen Katekol'e SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağında 0,39 mg/kg olarak belirlenen Kaffeik asite konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağında rastlanmamıştır. Konvansiyonel yöntemde toplam biyofenol miktarı 12,27 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında bu değer 115,59 mg/kg'a yükselmiştir.

Çizelge 4.18. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilmiş Hatay-Altınözü zeytinyağının biyofenol içeriği

Fenolik madde	**Konvansiyonel Yöntem, mg/kg***	**SCE, mg/kg***
Gallik Asit	0,97	11,76
Protocatechuik Asit	1,47	10,05
Katekol	0,19	-
Hidroksitirosol	0,19	8,69
p-Hidroksibenzoik Asit	6,12	0,70
Homovanilik Asit	0,16	4,21
Vanilik Asit	0,03	2,12
Kaffeik Asit	-	0,39
Siyrincik Asit	2,46	65,91
p-Koumarik Asit	0,05	0,45
Ferrulik Asit	0,19	1,47
o-Koumarik Asit	0,03	0,52
Oleuropein	0,41	9,31
**Toplam biyofenol	12,27	115,59

* mg fenolik/kg zeytinyağı
** Adı geçen biyofenol toplamı

Sonuç olarak SCE ile elde edilen zeytinyağlarının hepsinde biyofenol miktarında ve doğru orantılı olarak toplam biyofenol miktarında artış gözlenmiştir. Gabriela ve ark (2002), fındıktan süperkritik karbondioksit ile yağ ekstrakte etmişler ve ekstraksiyon sonuçlarını n-hekzan ile yaptıkları ekstraksiyon sonucu ile karşılaştırmışlardır. Karşılaştırma sonucunda süperkritik karbondioksitin Tokoferol için iyi bir çözücü olduğu gözlemlemişlerdir. Süperkritik karbondioksit ile %17 daha fazla Tokoferol ekstrakte edilebilmiştir. Yine yapılan başka bir çalışmada süperkritik karbondioksit ile yapılan ekstraksiyonda çözücü ekstraksiyonundan daha fazla biyofenol kazanımı sağlanmıştır. Floch ve ark (1997), zeytin yaprağından süperkritik karbondioksit ile fenolik bileşenleri ekstrakte etmişler ve elde ettikleri sonuçları n-hekzan, dietil eter ve etil asetatla yaptıkları solvent ekstraksiyonu ile karşılaştırmışlardır. n-Hekzan, dietil eter ve etil asetatla elde edilen toplam biyofenol miktarı sırasıyla 0,18; 1,1 ve 1,6 mg/g şeklinde olmuştur. SCE ile yapılan ekstraksiyon sonucunda toplam biyofenol miktarı 7,6 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalardan da anlaşıldığı gibi süperkritik karbondioksit biyofenolik maddeler için iyi bir çözücüdür.

4.3. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının İyot Değerlerinin Karşılaştırılması

İyot değeri (doymamışlık derecesi) zeytinyağının kalitesini belirleyen faktörlerden biridir. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerleri Çizelge 4.11'te görülmektedir. Analiz sonuçları üçer paralel olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Çizelge 4.19. Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerleri

Zeytinyağı	Konvansiyonel yöntem	SCE
Balıkesir-Edremit	79,25± 0,32	74,54±1,052
İzmir-Bornova	79,68±0,13	72,09±0,077
Hatay-Altınözü	81,69±1,03	78,70±0,991
Bursa-İznik	81,18±2,36	72,09±1,596
Mersin-Mut Ayvalık tipi)	79,54±2,20	73,14±0,615
Gaziantep-Nizip	83,9±1,526	78,07±2,69
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi)	83,0±1,22	79,66±2,406
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi)	79,69±2,43	73,89±1,114
Mersin-Mut (Gemlik tipi)	81,39±1,14	78,65±1,520
Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli	80,47±0,95	76,64±2,102

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerlerine bakıldığında konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağının iyot değerlerinin SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağının iyot değerlerinden biraz daha yüksek olduğu görülmektedir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen Balıkesir-Edremit zeytinyağının iyot değeri 79,25 iken, SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağının bu değer 74,54'e düşmüştür. Aynı şekilde konvansiyonel yöntem ile elde edilen İzmir-Bornova zeytinyağında iyot değeri 79,68 iken, SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağının iyot değeri 72,09'a, konvansiyonel yöntem ile elde edilen

Hatay-Altınözü zeytinyağında iyot değeri 81,69'dan SCE sonucu 78,7'ye, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Bursa-İznik zeytinyağında iyot değeri 81,18'den SCE sonucu 72,09'a, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Mersin-Mut zeytinyağında iyot değeri 79,54'ten SCE sonucu 73,14'e, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Gaziantep-Nizip zeytinyağında iyot değeri 83,9'dan SCE sonucu 78,07'ye, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağında iyot değeri 83'den SCE sonucu 79,66'ya, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağında iyot değeri 81,39'dan SCE sonucu 78,65'e, konvansiyonel yöntem ile elde edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağında iyot değeri 80,47'den SCE sonucu bu değer 76,64'e düşmüştür.

Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında iyot değerlerinin SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerlerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. SCE ve konvansiyonel yöntem arasında kıyaslama yapıldığında SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerlerinde %3-9 arasında değişen azalışlar gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında en yüksek iyot değeri Gaziantep-Nizip zeytinyağında (83,9) daha sonra Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağında (83) belirlenmiştir. SCE yönteminde ise en yüksek iyot değeri Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağında 79,66 olarak belirlenmiştir.

SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarındaki iyot değerlerindeki azalışı Oleik asit miktarındaki azalış ve palmitik ile stearik asit miktarındaki artış ile açıklayabiliriz. Konvansiyonel yöntem ile zeytinden tamamen alınamayan daha apolar karakterli doymuş yağ asitlerinin SCE ekstraksiyonu ile alınmasından dolayı SCE ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerlerinde azalış gözlendiği ileri sürülebilir.

4.4. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Serbest Yağ Asidi Değerlerine Ait Bulgular

Hem konvansiyonel yöntem hem de SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerleri % oleik, % laurik ve % palmitik asit

cinsinden Çizelge 4.20 ve 4.21'de gösterilmektedir. Analiz sonuçları üçer paralel olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Konvansiyonel yöntem ile elde edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağında serbest yağ asidi değerleri % Oleik, % Laurik ve % Palmitik asit cinsinden sırasıyla 0,49; 0,35 ve 0,45 olarak belirlenmiştir. Hatay-Altınözü zeytinyağında 3,02; 2,16 ve 2,74, Bursa-İznik zeytinyağında 0,85; 0,61 ve 0,77; İzmir-Bornova zeytinyağında 1,45; 0,74 ve 0,94, Gaziantep-Nizip zeytinyağında 0,99; 0,71 ve 0,9, Balıkesir-Edremit zeytinyağında 0,56; 0,4 ve 0,51, Mersin-Tarsus (Sarıulak tipi) zeytinyağında 0,57; 0,41 ve 0,53, Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağında 2,58; 1,85 ve 2,35, Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağında 0,77; 0,55 ve 0,7; Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağında 0,81; 0,62 ve 0,78 olarak belirlenmiştir. SCE yöntemi ile elde edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağında serbest yağ asidi değerleri % Oleik, % Laurik ve % Palmitik asit cinsinden sırasıyla 8,73; 6,26 ve 7,93 olarak belirlenmiştir. Hatay-Altınözü zeytinyağında 9,7; 7,5 ve 8,3, Bursa-İznik zeytinyağında 2,2; 1,58 ve 2, İzmir-Bornova zeytinyağında 3,78; 2,71 ve 3,43, Gaziantep-Nizip zeytinyağında 2,12; 1,52 ve 1,93, Balıkesir-Edremit zeytinyağında 1,6; 1,12 ve 1,42, Mersin-Tarsus (Sarıulak tipi) zeytinyağında 1,1; 0,78 ve 0,99, Mersin-Mut (Ayvalık tipi) zeytinyağında 8,1; 5,77 ve 7,32, Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağında 1,78; 1,28 ve 1,62, Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) zeytinyağında 1,7; 1,21 ve 1,54 olarak belirlenmiştir.

Serbest yağ asidi değeri açısından SCE ve konvansiyonel yöntem karşılaştırıldığında SCE ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerlerinde genel bir artış gözlenmiştir. En fazla artış Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağında gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli zeytinyağında serbest yağ asidi değerleri oleik, laurik ve palmitik asit cinsinden sırasıyla 0,49; 0,35 ve 0,45 iken SCE ile elde edilen zeytinyağında bu değerler 8,73; 6,26 ve 7,93 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. Konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerleri

Zeytinyağı	Serbest yağ asidi değeri (Oleik asit cinsinden), %	Serbest yağ asidi değeri (Laurik asit cinsinden), %	Serbest yağ asidi değeri (Palmitik asit cinsinden),%
Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli	0,49 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,45 ±0,02
Hatay-Altınözü	3,02 ± 0,001	2,16 ± 0,001	2,74 ± 0,0001
Bursa-İznik	0,85 ± 0,0002	0,61 ± 0,0001	0,77 ± 0,0001
İzmir-Bornova	1,45 ± 0,0001	0,74 ± 0,0001	0,94 ± 0,001
Gaziantep-Nizip	0,99 ± 0,0001	0,71 ± 0,00001	0,90 ± 0,01
Balıkesir-Edremit	0,56 ± 0,0001	0,40 ± 0,0001	0,51± 0,001
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi)	0,57± 0,0001	0,41 ± 0,0001	0,53± 0,0001
Mersin-Mut-(Ayvalık tipi)	2,58 ± 0,0001	1,85 ± 0,0002	2,35 ± 0,002
Mersin-Mut (Gemlik tipi)	0,77 ± 0,0001	0,55 ± 0,001	0,70 ± 0,001
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi)	0,81 ± 0,0001	0,62 ± 0,0001	0,78 ± 0,001

Çizelge 4.21. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerleri

Zeytinyağı	Serbest yağ asidi değeri (Oleik asit cinsinden), %	Serbest yağ asidi değeri (Laurik asit cinsinden), %	Serbest yağ asidi değeri (Palmitik asit cinsinden),%
Balıkesir-Burhaniye- Taylıeli	8,73 ± 0,05	6,26 ± 0,04	7,93 ± 0,05
Hatay-Altınözü	9,7 ± 0,1	7,5 ± 0,01	8,3 ± 0,1
Bursa-İznik	2,2 ± 0,16	1,58 ± 0,12	2 ± 0,148
İzmir-Bornova	3,78 ± 0,02	2,71 ± 0,01	3,43 ± 0,02
Gaziantep-Nizip	2,12 ± 0,384	1,52 ± 0,275	1,93 ± 0,349
Balıkesir-Edremit	1,6 ± 0,01	1,12±0,001	1,42 ± 0,005
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi)	1,1 ± 0,01	0,78 ± 0,01	0,99 ± 0,006
Mersin-Mut-(Ayvalık tipi)	8,1 ± 0,25	5,77 ± 0,18	7,32 ± 0,223
Mersin-Mut (Gemlik tipi)	1,78 ± 0,07	1,28 ± 0,05	1,62 ± 0,06
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi)	1,7 ± 0,02	1,21 ± 0,01	1,54 ± 0,18

Sonuç olarak SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerlerinin konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerlerinden çok daha fazla olduğu gözlenmiştir. Serbest yağ asidi değeri ısı, ışık ve havayla temas gibi etkenlerden dolayı arttığı gözlemlenmiştir (Gutierrez ve Fernandez, 2002). Gabriela ve ark (2002) yaptıkları çalışmada fındık yağını hem SCE ile hem de n-hekzan ile ekstrakte etmişler ve serbest yağ asidi içeriğini karşılaştırmışlardır. SCE ekstraksiyonunda 308 K ve 22,5 MPa (326 psi) basınçta çalışılmıştır. SCE ekstraksiyonu ile elde edilen fındık yağında serbest yağ asidi %0,9 iken n-hekzan ile yapılan ekstraksiyonda %1,6 olarak saptanmıştır. SCE ile elde edilen zeytinyağlarında serbest yağ asidi değerinin yüksek çıkmasına zeytinlerin ekstraksiyon öncesinde fazla beklemesi sebep gösterilebilir. Yapılan bir çalışmada zeytinin depolanması süresince asitlik değerindeki değişim araştırılmış ve zeytin toplandıktan sonraki ilk iki-üç gün içerisinde klasik yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında serbest yağ asidi miktarının normal, sonraki günlerde ise artış gösterdiği gözlenmiştir. Zeytinyağındaki serbest yağ asidindeki bu artışa lipaz enziminin yağı parçalayarak serbest yağ asidini arttırdığı ileri sürülmüştür (Gutierrez ve ark, 1992).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi ile Elde Edilen Zeytinyağlarının Yağ Asidi İçeriğine Ait Sonuçlar

SCE ile elde edilen zeytinyağlarında Oleik asit (C18:1) miktarının genel olarak azaldığı, Stearik asit (C18:0), Palmitik asit (C16:0), Linoleik asit (C18:2, omega-6) ve Linolenik asit (C18:3, omega-3) miktarının arttığı gözlenmiştir. Cheung ve ark, (1998) yaptıkları çalışmada deniz yosunundan omega-3 yağ asidini hem SCE, hem de soxhlet ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişlerdir. SCE yöntemi ile yapılan ekstraksiyonda çoklu doymamış yağ asitlerinin (Linoleik ve Linolenik asit) soxhlet ekstraksiyonuna oranla önemli bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarındaki Linoleik asit ve Linolenik asit miktarındaki artışı Cheung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dayanarak açıklayabiliriz. Majewski ve ark (1994), yaptıkları çalışmada tereyağını süperkritik karbondioksit ile ekstrakte edip fraksiyonlamışlardır. Kısa zincirli ve polaritesi düşük yağ asitlerinin süperkritik karbondioksitte çözünürlüğünün uzun zincirli ve polaritesi yüksek yağ asitlerine oranla çok iyi çözündüğünü gözlemlemişlerdir. SCE ile elde edilen zeytinyağlarındaki Stearik asit ve Palmitik miktarındaki artışı Majewski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dayanarak açıklayabiliriz. Stearik asit ve Palmitik asit Oleik asitten daha apolardır. Ayrıca Palmitik asitin karbon zinciri uzunluğu Stearik asitten daha azdır. Bu nedenlerden dolayı Stearik ve Palmitik asit süperkritik karbondioksitte daha fazla çözünmüştür. Oleik asit Stearik asitten daha polar ve Palmitik asitten daha uzun karbon zincirine sahip olduğu için süperkritik karbondioksitte daha az çözünmüştür. Ayrıca kısa zincirli bir yağ asidi olan Pentadekanoik asit (C15:0) konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında gözlenmezken SCE ile elde edilen zeytinyağlarında eser miktarda gözlenmiştir. Konvansiyonel ve SCE yönteminde eser miktarda gözlenen Beheneik, Lignoserik ve Miristik asit miktarında çok önemli bir değişme gözlenmemiştir.

5.2. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi İle Elde Edilen Zeytinyağlarının Biyofenol İçeriğine Ait Sonuçlar

Konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının biyofenol içerikleri karşılaştırıldığında çok fazla bir değişimin olduğu gözlenmiştir. Her iki yöntemde genellikle benzer fenolik bileşenler saptanmıştır. SCE yöntemi ile çok daha fazla fenolik madde ekstrakte edilebilmiştir. Konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağları içerisinde toplam fenolik madde içeriği 15,9 mg/kg değerle en yüksek olan İzmir-Bornova zeytinyağıdır. İkinci olarak 13,04 mg/kg değerle Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağı yer almaktadır. SCE yöntemi ile en fazla biyofenolik madde kazanımları Mersin-Mut (Gemlik tipi), İzmir-Bornova ve Gaziantep-Nizip zeytinyağlarında olmuştur. Konvansiyonel yöntemde Mersin-Mut (Gemlik tipi) zeytinyağında toplam biyofenol miktarı 13,04 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 102,27 mg/kg olarak saptanmıştır. Yine aynı şekilde konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş İzmir-Bornova zeytinyağında toplam biyofenol miktarı 15,9 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında 116,95 mg/kg olarak saptanmıştır. Konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş Hatay-Altınözü zeytinyağında toplam biyofenol miktarı 12,27 mg/kg iken SCE ile elde edilen zeytinyağında bu değer 115,59 mg/kg olarak saptanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile konvansiyonel yöntemden çok daha fazla miktarda fenolik bileşenin ekstrakte edildiği saptanmıştır. Süperkritik karbondioksitin fenolik bileşenler için iyi bir çözücü olduğu yapılan çalışma ile desteklenmiştir. Fenolik bileşenlerin polar karakterli oluşundan dolayı belirli oranlarda polar karakterli etanol, metanol gibi yardımcı çözücü kullanılarak süperkritik karbondioksitin çözücülük gücü arttırılabilir. Böylece daha fazla fenolik bileşen kazanımı mümkün olabilir (Floch ve ark, 1997).

5.3. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi İle Elde Edilen Zeytinyağlarının İyot Değerlerine Ait Sonuçlar

İyot değeri bakımından konvansiyonel yöntem ve SCE yöntemi karşılaştırıldığında SCE ile elde edilen zeytinyağlarında genel bir düşüş gözlenmiştir.

En yüksek iyot değerleri konvansiyonel yöntem ile elde edilmiş zeytinyağlarında saptanmıştır. Bu değerler Gaziantep-Nizip zeytinyağında 83,9, Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) zeytinyağında 83 olarak saptanmıştır. SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarındaki iyot değerlerindeki azalışı Oleik asit miktarındaki azalış ile açıklayabiliriz. Konvansiyonel yöntem ile zeytinden tamamen alınamayan daha apolar karakterli doymuş yağ asitlerinin SCE ekstraksiyonu ile alınmasından dolayı SCE ile elde edilen zeytinyağlarının iyot değerlerinde azalış gözlendiği ileri sürülebilir. Doymamış yağ asitlerini büyük oranda alabilmek için süperkritik karbondioksit ile birlikte yardımcı çözücü kullanılabilir.

5.4. Konvansiyonel Yöntem ve SCE Yöntemi İle Elde Edilen Zeytinyağlarının Serbest Yağ Asidi Değerlerine Ait Sonuçlar

SCE yöntemi ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerlerinin konvansiyonel yöntem ile elde edilen zeytinyağlarının serbest yağ asidi değerlerinden çok daha fazla olduğu gözlenmiştir. Serbest yağ asidi değeri ne kadar düşük ise yağın kalitesi o kadar iyidir. Serbest yağ asidi değeri ısı, ışık ve havayla temas gibi etkenlerden dolayı arttığı gözlemlenmiştir (Gutierrez ve Fernandez, 2002). SCE ile elde edilen zeytinyağlarında serbest yağ asidi değerinin yüksek çıkmasına zeytinlerin ekstraksiyon öncesinde fazla beklemesi sebep gösterilebilir. Yapılan bir çalışmada zeytinin depolanması süresince asitlik değerindeki değişim araştırılmış ve zeytin toplandıktan sonraki ilk iki-üç gün içerisinde klasik yöntem ile elde edilen zeytinyağlarında serbest yağ asidi miktarının normal, sonraki günlerde ise artış gösterdiği gözlenmiştir. Zeytinyağındaki serbest yağ asidindeki bu artışa lipaz enziminin yağı parçalayarak serbest yağ asidini arttırdığı ileri sürülmüştür (Gutierrez ve ark, 1992). Zeytin hasat edildikten hemen sonra ekstrakte edilirse serbest yağ asidindeki bu artış önlenebilir.

KAYNAKLAR

ANONİM, 1996. 8000 Yıllık Müthiş Bir Serüven. Komili Zeytinyağı Tanıtım kitapçığı, İstanbul, 23s

ANONYMOUS, 1992. From The Olive Tree To Olive Oil. International Olive Oil Council, p34.

AMIOT, M. J., FlEURIET, A., MACHEIX, J. J., 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. J. Agric Food Chem., 34, 823-836.

BALDIOLI, M., SERVILI, M., PERRETI, G., MONTEDORO, G, F., 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 73, 1589-1593.

BONDIOLI, P., MARIANI, C., LANZANI, A., FEDELI, E., MULLER A., 1993. Squalene recovery from olive oil deodorizer distillates. JAOCS, 70, 763-766.

CATALANO, P., DE CAPONIO, F, 1996. Machines for olive paste preparation producing quality virgin olive oil. Fett Lipid, 98, 408-412.

CATCHPOLE, O. J., and PROELLS, K., 2001. Solubility of Squalene, Oleic Acid, Soya Oil and Deep Sea Shark Liver Oil in Subcrirical R134a from 303 to 353 K. Ind. Eng. Chem. Res., 40, 965-972.

CHEUNG, P., LEUNNG, A., ANG, P., 1998. Comparasion of supercritical carbon dioxide Agri and Food Chem, 46, 4228-4232.

CIMATO, A., MATTEI, A. & OSTI, M., 1990. Variation of poliphenol composition with harvesting period. Acta Horticulturae, 286, 453-456.

CONI, E., DI BENEDETTO, R., DI PASQUALE, M., MASELLA, R., MODESTI, D., ATTEI, R., CARLINI, E.A., 2000. Protective effect of Oleuropein, and olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizabilityin rabbits. Lipids 35, 45-54.

DEMESSIE, S. E., 1997. Fractionation of Glycerides Using Supercritical Carbon Dioxide. Ind. Eng. Chem. Res., 36, 4906-4913.

DİE, 1997. Tarım İstatistikleri

DUNFORD, N.T., and KING, J.W., 2001. J. Am. Oil Chem. Soc. 76, 121-126.

ERTEM, H., 1987.Boğazköy Metinlerine Göre Hititler Devri Anadolu' sunun Florası.Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Tarih Kurumu Yayınları, VII. Dizi, Sayı 65. Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara, 1987, 181s

FAO, 1993. Production Yearbook.

FLOCH, L. F., TENA, M. T., RIOS, A., VALCERCAL, M., 1998. Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves. Talanta 46, 1123-1130.

FREGA, N., CAGLIOTI, L., MOZZON, M., 1997. Composizione chimica eparametri di qualita delgi oli estratti da olive snocciolate. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 74, 241-245.

GABRIELA, M., GRENHA, J., SANTOS, J., CARDASO, P., 2002. Supercritical fluid extraction and characterisation of oil from hazelnut. Centre of Biological and Chemical Engineering, 438-931.

GARİBAĞAOĞLU, M. ve BAYSAL, A., 1998. Kırlangıç Zeytinyağı Tanıtım Kitapçığı, İstanbul. 32s

GUTIERREZ, F., and FERNANDEZ, J. L., 2002. Determinant Parameters and Component in the Storage of Virgin Olive Oil. Prediction of Storage Time beyond Which the Oil Is No Longer of " Extra '' Quality. J. Agric. Food Chem., 50, 571-577.

GUTIERREZ, F., JIMENEZ, B., RUIZ, A., ALBI, M. A., 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. J Agric. Food Chem., 47,121-7.

GUTFINGER, T. 1981. Phenols in olive oil. Journal of the American Oil Chemist's Society, 58, 966-968.

GUTIERREZ , R. C., JANER DEL VALE, C., JANER DEL VALE, M. L., GUTIERREZ, R. F., VAZQUEZ, R. A., 1997. Relationship between polyphenol content and the quality and stability of virgin olive oil. Grasas Aceites, 28, 101-106.

GUTIERREZ, R., JANER DEL VALE, C., GUTIERREZ, F., VAZQUEZ, A., 1997.

Relacion entre los polifenoles y la calidad y estabilidad del aceite de oliva virgen. Grasas Aceites, 28, 101-106.

GUTIERREZ, F., ALBI, M. A., PALMA, R., RIOS, J. L., OLIAS, J. M., 1989. Bitter taste of virgin olive oil; correlation of sensory evaluation and instrumental HPLC analysis. J. Food Sci., 54, 68-70

GUTIERREZ, S., PERDIGUERO, R., OLIAS, J. M., 1992. Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 69, 394-395.

HEHN, V., 1998. Zeytin, Üzüm ve İncir. Çeviren Necati Açа. Dost Kitabevi Yayınları Ankara, 112s

IBANEZ, E., HURTADO BENAVIDES, A. M., SENORANS, F. J., REGLERO, G., 2002. Concentration of sterols and tocopherols from olive oil with supercritical carbon dioxide. J. Am. Oil Chem. Soc., 79, 1255-1260.

KELLY, G. S., 1999. Squalene andits potential clinical uses. Alternative Med. Rev., 4, 29-36.

KIRITSAKIS, A., MARKASIS, P., 1987. Olive oil: a review. Adv. Food Res., 31, 453-82.:453-82.

LEE, M. L., MARKIDES, K. E., 1987. Science, 235-1345

MAHESHWARI, P., NIKOLOV, Z. L., WHITE, T. M., and HARTEL, R., 1992. Solubility of Fatty Acids in Supercritical Carbon Dioxide. JAOCS, 69, 11.

MAJEWSKI, W., MENGAL, P., PERRUT, M., ECALERD, J. P., 1994. Supercritical Fluid Fractionation of Butter Oil. Supercritical Flıid Prosessing of Food and Biomaterials, 123-132.

MANNINEN, P., KALLIO, H., 1197. Supercritical fluid chromatography-gas chromatography of volatiles in cloudberry (Rubus chamaemorus) oil extracted with supercritical carbon dioxide. J Chromatography, 787, 276-282.

MARGARI, M. T., OKOGERI, O., 2001. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. Food Chemistry, 74, 377-383.

MULINACCI, N., ROMANI, A., GALARDI, C., PINELLI, P., GIACCHERINI, C. and VINCIERI, F. F., 2001. J. Agric. and Food Chem., 3510-3514.

MONTEDORO, G., SERVILI, M., BADIOLI, M., and MINIATI, E., 1992. Simple and Hydrolyzable Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 1. Their Extraction, Seperation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC. J. Agric. Food Chem., 40, 1571-1576.

MONTEDORO, G., 1972. Sci. Tecnol. Alimenti, 2, 177-186.

MONTEDORO, G., CANTARELLI, C., 1969. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 46, 115-124.

MURKOVIC, M., LECHNER, S., PIETZKA, A., BRATACOS, M., KATZOGIANNOS, E., 2004. Analysis of minor components in olive oil. J. Biochem. Biophys. Methods, 61, 155-160

OWEN, R. W., GIACOSA, A., HULL, W. E., HAUBNER, R., SPIEGELHALSER, B., BARTSCH, H., 2000. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eur. J. Cancer, 36, 1235-1247

OWEN, R. W., GIACOSA, A., HULL, W. E., HAUBNER, R., WURTELE, G., SPIEGELHALDER, B., BARTSCH, H., 2000. Olive-oil consumption and health: The possible role of antioxidants. Lancet Oncol., 1, 107-112.

PSOMIADOU, E., TSIMIDOU, M., BOSKOU, D., 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oils. J Agric. Food Chem., 48, 1770-5.

PSOMIADOU, E., TSIMIDOU, M., 2002. Agric. Food Chem., 50(4), 716-721.

RYAN, D., ROBARDS, K., and LAVEE, S., 1999. Determination of phenolic compounds in olives by reversed-phase chromatography and mass spectrometry.
Journal of Chromatography A, 832, 87-96.

RYAN, D., ROBARDS, K., and LAVEE, S., 1999. Changes in phenolic content of olive during maturation. International Journal of Food Science and Technology, 34, 265-274.

SHAHIDI, F., and NACZK, M., 1995. Methods of analysis and quantification of phenolic compounds. In: Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancester, PA: Technomic.

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., and NIEMAN, T. A., 1998, Principles of

Instrumental Analysis (E, Kılıç, F, Köseoğlu, H, Yılmaz). 5. baskı, Özkan Matbaası, Ankara, s.768-776.

SMITH, T. J.,YANG, G. Y., SERIL, D. N., LIAO, J., KIM, S.,1998. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. Carcinogenesis, 19, 703-706.

SOLOMONS, T. W. G., ve FRYHLE B. C., 2000. Organic Chemistry (G, Okay, Y, Yıldırır). 7. baskı, Mart Matbaacılık, İstanbul, s1144-1147.

STAMPFER, M. J., RIMM, E.B., 1995. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. Am. J. Clin. Nutr., 62, 1365-1369.

TABERA, J., GUINDA, A., RUIZ-RODRIGEZ, A., SENORANS, F.J., IBANEZ, E.,ALBI, T., and REGLERO, G., 2004. Countercurrent Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of High-Added-Value Compounds from a Hexane Extract of Olive Leaves. J. Agric. Food Chem., 52, 4774-4779.

TSIMIDOU, M., 1998. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Ital. J. Food Sci., 10, 99-116

TSIMIDOU, M., BLAKES, G., and BOSKOU, D., 2003. Olive Oil. Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

TUCK, K. L., HAYBALL, P. J., 2002. Major phenolic compouns in olive oil: metabolism and health effects. J Nutr Biochem, 13, 636-44.

TUNALIOĞLU, R., 1995. "Önemli Zeytin Üreticisi Ülkelerin Zeytinciliği ile Türkiye Zeytinciliğinin Bazı Yönlerden Karşılaştırılması" Doktora Tezi. T.C. Başbakanlık. EİBGS. Yayın No:1. İzmir. Türkiye.

TUNALIOĞLU, R., 2003. " İç ve Dış Pazar Boyutu ile Türkiye Sofralık Zeytin Pazarlaması; Son Durum, Gelişmeler, Beklentiler…" Gemlik Zeytin Paneli, 13 Eylül 2003, Gemlik. Bursa, Türkiye.

UCEDA, M., HERMOSO, M., 1997. La calidad del aceite de oliva. In El cultivo del olivo; Barranco, D., Fernandez-Escobar, R., Rallo, L., Eds.; Junta de Andalucia: Seville, Spain.

VIOLA, P., and AUDISOU, M., 1987. Olive Oil and Health. International Olive Oil Council, p34.

WHO, 1993.

www. tariszeytin.com.tr
www.internationaloliveoil.org
www.chemicalogic.com

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Cumhuriyet İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Dervişpaşa Ortaokulu'nda ve lise öğrenimimi Şehit Öğretmen Orhan Gök Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde tamamladı. 2001 yılında Çukurova Üniversitesi Kimya Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2005 yılında tamamladı. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans programına kaydoldu.

EK-A

HESAPLAMALAR

İyot Değeri = [(B-S)*N*12,69]/m

B= Tanık için harcanan titrant, ml

S= Örnek için harcanan titrant, ml

N= Normalite $Na_2S_2O_3$

m= Örnek kütlesi, g

Serbest yağ asidi (oleik asit cinsinden), % = [(ml*N*28,2)/m]

Serbest yağ asidi (laurik asit cinsinden), % = [(ml*N*20,2)/m]

Serbest yağ asidi (palmitik asit cinsinden), % = [(ml*N*25,6)/m]

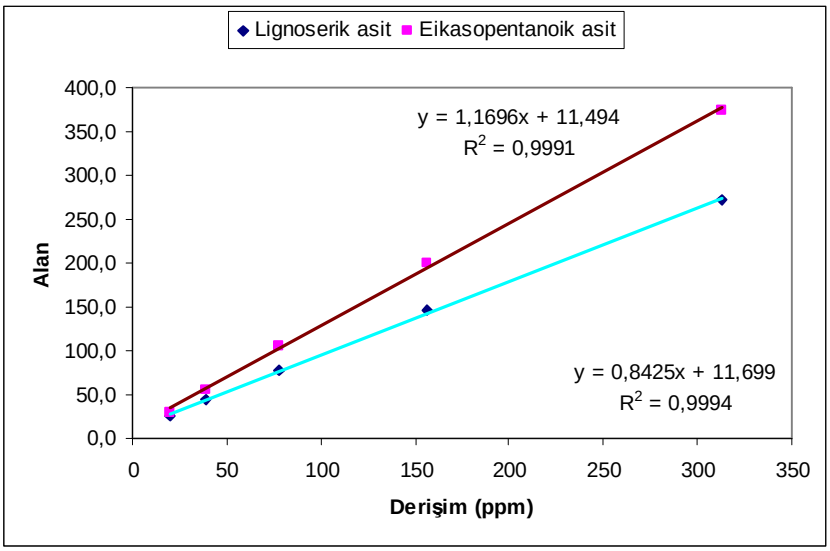
ml = Örnek için harcana NaOH'in hacmi, ml

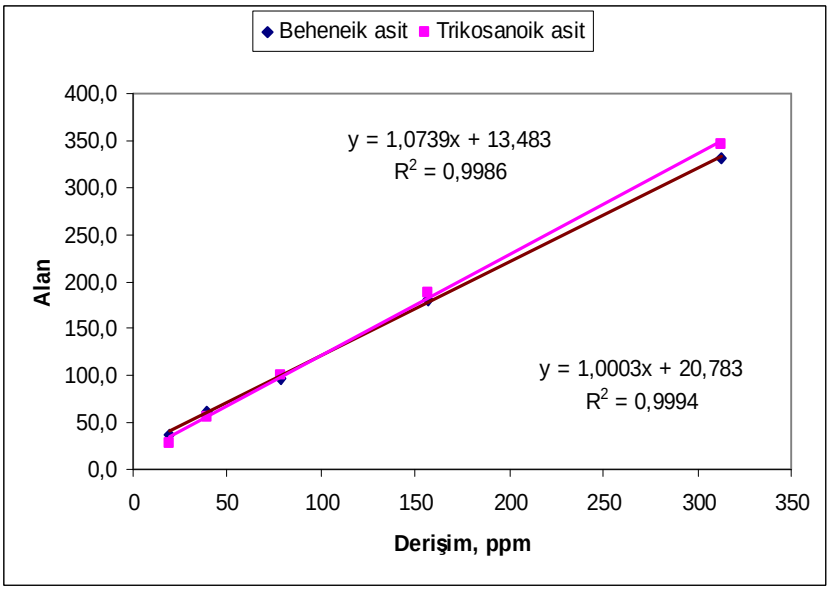
N = NaOH'in normalitesi

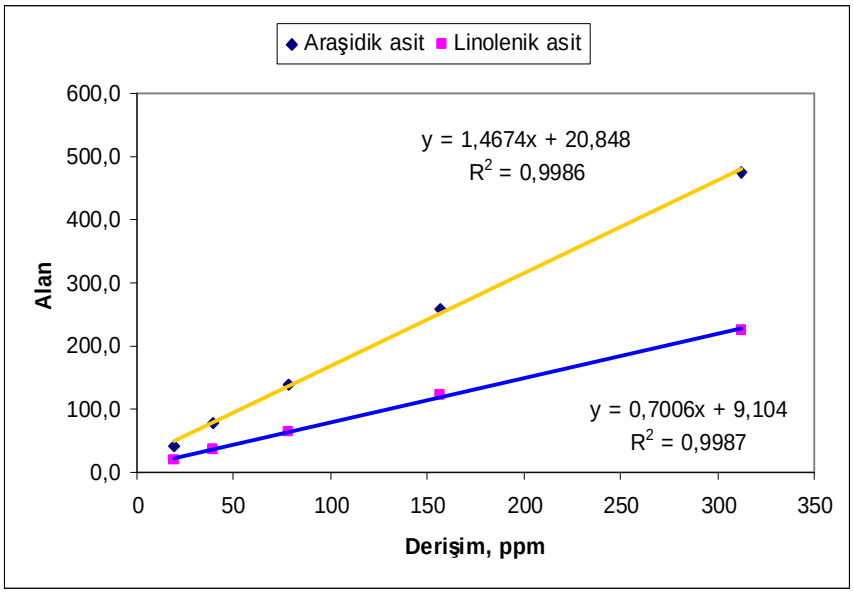
m= Örnek kütlesi

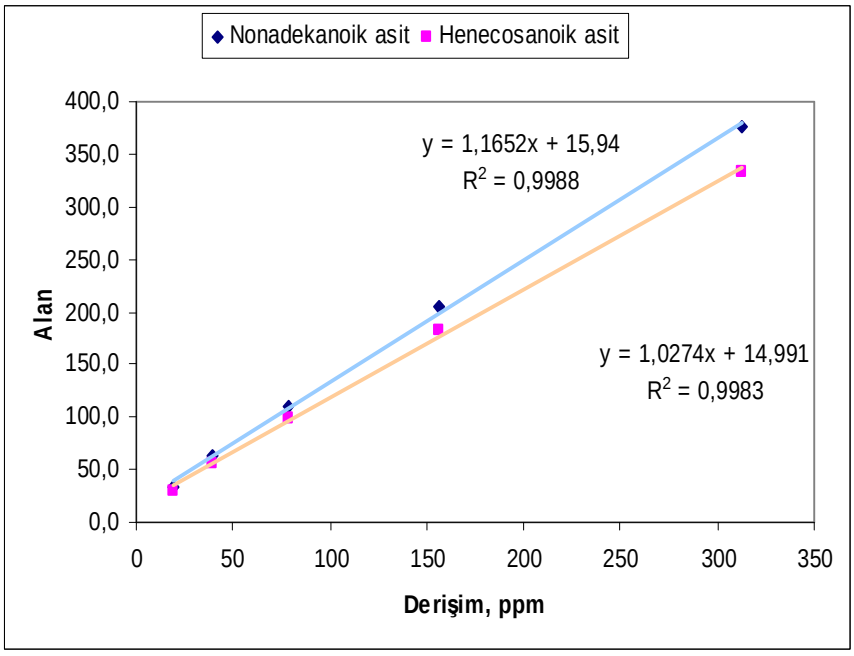
EK-B

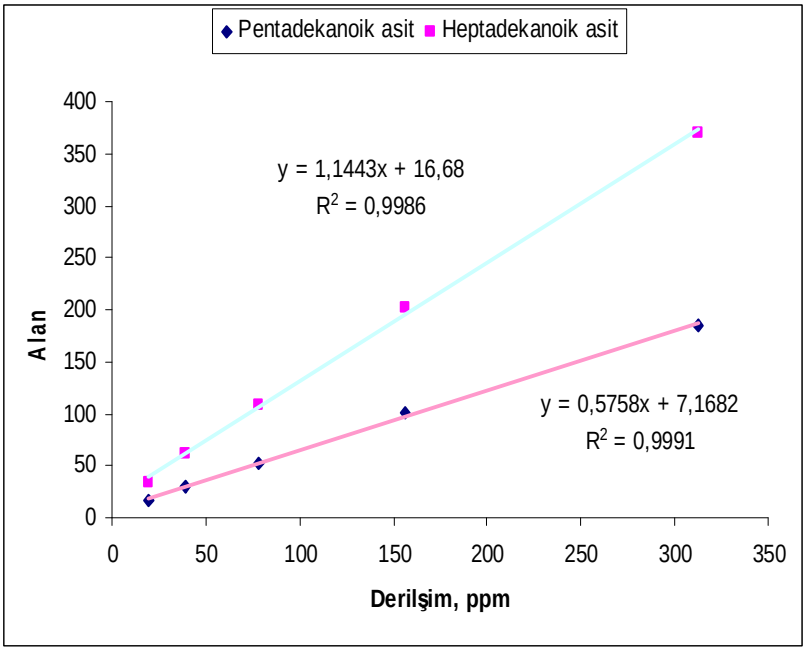
YAĞ ASİDİ STANDARTLARININ KALİBRASYON EĞRİLERİ

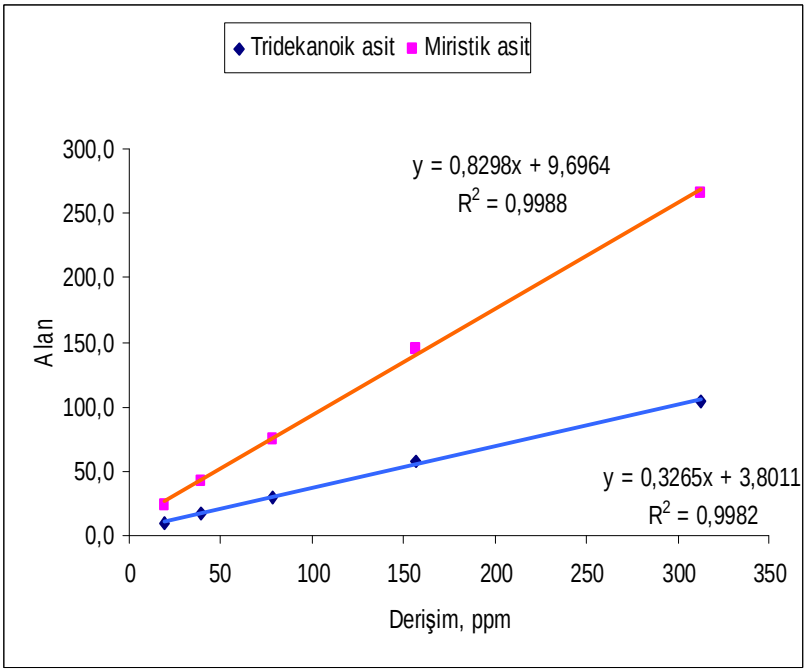


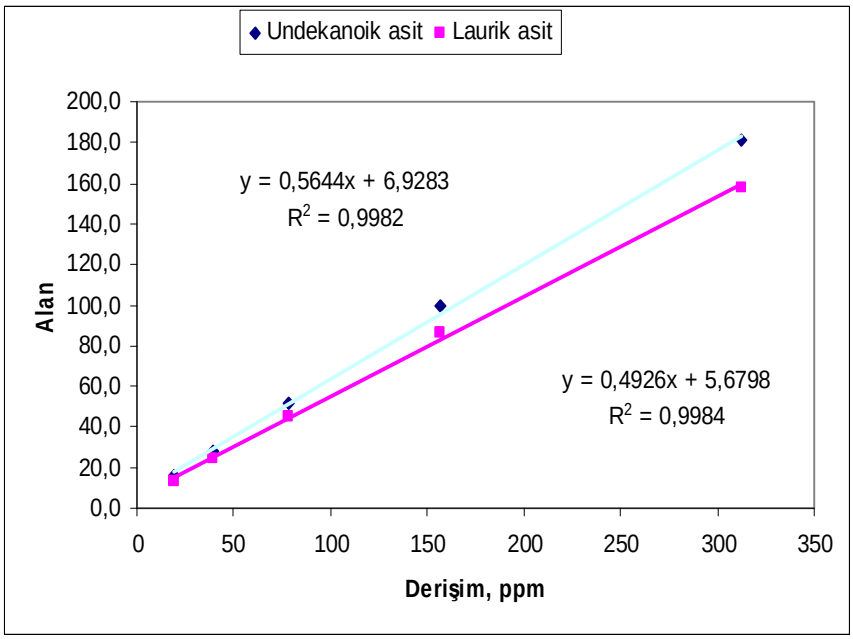


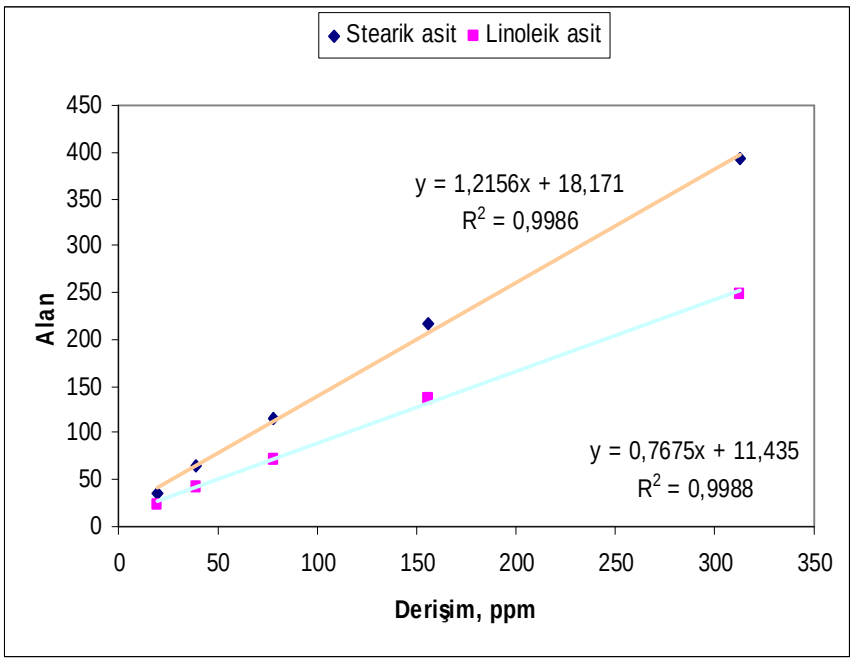

Araşidik asit
Linolenik asit
600,0
500,0
400,0
300,0
200,0
100,0
0,0
Alan
y = 1,4674x + 20,848
R2 = 0,9986
y = 0,7006x + 9,104
R2 = 0,9987
0
50
100
150
200
250
300
350
Derişim, ppm

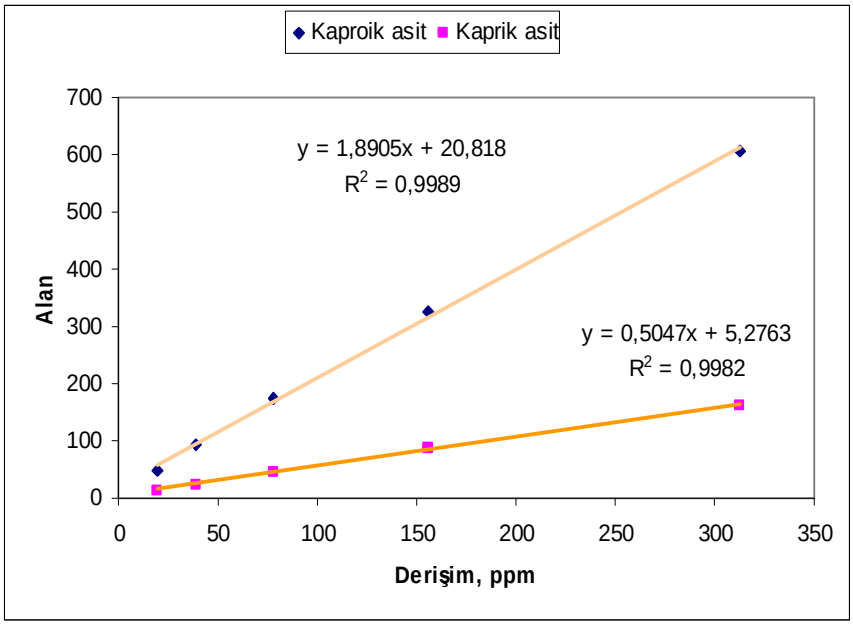

Nonadekanoik asit
Henecosanoik asit
400,0
350,0
300,0
250,0
200,0
150,0
100,0
50,0
0,0
Alan
y = 1,1652x + 15,94
R2 = 0,9988
y = 1,0274x + 14,991
R2 = 0,9983
0
50
100
150
200
250
300
350
Derişim, ppm

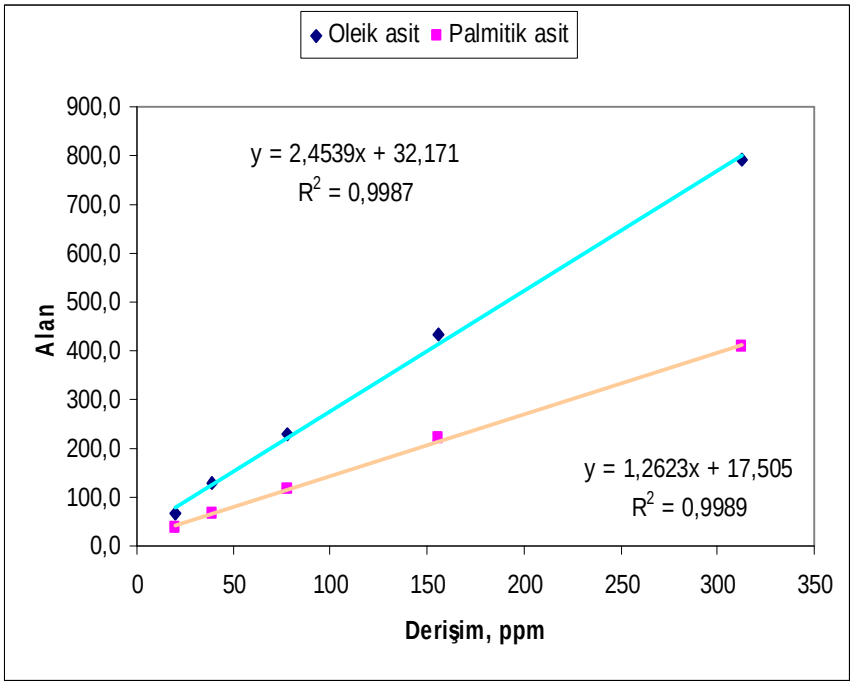

Pentadekanoik asit
Heptadekanoik asit
y = 1,1443x + 16,68
R2 = 0,9986
y = 0,5758x + 7,1682
R2 = 0,9991
Alan
Derilşim, ppm
0
50
100
150
200
250
300
350
400


Tridekanoik asit
Miristik asit
y = 0,8298x + 9,6964
R2 = 0,9988
y = 0,3265x + 3,8011
R2 = 0,9982
Alan
Derişim, ppm
0,0
50,0
100,0
150,0
200,0
250,0
300,0
0
50
100
150
200
250
300
350


Undekanoik asit
Laurik asit
200,0
180,0
160,0
140,0
120,0
100,0
80,0
60,0
40,0
20,0
0,0
Alan
y = 0,5644x + 6,9283
R2 = 0,9982
y = 0,4926x + 5,6798
R2 = 0,9984
0
50
100
150
200
250
300
350
Derişim, ppm

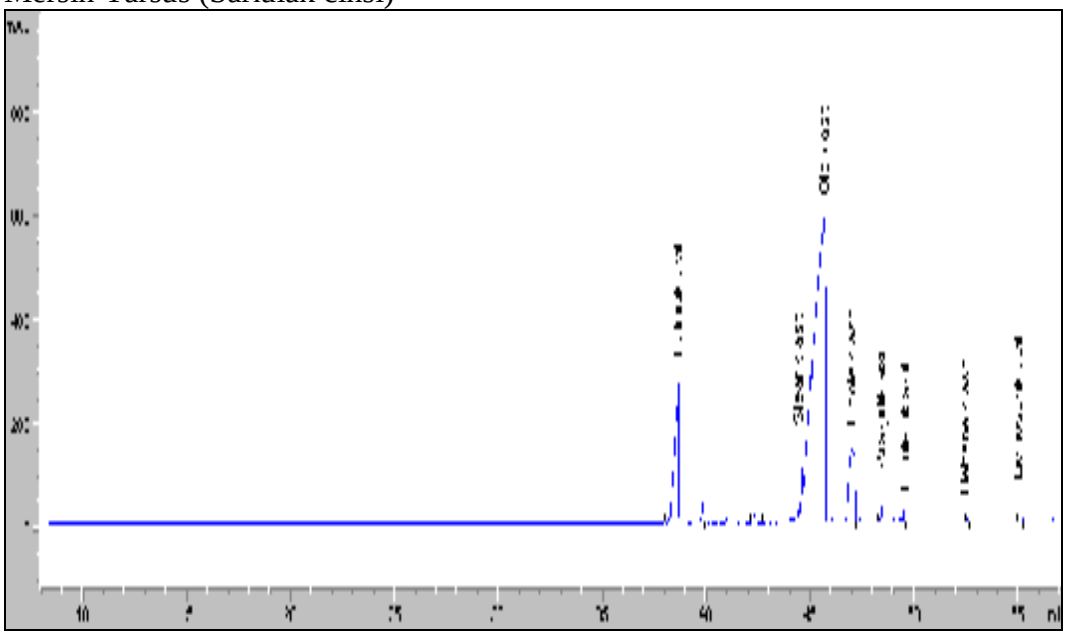

Stearik asit
Linoleik asit
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Alan
y = 1,2156x + 18,171
R2 = 0,9986
y = 0,7675x + 11,435
R2 = 0,9988
0
50
100
150
200
250
300
350
Derişim, ppm


Kaproik asit
Kaprik asit
y = 1,8905x + 20,818
R2 = 0,9989
y = 0,5047x + 5,2763
R2 = 0,9982
Alan
Derişim, ppm
0
100
200
300
400
500
600
700
0
50
100
150
200
250
300
350

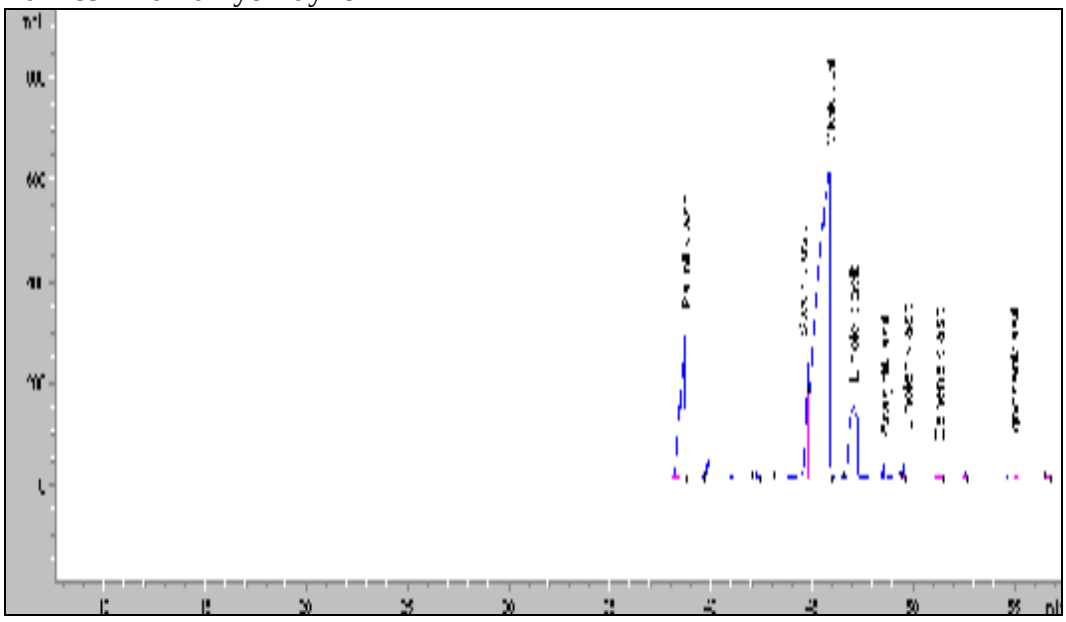

Oleik asit
Palmitik asit
y = 2,4539x + 32,171
R2 = 0,9987
y = 1,2623x + 17,505
R2 = 0,9989
Alan
Derişim, ppm
0,0
100,0
200,0
300,0
400,0
500,0
600,0
700,0
800,0
900,0
0
50
100
150
200
250
300
350

GC KROMATOGRAMLARI

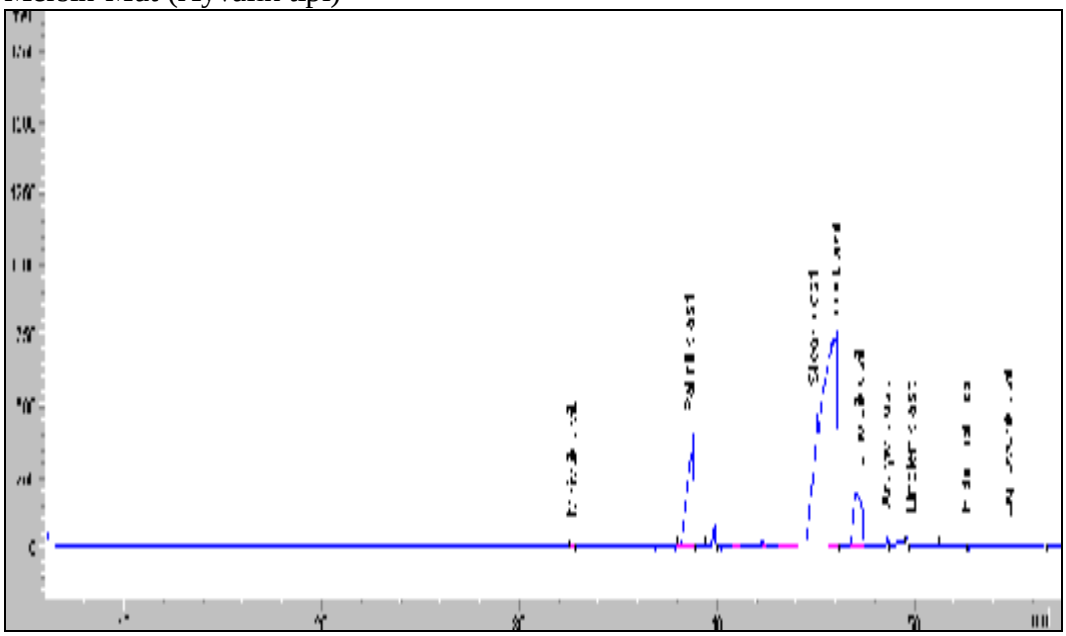
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi)



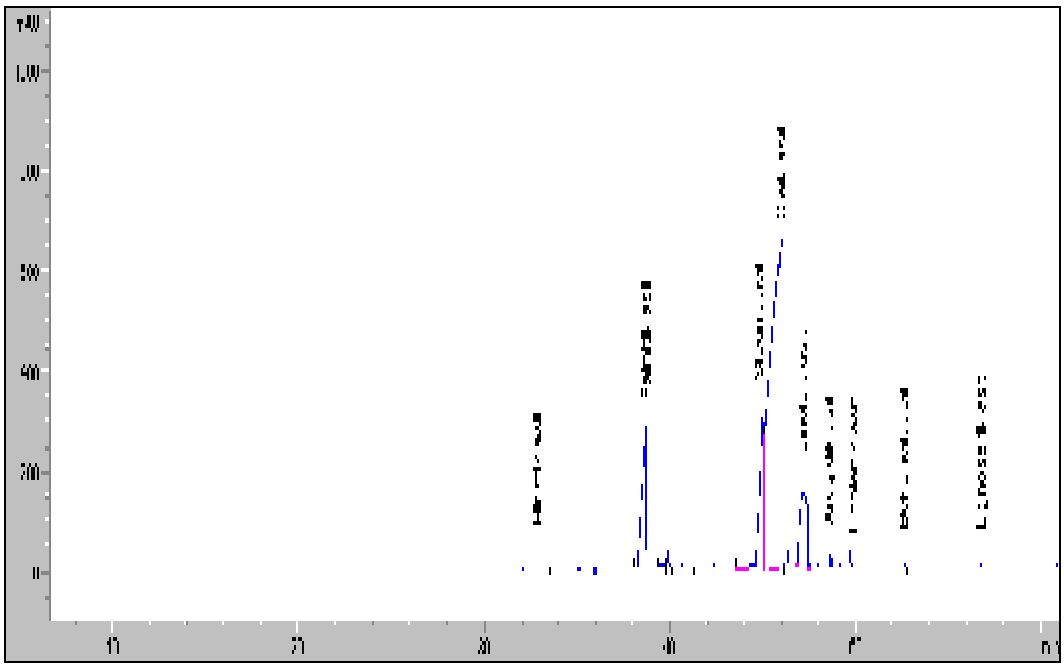
Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli



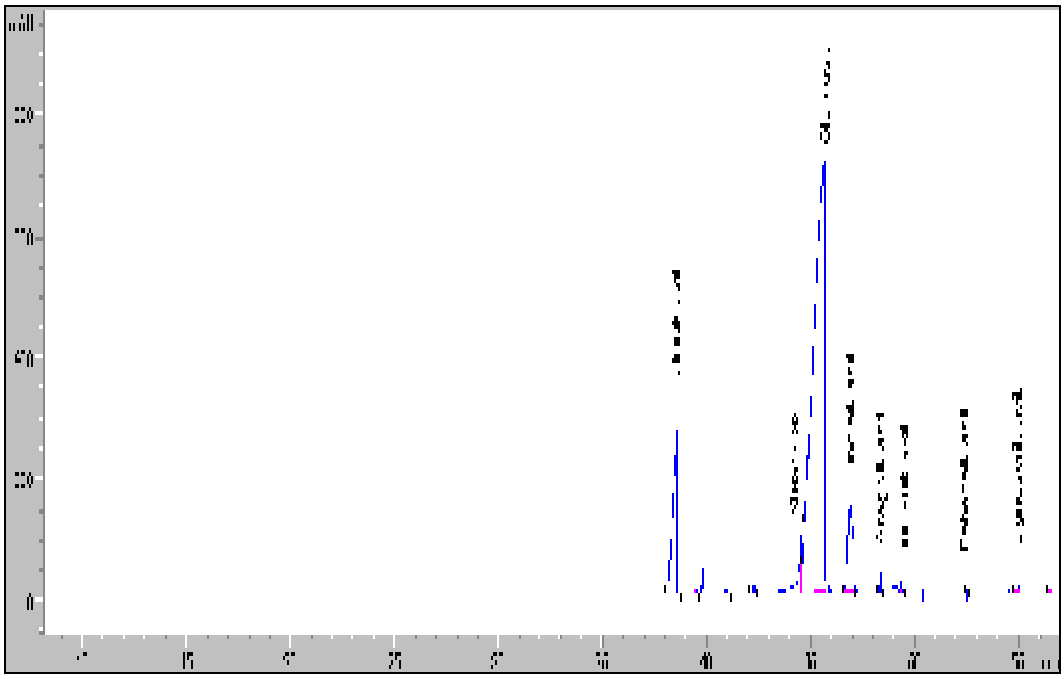
Mersin-Mut (Ayvalık tipi)



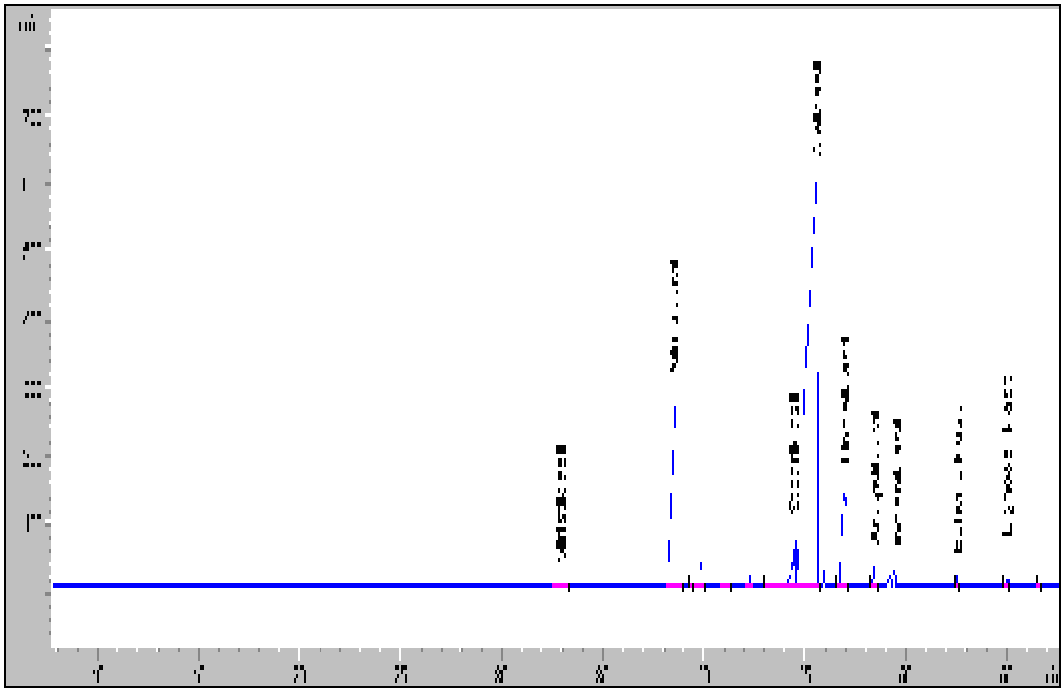
İzmir-Bornova



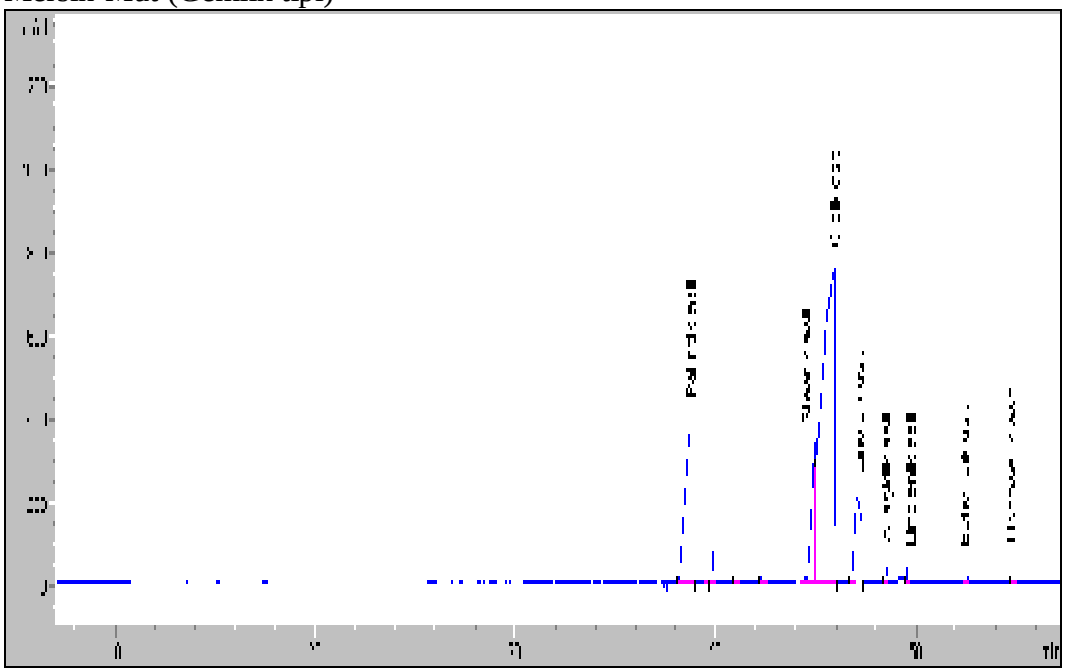
Bursa-İznik



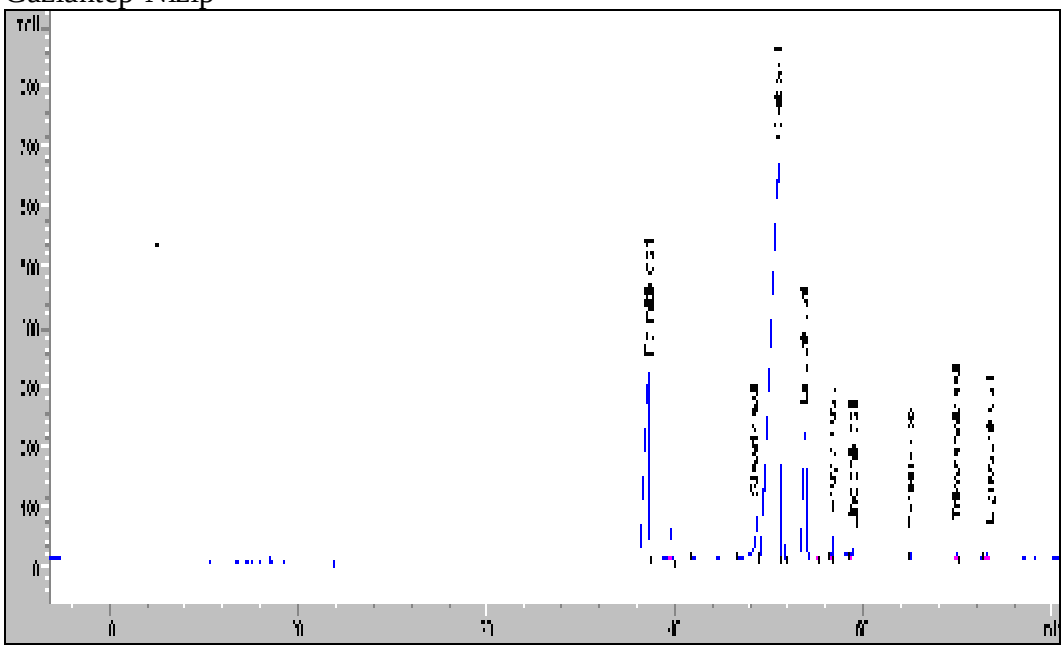
Balıkesir-Edremit



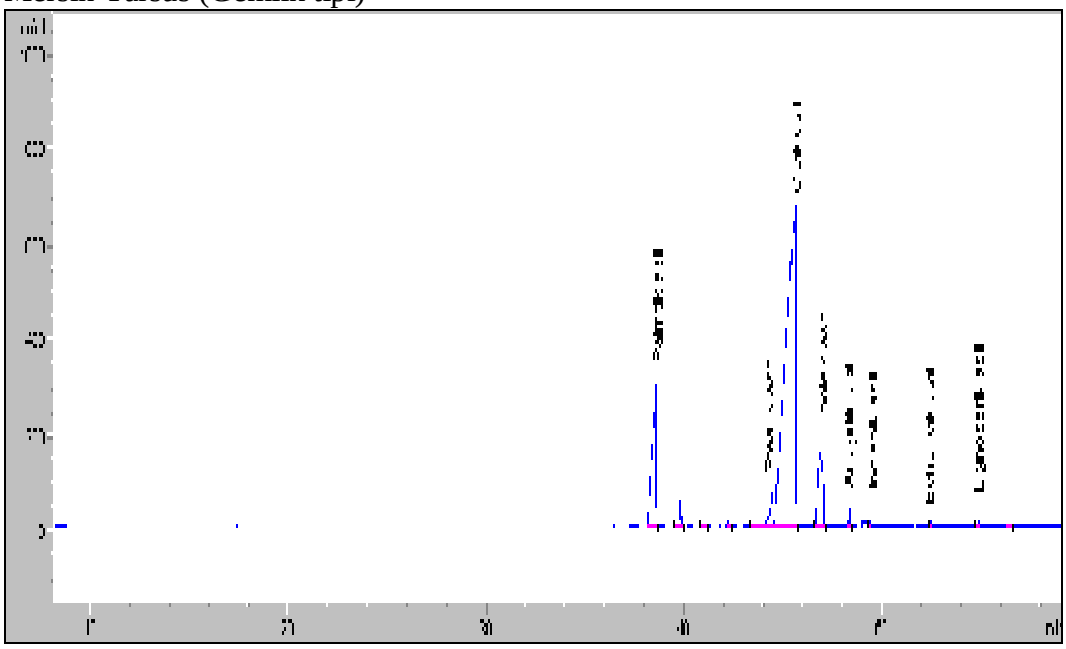
Mersin-Mut (Gemlik tipi)



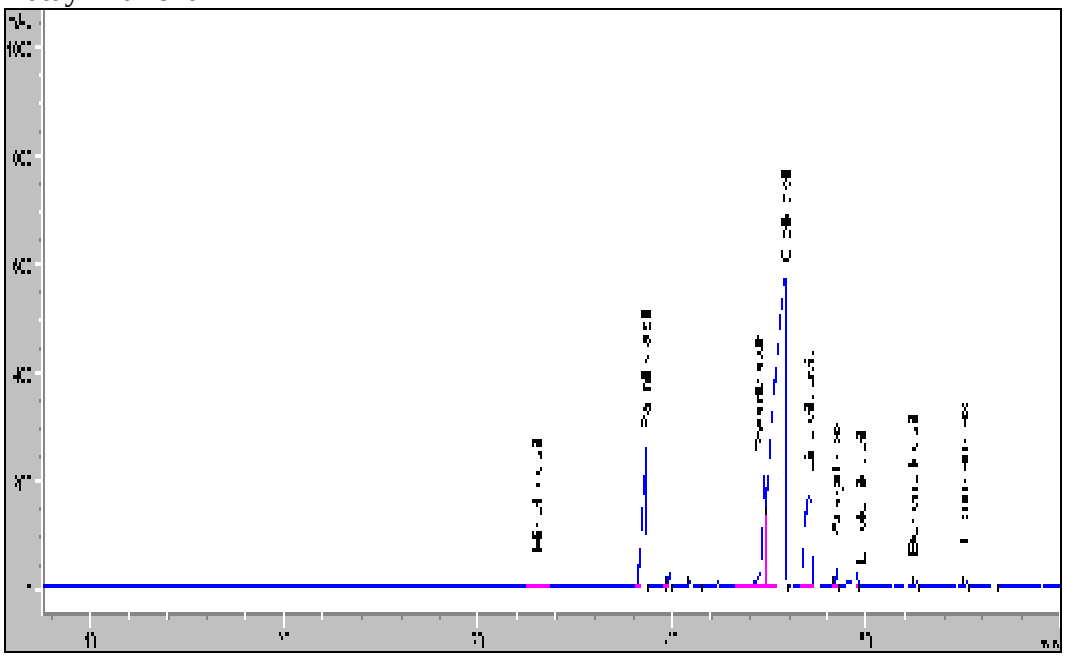
Gaziantep-Nizip



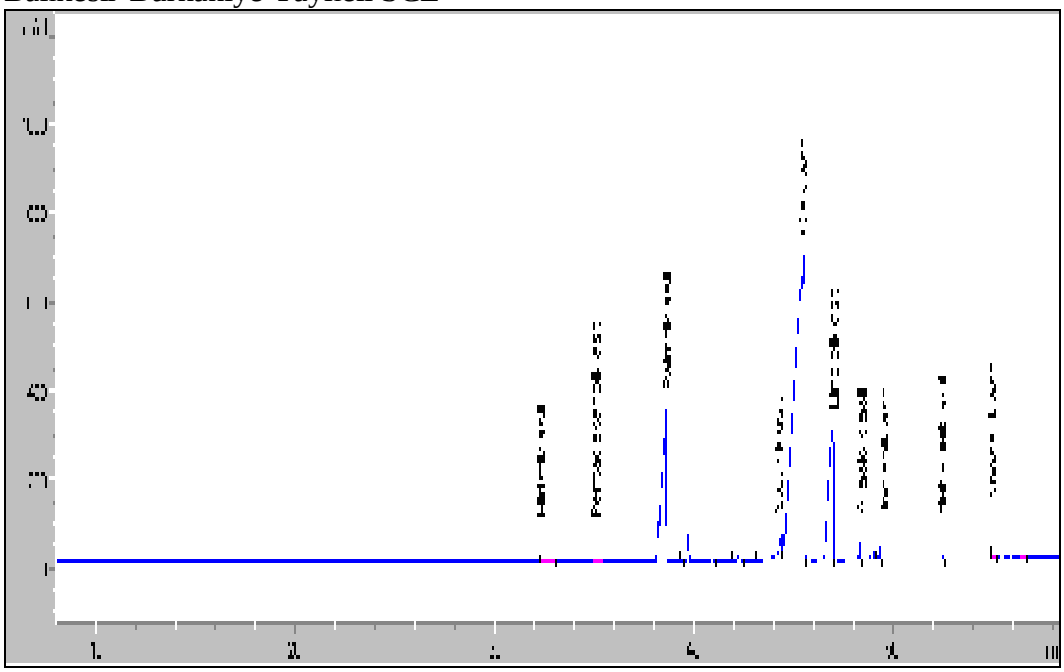
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi)



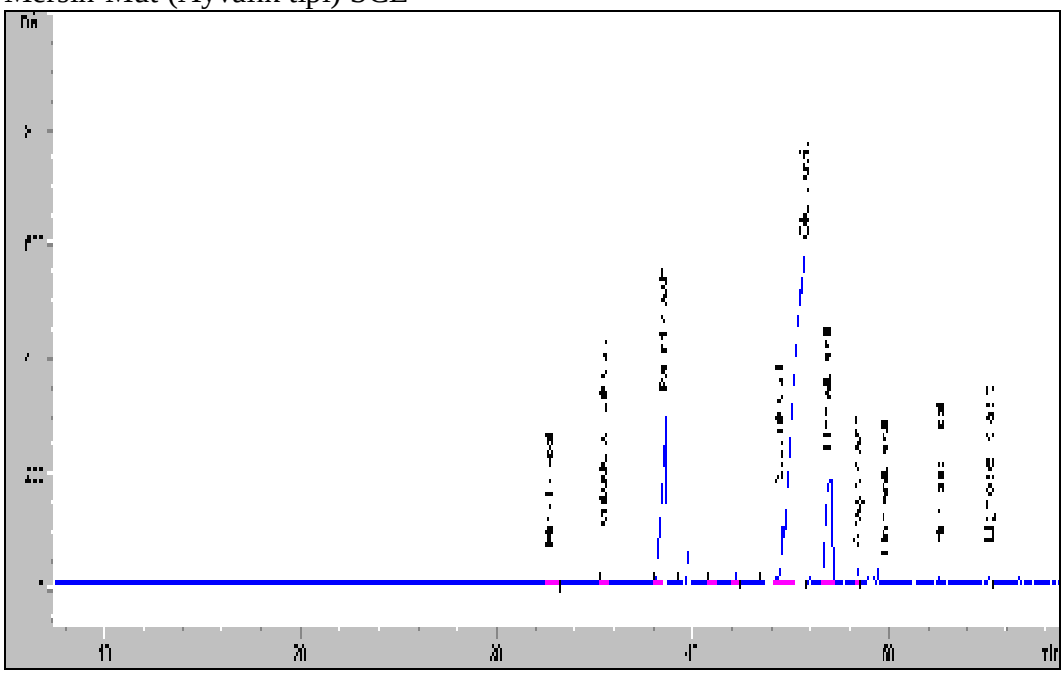
Hatay-Altınözü



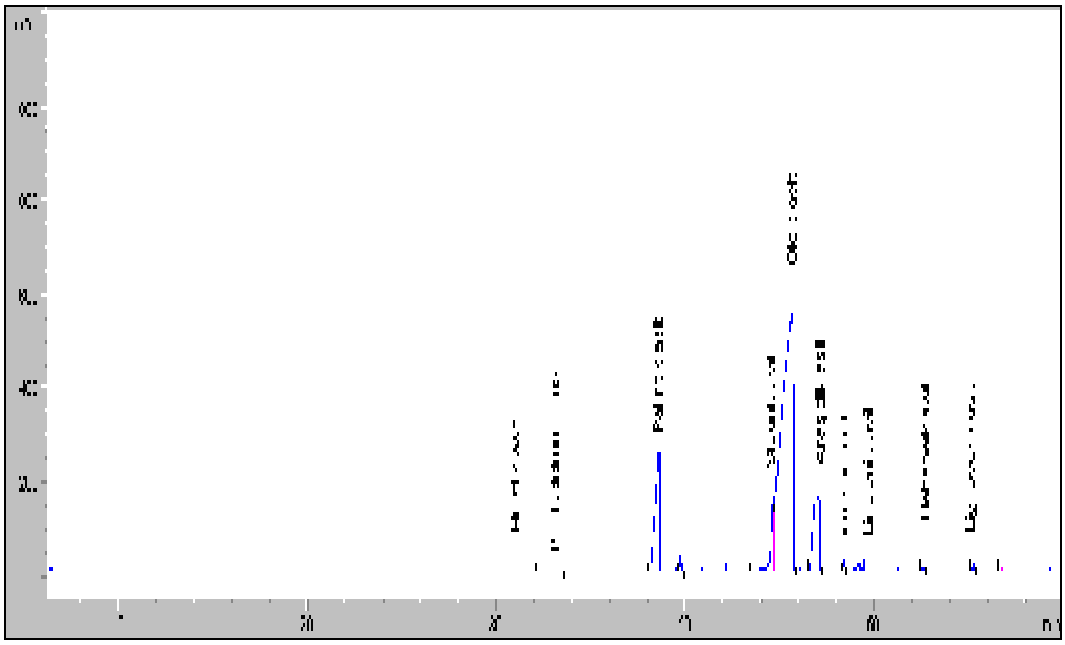
Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli SCE



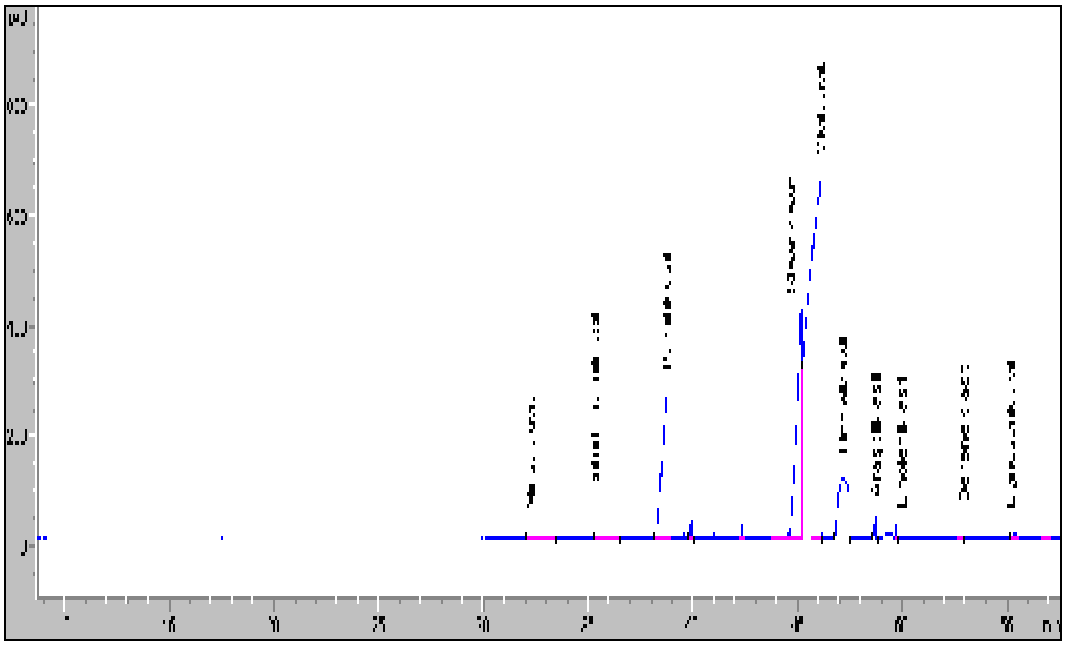
Mersin-Mut (Ayvalık tipi) SCE



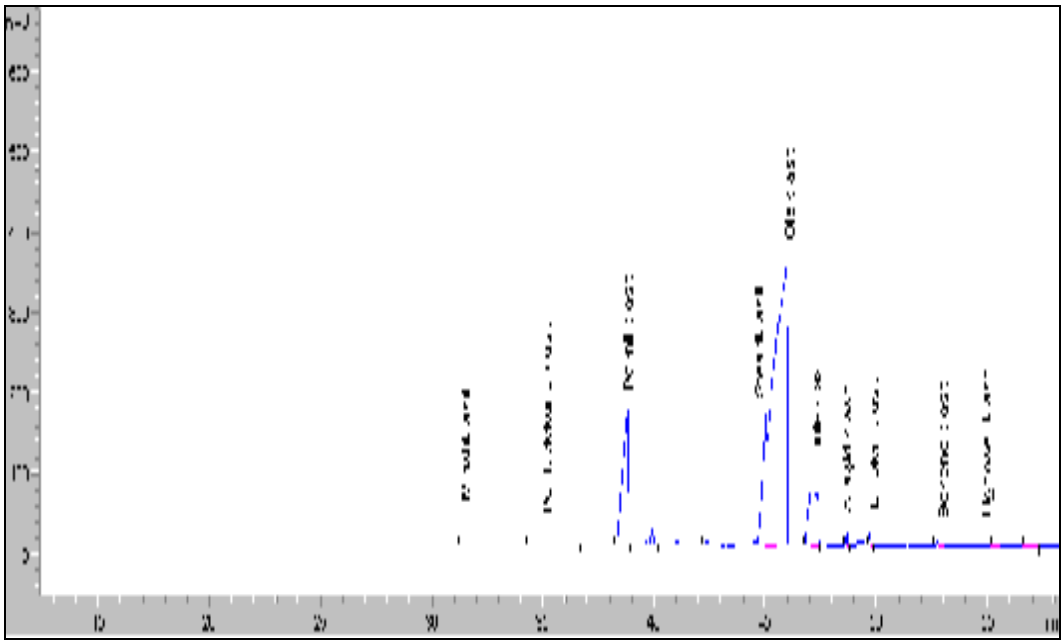
İzmir-Bornova SCE



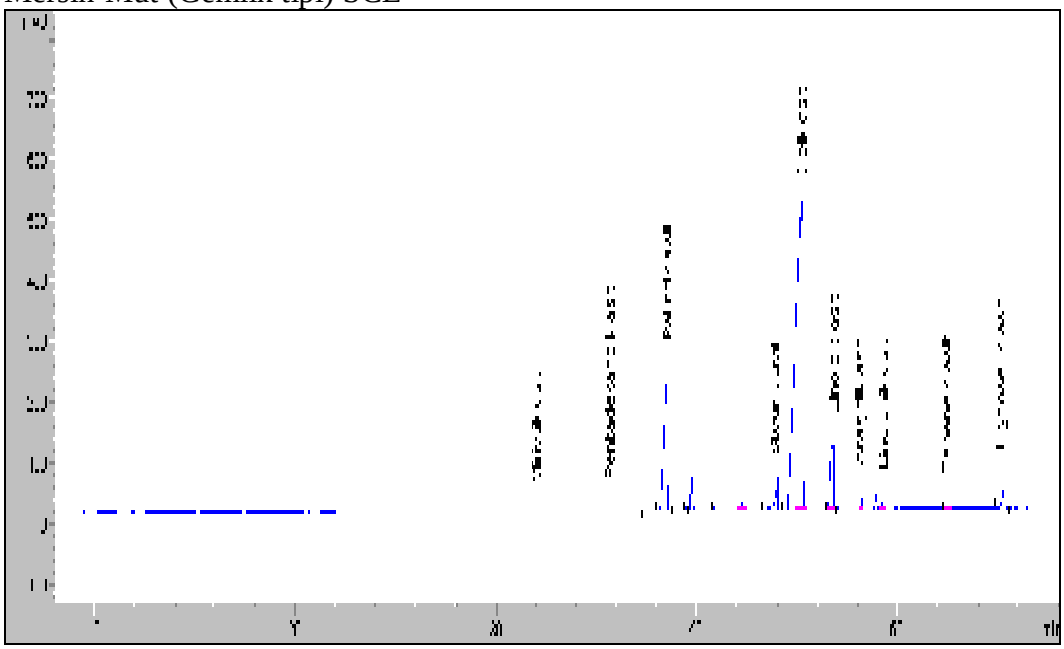
Bursa-İznik SCE



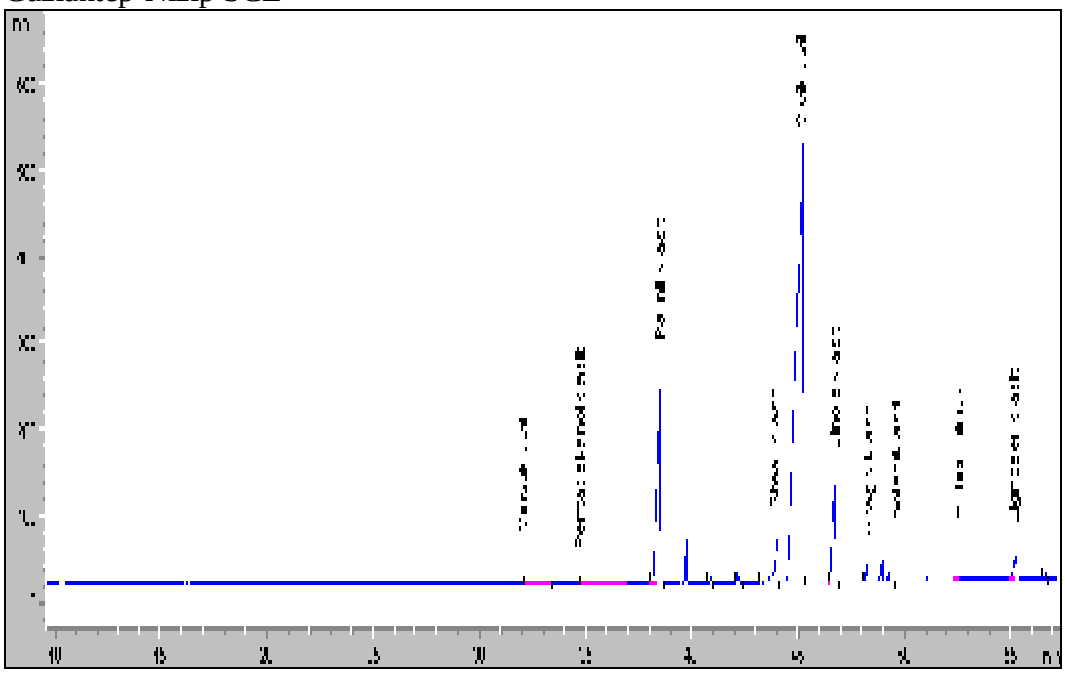
Balıkesir-Edremit SCE



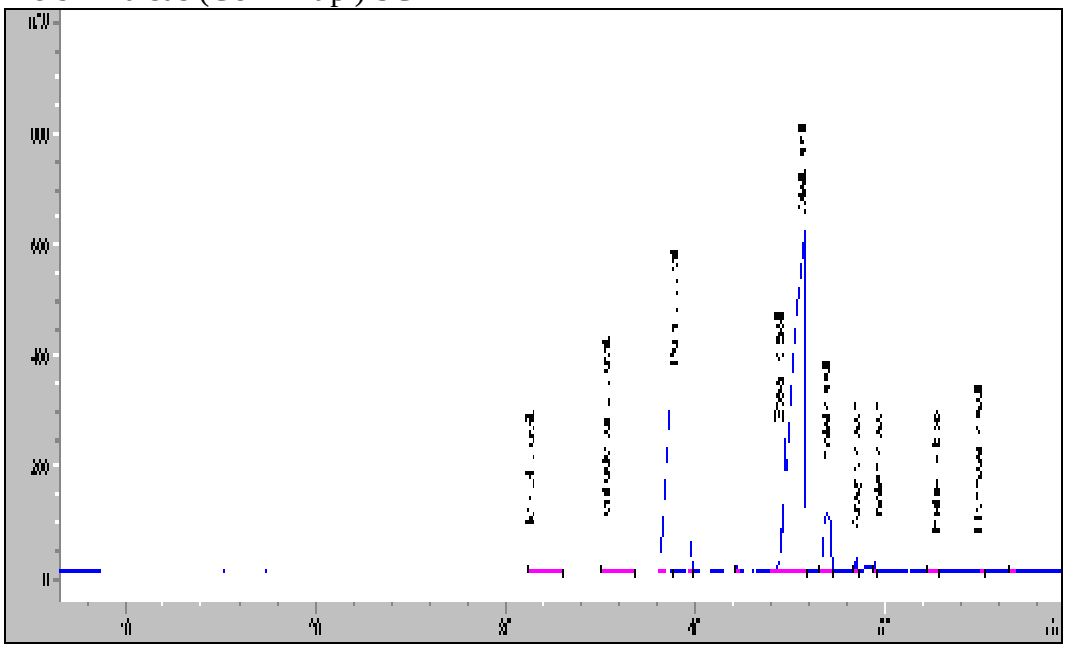
Mersin-Mut (Gemlik tipi) SCE



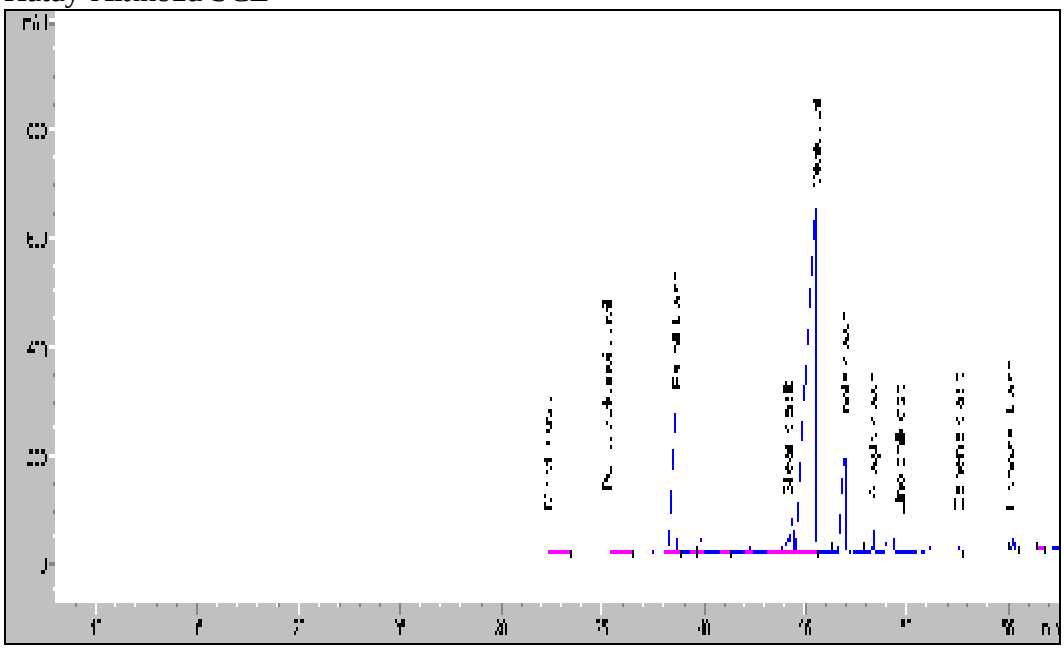
Gaziantep-Nizip SCE



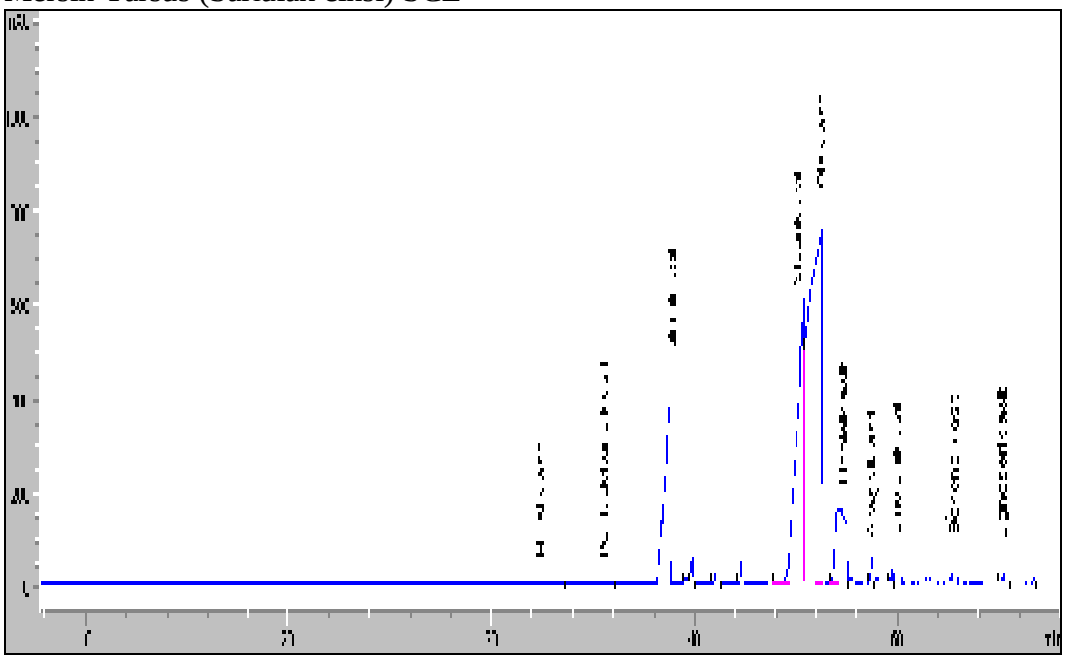
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) SCE



Hatay-Altınözü SCE



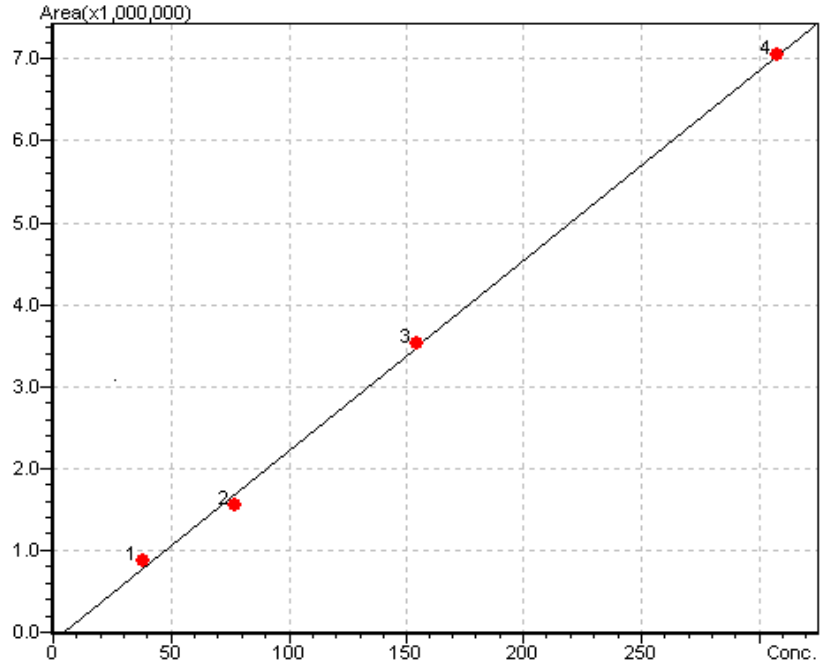
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) SCE



EK-C

BİYOFENOL STANDARTLARININ KALİBRASYON EĞRİLERİ

Kaffeik asit

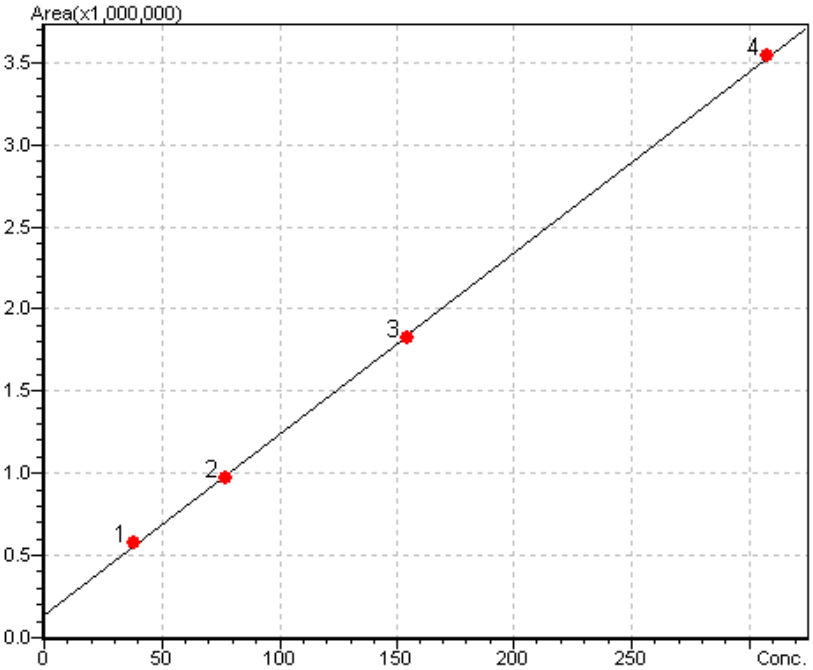


Y = aX + b
a = 23214.93
b = -105551.4
R^2 = 0.9987525
R = 0.9993761

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 22126.35
RF SD : 1366.635
RF %RSD : 6.176502

Katekol

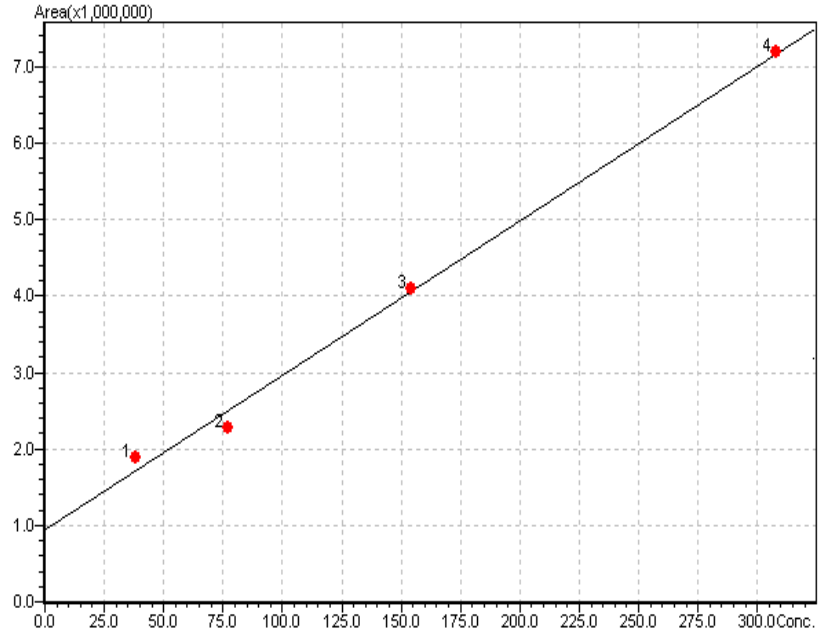


Y = aX + b
a = 11015.19
b = 137604.8
R^2 = 0.9999097
R = 0.9999549

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 12741.01
RF SD : 1568.073
RF %RSD : 12.30729

Ferrulik asit

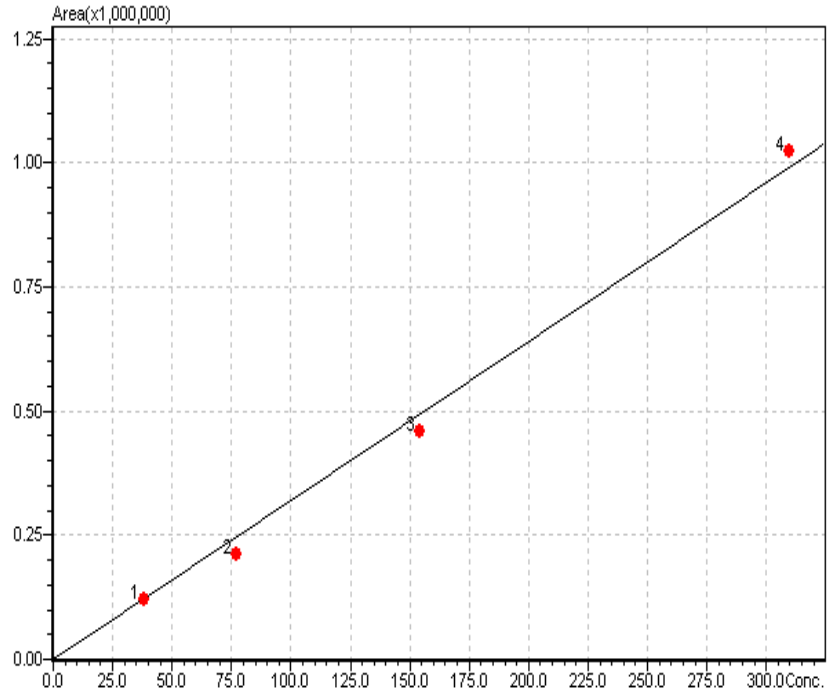


Y = aX + b
a = 20206.08
b = 941629.6
R^2 = 0.9958058
R = 0.9979007

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 32109.91
RF SD : 11502.05
RF %RSD : 35.82087

Gallik asit

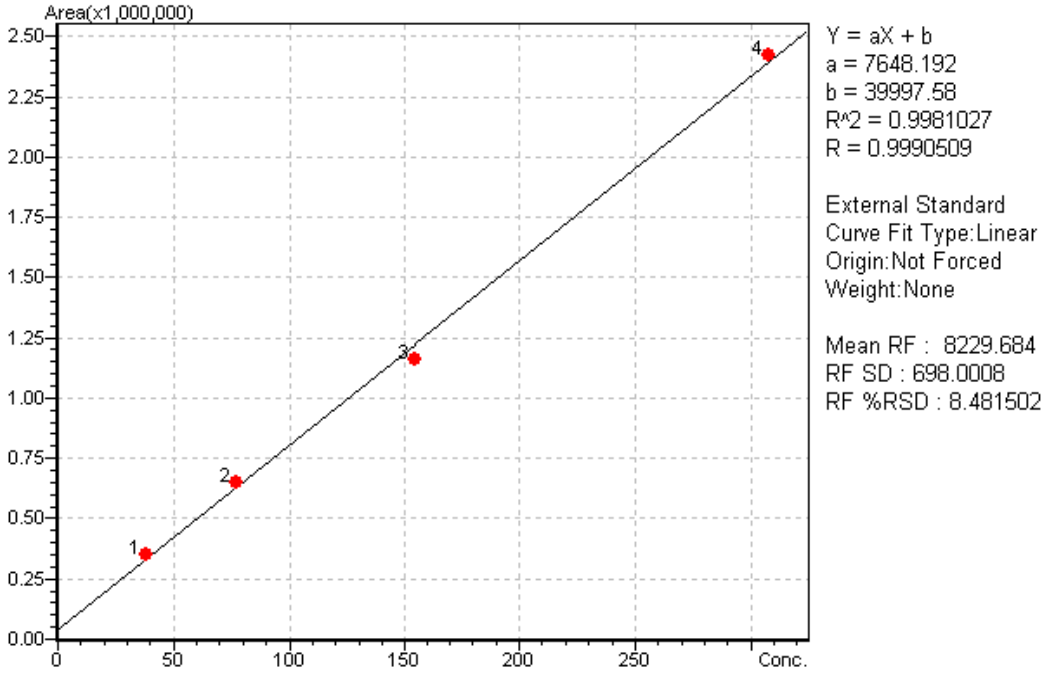


Y = aX
a = 320.0633
R^2 = 0.9844830
R = 0.9922112

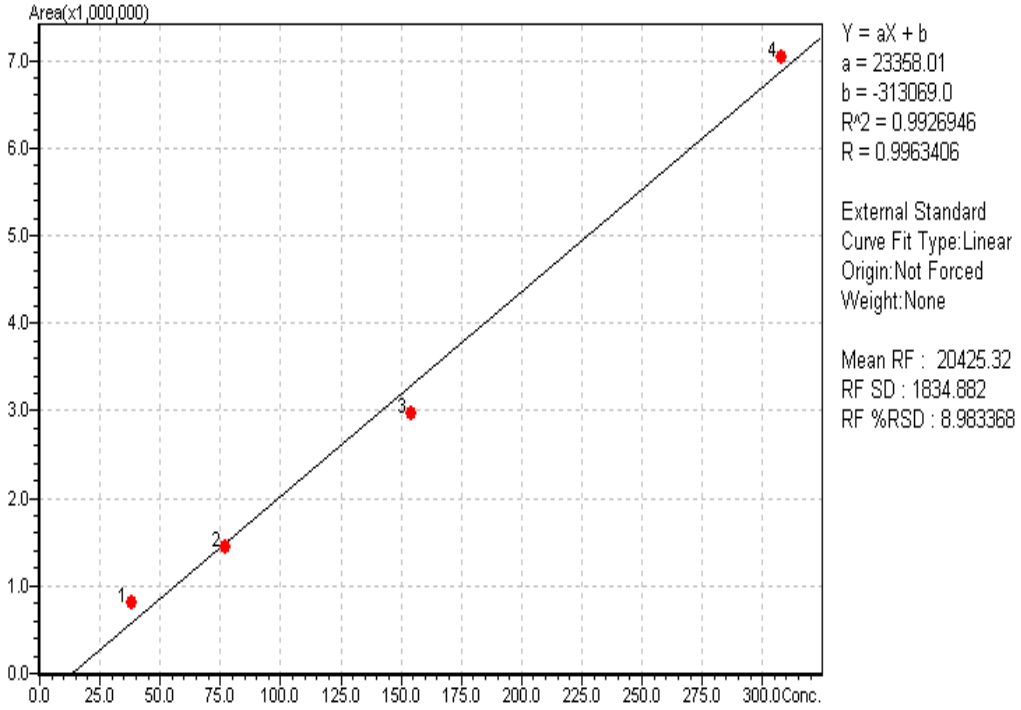
External Standard
Curve Fit Type:Mean RF
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 320.0633
RF SD : 50.71586
RF %RSD : 15.84557

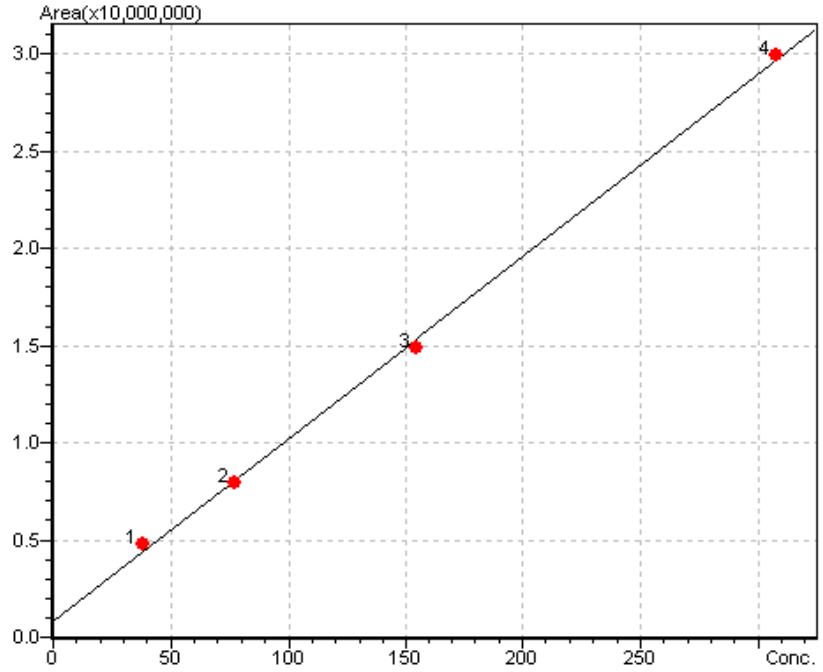
Homovanilik asit



Hidroksitirosol



o-Koumarik asit

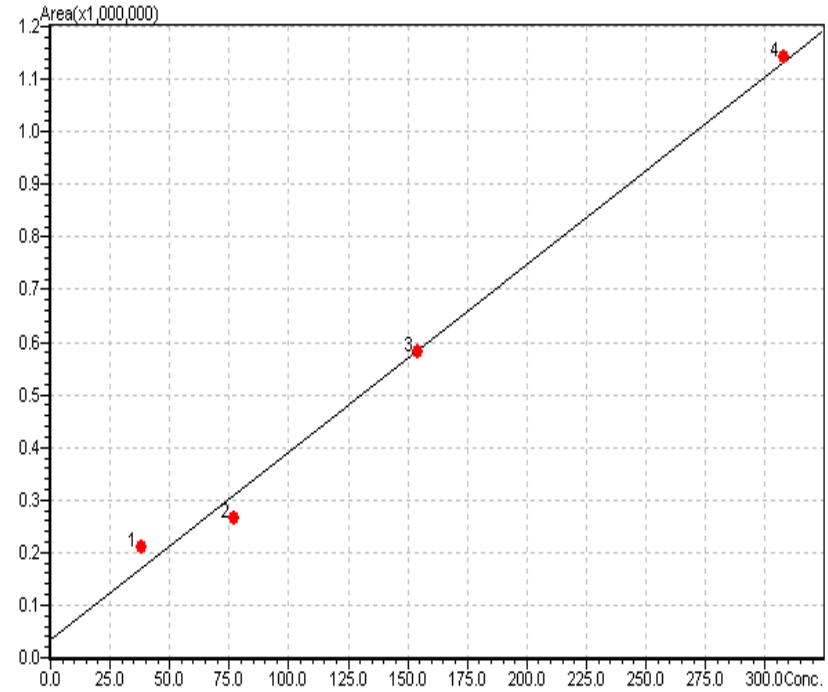


Y = aX + b
a = 93846.69
b = 823032.3
R^2 = 0.9992796
R = 0.9996397

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 105046.0
RF SD : 12519.30
RF %RSD : 11.91792

Oleuropein

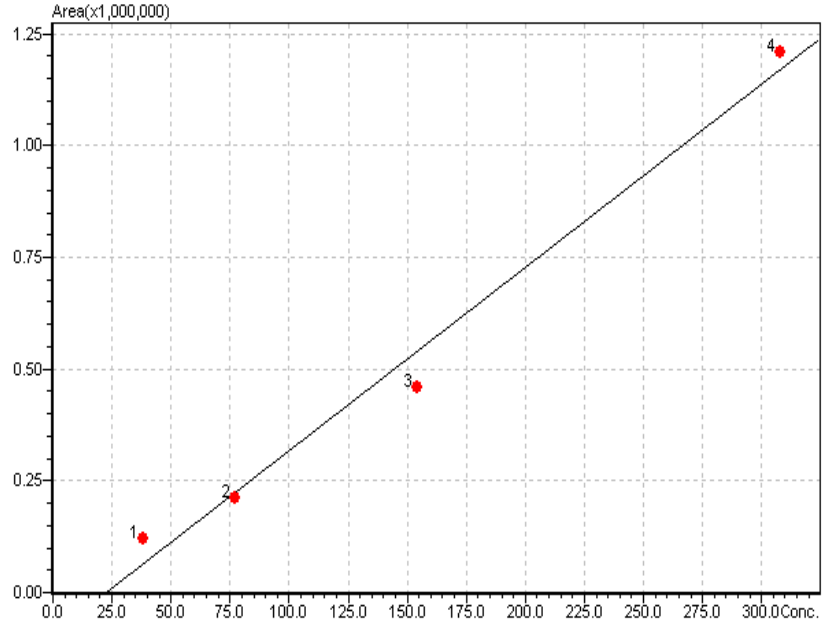


Y = aX + b
a = 3568.744
b = 34085.08
R^2 = 0.9933286
R = 0.9966587

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 4097.046
RF SD : 934.1226
RF %RSD : 22.79991

p-Koumarik asit

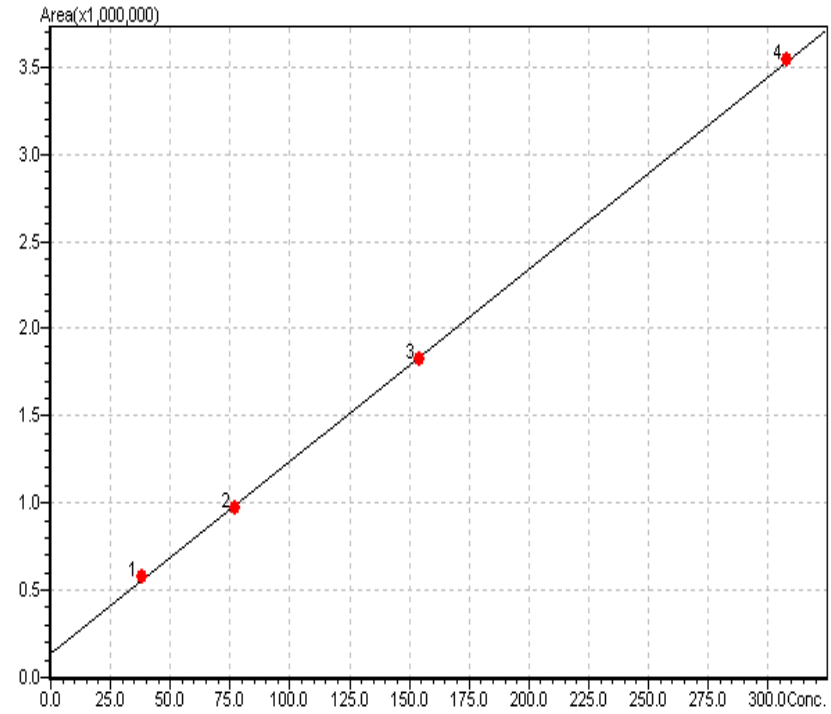


Y = aX + b
a = 410.0287
b = -9247.274
R^2 = 0.9844830
R = 0.9922112

External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 320.0633
RF SD : 50.71586
RF %RSD : 15.84557

p-Hidroksibenzoik asit

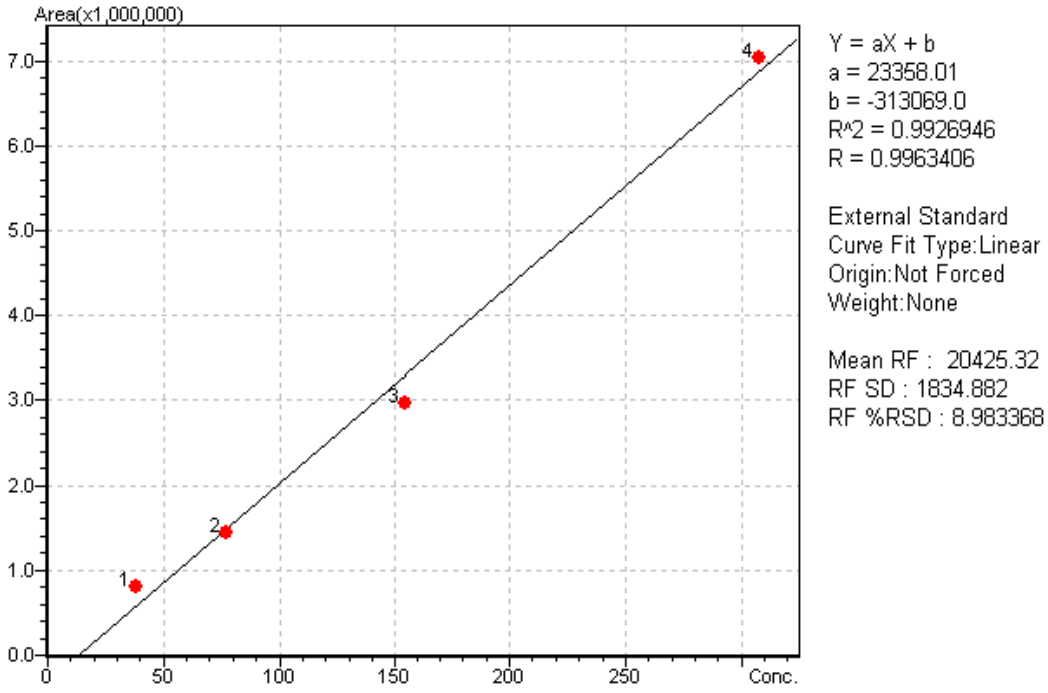


Y = aX + b
a = 11015.19
b = 137604.8
R^2 = 0.9999097
R = 0.9999549

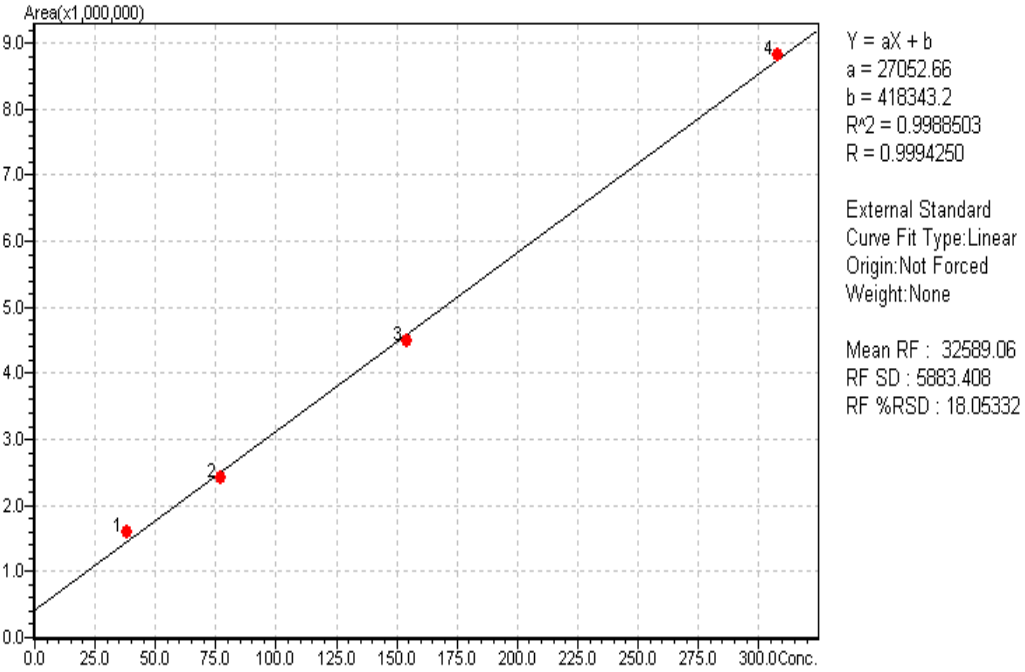
External Standard
Curve Fit Type:Linear
Origin:Not Forced
Weight:None

Mean RF : 12741.01
RF SD : 1568.073
RF %RSD : 12.30729

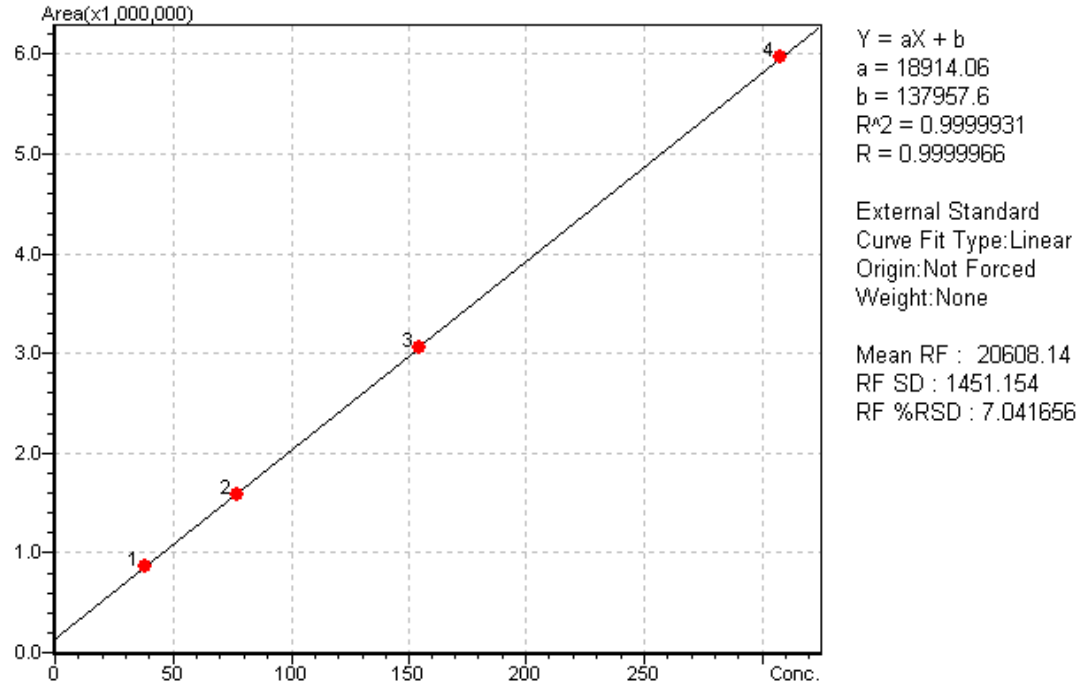
Protokatekhuic asit



Siyrincik asit

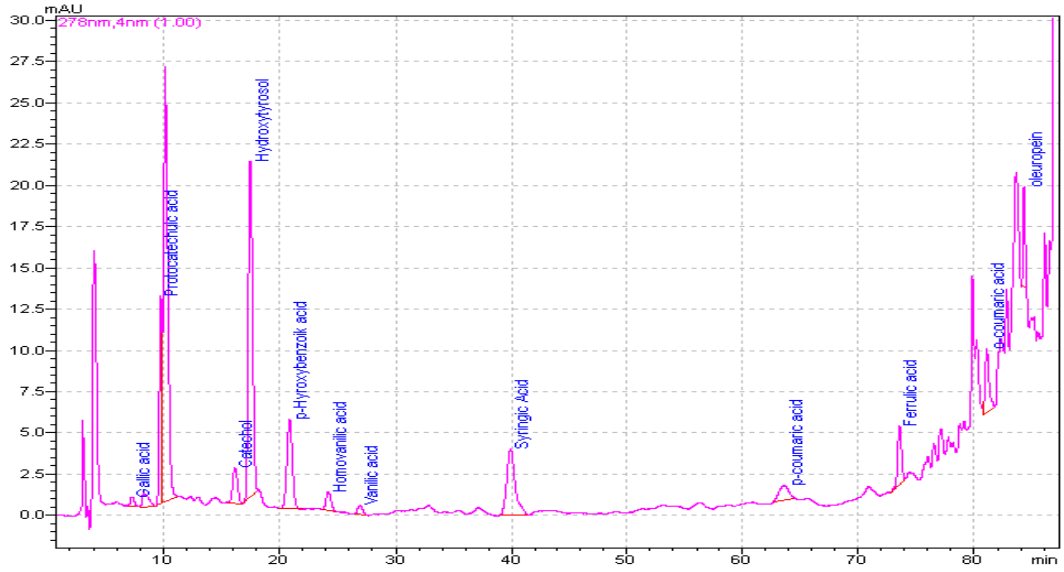


Vanilik asit

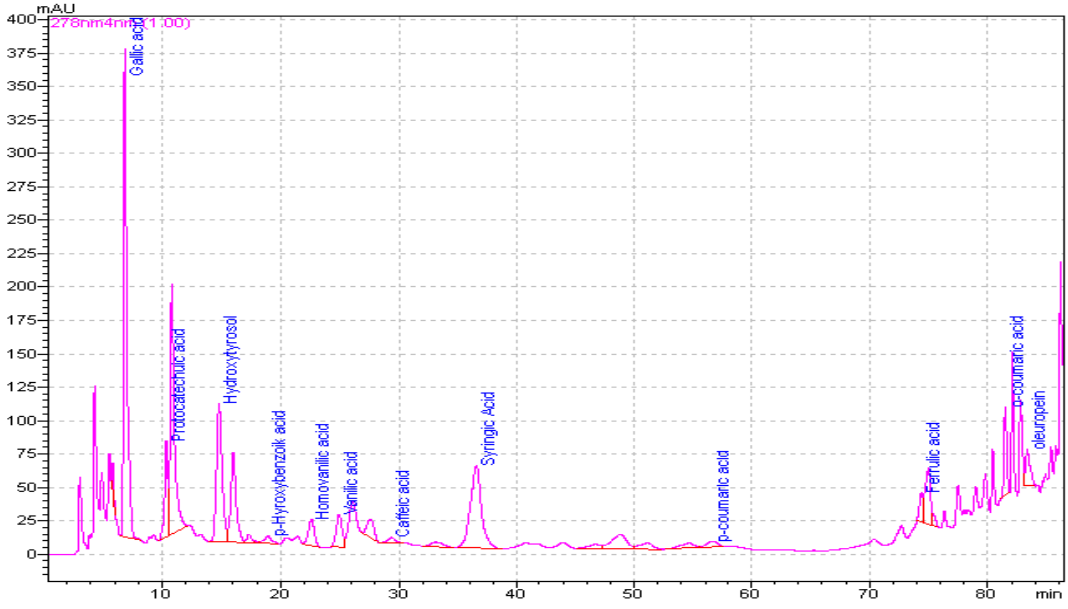


HPLC KROMATOGRAMLARI

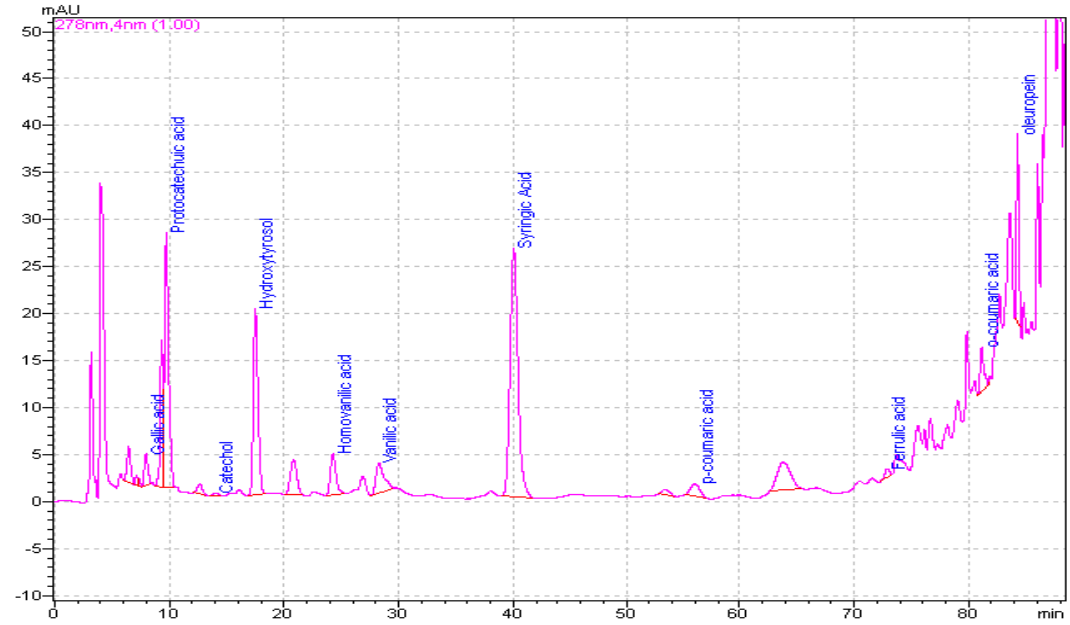
Hatay-Altınözü



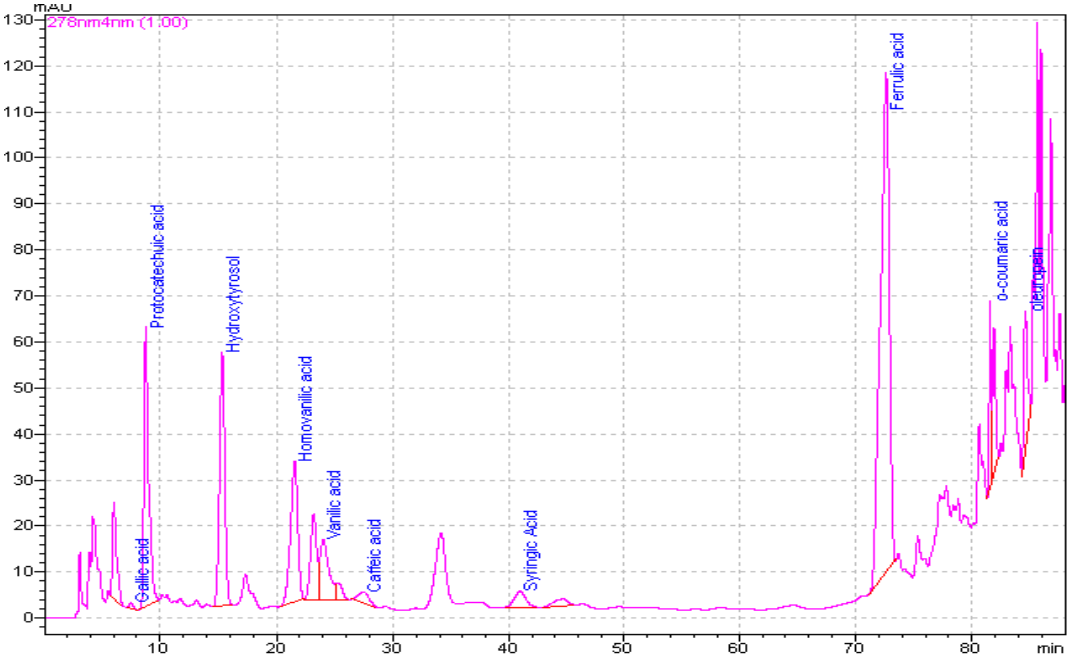
Hatay-Altınözü SCE



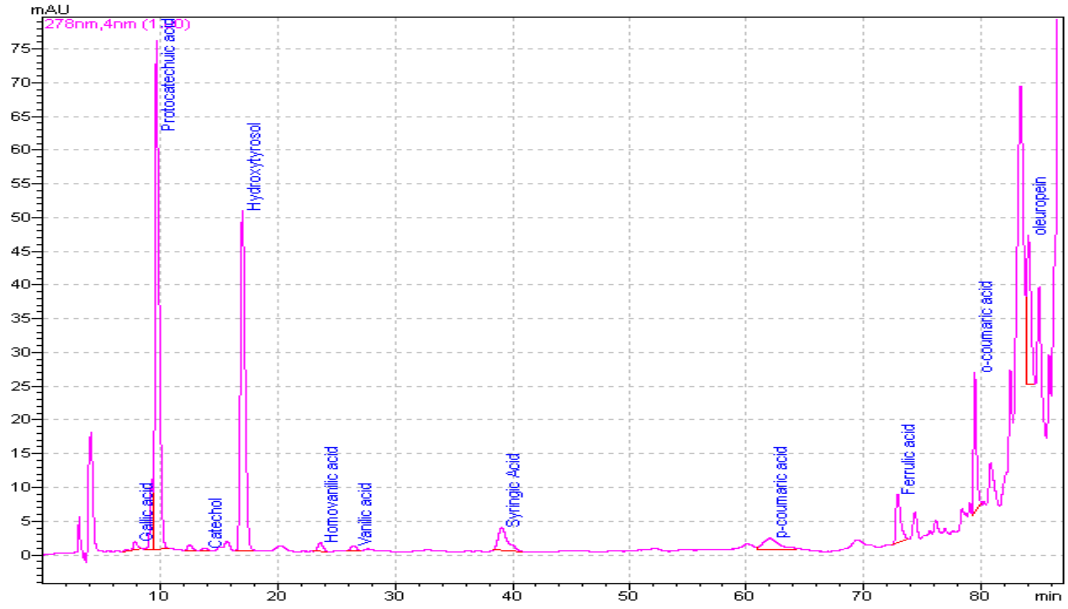
Balıkesir-Edremit



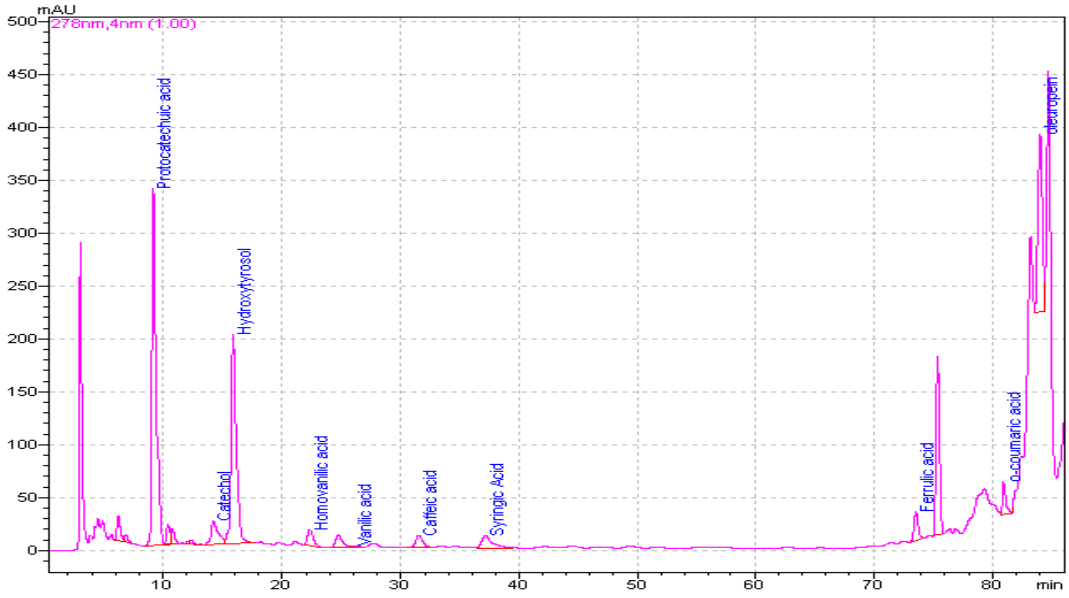
Balıkesir-Edremit SCE



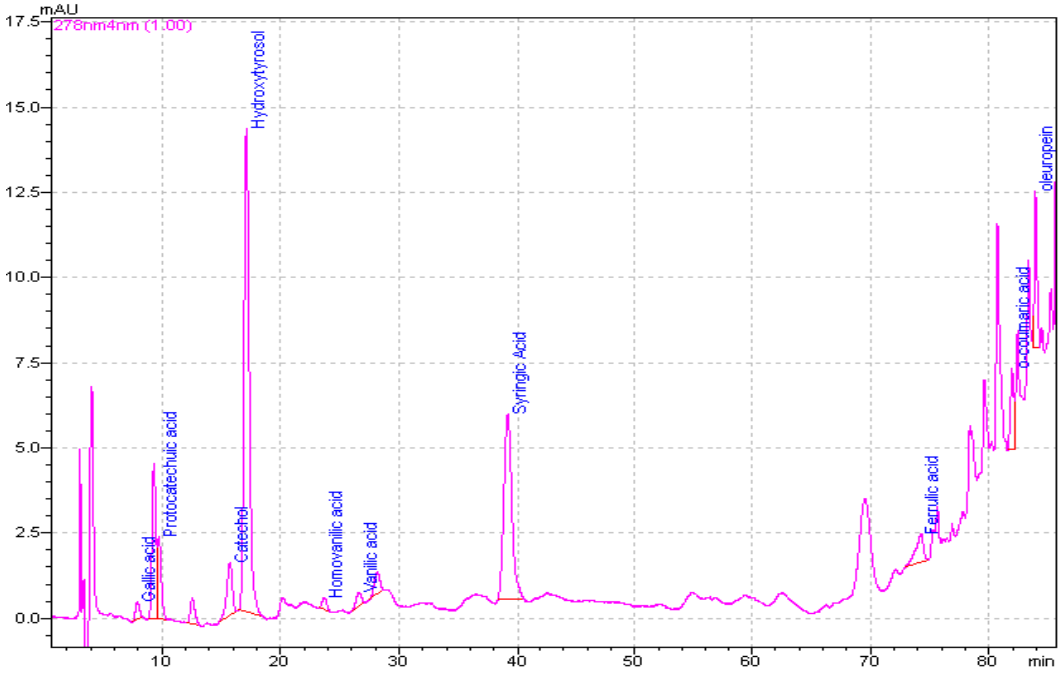
İzmir-Bornova



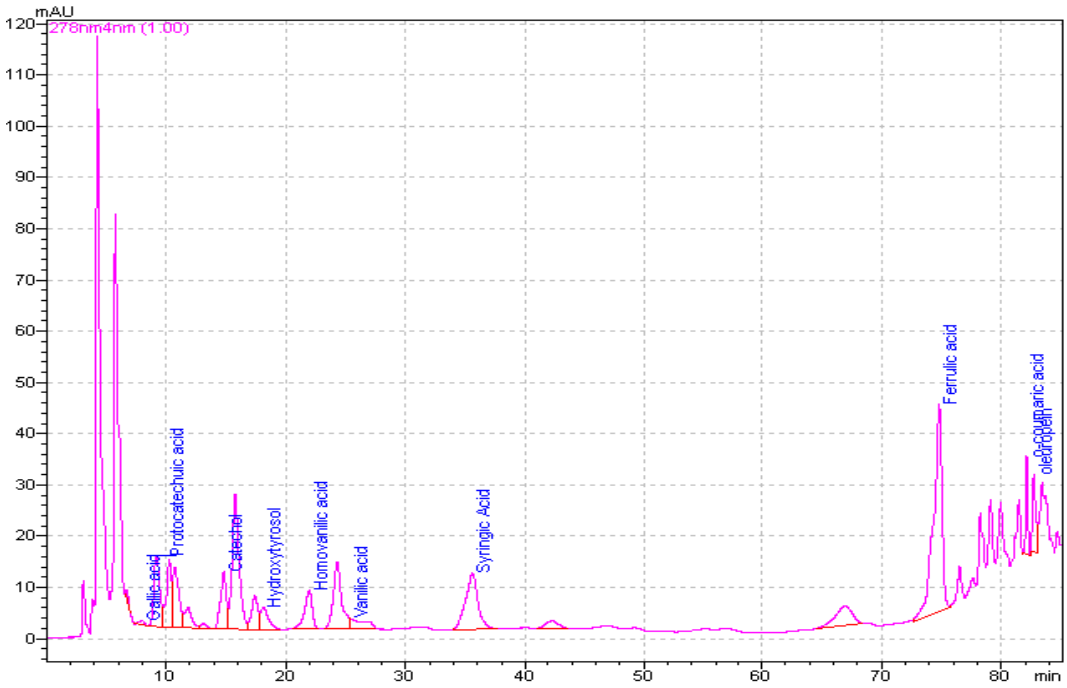
İzmir-Bornova SCE



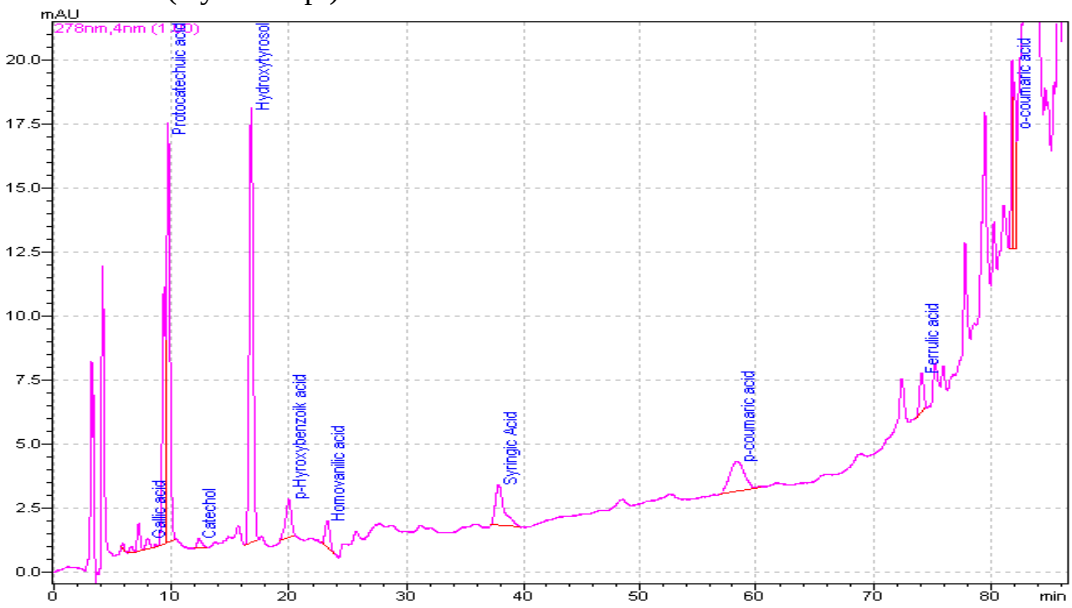
Bursa-İznik



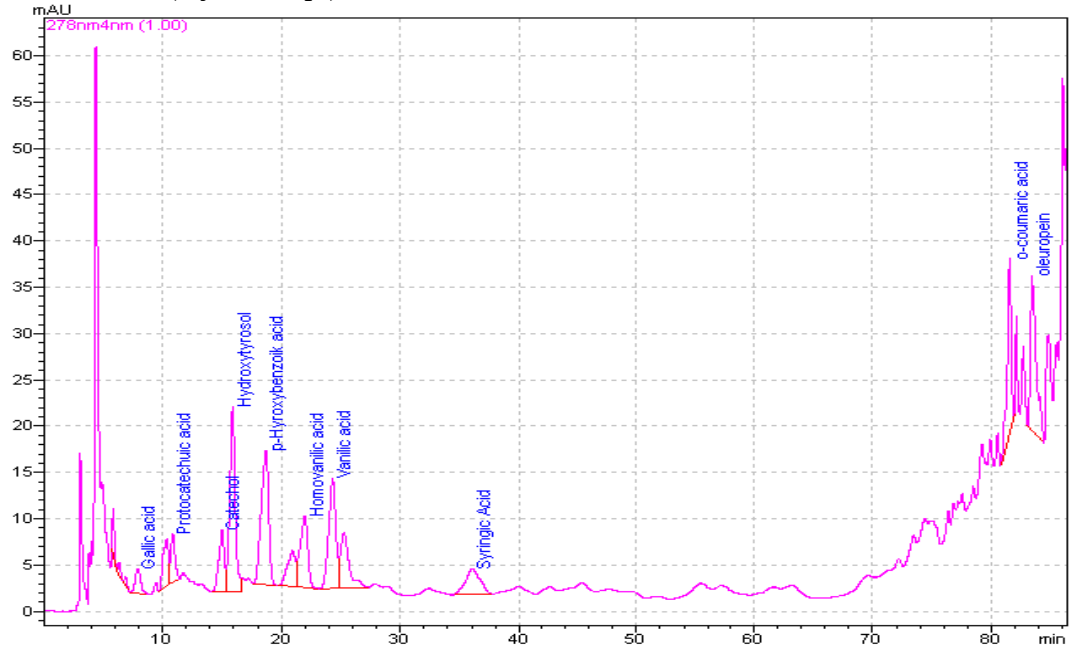
Bursa-İznik SCE



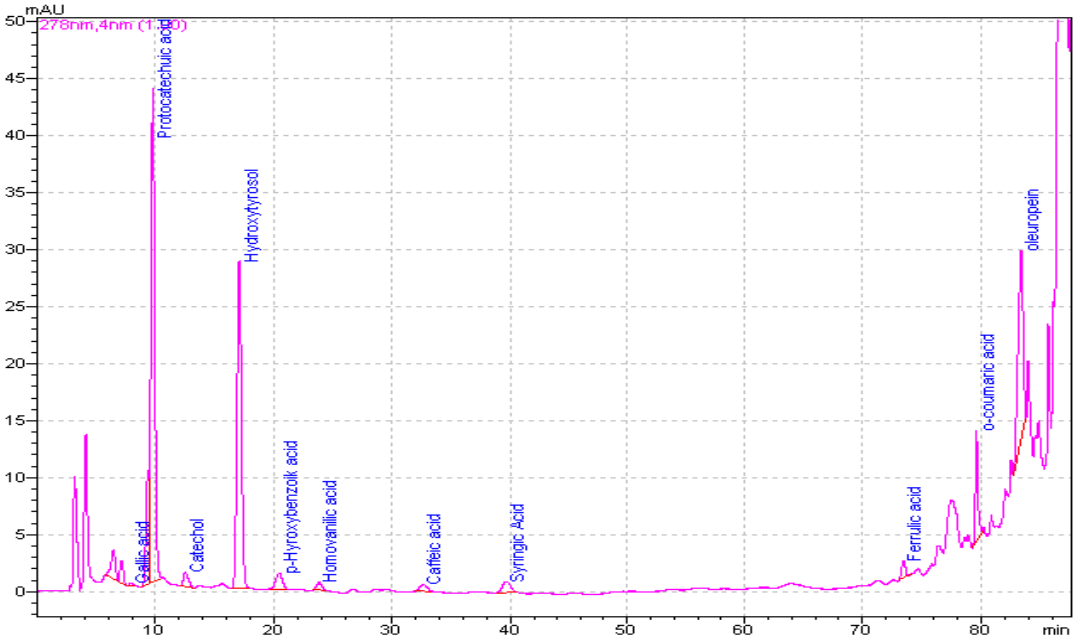
Mersin-Mut (Ayvalık tipi)



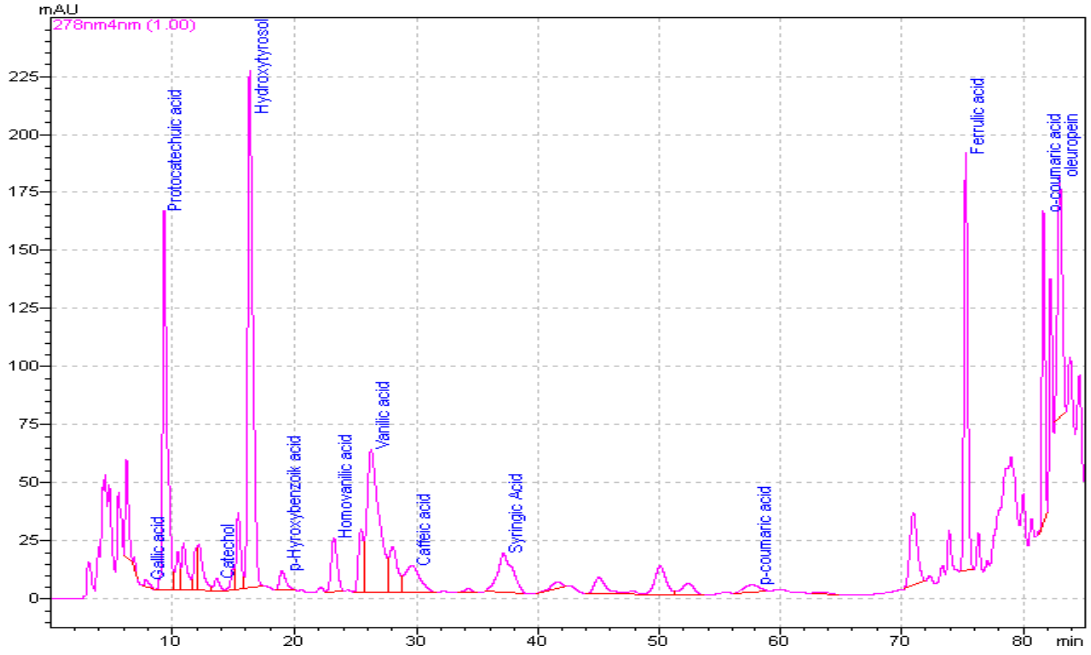
Mersin-Mut (Ayvalık tipi) SCE



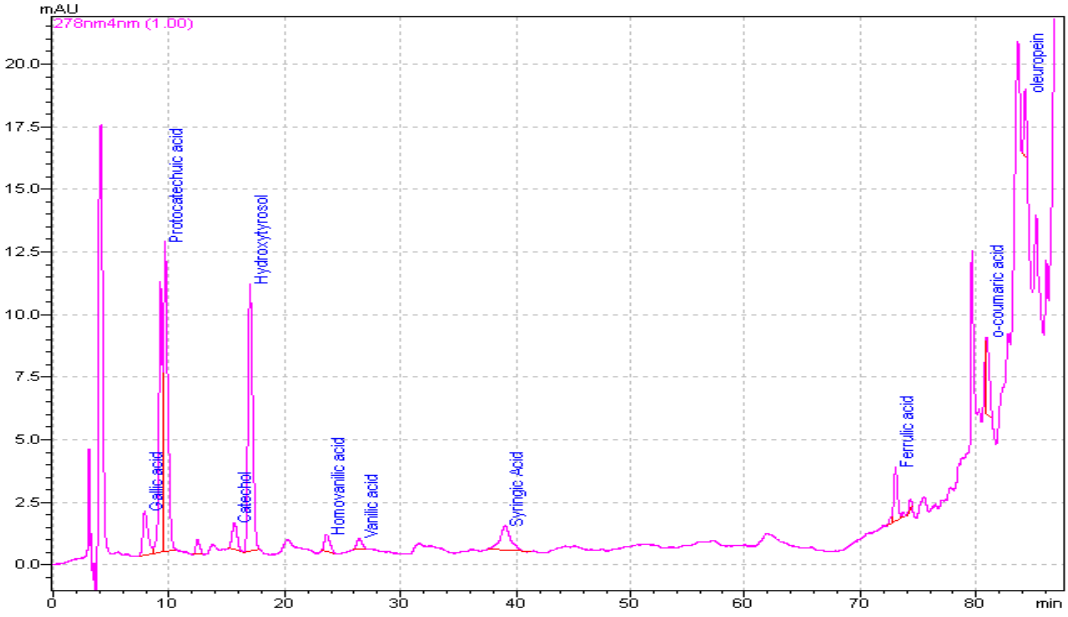
Mersin-Mut (Gemlik tipi)



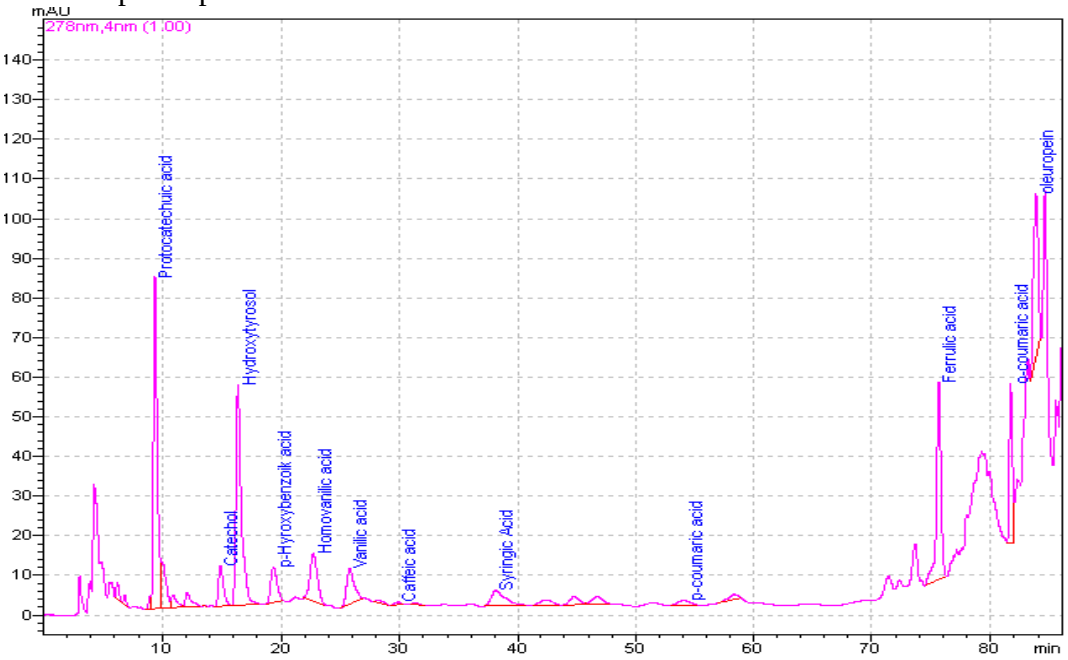
Mersin-Mut (Gemlik tip) SCE



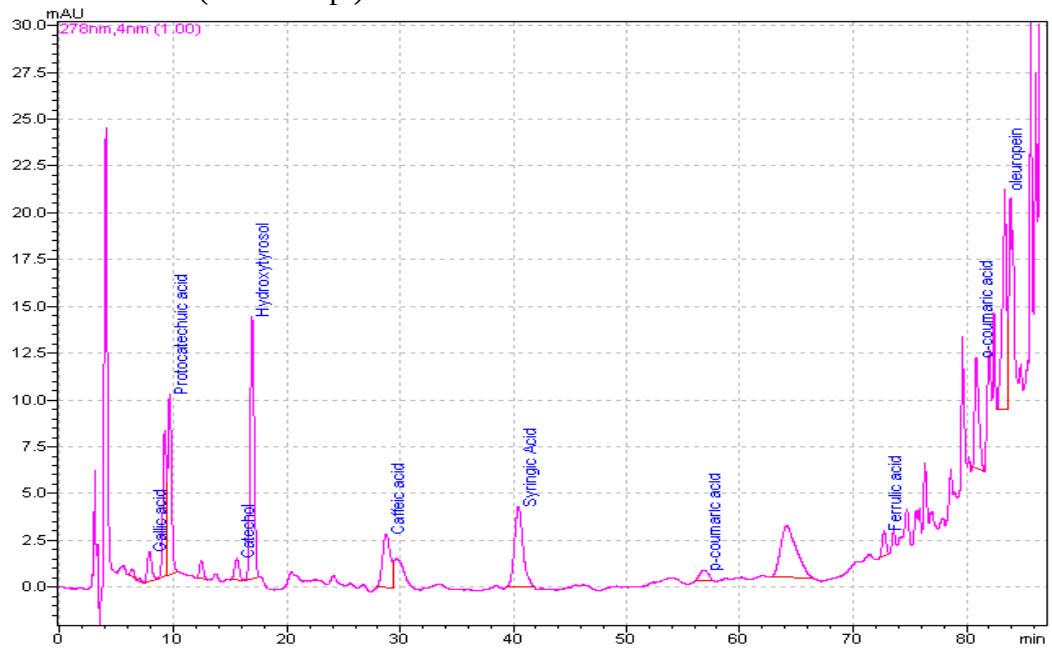
Gaziantep-Nizip



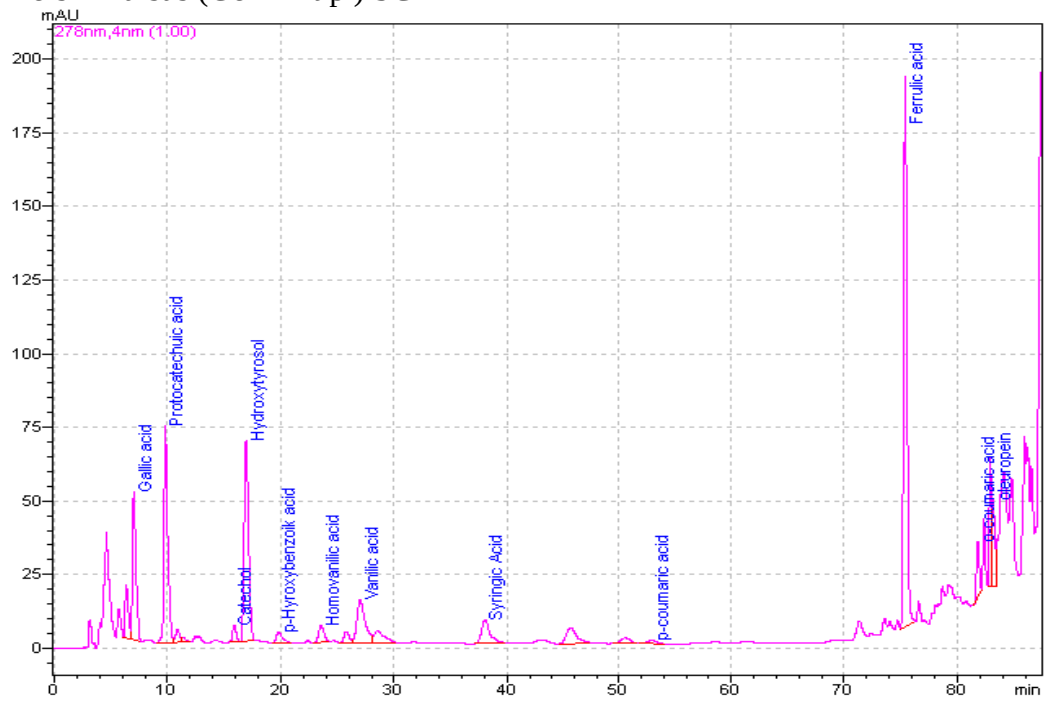
Gaziantep-Nizip SCE



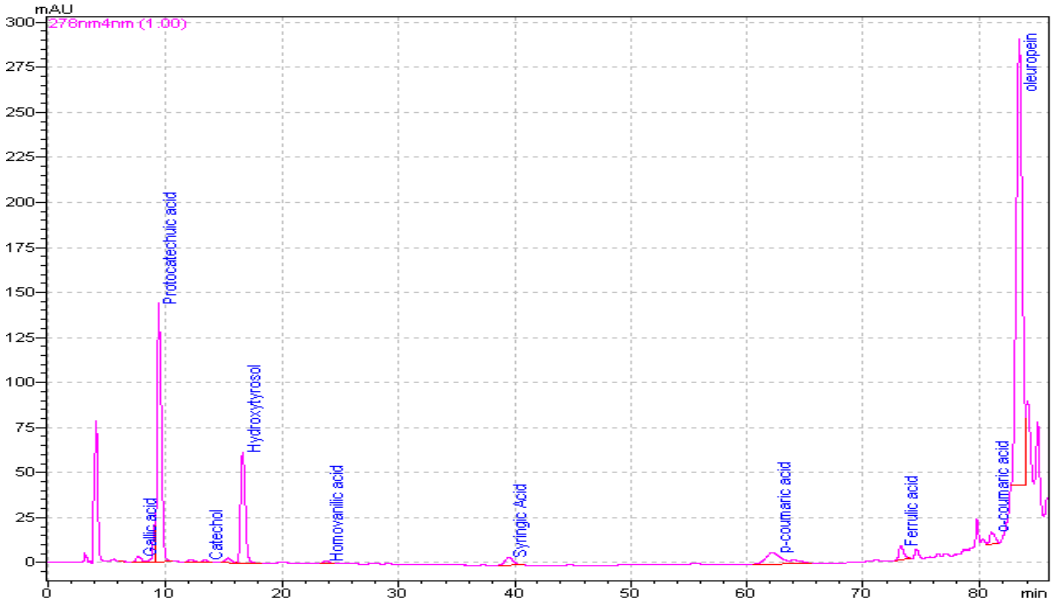
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi)



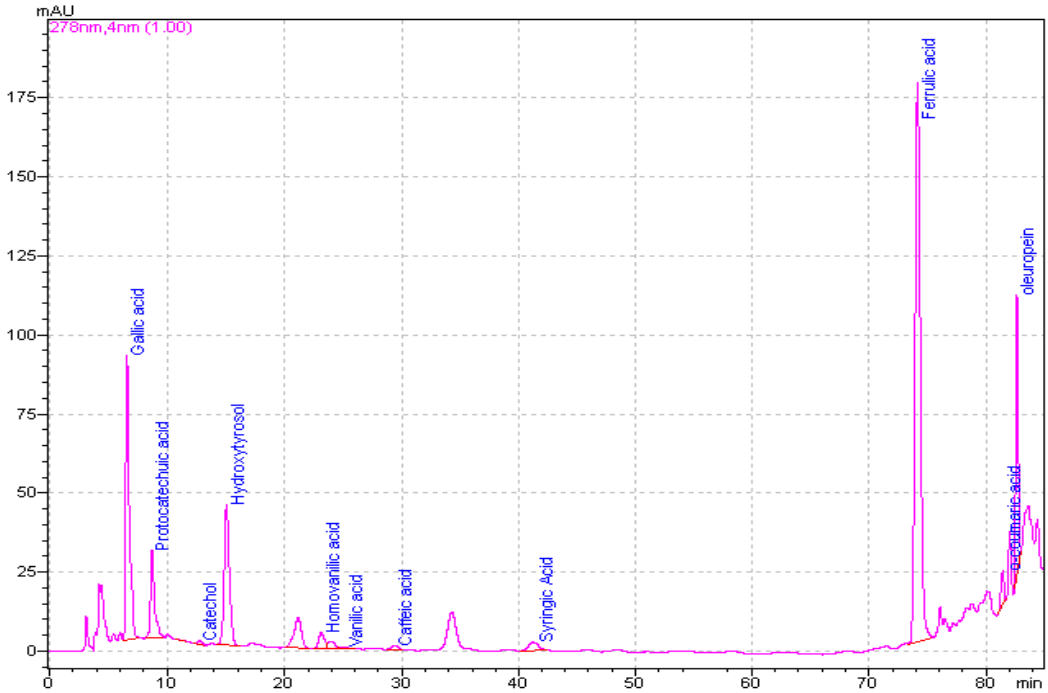
Mersin-Tarsus (Gemlik tipi) SCE



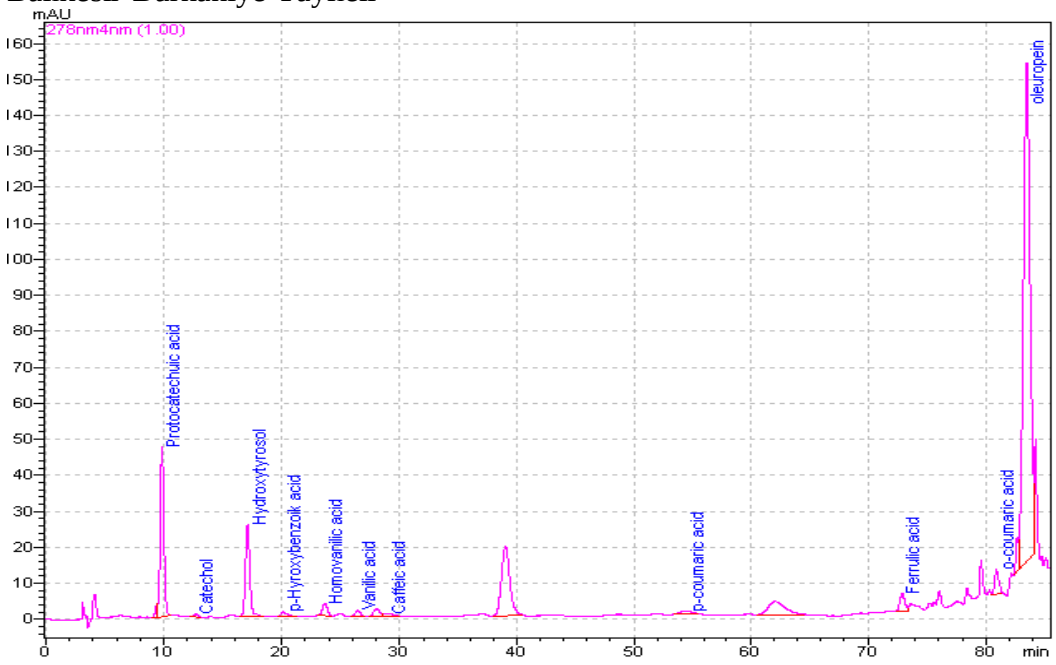
Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi)



Mersin-Tarsus (Sarıulak cinsi) SCE



Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli



Balıkesir-Burhaniye-Taylıeli SCE

