Farklı Ultrasonik İşlem Koşullarının Zeytin Ekstraktlarındaki Bazı Sekoiridoid Miktarları Üzerine Etkisinin Yanıt Yüzeyi ve Yapay Sinir Ağları Yöntemiyle Optimizasyonu

Ayşe Nur AKTAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Kasım 2023

Optimizing The Effects of Different Ultrasound Parameters on Some Secoiridoids of Olive Extracts Using Response Surface and Artifical Neural Network Methodologies

Ayşe Nur AKTAY

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Food Engineering

November 2023

Farklı Ultrasonik İşlem Koşullarının Zeytin Ekstraktlarındaki Bazı Sekoiridoid Miktarları Üzerine Etkisinin Yanıt Yüzeyi ve Yapay Sinir Ağları Yöntemiyle Optimizasyonu

Ayşe Nur AKTAY

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Onur KETENOĞLU

Kasım 2023

ONAY

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Ayşe Nur AKTAY**'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Farklı Ultrasonik İşlem Koşullarının Zeytin Ekstraktlarındaki Bazı Sekoiridoid Miktarları Üzerine Etkisinin Yanıt Yüzeyi ve Yapay Sinir Ağları Yöntemiyle Optimizasyonu" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Onur KETENOĞLU

İkinci Danışman :

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Doç. Dr. Onur KETENOĞLU

Üye: Doç. Dr. Hüdayi ERCOŞKUN

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Aysel GÜLBANDILAR

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ……..…….. tarih ve ……..…… sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. ....

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Onur KETENOĞLU danışmanlığında hazırlamış olduğum "Farklı Ultrasonik İşlem Koşullarının Zeytin Ekstraktlarındaki Bazı Sekoiridoid Miktarları Üzerine Etkisinin Yanıt Yüzeyi ve Yapay Sinir Ağları Yöntemiyle Optimizasyonu" başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 28/11/2023

Ayşe Nur AKTAY

İmza

ÖZET

Zeytin (*Olea europaea* L.), kökeni Mezopotamya olan ve bileşiminde yer alan farklı fonksiyonel unsurlar sebebiyle tüm dünyada yaygın olarak tüketilen bir meyvedir. Ülkemiz dünya zeytin üretiminde öncü ülkelerden biri olmakla birlikte, tüketim miktarlarında da İspanya, İtalya, Yunanistan ve Tunus gibi zeytin üretiminde önemli söz sahibi ülkelerden hemen sonra gelmektedir. Zeytinin fonksiyonel önemi, bileşimindeki çeşitli minör gruplardan kaynaklanmakta olup, fenolik bileşenler bu gruplar arasında önemli bir rol oynamaktadır. Zeytin fenolikleri ise temel olarak fenolik asitler, lignanlar, fenolik alkoller, flavonoidler ve sekoiridoid gruplarından oluşmakta olup, sekoiridoid grubunda yer alan oleuropein, oleacein ve oleocanthal bileşenleri öne çıkan fenolik bileşenler olarak ifade edilmektedir. Sağlık üzerine çok sayıda olumlu etkisi mevcut olan bu bileşenlerden oleuropein çokça çalışılmış olmakla birlikte, diğer iki bileşen hakkında literatürde sınırlı sayıda kaynak bulunmaktadır. Bununla birlikte, geleneksel ekstraksiyon tekniklerine alternatif olarak kabul edilen ultrason destekli ekstraksiyon da hızlı işlem süresi, düşük sıcaklık gereksinimi, etkin ekstraksiyon verimi gibi avantajları sebebiyle öne çıkan ve dikkat çeken bir tekniktir. Bu çalışma kapsamında, farklı ultrasonik işlem koşullarının, zeytin ekstraktlarının bazı fizikokimyasal özellikleri ve fenolik madde içeriği üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, farklı sıcaklık, güç ve sürelerde ultrasonik ekstraksiyona tabi tutulan zeytin ekstraktlarında pH, serbest asitlik, renk indeksi, toplam fenolik madde tayini ve sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler yapay sinir ağları kullanımıyla ve ayrıca yanıt yüzeyi yöntemine ait bir dizayn olan Box-Behnken ile modellenerek matematiksel eşitlikler oluşturulmuştur. Numunelerin pH değeri 4,94±0,028 ve 5,23±0,120 aralığında ve serbest asitlik değerleri ise ortalama 0,551 (%oleik asit cinsinden) olarak bulunmuştur. Renk indeksi değerleri 20,46±2,869 ve 83,70±2,220 arasında değişim göstermiştir. Toplam fenolik madde miktarı ise 0,13±0,036 ve 0,42±0,071 mg GAE (gallik asit eşdeğer)/g kuru madde aralığında bulunmuştur. Sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu analizinde oleuropein 5,33±0,45 ve 34,39±0,47 ng/µL, oleacein 0,76±0,07 ve 6,03±0,51 ng/µL, oleocanthal ise 3,77±0,01 ve 14,16 ±0,13 ng/µL arasındaki değerlerde bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: ultrason, oleuropein, oleacein, oleocanthal, fenolik, zeytin

SUMMARY

Olive (*Olea europaea* L.) is a fruit that originates from Mesopotamia and is widely consumed all over the world due to the different functional elements in its composition. Our country is one of the leading countries in the world olive production and comes right after countries such as Spain, Italy, Greece and Tunisia, which have an important say in olive production. The functional importance of olives stems from various minor groups in its composition and phenolic compounds play an important role among these groups. Olive phenolics are mainly composed of phenolic acids, lignans, phenolic alcohols, flavonoids and secoiridoid groups and oleuropein, oleacein and oleocanthal components in the secoiridoid group are expressed as prominent phenolic components. While oleuropein, which has many positive effects on health, has been extensively studied, there are limited references in the literature on the other two components. However, ultrasound-assisted extraction, which is accepted as an alternative to conventional extraction techniques, is a technique that stands out and attracts attention due to its advantages such as fast processing time, low temperature requirement, effective extraction efficiency. In this study, the effects of different ultrasonic treatment conditions on some physicochemical properties and phenolic content of olive extracts were investigated. For this purpose, pH, free acidity, colour index, total phenolic content and secoiridoid phenolic compound composition analyses were carried out in olive extracts subjected to ultrasonic extraction at different temperatures, power and times. The data obtained were modelled by using artificial neural networks and also by Box-Behnken, a design of response surface method, and mathematical equations were established. The pH values of the samples ranged between 4.94±0.028 and 5.23±0.120 and the average free acidity value was 0.551 (in %oleic acid). Colour index values varied between 20.46±2.869 and 83.70±2.220. Total phenolic content was found between 0.13±0.036 and 0.42±0.071 mg GAE (gallic acid equivalent)/g dry matter. In the secoiridoid phenolic compound composition analysis, oleuropein was found between 5.33±0.45 and 34.39±0.47 ng/µL, oleacein between 0.76±0.07 and 6.03±0.51 ng/µL, oleocanthal between 3.77±0.01 and 14.16±0.13 ng/µL.

Keywords: ultrasound, oleuropein, oleacein, oleocanthal, phenolic, olive

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca fikirlerini ve tecrübelerini paylaşan, hem maddi hem de manevi olarak desteklerini esirgemeyen, tezimin optimizasyon çalışmaları kısmında bilgilerini paylaşan aynı zamanda bana özgür bir çalışma ortamı sağlayan değerli danışmanım Doç. Dr. Onur KETENOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın sekoiridoid kompozisyonu analizini gerçekleştiren Balıkesir Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BUBTAM) çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımları için sevgili arkadaşım Fatma Gül ÇAKAR'a, beni destekleyen tüm arkadaşlarıma ve yardımından dolayı İbrahim TÜRKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Hem tez çalışmam boyunca ve hem de eğitim hayatım boyunca yanımda olup maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemi sağlayan annem, babam ve ablalarıma ve bana motivasyon sağlayan yeğenlerime sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ..... **vi**
SUMMARY ..... **vii**
TEŞEKKÜR ..... **viii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xiii**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xiv**
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI 3
2.1. Zeytinin Tarihçesi 3
2.2. Dünyada ve Türkiye'de Zeytin Üretimi ve Tüketimi 4
2.2.1. Dünyada zeytin üretimi ve tüketimi 4
2.2.2. Türkiye'de zeytin üretimi ve tüketimi 5
2.3. Zeytinin Yapısı 7
2.4. Zeytindeki Fenolik Bileşikler 8
2.4.1. Oleuropein 9
2.4.1.1. Oleuropein bileşiğinin yapısı 10
2.4.1.2. Oleuropeinin sağlık üzerine etkileri 11
2.4.2. Oleacein (3,4- DHPEA-EDA) 12
2.4.2.1. Oleacein bileşiğinin yapısı 13
2.4.2.2. Oleaceinin sağlık üzerine etkileri 13
2.4.3. Oleocanthal (p-HPEA-EDA) 14
2.4.3.1. Oleocanthal bileşiğinin yapısı 15
2.4.3.2. Oleocanthalın sağlık üzerine etkileri 16
2.5. Zeytin Ekstraksiyonu 17
2.5.1. Ultrason yöntemi ile ekstraksiyon 17
2.5.2. Gıdalarda ultrason destekli ekstraksiyon ile ilgili çalışmalar 20
2.6. Yapay Sinir Ağları 24
2.6.1. Yapay sinir ağı uygulamaları 25
2.6.2. Yapay sinir ağlarının gıda mühendisliği alanında uygulamaları 26

2.7. Yanıt Yüzeyi Yöntemi 27
2.7.1. Yanıt yüzey yönteminin gıdadaki uygulamaları 28
3. MATERYAL VE YÖNTEM 29
3.1. Materyal 29
3.1.1. Zeytin 29
3.1.2. Kullanılan kimyasallar 29
3.2. Yöntem 30
3.2.1. Zeytin ekstraksiyonu 30
3.2.2. pH analizi 32
3.2.3. Serbest asitlik tayini 33
3.2.4. Fotometrik renk indeksi analizi 33
3.2.5. Toplam fenolik madde miktarı 34
3.2.6. Sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu 35
3.2.7. Deneme planı 36
3.2.8. Optimizasyon 38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 40
4.1. pH Analizi Sonuçları 40
4.2. Serbest Asitlik Analizi Sonuçları 44
4.3. Fotometrik Renk İndeksi Analiz Sonuçları 48
4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları 53
4.5. Sekoiridoid Fenolik Bileşen Kompozisyonu Sonuçları 58
4.5.1. Oleuropeine ait sonuçlar 58
4.5.2. Oleaceine ait sonuçlar 62
4.5.3. Oleocanthala ait sonuçlar 67
4.6. Optimizasyona Ait Sonuçlar 72
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 81
KAYNAKLAR DİZİNİ 84

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil **Sayfa**

2.1. Dünya'da Zeytinin Yayılışı (Tunalıoğlu, 2010) 3
2.2. Oleuropeinin kimyasal formülü (Yıldız ve Uylaşer, 2011). 11
2.3. Oleuropeinin moleküler yapısı (Gikas vd., 2007) 11
2.4. Oleuropeinin sağlık üzerine etkileri (Ötleş ve Özyurt, 2012) 12
2.5. (1)Oleurupein (2)Oleacein yapısı (Vougogiannopoulou vd., 2014)..... 13
2.6. Oleocanthalın kimyasal yapısı (Pérez Rubio vd., 2017) 15
2.7. Oleuropein (1), oleacein (2), ligstroside (3), oleocanthal (4), hidroksitirosol (5) ve tirozol (6) yapıları (Pérez Rubio vd., 2017) 15
2.8. Oleocanthalın bugüne kadar bildirilen faydalı eylemleri ve anti-inflamatuar eylemlerden fayda sağlayacak patolojiler (Lucas vd., 2011)..... 16
2.9. Ultrasonik banyo (a) ve ultrasonik prob (b) şematik görünümü [(Ketenoğlu, 2020)'den Türkçeleştirilmiştir] 18
2.10. Ultrason destekli ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemi ile elde edilen ekstraktların kalitesinin karşılaştırılması (Bimakr vd., 2012) 22
2.11. Yapay sinir ağı çalışma prensibi (Velioğlu, 2010). 25
3.1. Ekstraksiyon için kullanılan zeytin..... 29
3.2. Zeytin ekstraksiyonu için kullanılan kahve öğütme cihazı. 31
3.3. Zeytin ekstraksiyonu için kullanılan ultrason banyo cihazı. 32
3.4. pH metre cihazı..... 32
3.5 Gallik asit kalibrasyon kurvesi 34
3.6. Santrifüj cihazı..... 35
3.7. Zeytin ekstraktlarındaki sekoiridoidlere ait örnek pikler. 36
3.8. Yapay sinir ağ dizaynı. 39
4.1. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık). 41
4.2. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık). 42
4.3. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre). 43
4.4. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık). 46
4.5. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık). 46
4.6. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç). 47
4.7. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç). 50
4.8. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)..... 51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil **Sayfa**

4.9. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç). 51
4.10. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç). 54
4.11. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç). 55
4.12. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık). 56
4.13. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık). 59
4.14. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre). 60
4.15. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre). 60
4.16. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç). 65
4.17. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre). 65
4.18. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç). 66
4.19. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç). 70
4.20. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre). 70
4.21. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre). 71
4.22. Yapay sinir ağı dizayn arayüzü. 74
4.23 Yapay sinir ağına ait regresyon grafikleri. 75
4.24. RSM ile belirlenen sürecin optimum değerleri için çizim. 79

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge **Sayfa**

1.1. Dünyada zeytin üretiminde ilk 9 ülke sıralaması (Kılıç ve Turhan, 2023) 1
2.1. Dünyada zeytin tüketiminde ilk 10 ülke sıralaması (UİB Ar&Ge Şubesi, 2021) 5
2.2. Zeytin kimyasal bileşikleri ve miktarları (Binboğa, 2020)..... 8
2.3. Zeytin Fenolleri ve Üyeleri (Ünlüel ve Aydın, 2016) 9
2.4. 1:30 katı-çözücü oranı ile farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen melisa özlerinin toplam fenolik içeriği (İnce vd., 2013) 24
3.1. Zeytin ekstraktı için çalışılan ultrasonik ekstraksiyon koşulları 30
3.2. Box-Behnken deney tasarımına ilişkin kodlanmış ve kodlanmamış ultrason işlem koşulları 37
4.1. Zeytin ekstraktlarının pH değerleri 40
4.2. pH için varyans analizi (ANOVA) 44
4.3. Zeytin ekstraktlarının serbest asitlik % oleik asit cinsinden değerleri 45
4.4 Serbest asitlik için varyans analizi (ANOVA) 48
4.5. Zeytin ekstraklarına ait PCI değerleri..... 49
4.6. Fotometrik renk indeksi için varyans analizi (ANOVA)..... 53
4.7. Zeytin ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları..... 54
4.8. Toplam fenolik madde için varyans analizi (ANOVA)..... 57
4.9. Zeytin ekstraktlarında oleuropein içerikleri (ng/µL)..... 58
4.10. Oleuropein değerleri için varyans analizi (ANOVA)..... 62
4.11. Zeytin ekstraktlarında oleacein içerikleri (ng/µL)..... 63
4.12. Yunan örneklerine ait oleacein miktarları (Karkoula vd., 2014)..... 64
4.13. Oleacein değerleri için varyans analizi (ANOVA)..... 67
4.14. Zeytin ekstraktlarında oleocanthal içerikleri (ng/µL)..... 68
4.15. 10 Farklı Sızma Zeytinyağındaki Oleocanthal Konsantrasyonları (µg/g) (Impellizzeri ve Lin, 2006)..... 69
4.16. Oleocanthal değerleri için varyans analizi (ANOVA) 72
4.17. pH, serbest asitlik, PCI ve toplam fenolik madde miktarları için deneysel sonuçları, yanıt yüzeyi yöntemi ve yapay sinir ağları ile tahminlerin karşılaştırılması..... 76
4.18. Toplam fenolik madde, oleuropein, oleacein ve oleocanthal RSM ile yanıt optimizasyonu..... 80
4.19. Arzu edilen optimizasyon için kullanılan parametrelere göre tahmin edilen yanıtlar 80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
/	Bölme İşareti
K	Potasyum
P	Fosfor
Fe	Demir
Na	Sodyum
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
Mn	Manganez
Mg	Magnezyum
Zn	Çinko
mg	Miligram
g	Gram
°C	Celsius
W	Watt
>	Küçüktür
<	Büyüktür
+	Artı
N	Normalite
NaOH	Sodyum Hidroksit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
ng	Nanogram
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
kHz	Kilohertz
cm^2	Santimetre kare
dk	Dakika
nm	Nanometre
kg	Kilogram

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
AH	Alzheimer Hastalığı
COX-2	Siklooksijenaz-2
HT	Hipertansiyon
L4OG	Luteolin-4′-O-glucoside
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
M.Ö	Milattan Önce
OLE	Oleacein
RSM	Yanıt Yüzeyi Yöntemi
TPC	Toplam Fenolik İçeriği
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TY	Triküspid yetersizliği
VER	Verbascoside
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
BI	Esmerleşme İndeksi
AOCS	American Oil Chemists Society
PCI	Fotometrik Renk İndeksi
ANN	Yapay Sinir Ağları

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Zeytin, Latince ifade edilişi ile *Olea europaea* L., ülkemiz de yaygın olarak üretilen ve tüketilen gıdalar arasında yer almaktadır. Zeytin tanesinin bileşimi; %50 su, %22 yağ, %19,1 karbonhidrat, %5,8 selüloz, %1,6 protein, %1,5 mineral madde şeklindedir. Bu oranlar zeytin çeşidine, yetişme koşullarına olgunluğuna ve işlem koşularına bağlı olarak değişmektedir. Zeytin bu bileşimlerin yanı sıra minör bileşikler de içermektedir. Steroller, tokoferoller, hidrokarbonlar ve fenolik maddeler zeytindeki minör bileşiklerdir. Antosiyaninler, flavonoller, flavonlar, fenolik alkoller, hidroksisinnamik asit türevleri, sekoiridoidler ve fenolik asitler zeytinde bulunan fenolik bileşiklerdir (Gülcü ve Demirci, 2008). Fenolik bileşikler antioksidan özellik göstermektedir. Zeytindeki antioksidan özellik gösteren başlıca bileşiğin sekoiridoid grup olduğu rapor edilmiştir (Gülcü ve Demirci, 2008). Zeytindeki fenolik bileşiklerin antioksidan özelliği vücutta düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) engelleyerek kötü kolesterolü önlemektedir. Antioksidan etkilerinin yanında antimikrobiyal etki de göstermektedir. Bu etki ile bakterilerin gelişimini engellediği bilinmektedir (Gülcü ve Demirci, 2008).

Çizelge 1.1' de Dünyada zeytin üretim ilk 9 ülke sıralaması görülmektedir. Dünya da zeytin üretimine bakıldığında zeytin üretiminde İspanya birinci sıra da yer almaktadır. Türkiye bu sıralamalar içerisinden üretimde dördüncü sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.1. Dünyada zeytin üretiminde ilk 9 ülke sıralaması (Kılıç ve Turhan, 2023)

Sıra	**Ülkeler**	**Zeytin Üretimi (ton)**
1	İspanya	5965080
2	İtalya	2194110
3	Fas	1912238
4	Türkiye	1525000
5	Yunanistan	1228130
8	Mısır	1080091
7	Tunus	876877
6	Cezayir	868754
9	Arjantin	325862

Maserasyon (klasik ekstraksiyon) ve Soxhlet konveksiyonel ektraksiyon yöntemleridir. Konveksiyonel ekstraksiyon yöntemlerinde yüksek miktarda enerji ve zaman gerektirmesinin yanı sıra fazla miktarda solvent kullanımı da gerektirir. Buna karşın ultrason destekli ekstraksiyon daha basit, ucuz ve verimli bir yöntemdir. Ultrasonik ektraksiyon, mekanik yöntem ile hücre duvarını parçalayarak maddelerin iletimini sağlamaktadır. Böylece hücre duvarındaki bu parçalanma hücre içindeki ekstrakların hücre dışına kolay bir şekilde aktarılabilmektedir. Ultrason ekstraksiyon yöntemi hücre duvarının kolay bir şekilde parçalanması sayesinde diğer yöntemlere alternatif olarak gösterilebilmektedir (Alifakı vd., 2018).

Optimizasyon, bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri ve bu bağımsız değişkenlerin amaca etkisi dikkate alınarak belirlenen amaca göre süreçlerin uygulanmasıdır. Yanıt Yüzeyi Yöntemi (Response Surface Methodology), gıda bilimi ve gıda teknolojisi alanında da kullanılan bir optimizasyon yöntemidir. Yanıt yüzeyi yöntemi, yapılan çalışmaların iyileştirilmesi ve optimizasyonunda kullanılan matematiksel ve istatistiksel bir arada kullanıldığı tekniktir (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010).

Yapay sinir ağları, nöron hesaplama ögeleriyle birlikte çalışmasından oluşan bir yöntemdir. Bu yöntem mühendislik biliminde süreç elemanları olarak da bilinmektedir (Velioğlu, 2010).

Bu tez çalışması kapsamında, farklı ultrasonik işlem koşullarının, zeytin ekstraktlarının kimyasal özellikleri ve fenolik madde içeriği üzerine etkileri incelenerek modellenmiştir. Bu amaçla, farklı sıcaklık, güç ve sürelerde ultrasonik ekstraksiyona tabi tutulan zeytin ekstraktlarında pH, serbest asitlik, renk indeksi, toplam fenolik madde tayini, ve sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu (oleuropein, oleacein, oleocanthal) analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler yapay sinir ağları kullanımıyla ve ayrıca yanıt yüzeyi yöntemine (RSM) ait bir dizayn olan Box-Behnken ile modellenerek, işlem koşullarının kimyasal kalite kriterleri üzerine etkilerinin ifade edildiği matematiksel eşitlikler oluşturulmuştur.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Zeytinin Tarihçesi

Zeytin, tarih boyunca insanlara verilmiş büyük bir hediye olarak görülmektedir. Geçmişten bugüne onur ve barışın sembolü olan zeytin, din adamları tarafından kutsal yağ ve krallar tarafından da kral asası olarak görülmüştür. Kökeni Akdeniz'e dayanan zeytin, Oleacea familyasına ait *Olea europaea* L. türü olarak bilinmektedir. Zeytinin anavatanı Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya bölgeleridir. Güneydoğu Anadolu Bölgesi de bu bölgeler içerisinde yer almaktadır. Zeytinin Dünya'ya yayılışı iki şekilde gerçekleşmiştir. İlk olarak sırasıyla Mısır, Tunus ve Fas'a ikinci olarak ise Ege adaları, Yunanistan, İtalya ve İspanya olarak yayılış göstermiştir. Zeytinin ilk olarak kültüre alınışı Samiler döneminde gerçekleşmiştir (Sakar ve Ünver, 2011).



Şekil 2.1. Dünya'da zeytinin yayılışı (Tunalıoğlu, 2010)

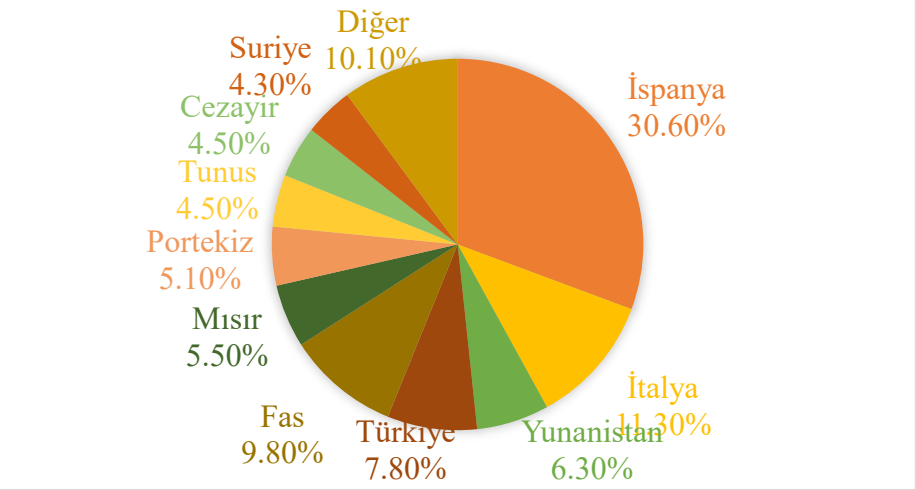
Ege Denizinde yer alan Santorini Adası'nda gerçekleştirilen arkeolojik araştırmalarda 39 bin yıllık zeytin ağacı fosiline rastlanırken bir başka yapılan arkeolojik çalışma da ise Kuzey Afrika da yer alan Sahra bölgesinde M.Ö 12 bin yıllık fosil bulunmuştur. Mezopotamya, Türkiye Cumhuriyet'inde Gaziantep, Kahramanmaraş ve Mardin içine almaktadır. M.Ö 4000'li yıllarda Türkiye'de Gaziantep, Kahramanmaraş ve Mardin illerinde de kültüre alındığı bilinmektedir (Tunalıoğlu, 2010).

2.2. Dünyada ve Türkiye'de Zeytin Üretimi ve Tüketimi

2.2.1. Dünyada zeytin üretimi ve tüketimi

Zeytin üretimi, Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde iklim şartlarının elverişliliği sebebiyle gerçekleşebilmektedir. Dünyada zeytin üretim miktarı yaklaşık olarak 13 milyon tondur. Bu miktarın % 86'lık kısmı Akdeniz'deki 6 ülkede görülmektedir. Dünyada zeytin üretiminin % 95'i Akdeniz'e yakın ülkelerde % 5'i ise Latin Amerika ülkeleri, Çin ve Avustralya gibi Akdeniz iklimine sahip ülkelerde gerçekleşmektedir (UİB Ar&Ge Şubesi, 2021).

Şekil 2.2'de görüldüğü gibi 2019-2020 yılları zeytin üretiminin % 30,6'sı en yüksek oran ile İspanya ülkesine aittir. %11,3'ü İtalya, %6,3'ü Yunanistan, %7,8'i Türkiye, %9,8'i Tunus, %5,5'i Mısır ve % 5,1'i Portekiz tarafından üretilmektedir.



Şekil 2.2. 2019-2020 yıllarına ait dane zeytin üretiminin ülkelere göre dağılımı (Özkan, 2021)

Dünyada zeytin tüketim miktarlarına bakıldığında ilk sırayı İspanya alırken takiben İtalya, Yunanistan, Tunus ve Türkiye gelmektedir (Çizelge 2.1).

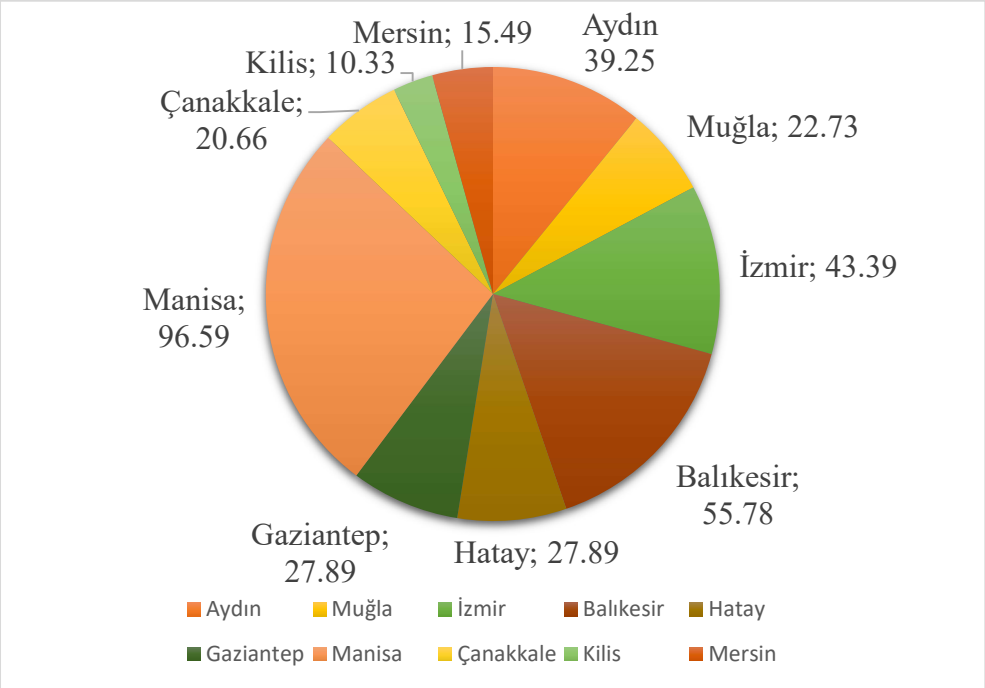
Çizelge 2.1. Dünyada zeytin tüketiminde ilk 10 ülke sıralaması (UİB Ar&Ge Şubesi, 2021)

Sıra	Zeytin Tüketimi
1	Mısır
2	Türkiye
3	Cezayir
4	ABD
5	İspanya
6	Brezilya
7	Suriye
8	İtalya
9	Fransa
10	Peru

2.2.2. Türkiye'de zeytin üretimi ve tüketimi

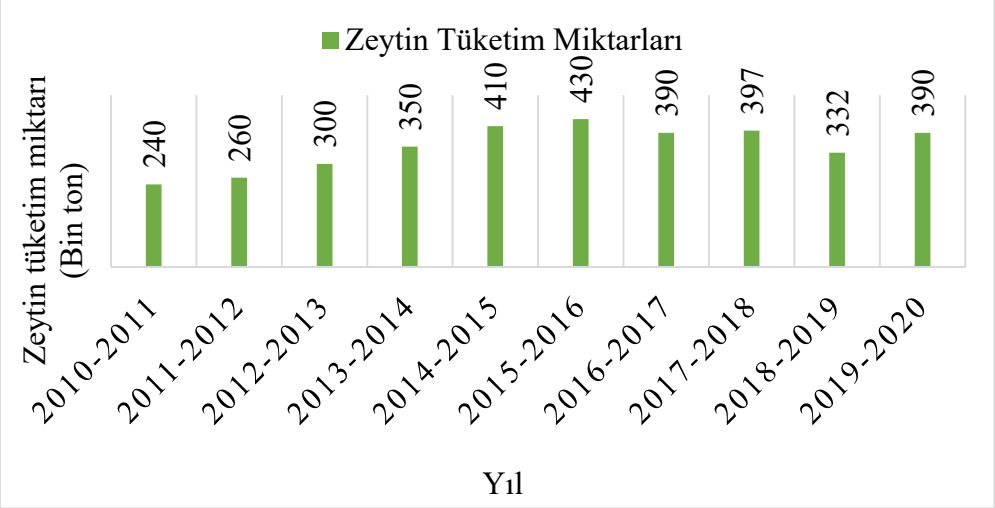
Zeytin ekim alanlarının büyümesi ile Türkiye'de zeytin üretiminde artış olmuştur. Bunun önemli sebeplerinden biri bilinçli ekim ve çiftçilerin sertifikalı zeytin fidanlarına yönelmesinden kaynaklanmaktadır. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistiklerine göre 2019-2020 yıllarında sırasıyla 1,525 ve 1,316 milyon ton zeytin üretimi yapılmıştır. Türkiye'de üretilmekte olan zeytinlerin çoğunu yağlık zeytinler oluşturmakta ve bu üretilen zeytinler Ege ve Akdeniz bölgelerinde yoğun olarak görülmektedir. Ege Bölgesi'nde bulunan İzmir, Muğla ve Aydın illeri önemli zeytin alanlarına sahiptir. Türkiye'de yağlık zeytin üretiminde ise İzmir, Muğla, Balıkesir, Aydın, Hatay ve Mersin önemli illerdir (UİB Ar&Ge Şubesi, 2021).

Şekil 2.3' e bakıldığında 2020 yıllında bazı illerdeki zeytin üretimi görülmektedir. Manisa illerinde üretimin en fazla il olduğu görülmektedir. Balıkesir ve İzmir'de de önemli bir oranda üretim gerçekleşmiştir.



Şekil 2.3. Türkiye'deki bazı illerin 2020 yılına ait üretim miktarlarının dağılımı (Özkan, 2021)

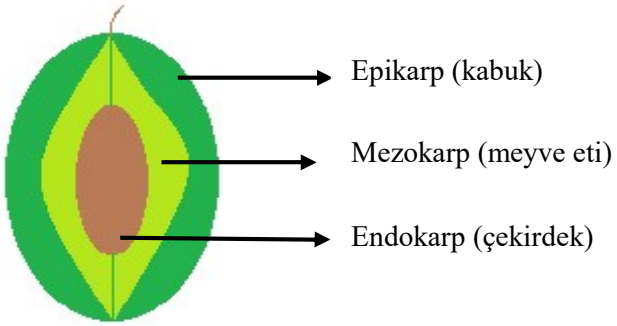
2010 yılından 2016 yılına kadar zeytin tüketim miktarlarında artış söz konusu iken 2017 yılında bir düşüş gözlemlenmiştir. Sonraki yıllarda ise sırasıyla artış ve azalış olmuştur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Türkiye'de 2010-2020 yıllarına ait zeytin tüketim miktarları (bin ton)(Anonim, 2019)

2.3. Zeytinin Yapısı

Zeytin, sert çekirdekli ve oval şeklinde bir meyvedir. Zeytin, perikarp, epikarp, mezokarp ve iç çekirdekten oluşmaktadır. Mezokarp (meyve eti), zeytinin ağırlığının %66-85'ini oluşturmaktadır. Perikarp, toplam yağ miktarının %96-98'ini içerir; yağın kalan %2-4'ü çekirdektedir. Çekirdek dâhil olmak üzere çekirdek meyve ağırlığının %13-30'unu, kabuğu ise meyve ağırlığının %1,5-3,5'ini oluşturmaktadır. Çekirdek meyve ağırlığının %3'ünü geçmemektedir (Kiritsakis ve Markakis, 1988).



Şekil 2.5. Zeytin Meyvesinin Yapısı

Zeytin tanesinin bileşimi; %50 su, %22 yağ, %19,1 karbonhidrat, %5,8 selüloz, %1,6 protein, %1,5 mineral madde şeklindedir (Gülcü ve Demirci, 2008).

Zeytin mineral madde olarak K, P, Fe, Na, Ca, Cu, Mn, Mg, Zn, içermesinin yanı sıra karoten, tiamin ve C vitamini de içermektedir. Çizelge 2.2' de zeytine ait kimyasal bileşiklerin miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.2. Zeytin kimyasal bileşikleri ve miktarları (Binboğa, 2020)

Kimyasal Bileşikler	Miktar (mg/100g)
K	457,2
P	51,1
Fe	1,73
Na	3,2
Ca	33,2
Cu	0,01
Mn	0,13
Mg	12,5
Zn	0,71
Karoten	0,15-0,2
Tiamin	0,54-1,10
C Vitamini	12,9-19,1

2.4. Zeytindeki Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde aromatik aminoasitlerin metabolizması sırasında sentezlenen yan ürünlerden oluşan sekonder metabolitlerdir (Alifakı vd., 2018). Gıdalarda bulunan fenolik bileşiklerin yapısında bir ve birden fazla sayıda hidroksil grubunun benzen halkasına bağlandığı bilinmektedir. Fenolik bileşiklerin vücudumuza yararlı etkileri bulunmaktadır. Aynı zamanda tat ve koku, renk oluşumu ve enzimleri inaktif etmeleri gibi olumlu etkilerde bulunmaktadır. Fenolik bileşikler antimikrobiyal etkinin yanı sıra antioksidatif etki göstermeleri ile de gıda üzerinde önemli etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Bayaz, 2016).

Fenolik bileşikler doğası gereği büyük ölçüde vejetaryen bir diyet olan Akdeniz diyetindeki zeytinyağında koroner kalp hastalığı, prostat ve kolon kanserlerinin daha düşük insidansına katkıda bulunabileceği saptanmıştır. Akdeniz diyeti, büyük miktarda zeytinyağı tüketimini içerir ve zeytinyağı en az 30 fenolik bileşik kaynağı olduğu bilinmektedir (Tuck ve Hayball, 2002). Bu nedenle zeytindeki fenolik bileşikler oldukça önemlidir.

Zeytin meyvesinde yer alan fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, sekoiridoidler ve fenolik alkollerdir. Zeytindeki bu fenolik bileşikler zeytinde %1 ile %3 aralığında bulunmaktadır. Çizelge 2.3'te zeytin fenolleri ve bu fenollere ait üyeleri görülmektedir (Ünlüel ve Aydın, 2016).

Çizelge 2.3. Zeytin Fenolleri ve Üyeleri (Ünlüel ve Aydın, 2016)

<table>
<tr><th colspan="4">Zeytin Fenolikleri ve Üyeleri</th></tr>
<tr><td>Antosiyaninler</td><td>Siyanidin-3-glikozit
Siyanidin-3-rutinosit
Siyanidin-3-kaffeglikozit
Siyanidin-3-kafferutinosit
Delfinidin-3-ramnoglikozit-7-ksilosit</td><td>Sekoiridoidler</td><td>Oleuropein
Demetiloleuropein
Ligstrosit
Nüzhenit</td></tr>
<tr><td>Flavonoller</td><td>Kuersetin-rutinosit</td><td rowspan="4">Fenolik asitler</td><td rowspan="4">Klorojenik asit
Kaffeik asit
p-hidroksibenzoik asit
Prokateşik asit
Vanilik asit
Syringic asit
p-kumarik asit
o-kumarik asit
Ferulik asit
Sinapik asit
Benzoik asit
Sinnamik asit
Gallik asit</td></tr>
<tr><td>Flavonlar</td><td>Luteolin-7-glikozit
Luteolin-5-glikozit
Apigenin-7-glikozit</td></tr>
<tr><td>Fenolik alkoller</td><td>(3,4-dihidrosifenil)etanol (3,4-DHPEA)
(p-hidroksifenil)etanol(p-HPEA)</td></tr>
<tr><td>Hidroksisinnamik asit türevleri</td><td>Verbaskosit</td></tr>
</table>

2.4.1. Oleuropein

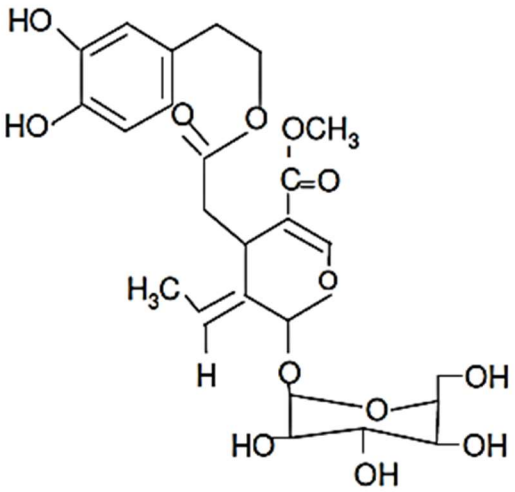
Oleuropein en baskın fenolik bileşiktir ve olgunlaşmamış zeytinlerin kuru maddesinde 140 mg/g'dan daha fazla bulunmaktadır ve yaprakların kuru maddesinde 60-90 mg/g konsantrasyona ulaşmaktadır. Zeytinyağındaki fenolik bileşik olan oleuropein, zeytin olgunlaşması ile miktarı azalırken en fazla olduğu miktarı meyvenin olgunlaşma evresine girmediği ilk dönemidir (Ötleş ve Özyurt, 2012).

Oleuropein miktarı olgunlaşmamış zeytinlerde, zeytin ağırlığının %2'si kadardır ve bu oran olgunlaşma devam ettikçe azalmaktadır. Zeytinde oleuropein miktarı, genç zeytindeki kuru madde miktarının yaklaşık %14'üne ulaşmaktadır. Küçük zeytinlerde oleuropein miktarı yüksektir (Yıldız ve Uylaşer, 2011). Buna karşın verbaskosit miktarı düşüktür (Yorulmaz ve Tekin, 2008). Büyük zeytinlerde ise oleuropein içeriği az miktarda bulunmaktadır. (Yıldız ve Uylaşer, 2011). Buna karşın verbaskosit asit miktarı yüksektir (Yorulmaz ve Tekin, 2008).

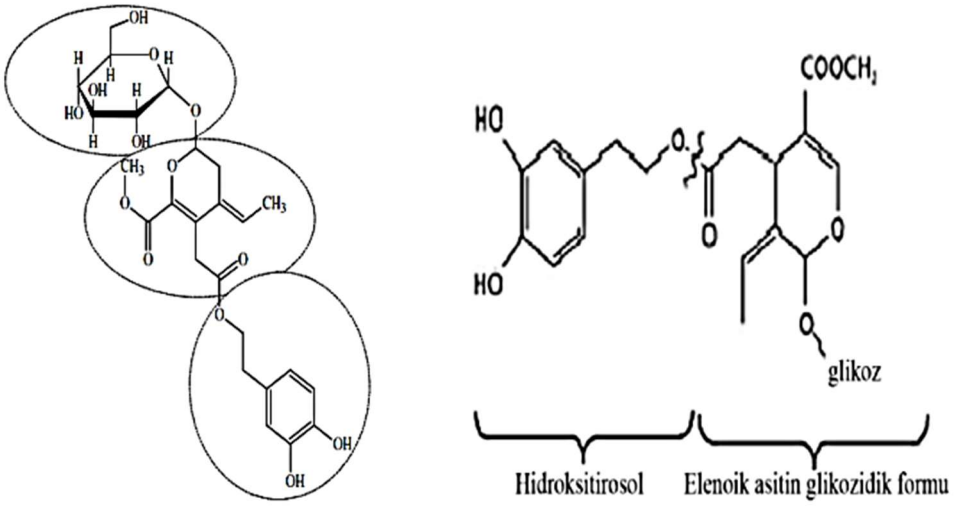
Olgunlaşmamış zeytinde hissedilen acı tat oleuropeinden kaynaklıdır. Olgunlaşmaya başladıkça bu acılık oleuropein miktarının düşmesi ile azalmaktadır. Bu fenolik bileşik suda çözünür özelliğe sahiptir. Bu yüzden sofralık zeytinde sulu faza geçmesi sebebi ile az miktardadır. Sofralık zeytinlerin elde edilmesi esnasında kullanılan bazı asit veya enzimler ile hidrolize edilerek oluşan acılığın giderilmesi sağlanmaktadır. Bunlara %1-2 lik sodyum hidroksit ve glukozidaz enzimi örnek olarak verilebilmektedir (Yorulmaz ve Tekin, 2008).

2.4.1.1. Oleuropein bileşiğinin yapısı

Zeytindeki fenolik bileşenler sekoiridoidler, fenolik asitler, alkoller ve flavonoidlerdir. Bu grup içerisinde en çok rastlanılanı sekoiridoidlerdir. Sadece *Olea europaea* L. türünde bulunmaktadır. Zeytinde sekoiridoid glikozit grubunda en fazla bulunan demetiloleuropein, ligstrosit, nüzhenit ve oleuropeindir. Diğer fenolik gruplardan ayıran özelliği elenolik asit ve bunların türevlerini kapsamalarıdır (Yorulmaz ve Tekin, 2008). Oleuropein, hidroksitirosol, elenolik asit ve glikoz alt birimlerinden oluşmaktadır (Yıldız ve Uylaşer, 2011). Kimyasal olarak oleuropein elenolik asit ile (3,4-dihidroksifenil) etanolün esterleşmesiyle oluşmuş bir bileşiktir (Yorulmaz ve Tekin, 2008). Şekil 2.2'de oleuropeinin kimyasal formülü ve Şekil 2.3'te oleuropeinin moleküler yapısı verilmiştir.



Şekil 2.2. Oleuropeinin kimyasal formülü (Yıldız ve Uylaşer, 2011)

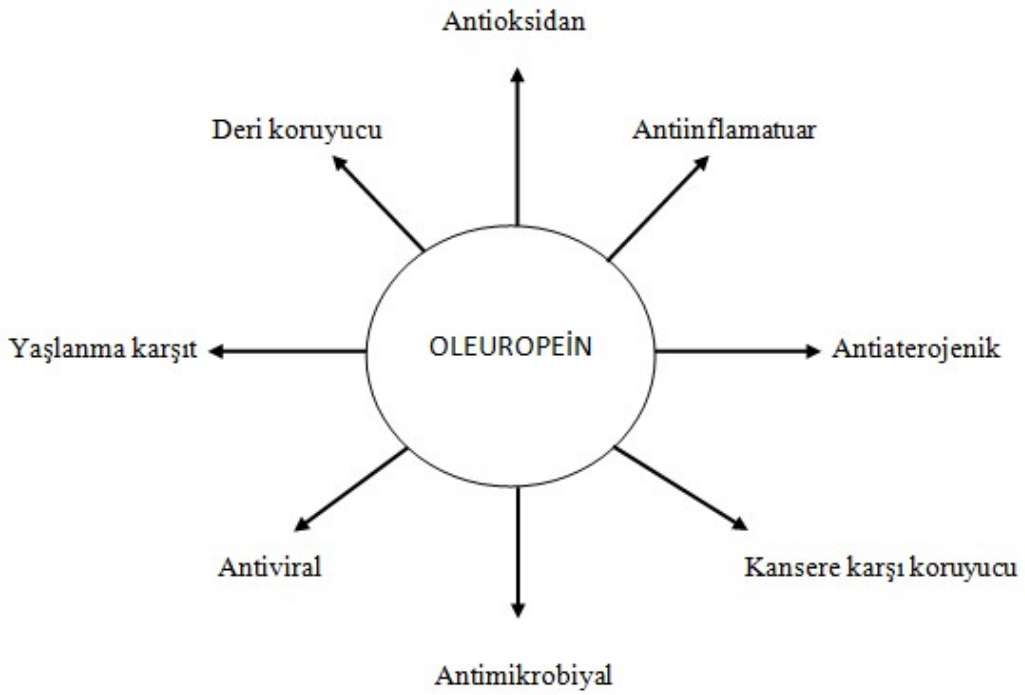


Şekil 2.3. Oleuropeinin moleküler yapısı (Gikas vd., 2007)

2.4.1.2. Oleuropeinin sağlık üzerine etkileri

Oleuropeinin sağlık açısından yararlı etkileri Şekil 2.4'de verilmektedir (Ötleş ve Özyurt, 2012). Bu etkilere sahip olması Akdeniz diyetindeki önemini artırmaktadır. Oleuropeinin Şekil 2.4'de belirtilen yararlı etkilerinin yanı sıra kalp koruyucu, hipolipidemik aktivite önleyici gibi yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Oleuropein antioksidan özelliğe sahiptir. Bu özelliği sayesinde serbest radikal oluşumu önlenir. İnflamatuar enzim olan lipoksigenaz enzimi de ortadan bu sayede kaldırılmış olur (Ötleş ve Özyurt, 2012).



Şekil 2.4. Oleuropeinin sağlık üzerine etkileri (Ötleş ve Özyurt, 2012)

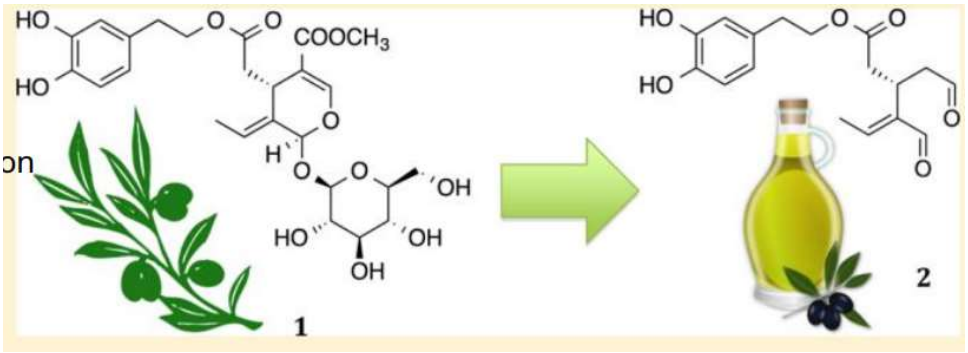
2.4.2. Oleacein (3,4- DHPEA-EDA)

Oleacein (hidroksitirosole bağlı dekarboksimetil elenolik asidin dialdehidik formu; 3,4-DHPEA EDA), zeytin meyvesi ve yapraklarının (*Olea europaea* L.) baskın bileşiği olan bir glukozit oleuropeinden yapısal olarak türetilir. Oleacein yapısal olarak değişikliğe uğrayabilmektedir. Yapısal değişiklikleri, zeytin meyvesinin ezilmesi ve zeytinyağının malaksasyonu gibi işleme sırasında kullanılan ekstraksiyon koşullarından büyük ölçüde etkilenir. Bunu yanı sıra zeytinyağındaki malaksasyon işlemi de değişikliğe neden olur. *Ligustrum vulgare* L'nin yapraklarından elde edilen sulu ekstraktlardan da önemli miktarda oleacein izole edebileceği olasılığından bahsedilmektedir. Ancak bunun ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Şu zamana kadar oleacein fenoliğinin hipertansiyonla ilgili nötr peptidaz enzimini inaktif etme özelliğinin olduğu saptanmıştır (Filipek vd., 2015).

Oleuropein fenolik bileşiği zeytin meyvesinde baskın olarak bulunur. Zeytin meyvesinden elde edilen zeytinyağında ve zeytin hamurunda ise oleacein fenolik bileşiği baskın olarak bulunmaktadır (Ötleş ve Özyurt, 2012).

2.4.2.1. Oleacein bileşiğinin yapısı

Oleocanthal ve oleacein, sızma zeytinyağında bulunan, sırasıyla antikanser özelliklere sahip olan ligstrosit ve oleuropein aglikonunun aldehit izomerik formlarıdır. Bunlar, biyofenol sekoiridoidlerin fonksiyonel grupları arasında kombomoleküller olarak biyosentez gerçekleşmektedir. Sekoiridoid kısımda C1 ve C5 olmak üzere iki kiral merkezi olan kimerik bir yapı ile karakterize edilmektedir. Glikozid işlevleri, doğal β-glukosidaz tarafından spesifik enzim etkisiyle salınır, ancak asidik ortama dirençli olduğu bilinmektedir. Bu, glikosidik oksijenin protonasyonuna karşı bazlığını ve serbest bırakılan kolay aglikonu azaltan moleküler orbitallerin uzun süreli delokalizasyonundan kaynaklanmaktadır (Gentile vd., 2017). Şekil 2.5'te oleuropein ve oleacein yapıları görülmektedir.



Şekil 2.5. (1)Oleuropein (2)Oleacein yapısı (Vougogiannopoulou vd., 2014)

2.4.2.2. Oleaceinin sağlık üzerine etkileri

Oleacein (OLE) ateroskleroz ve oksidasyona karşı in-vitro koruyucu etkiler ve antiinflamatuar aktivite ile insan sağlığı için faydalı özellikler göstermektedir. Tam terapötik potansiyeli henüz açıklığa kavuşturulmamıştır, ancak her yıl yeni veriler, zeytinyağının kardiyovasküler hastalık üzerindeki olumlu etkisinden sorumlu ana fenol olarak oleaceini işaret etmektedir.

Yapılan çalışmalarda oksidasyonu önlediği, nötrofil yapışmasını engellediği ve kan basıncını düşürdüğü bilinmektedir. Oleaceinin organizmadaki diğer sağlığı geliştirici aktiviteleri, metal iyon şelasyonu ve COX-2 inhibisyonu yoluyla anti-inflamatuar aktiviteyi içerir. OLE'nin kardiyovasküler hastalıklara, özellikle ateroskleroza karşı koruyucu etkisi vardır. Serbest radikal süpürme ile gösterilen oksidasyonun azaltılması, anjiyotensin dönüştürücü enzimin inhibisyonu yoluyla hipertansiyonun düşürülmesine de katkı sağlamaktadır (Lozano-Castellón vd., 2020).

2.4.3. Oleocanthal (p-HPEA-EDA)

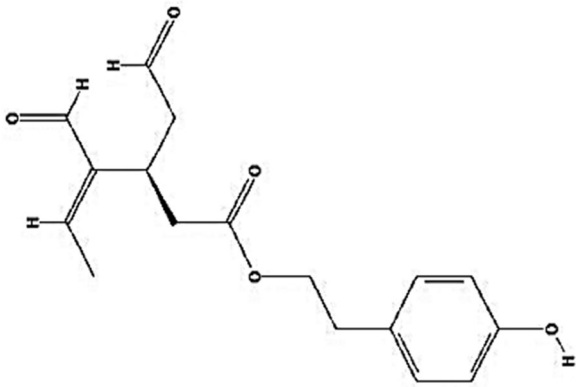
Geleneksel olarak, natürel sızma zeytinyağının sağlıklı özellikleri yüksek tekli doymamış yağ asidi içeriğine bağlanmıştır. Bununla birlikte, artan kanıtlar fenolik bileşikler gibi farklı minör antioksidan bileşenlerin katılımına işaret etmektedir. Bu fenolik bileşiklerin çeşitli fizyolojik ve fizyopatolojik süreçler üzerindeki yararlı etkileri üzerine artan araştırmalar söz konusudur. Sızma zeytinyağı gıda matrisinde keşfedilen en yeni fenolik bileşiklerden biri oleocanthaldır (Pérez Rubio vd., 2017). Oleocanthal ilk olarak 1993 yılında Montedoro ve meslektaşları tarafından sızma zeytinyağı fenoliklerinin sekoiridoid fraksiyonunda tanımlanmaktadır. Sızma zeytinyağında yapılan bu çalışmada oleocanthalın oral tahrişten sorumlu olduğu bilinmektedir (Lucas vd., 2011). Oleocanthal, sızma zeytinyağında bulunan ve fenolik alkol grubuna ait bir tür doğal fenolik bileşiktir. Bu fenolik; alkol grubuna ait fenolik bileşiktir (Pérez Rubio vd., 2017).

Oleocanthal, antiinflamatuar özelliğe sahiptir. Oleocanthal ilaçlara benzer özellikler göstermesi sebebiyle, doğal bileşiğin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliği hakkında yeni bir bakış açısı sunulmaktadır (Pérez Rubio vd., 2017).

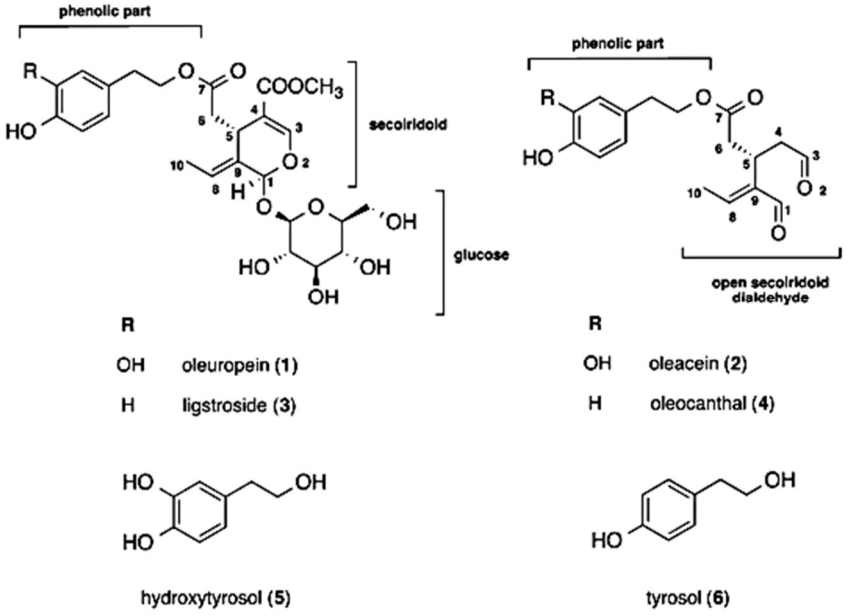
Oleocanthalın antiinflamatuar özelliğini dikkate alarak oleocanthal ve ibuprofen arasındaki orofaringeal irritasyondaki algısal benzerliğin üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Bu algısal benzerliğin de farmakolojik benzerlikle eşleştiği belirlenmektedir (Lucas vd., 2011).

2.4.3.1. Oleocanthal bileşiğinin yapısı

Oleocanthal ve oleacein, türedikleri moleküllerden (ligstroside ve oleuropein) 4 pozisyonunda bir glikosidik grup ve bir karboksimetil grubu olmaması nedeniyle farklıdır (Şekil 2.6) (Pérez Rubio vd., 2017). Şekil 2.7'de Oleuropein (1), oleacein (2), ligstroside (3), oleocanthal (4), hidroksitirosol (5) ve tirozol (6) yapıları görülmektedir.



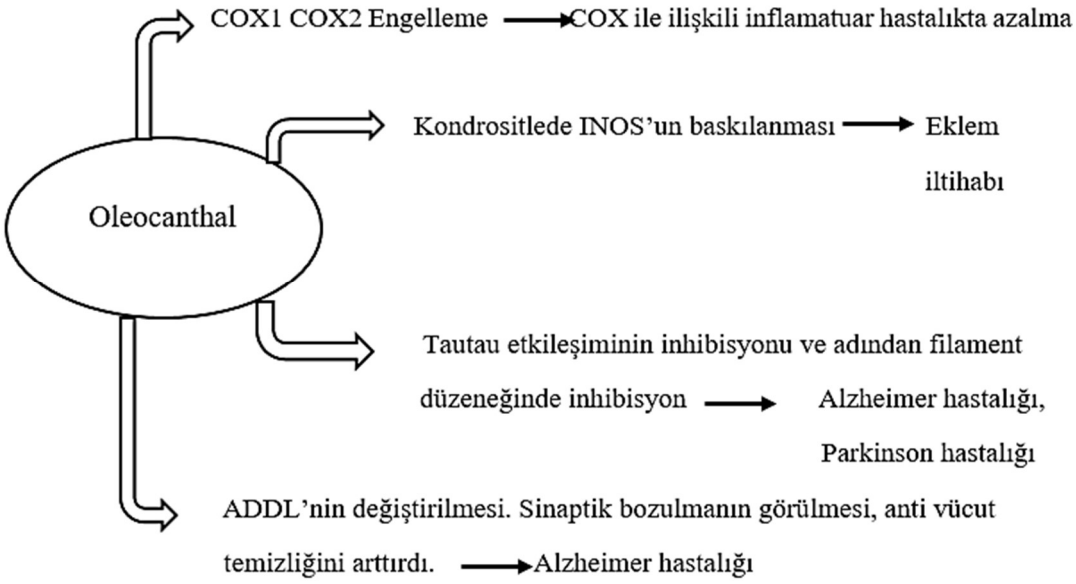
Şekil 2.6. Oleocanthalın kimyasal yapısı (Pérez Rubio vd., 2017)



Şekil 2.7. Oleuropein (1), oleacein (2), ligstroside (3), oleocanthal (4), hidroksitirosol (5) ve tirozol (6) yapıları (Pérez Rubio vd., 2017)

2.4.3.2. Oleocanthalın sağlık üzerine etkileri

Nörofibriler yumakların oluşumu, Alzheimer hastalığının (AH) nörolojik yıkımında ana role sahiptir. Oleocanthal nörofibriler kümelerin oluşumunun inhibisyonunu içerir (Pérez Rubio, 2017). Oleacein, oleocanthal, HT ve TY, bağırsak ve solunum yolu enfeksiyonlarından sorumlu bakteri suşlarına karşı aktivite gösterirken *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* gibi faydalı bakterilere karşı da güçlü bir in-vitro aktivite göstermektedir (Pérez Rubio vd., 2017). Oleocanthal farklı moleküler mekanizmalar yoluyla birkaç tümör hücre hattında antitümör özellikler sergilenmektedir. Ayrıca, Alzheimer hastalığının tedavisi için etkili bir ajan olarak önerilmektedir (Pérez Rubio vd., 2017). Bir başka yapılan çalışma melanom dışı cilt kanserlerinin önlenmesi ve tedavisinde sızma zeytinyağı özütlerinin ve tek yağdan türetilen bileşiklerin yeni potansiyel klinik uygulamaları için in-vitro kanıt sağlamaktadır (Polini vd., 2018). Şekil 2.8'de oleocanthalın bugüne kadar bildirilen faydalı eylemleri ve anti-inflamatuar eylemlerden fayda sağlayacak patolojileri verilmiştir.



Şekil 2.8. Oleocanthalın bugüne kadar bildirilen faydalı eylemleri ve anti-inflamatuar eylemlerden fayda sağlayacak patolojiler (Lucas vd., 2011)

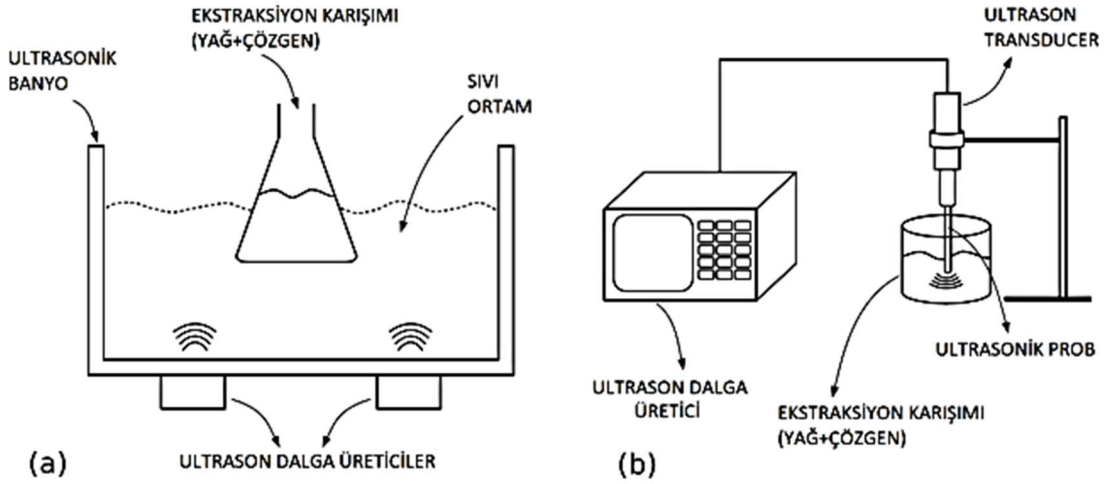
2.5. Zeytin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, katı ve sıvı numuneler için ön işlemin en önemli adımlarından biridir. Genel olarak, analitin karışmayan iki faz arasında dağılımının uygun dağılım katsayısına göre yapıldığı bir ayırma işlemidir. Hedef bileşenlerin numuneden maksimum miktarda seçici olarak ayrılması ve/veya girişimlerin elimine edilmesi ekstraksiyon işlemlerinin ana hedefleridir (Dobiáš vd., 2010). Ekstraksiyon yöntemi ile bitki içeriğinden oluşan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon randımanı, ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözücü-katı madde oranı etkili olduğu gibi yapılan işlemlerin uzunluğu ve sıcaklığı gibi birden fazla etkene bağlı olarak değişim göstermektedir. Konvansiyonel (Soxhlet, klasik) ekstraksiyon metotlarında fazla miktarda solvent, işlem süresi ve enerji ihtiyacı gerektirmektedir. Günümüzde yeşil ekstraksiyon kullanımı ile konvansiyonel ekstraksiyonda fazla miktarda harcanan enerji ve solvent kullanımının azaltması ve zamandan tasarruf edilmesi amaçlanmaktadır. Yeşil ekstraksiyon yönteminin günümüzde tüketici isteklerine göre minimal işlenmiş ürünleri tercih etmeleri gibi nedenler ile önem kazanmaktadır. Ayrıca yeni geliştirilmiş olan ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile, enerji tasarrufu, çevre dostu olmasıyla birlikte yüksek değerde ekstrakt elde edilmektedir (Alifakı vd., 2018)

2.5.1. Ultrason yöntemi ile ekstraksiyon

Ultrason ekstraksiyon yöntemi, nanoteknoloji, gıda teknolojisi, tıbbi tarama, yüzey temizleme, mineral işleme ve çevresel dekontasyon gibi birçok alanda kullanılan bir yöntemdir (Dedebaş vd., 2021).

Ultrason destekli ekstraksiyonun kullanımı son yıllarda özellikle yaygınlaşmış olmakla birlikte, giderek artan laboratuvar ölçekli çalışmalara rağmen halen endüstriyel boyutta bir kullanıma ulaşamamıştır. Ultrason ses dalgaları temizleme, homojenizasyon, emülsiyon oluşumu ve ekstraksiyon gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilmektedir (Ketenoglu, 2020). Ultrason destekli ekstraksiyon amacıyla genellikle iki tip ekipman kullanılmakta olup, bunlar ultrasonik banyo (Şekil 2.9-a) ve ultrasonik prob (Şekil 2.9-b) olarak adlandırılmaktadır (Ketenoğlu, 2020).



Şekil 2.9. Ultrasonik banyo (a) ve ultrasonik prob (b) şematik görünümü [(Ketenoğlu, 2020)'den Türkçeleştirilmiştir]

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi temel çalışma prensibi şu şekildedir:

Ultrason ses dalgalarının etkisiyle küçük baloncuklar oluşturularak kavitasyon yaratılmakta (Görgüç vd., 2020) ve ani bir şekilde oluşturulup küçülen bu baloncuklar materyalin hücre geçirgenliğini artırarak daha fazla çözücünün materyale nüfuz etmesine ve böylece daha fazla ekstraksiyon verimine olanak sağlamaktadır (Jalili vd., 2018).

Ultrason destekli ekstraksiyon yardımıyla hücre duvarı mekanik olarak yıkılarak maddelerin aktarılması gerçekleşir. Bu parçalanma sonucu hücrede bulunan sıvı ekstrakt kolay bir şekilde ayrılabilmektedir. Hücre duvarında gerçekleşen tahribat sonucu sıvı ekstraktı kolaylıkla ayrılabilmesi ultrason ekstraksiyon yönteminin diğer yöntemlere göre daha hızlı olmasını sağlamaktadır. Böylelikle son yıllarda ultrason ekstraksiyon yöntemi tercih edilmektedir. Hızlı bir ekstraksiyon olmasının yani sıra maliyetinin düşük olması, basit ve verimli olmasıyla da diğer yöntemlere büyük bir alternatiftir (Alifakı vd., 2018).

Ultrason ekstraksiyonu sıvı ekstraktaki sonokimyasal olaylarının, akustik kavitasyon olarak bilinen ultrason dalgasının sıvı ekstrakt içerisinde dağılmasıyla oluşan baloncuk ve oluşan bu baloncuğun büyüyerek patlaması olaylarına bağlı olduğu bilinmektedir. Sıvı fazda bulunan moleküller çekme kuvveti ile birbirine tutunmaktadır. Ultrason ekstraksiyon yönteminde sıvı faz içerisinde ultrason dalgası yayılır. Yayılma ile birlikte yapısal olarak moleküllerde değiştirmesi ile basınç meydana gelir. Oluşan basınç sıvı bulunan molekülleri bulunduğu konum içerisinden çıkıp kendilerini çevreleyen diğer molekül ile bir araya gelmektedir (Dedebaş vd., 2021).

Ultrason destekli ekstraksiyonun diğer ekstraksiyon tekniklerine kıyasla bazı avantajları bulunduğu gibi birtakım dezavantajları da bulunmaktadır. Oluşan kavitasyon etkisi sebebiyle yüksek ekstraksiyon verimi elde edilebilmesi, düşük yatırım maliyeti, daha kısa ekstraksiyon süresi, kullanım kolaylığı ve ısıya duyarlı bileşenler için kullanılabilir olması ultrason destekli ekstraksiyonun avantajları arasında gösterilebilir. Buna karşın, gıdada bulunan bazı duyarlı biyoaktif bileşenlerin parçalanabilme olasılığı, geleneksel ekstraksiyona nazaran miktar olarak daha az olsa da bir miktar çözgen kullanımı gerekliliği ve ultrason dalgaların yayılma hızına bağlı olarak ekstraksiyon ortamında bazı homojen olmayan bölgelerin oluşabilme olasılığı da ultrason destekli ekstraksiyonun dezavantajları arasında gösterilebilir (Ketenoğlu, 2020). Yağ ekstraksiyonu amacıyla ultrason tekniğinin kullanımında bir çok yağlı materyal bilimsel olarak ele alınmış olup, bunlara örnek olarak zeytin (Taticchi vd., 2019; Chanioti ve Tzia, 2017), soya (Li vd., 2004), avokado (Tan vd., 2018), kanola (Perrier vd., 2017) gösterilebilir.

2.5.2. Gıdalarda ultrason destekli ekstraksiyon ile ilgili çalışmalar

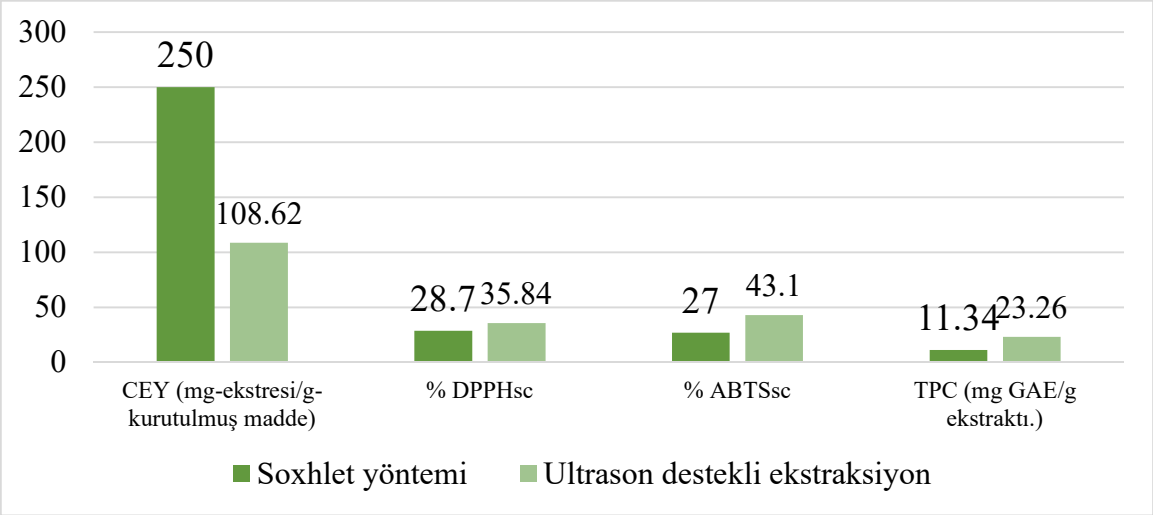
Ultrason destekli ekstraksiyonun ve geleneksel katı ekstraksiyonun verimi, ekstraktlar üzerinde bir diyot dizisi dedektörü analizi ile ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi gerçekleştirildikten sonra belirlenmiştir. İncelenen tüm fenolikler için optimal ekstraksiyon koşulları döngü sayısı (X1) = 10, sıvı-katı oranı (X2) = 15 mL/g kuru toz zeytin yaprağı ve sonikasyon süresi (X3) = 4 dk olarak olarak belirlenmiştir. Bu optimal koşullar altında, ultrason destekli ekstraksiyondan sonraki oleuropein konsantrasyonu, 11.964-14.808 arasında değişen %95 güven aralığında 13.386 mg/g kuru toz zeytin yaprağı, verbaskozit ekstraksiyonunun konsantrasyonu 0,338–0,389 mg/g arasında değişen %95 güven aralığında 0.363 mg/g kuru toz zeytin yaprağı ve luteolin-4-′O-glukozit ekstraksiyonunun konsantrasyonu, 0,456–0,600 arasında değişen %95 güven aralıklarıyla 0,527 mg/g kuru toz zeytin yaprağı olarak bulunmuştur. Deneylerin doğrulanması, modifiye edilmiş optimal koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin zeytin yaprağı ekstraktlarında OLE, VER ve L4OG verimlerini arttırmak için etkili bir yöntem olduğu ve seçilen modelin ise zeytin yapraklarından ana fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu optimize etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir (Giacometti vd., 2018).

Samaram vd. (2013)'nin yaptığı bir çalışmada ise farklı ekstraksiyon yöntemlerinden ve koşullarından elde edilen papaya tohumu yağının geri kazanım verimi, yağ asidi bileşimi ve triaçilgliserol profili karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, hem solvent ekstraksiyon hem de ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile nispeten yüksek verimler (sırasıyla toplam yağ içeriğinin %79,1'i ve %76,1'i) elde edildiğini göstermiştir. Yağ asidi bileşiminin analizi ile papaya tohumu yağındaki baskın yağ asitlerinin oleik (18:1, %70,5 – %74,7), palmitik (16:0, %14,9 – %17,9), stearik (18:0, %4,50 –%5,25) ve linoleik asit (18:2, %3,63–%4,6) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, ultrason destekli ekstraksiyon, papaya tohumu yağının triaçilgliserol profilini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Ancak farklı ekstraksiyon yöntemleri ve koşulları ile ekstrakte edilen papaya tohumu yağının yağ asidi bileşiminde önemli bir fark gözlemlenmemiştir (Samaram vd., 2013).

Giacometti vd. (2018)'nin yaptığı bir çalışmada zeytin yapraklarının başlıca fenolikler olarak oleuropein (OLE), verbaskozit (VER) ve luteolin-4′-O-glukozit (L4OG) ekstraksiyonunda ultrason tekniği kullanılmış ve sonuçlar yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Farklı ultrason çalışma modlarının (darbeli ve sürekli), sıvı-katı oranı ve sonikasyon süresinin her fenolik verimi üzerindeki etkisini izlemek için bir Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır.

Bimakr vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada kışlık kavun tohumlarından ultrason destekli ham yağ ekstraksiyonu yanıt yüzey metodolojisi ile incelenmiştir. Güç seviyesi (%25–75), sıcaklık (45–55 °C) ve sonikasyon süresi (20–40 dakika) proses değişkenleri ile çalışılmıştır. Tüm süreç değişkenlerinin yanıt değişkeni üzerinde anlamlı ($p < 0.05$) etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Optimum işlem koşullarını belirlemek için merkezi bir bileşik tasarım kullanılmıştır. Maksimum ham verim (108,62 mg-ekstrakt/g-kurutulmuş madde) için optimum koşullar % 65 güç seviyesi, 52 °C sıcaklık ve 36 dakikalık sonikasyon süresi olarak belirlenmiştir. Optimize edilmiş koşullar altında elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesi, toplam fenolik içeriği ve yağ asidi kompozisyonu belirlenmiş ve Soxhlet yöntemi ile elde edilen yağ ile karşılaştırılmıştır.

Ultrason destekli ekstraksiyonun ham ekstrakt veriminin Soxhlet yönteminden daha düşük olduğu, buna karşın ultrason destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriğinin Soxhlet ekstraktından açıkça daha yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Ultrason destekli ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemi ile elde edilen ekstraktların kalitesinin karşılaştırılması (Bimakr vd., 2012)

Li vd. (2004)'nin yaptığı bir çalışmada, iki çeşit soya fasulyesinden yağ ekstraksiyonu sırasında 20 kHz yüksek yoğunluklu ultrason uygulaması hekzan, izopropanol ve 3:2 hekzan-izoprapanol karışımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Öğütülmüş soya fasulyeleri çözücülere ilave edilmiştir. 0 - 3 saat ve 16,4 – 47,6 W/cm^2 arasında değişen ultrasonik yoğunluk seviyelerinde çalışılmıştır. Araştırmacıların elde ettiği sonuçlar, çözücü olarak hekzan kullanıldığında hem uygulama süresi hem ultrasonun yoğunluğu arttıkça verimin arttığını göstermektedir.

Yapılan bir başka çalışmada, nar çekirdeğinden ultrason destekli yağ ekstraksiyonu, merkezi kompozit dönebilen tasarım kullanılarak yanıt yüzey metodolojisi ile optimize edilmiştir. Optimizasyon için çalışılan parametreler çözücü-katı oranı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresidir. Elde edilen sonuçlara göre seçilen koşullar, solvent-katı oranı, 25 mL/g; sıcaklık, 60 °C; ve süre, 20 dakika, bu da %27,99'luk bir yağ ekstraksiyonu verimi ile sonuçlanmıştır. Yağ ekstraksiyonunun verimi ve optimize edilmiş ekstraksiyon yönteminin yağ asidi bileşimi, diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırılmıştır. Gaz kromatografi analizinin sonuçları, ekstraksiyon yöntemleri arasında yağ asidi bileşiminde çok az değişiklik meydana geldiğini göstermiştir. Sonuçlar, ultrason kullanılarak optimize edilmiş ekstraksiyon yönteminin nar çekirdeğinden yağ ekstraksiyonunda etkili olduğunu göstermiştir (Barizão vd., 2015).

Yapılan bir başka çalışmada da, keten tohumundan ultrason destekli ekstraksiyonun keten tohumundan yağın ekstraksiyon verimi üzerindeki etkileri araştırılmış ve sonuçların bir kısmı konvansiyonel yöntemle karşılaştırılmıştır. Çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonun daha kısa süre ve daha az solvent tüketimi gerektirdiği bulunmuştur. Keten tohumu yağı veriminin ultrasonik gücün artmasıyla arttığı, sıcaklık arttıkça azaldığı tespit edilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon ve konvansiyonel yöntemle ekstrakte edilen yağların yağ asidi bileşimleri gaz kromatografisi kullanılarak analiz edilmiştir. Keten tohumu yağlarının bileşimlerinin ultrason uygulamasından önemli ölçüde etkilenmediği gösterilmiştir ($p > 0.05$). Araştırmacılar, ultrason destekli ekstraksiyonun, lipid üretimi için etkili bir yöntem olabileceğini ortaya koymuştur (Zhang vd., 2008).

İnce vd. (2013)'nin yaptığı bir çalışmada melisa bitkisinden mikrodalga ve ultrason kullanımı ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu incelenmiştir. Hem mikrodalga hem de ultrason destekli ekstraksiyonlarda, ekstraksiyon süresinin (mikrodalga için 5–20 dakika; ultrason için 5–30 dakika) ve katı-çözücü oranının (1:10, 1:20 ve 1:30 g mL^{-1}) toplam fenolik içerik (TPC) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon için farklı güçlerin (%50 ve %80) etkileri de incelenmiştir. Çözücü olarak su kullanılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda, ekstraktların en yüksek TPC değeri (145.8 mg GAE g^{-1} kuru malzeme) 5 dakikada ve 1:30 katı-çözücü oranında elde edilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon için, en yüksek TPC değeri (105,5 mg GAE g^{-1} kuru malzeme) veren koşullar, %50 güçte 1:30 katı-çözücü oranıyla 20 dakika olarak bulunmuştur. Optimum mikrodalga ve ultrason koşullarında elde edilen ekstraktlar, sırasıyla geleneksel ekstraksiyon ve maserasyon ile karşılaştırılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksyonla elde edilen ekstraktın TPC değeri ve antioksidan aktivitesi, tüm ekstraksiyon yöntemleri arasında en yüksek olmuştur. Ultrason ile elde edilen ekstraktlar ile maserasyon yoluyla elde edilen ekstraktların TPC değerleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. 1:30 katı-çözücü oranı ile farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen melisa özlerinin toplam fenolik içeriği (Ince vd., 2013)

Ekstraksiyon yöntemi	**Ekstraksiyon süresi**	**TPC (mg GAE g^{-1} kuru madde)**
Mikrodalga	5 dk	145,8a**
Konvansiyonel	30 dk	119,5b
Ultrason*	20 dk	105,5b
Maserasyon	**24 h**	**90,1b**

*Ultrasonik ekstraksiyon (%50 güç).

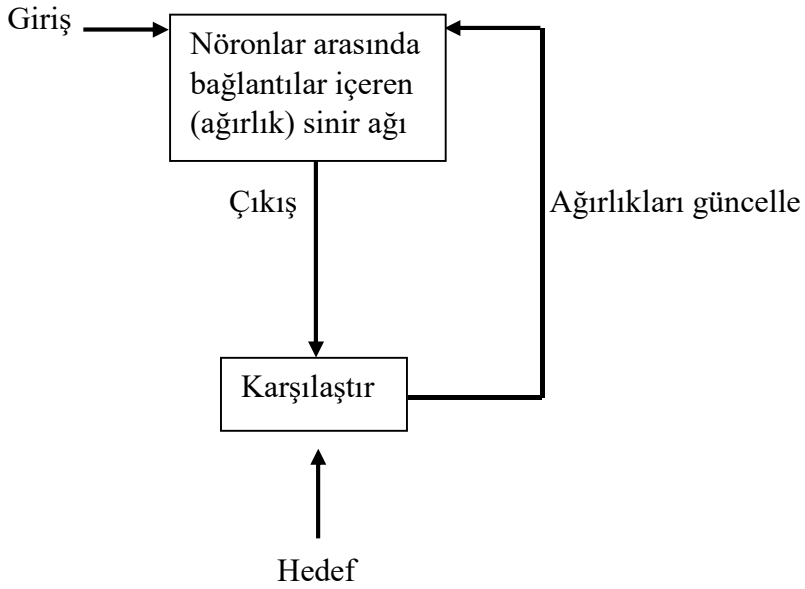
**Farklı harfler (a, b, c) farklı ekstraksiyon yöntemleri arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

2.6. Yapay Sinir Ağları

Yapay sinir ağları, bireylerin beyin fonksiyonlarının önemli özelliği olan öğrenme işlevini yerine getiren bilgisayar düzenekleri olup bunları örnekler ile oluşturan sistemlerdir. Yapay sinir ağları, süreç elemanlarının birbirine bağlı proses elemanlarından oluşmaktadır ve tüm bağlantının ağırlığı mevcuttur. Bağlantının ağırlığına yapay sinir ağa ait bilgi saklanmıştır ve ağa yayılımı gerçekleşmiştir. Yapay sinir ağları herkes tarafından öğrenilmiş hesaplama işlemlerinden farklı olarak bir yöntem önerisinde bulunmaktadır. Uyum içerisinde çalışan bir sistem olması, tamamlanmamış bilgi ile çalışma sağlayabilen, belirli bir durumun olmaması durumunda karar verebilen ve yanlışlıklara karşı tolerans gösterebilen bir hesaplama yöntemidir. Bu özelliklere sahip olması nedeni ile yaşamımızın her alanında kullanılmaktadır. Sınıflandırma, sinyal filtreleme, veri sıkıştırma, örüntü tanıma ve optimizasyon uygulamalarında yapay sinir ağları sistemi tercih edilmektedir (Öztemel, 2012).

2.6.1. Yapay sinir ağı uygulamaları

Yapay sinir ağlarının tahmin, sınıflandırma, veri ilişkilendirme, veri yorumlama ve veri filtreleme gibi uygulama işlemleri vardır. Tahmin işleminde uygulamadaki başlangıç verilerinden sonuç verilerini belirlemeye çalışmaktadır. Buna örnek olarak hava durumu tahmini verilebilmektedir. Sınıflandırmada ise başlangıç verileri kullanılarak bir sınıflama işlemi gerçekleştirmektedir. Buna örnek olarak arıza sınıflandırma ve hastalık teşhis etme verilebilmektedir. Sınıflandırma işlemine benzer özellikteki bir uygulama ise veri ilişkilendirmedir. Sınıflandırma işleminin yanı sıra hatalı değerleri de tanımlamaktadır. Tarayıcının düzgün çalışıp çalışmadığının tanınması örnek olarak verilebilmektedir. Uygulamaya giren başlangıç değerindeki grup ilişkisini analiz eden veri yorumlama işlemidir. Bu işlem birbirine benzer özellik gösteren değerlerin grup halinde ayırılmasını sağlamaktadır. Bir başka yapay sinir ağı uygulaması ise veri filtrelemedir. Başlangıç sinyaline uymayan değerlerin sistemden ayırılması işlevini yerine getirmektedir. Buna örnek olarak telefondaki sinyalde bulunan uygun olmayan gürültünün ayıklanması verilebilmektedir (Velioğlu, 2010). Şekil 2.11'de yapay sinir ağının çalışma prensibi verilmiştir.



Şekil 2.11. Yapay sinir ağı çalışma prensibi (Velioğlu, 2010)

2.6.2. Yapay sinir ağlarının gıda mühendisliği alanında uygulamaları

Son zamanlarda yapar sinir ağları, gıda üretim optimizasyonunda gıdaların görselliğini tespit edilmesinde ve mikrobiyolojik aktivitelerin tahmin yürütülmesinde yararlanılmıştır (Velioğlu, 2010). Yapay sinir ağları, bilgilerin depolanabildiği ve genelleştirilebildiği paralel dağıtılmış işlemci yapılarına sahip bir sistemdir. Yiyecek ve içecek endüstrisinde süreç modelleme, optimizasyon, izleme ve sınıflandırma gibi özelliklerde kullanılabilmektedir. Örnek olarak iri mısır tanelerini kırık tanelerden ayırma, antosiyanin içeriğini belirleyerek şarapları sınıflandırma, mikrobiyolojik çalışmalarda mikrobiyal gelişimi belirleme gibi birçok kullanım alanı verilebilmektedir (Çerkez ve Kızıldemir, 2020).

Kılıç vd. (2007) yaptığı bir çalışmada; yapar sinir ağları sıvı yağ örneklerinin renk ölçümlerinin tahminlemede kullanılmıştır. Çalışmada sıvı yağ örneklerinin absorbans değerleri spektrofotometrede okunmuştur. Okunan absorban değerleri yapay sinir ağları yöntemi ile L*a*b* olarak tahminlemesi yapılmıştır. Yapay sinir ağındaki veriler arasındaki korelasyon katsayıları L*= 0,989, a*=0,984 ve b*=0,996 olarak elde edilmiştir (Kılıç vd., 2007)

Valadez-Blanco vd. (2007)'nin yaptığı bir çalışmada da yapay sinir ağları uygulaması renk ölçümü için kullanılmıştır. Gıdadaki ekstrüzyon uygulamasından sonra gerçekleşen renk değişimi ve ürün renginin son ürün rengiyle olan ilişkisi yapay sinir ağları yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Sonuç farklı yapay sinir ağı tasarımı (ileri beslemeli, çok katmanlı ve üç gizli nöron) kullanılarak son ürün rengini doğruya yakın bir değerde bulunmuştur (Valadez-Blanco vd., 2007)

2.7. Yanıt Yüzeyi Yöntemi

Yanıt yüzeyi yöntemi (RSM), ilk kez kimya alanında kullanılmış olup, Myers vd. (2016) bu yöntemin süreç geliştirme ve optimizasyonda kullanılacak olan matematik ve istatistik içeren tekniklerin kombinasyonlu olarak çalıştırıldığı bir sistem olduğunu ifade etmektedir. Süreç değişkenlerinin deneysel uzayını keşfetmeye yönelik deneysel stratejileri, bir sistemin tepkisi ile buna etki eden bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemeye ve süreç değişkenleri tarafından üretilen düzlemi bulmaya yönelik ampirik modelleme tekniklerini içeren bir yöntemdir (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010; Myers vd., 2016)

Yanıt yüzeyi yöntemi üç aşamadan oluşur:

1. Eleme denemeleri: Esas denemelerin az miktarda çok verimle gerçekleşmesini sağlamaktadır.
2. Bölge araştırmaları: Buradaki amaç sistemin yanıtında eleme girişimleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin ürettiği değerlerin optimuma yakın sonuçlar üretip üretmediğini tespit etmektir.
3. Süreç veya ürün optimizasyonu: Süreç en iyi noktaya ulaştığında başlamaktadır. Gerçek yanıt fonksiyonu, optimum noktanın yakınında belirli bir eğrilik sergilemektedir. Bu eğriliği doğrusal olmayan modeller, özellikle ikinci dereceden polinom modelleri, üssel modeller veya eksponensiyel modeller kullanarak tahmin edilebilmektedir. İyi bir modelleme olduğunda, bu modeli en iyi noktayı bulmak için kullanılmaktadır (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010).

2.7.1. Yanıt yüzey yönteminin gıdadaki uygulamaları

Yapılan bir çalışmada susam ezmesi üretimi için bir sıcak hava kavurma işlemi, çeşitli sürelerde (30-60 dakika) bir dizi hava sıcaklığında (120–180 °C) yanıt yüzeyi yöntemi ile optimize edilmiştir. Tohumların renk parametreleri (L, a ve b değerleri), esmerleşme indeksi (BI), sertlik, kırılabilirlik ve nem içeriği, tahmin modelleri geliştirmek ve kavurma işlemini optimize etmek için yanıt parametreleri olarak kullanılmıştır. Tohumların sertliği ve kırılabilirliği de artan kavurma sıcaklığı ve süresi ile azalmıştır. RSM tarafından geliştirilen ikinci dereceden ve doğrusal modeller, sırasıyla renk değerlerindeki ve tektürel parametrelerdeki değişiklikleri yeterince tanımlamıştır. RSM analizinin sonucu, bir sıcak hava kavurucusunda susam tohumlarının kavrulmasını izlemek için tüm renk parametrelerinin ve tekstürel parametrelerin kullanılması gerektiğini göstermiştir. İstenilen renk ve dokuyu elde etmek için susam ezmesi üretimi için optimum kavurma aralığı 155–170 °C sıcaklık ve 40–60 dk süre olarak belirlenmiştir (Kahyaoğlu ve Kaya, 2006)

Yapılan bir çalışmada da zeytinyağının yağ verimi ve kalite parametreleri açısından yoğurma işlemi yanıt yüzeyi yöntemi ile optimize edilmiştir. Örnek olarak iki farklı olgunluk döneminde (mor ve siyah) zeytin meyveleri kullanılmıştır. Tepki tahmini tam ikinci dereceden bir regresyon denklemi ile önerilmiştir ve modelin yeterliliğini değerlendirmek için her model için regresyon parametreleri kontrol edilmiştir. Verim için önerilen modeller ve zeytinyağının bazı kalite parametreleri, deneysel sonuçların başarılı bir şekilde tahmin edilmesi için yeterince iyi sonuç vermiştir. Yağ üretimi için optimum yoğurma koşulları mor meyveler için 30°C'de 45 dakika ve siyah meyveler için 28°C'de 55 dakika olarak bulunmuştur. Yanıt yüzeyi yöntemi, zeytinyağı üreticileri için yoğurma işleminin optimizasyonunda iyi bir araç olarak ifade edilmiştir (Cevik vd., 2017).

Diğer bir çalışmada; fındık için kullanılan hava sıcaklığı, hava hızı ve kavurma süresi (bağımsız değişkenler) gibi kavurma koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilebileceği hipotezi test edilmiştir. RSM kullanılarak minimum sayıda deney yapılarak fındıklar için optimum kavurma koşullarının belirlenmesi mümkün olmuştur (Saklar vd., 2001).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Zeytin

Türkiye'deki Mersin iline ait Sarı Ulak zeytin (Şekil 3.1) çeşidi kullanılmıştır. Laboratuvara gelen zeytinler ekstraksiyon işleminin tamamlanma sürecine dek +4 °C buzdolabı sıcaklığında bekletilmiştir.



Şekil 3.1. Ekstraksiyon için kullanılan zeytin

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

- Saf su
- Etanol (Isolab, Almanya)
- %0,1'lik fenolftalein çözeltisi (Norateks, Türkiye)
- 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisi (Beyanlab, Türkiye)
- Metanol (Supelco, Almanya)
- Folin-Ciocalteu reaktifi (Supelco, Almanya)
- %20'lik Sodyum karbonat (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisi

3.2. Yöntem

3.2.1. Zeytin ekstraksiyonu

Denemede dizayn olarak Box-Behnken dizaynı seçilmiş olup, koşullar sıcaklık 30-50 °C, süre 5-15 dk ve güç % 60-100 olarak belirlenmiştir. 2 tekerrürlü bu çalışmada; toplam 30 deneme ile çalışılmış ve ektraksiyon koşulları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Zeytin ekstraktı için çalışılan ultrasonik ekstraksiyon koşulları

Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları		
Sıcaklık	**Süre**	**Güç**
40°C	5 dk	%60
30°C	10 dk	%100
40°C	15 dk	%100
50°C	10 dk	%100
40°C	10 dk	%80
40°C	15 dk	%60
50°C	15 dk	%80
30°C	5 dk	%80
40°C	5 dk	%100
30°C	10 dk	%60
40°C	10 dk	%80
30°C	15 dk	%80
50°C	5 dk	%80
50°C	10 dk	%60
40°C	10 dk	%80



Şekil 3.2. Zeytin ekstraksiyonu için kullanılan kahve öğütme cihazı

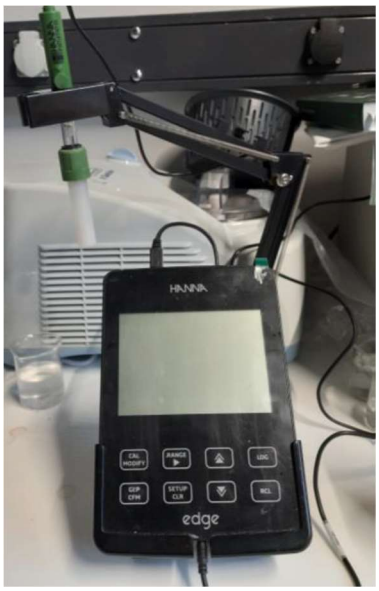
Zeytinler çekirdekleri çıkarıldıktan sonra Kiwi kahve öğütme makinesi (Coffee and Spice Grinder, KSPG-4812, Çin) (Şekil 3.2) ile hamur haline getirildikten sonra 10 g numuna hassas terazi (Precisa Gravimetrics AG, 320XB, İsviçre) ile tartıldıktan sonra üzerlerine 50 mL saf su ilave edilmiştir. Modellenmiş ekstraksiyon koşullarına göre zeytin hamuru-saf su karışımı ultrasonik su banyo (Ultrasonic Cleaner, SK2210LHC, Kudos)(Şekil 3.3) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ultrasonik banyo cihazı ile 53 KHz frekansta çalışılmıştır. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra numuneler Hermle Z 326 K (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Almanya) santrifüj cihazı ile 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir sonra zeytin ekstraktları ışık geçirmez şişelere konularak analizlerin gerçekleşme süresine kadar buzdolabında +4 °C'de bekletilmiştir.



Şekil 3.3. Zeytin ekstraksiyonu için kullanılan ultrason banyo cihazı

3.2.2. pH analizi

Numunelerin pH değerleri Hanna HI 2020 Edge (Hanna Instruments, RI, A.B.D.) (Şekil 3.4) pH metre cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Cihaz öncelikle pH 4, 7 ve 10 tampon çözeltileri ile kalibre edilmiş ve daha sonra zeytin ekstraktlarına içerisine probun ucu daldırılarak pH ölçümü yapılmıştır.



Şekil 3.4. pH metre cihazı

3.2.3. Serbest asitlik tayini

Numunelerdeki serbest asitlik analizi AOCS Ca 5a-40 yönteminde belirtildiği şekilde (AOCS, 2003) titrimetrik olarak gerçekleştirilmiştir. Zeytin ekstraktından 1 g tartılmıştır ve üzerine 30 mL etanol eklenerek çözdürüldükten sonra üzerine 5-6 damla %0,1'lik fenolftalein damlatılır. Bürette bulunan 0,1 N NaOH çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sarfiyatlar not edilerek Eşitlik 3.1'deki formüle göre hesaplama yapılmıştır.

$$\%\text{serbest asitlik} = (V*N*28.2)/m \tag{3.1}$$

V= sarfiyat miktarı, m= numune ağırlığı, N= sodyum hidroksitin normalitesi

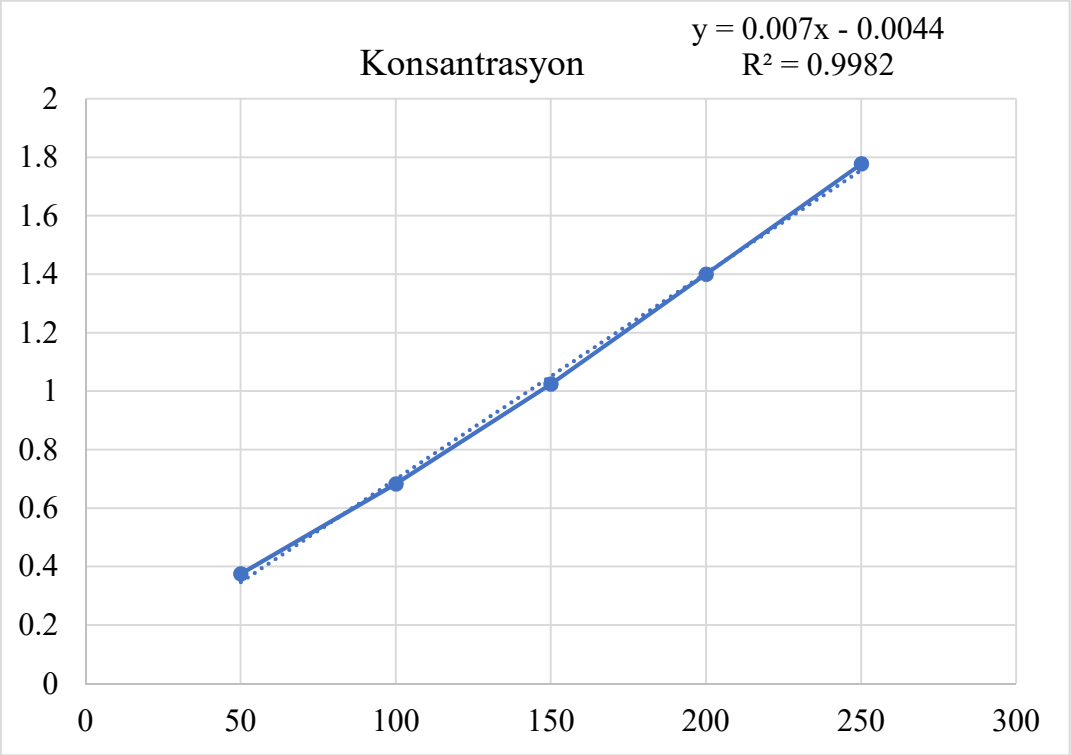
3.2.4. Fotometrik renk indeksi analizi

Numuneler 25-30 °C'ye getirildikten sonra spektrofotometre küvetlerine yerleştirilmiş ve Jasco V-730 (Jasco Inc., Easton, MD) model spektrofotometre cihazında 460, 550, 620, 670 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Fotometrik renk indeksi, AOCS Method Cc 13c-50'de (AOCS, 2003) belirtildiği üzere Eşitlik 3.2'deki gibi hesaplanmıştır.

$$\text{PCI} = 1{,}29(A460) + 69{,}7(A550) + 41{,}2(A620) - 56{,}4(A670) \tag{3.2}$$

3.2.5. Toplam fenolik madde miktarı

Numunelerdeki toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için öncelikle 500 ppm gallik asit çözeltisi metanol ile hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltiden 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm konsantrasyondaki ara çözeltiler hazırlanarak Jasco V-730 (Jasco Inc., Easton, MD) model spektrofotometre cihazında 760 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüştür. Okunan bu absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek standart kalibrasyon kurvesi (Şekil 3.5) hazırlanmıştır.



Şekil 3.5. Gallik asit kalibrasyon kurvesi

Daha sonra, hazırlanan numunelerden 1 g tartılarak üzerlerine metanol:su (hacimce 1:1) karışımı ilave edilmiş ve fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu sağlanmıştır. Ekstrakte edilen örnekler 7000 rpm dönüş hızında 5 dk boyunca Hermle Z 326 K (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Almanya) (Şekil 3.6) model santrifüj cihazı ile santrifüjlenerek mevcut olabilecek safsızlık ve katı partiküllerin sıvı fazdan ayrılması sağlanmıştır. Süpernatanttan 1 mL alınarak, sırasıyla 8.25 mL saf su, 0.50 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 0.25 mL sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik konsantrasyonda) ilave edilmiş ve 30 dk karanlıkta beklemeye bırakılmıştır. Bekleme sonunda, hazırlanan numuneler küvetlere alınarak saf su ile köre karşı kalibre edilen spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüş ve okunan absorbanslar kalibrasyon kurvesine yerleştirilerek toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit/ g olarak ifade edilmiştir.

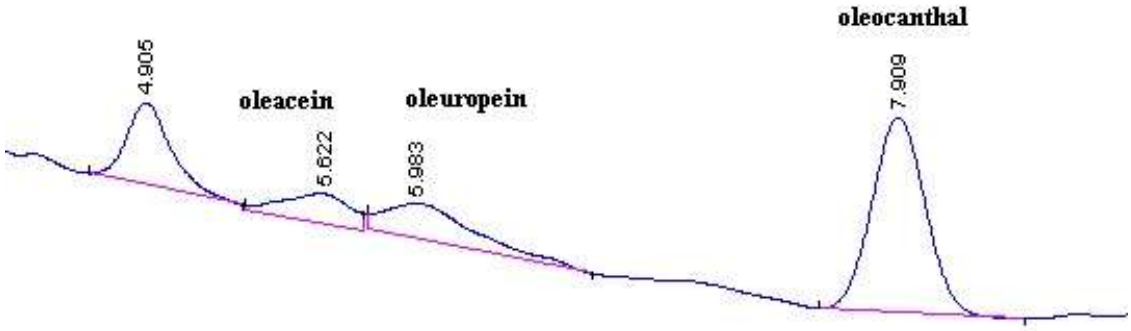


Şekil 3.6. Santrifüj cihazı

3.2.6. Sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu

Örneklerdeki sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonları (oleuropein, oleocanthal ve oleacein) aşağıda detayları belirtilen metot kullanılarak, Balıkesir Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BUBTAM) tarafından gerçekleştirilmiştir.

Zeytin ekstraktlarında sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu analizinde HPLC cihazı olarak Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, USA) kullanılmıştır. HPLC kolonu olarak Thermo Scientific (Waltham, MA USA) C18 column (150 × 4.6 mm, 3 µm particle size) kullanılmıştır. 20 µL örnek hacmi, 280 nm dalga boyu, 24°C fırın sıcaklığında, 1 mL/dk debi de ve distile su (%1 Asetik asit) (A) %60, Metanol/Asetonitril (1/1) (B) %40 mobil fazları kullanılarak analiz yapılmıştır. Şekil 3.7'de zeytin ekstraktlarındaki sekoiridoidlere ait bir örnek kromatogram verilmektedir.



Şekil 3.7. Zeytin ekstraktlarındaki sekoiridoidlere ait örnek pikler

3.2.7. Deneme planı

Bu tez çalışmasının deneme planı yanıt yüzey yöntemine ait bir deneme dizaynı olan Box-Behnken kullanılarak oluşturulmuştur. Bağımsız değişkenler olarak; ekstraksiyon sıcaklığı (x_1), süre (x_2) ve ultrasonik güç (x_3) olarak seçilmiş olup, her bağımsız değişkenin mevcut olan 3 seviyesi aşağıdaki şekilde seçilmiştir:

x_1: 30, 40, 50 (°C)

x_2: 5, 10, 15 (dk)

x_3: 60, 80, 100 (maksimum ultrasonik gücün yüzdesi, %)

Tüm denemeler 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş olup, toplamda 30 deneme yürütülmüştür. Box-Behnken dizaynın merkez noktasında yürütülen deneme sayısı 6'dır. Çizelge 3.2'de Box-Behnken deney tasarımına ait ultrason işlem koşulları verilmiş olup, minimum değerler - , maksimum değerler + ve orta noktası ise 0 olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 3.2. Box-Behnken deney tasarımına ilişkin kodlanmış ve kodlanmamış ultrason işlem koşulları

Denemeler	**Kodlanmış parametreler**			**Kodlanmamış parametreler**		
	***x*1**	***x*2**	***x*3**	***x*1 (°C)**	***x*2 (dk)**	***x*3 (%)**
1	0	-	-	40	5	60
2	-	0	+	30	10	100
3	0	+	+	40	15	100
4	+	0	+	50	10	100
5	0	0	0	40	10	80
6	-	0	+	30	10	100
7	0	0	0	40	10	80
8	0	+	-	40	15	60
9	+	+	0	50	15	80
10	-	-	0	30	5	80
11	0	-	+	40	5	100
12	-	0	-	30	10	60
13	0	0	0	40	10	80
14	-	-	0	30	5	80
15	0	+	+	40	15	100
16	-	+	0	30	15	80
17	0	-	-	40	5	60
18	+	-	0	50	5	80
19	+	0	+	50	10	100
20	-	+	0	30	15	80
21	+	0	-	50	10	60
22	+	-	0	50	5	80
23	0	0	0	40	10	80
24	0	-	+	40	5	100
25	-	0	-	30	10	60
26	+	0	-	50	10	60
27	+	+	0	50	15	80
28	0	+	-	40	15	60
29	0	0	0	40	10	80
30	0	0	0	40	10	80

Analizler sonucunda elde edilen veriler kullanılarak matematiksel modelleme amacıyla ikinci dereceden denklemler oluşturulmuş olup, genel yapı olarak bir ikinci derece denklem Eşitlik 3.3'teki gibidir.

$$y_i = c_0 + c_1x_1 + c_2x_2 + c_3x_3 + c_{11}x_1^2 + c_{22}x_2^2 + c_{33}x_3^2 + c_{12}x_1x_2 + c_{13}x_1x_3 + c_{23}x_2x_3 \quad (3.3)$$

y_i: modelden hesaplanacak olan bağımlı değişken

c_0: sabit katsayı

c_1, c_2, ve c_3: doğrusal katsayılar

c_{11}, c_{22}, ve c_{33}: ikinci derece katsayılar

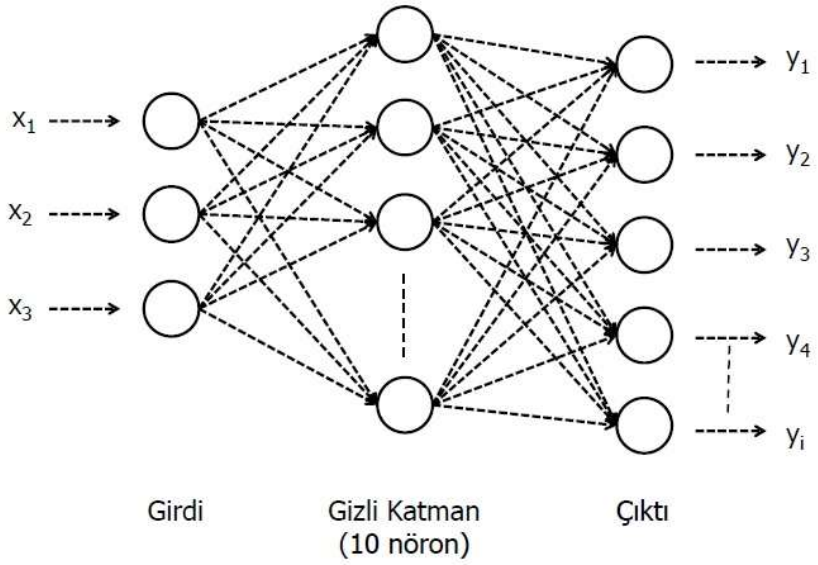
c_{12}, c_{13}, , c_{23}: interaksiyon katsayıları

3.2.8. Optimizasyon

Analizlerden elde edilen veriler Minitab istatistik programı (Minitab 16, Minitab Inc., A.B.D.) kullanılarak analiz edilmiştir. Varyans analizinde kullanılan güven aralığı %95 olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenlerin ikili olarak bağımlı değişken üzerindeki ortak etkilerinin görsel olarak gösteriminde ise Statistica paket programı (Statistica v10, Statsoft Inc., Tulsa, OK) kullanılarak 3 boyutlu yüzey ve kontur grafiklerden yararlanılmıştır. Daha sonraki optimizasyon aşamasında ise, Minitab paket programı içerisinde mevcut olan Response Optimizer programı kullanılmıştır. Bu amaçla minimize ya da maksimize edilecek olan bağımlı değişkenlerin oluşturduğu matematiksel fonksiyonlar değerlendirilmiş ve her bir bağımlı değişkenin ağırlığı diğer bağımlı değişkenlere kıyasla oransal olarak ayarlanmıştır.

Elde edilen verilerin matematiksel olarak tahmininde, RSM dışında yapay sinir ağları da kullanılmıştır. Bu amaçla deneysel veriler kullanılarak MATLAB 2015a (Mathworks, A.B.D.) yazılımı yardımıyla yapay sinir ağları eğitilmiş, ve "feed-forward backpropagation" ağ yapısı seçilerek 10 adet gizli nöron kullanılmıştır. Ağın eğitiminde Levenberg-Marquardt fonksiyonu kullanılmış ve tüm regresyonlar için iyi bir R^2 değerine ulaşabilmek adına epoch ve validasyon kontrolü sayısı 1000 olarak ayarlanmıştır.

Şekil 3.8'de yapay sinir ağlarına ait dizaynda girdilerdeki X_1 sıcaklık, X_2 süre ve X_3 gücü temsil etmektedir. Y değerleri ise sırasıyla pH, serbest asitlik, renk indeksi, toplam fenolik, oleuropein, oleacein ve oleocanthal değerlerini temsil etmektedir.



Şekil 3.8. Yapay sinir ağ dizaynı

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. pH Analizi Sonuçları

Çizelge 4.1'de ultrasonik ekstraksiyon koşullarında çalışılan numunelerin pH değerleri verilmiştir. Zeytin ekstraktlarının pH değeri 4,94±0,028-5,23±0,120 aralığında bulunmuştur. En yüksek pH değeri 40 °C, 5 dk ve %60 güç parametrelerinde bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Zeytin ekstraktlarının pH değerleri

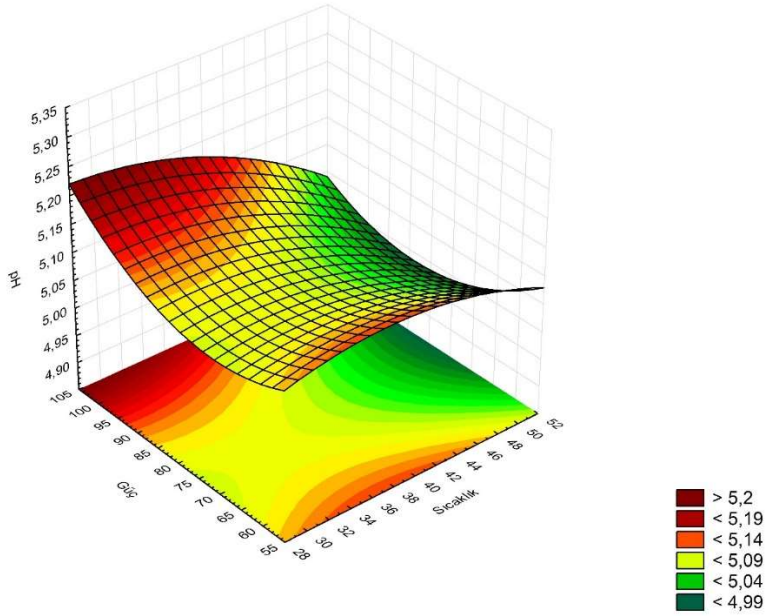
Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			**pH Değerleri**
Sıcaklık (°C)	**Süre (dk)**	**Güç (%)**	
40	5	60	5,23±0,120
30	10	100	5,17±0,021
40	15	100	5,12±0,085
50	10	100	5,09±0,170
40	15	60	5,11±0,156
50	15	80	4,94±0,028
30	5	80	5,18±0,170
40	5	100	5,14±0,007
30	10	60	5,03±0,007
30	15	80	5,12±0,007
50	5	80	5,05±0,042
50	10	60	5,05±0,035
40	10	80	5,06±0,097

*Ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Yapılan bir çalışmada zeytinyağı atık suyu olan ham karasu numunesindeki pH değeri 5,7 olarak bulunmuştur. Çalışmada ultrason ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen zeytin ekstraksiyonunda yapılan pH analizi sonucunda ise pH aralığı 4,91-5,31 olarak bulunmuştur (Akdemir, 2022).

Bir diğer çalışmada da 16 çeşit salamura zeytinlerde pH analizi yapılmıştır. Salamura zeytin pH değerleri 3,12 – 5,15 aralığında bulunmuştur (Sarıkaya vd., 2008).

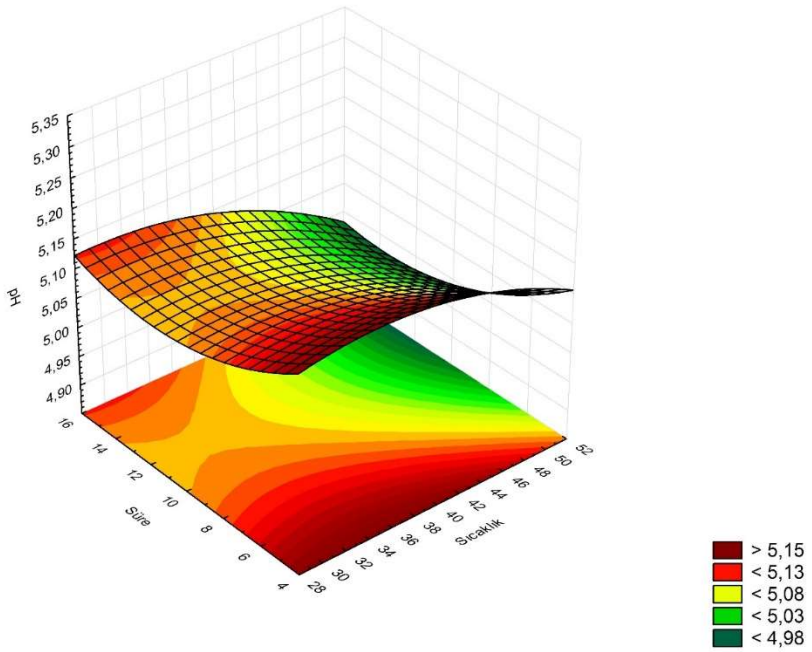
Şekil 4.1'de zeytin ekstraktının pH değerlerine ait sıcaklık ve güce karşı elde edilmiş 3 boyutlu grafik verilmektedir. Koyu kırmızı bölge ile gösterilen alanda pH değerinin 5,2 ve daha üstüne çıkabileceği görülmektedir. Koyu yeşil bölge ile gösterilen alanın ise pH değerinin 4,99 ve altına düşebileceği görülmektedir.



Şekil 4.1. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık)

Grafikte güç bir noktada sabitken sıcaklık azaldıkça pH değerinde artış olduğu görülmektedir. Bu bağlamda sıcaklığın etkisi mevcuttur (Şekil 4.1).

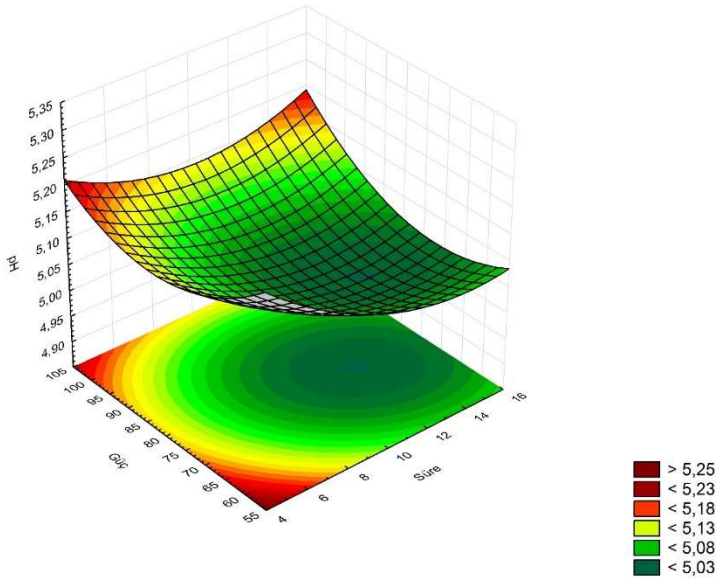
Şekil 4.2'de zeytin ekstraktının pH değerlerine ait sıcaklık ve süreye karşı elde edilmiş 3 boyutlu grafik verilmektedir. Koyu kırmızı bölge ile gösterilen alanda pH değerinin 5,15 ve daha üstüne çıkabileceği görülmektedir. Koyu yeşil bölge ile gösterilen alanın ise pH değerinin 4,98 ve altına düşebileceği görülmektedir.



Şekil 4.2. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık)

Grafikte süre bir noktada sabitken sıcaklık arttıkça pH değerinde azalma olduğu görülmektedir. Bu bağlamda sıcaklığın etkisi mevcuttur (Şekil 4.2). Benzer şekilde, sabit sıcaklıkta süre arttıkça belirli bir noktaya kadar pH değerinin düştüğü, daha sonra ise sınırlı bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

Şekil 4.3'te zeytin ekstraktının pH değerlerine ait sıcaklık ve süreye karşı elde edilmiş 3 boyutlu grafik verilmektedir. Koyu kırmızı bölge ile gösterilen alanda pH değerinin 5,25 ve daha üstüne çıkabileceği görülmektedir. Koyu yeşil bölge ile gösterilen alanın ise pH değerinin 5,03 ve altına düşebileceği görülmektedir.



Şekil 4.3. Zeytin ekstraktının pH değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre)

Grafikte güç bir noktada sabitken süre azaldıkça pH değerinde artış olduğu görülmektedir. Bu bağlamda sürenin etkisi mevcuttur. Süre 6 dk da sabitken güç arttıkça pH değerinde önce azalma sonra tekrar artış eğilimde olduğu görülmektedir (Şekil 4.3).

pH değerleri için 3 boyutlu yüzey grafiklerinden elde edilen eşitlikler Eşitlik 4.1-4.3'te verildiği gibidir

pH = 4,9247+0,0215*x-0,0279*y-0,0003*x*x-0,0002*x*y+0,0015*y*y

(X: sıcaklık, Y: süre) (4.1)

pH = 5,1229+0,0282*x-0,0135*y-0,0003*x*x-0,0001*x*y+0,0001*y*y

(X: sıcaklık, Y: güç) (4.2)

pH = 6,2726-0,0615*x-0,0228*y+0,0017*x*x+0,0002*x*y+0,0001*y*y

(X: süre, Y: güç) (4.3)

Çizelge 4.2'de pH için yapılan varyans analizi verilmiştir. pH için tüm *p* değerleri 0,05'den büyüktür. Farklı sıcaklık, süre ve güç değerlerinde ortalamalar arasında gözlenen aradaki farklılıkların istatistik olarak önemli olmadığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.2. pH için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,105426	0,105426	0,011714	1,24	0,325
Doğrusal	3	0,058413	0,033256	0,011085	1,18	0,343
Sıcaklık	1	0,032400	0,006940	0,006940	0,74	0,401
Süre	1	0,023256	0,010422	0,010422	1,11	0,305
Güç	1	0,002756	0,010612	0,010612	1,13	0,301
Kare	3	0,036488	0,036488	0,012163	1,29	0,305
	1	0,007800	0,004928	0,004928	0,52	0,478
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	0,009918	0,012063	0,012063	1,28	0,271
Güç*Güç	1	0,018771	0,018771	0,018771	1,99	0,173
Interaksiyon	3	0,010525	0,010525	0,003508	0,37	0,774
Sıcaklık*Süre	1	0,001013	0,001013	0,001013	0,11	0,746
Sıcaklık*Güç	1	0,004513	0,004513	0,004513	0,48	0,497
Süre*Güç	1	0,005000	0,005000	0,005000	0,53	0,475
Ölçüm Hatası	20	0,188321	0,188321	0,009416		
Uyum Eksikliği	3	0,033688	0,033688	0,011229	1,23	0,328
Saf Hata	17	0,154633	0,154633	0,009096		
Toplam	29	0,293747				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. $p<0.05$ önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.2. Serbest Asitlik Analizi Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi zeytinyağı ve pirina yağı tebliğine göre oleik asit cinsinden serbest yağ asitliği her 100 gramda 2,0 gramdan fazla olan yağlar için ham zeytinyağı/ rafinajlık olarak adlandırılmıştır (TGK, 2017).

Yapılan bir çalışmada Tunus'un Sfax, Sidi Bouzid ve Enfidha bölgelerine ait zeytinyağlarının serbest asitlik değerleri sırasıyla %0.21 ± 0.02, %0.20 ± 0.03 ve %0.20 ± 0.03 olarak bulunmuştur (Lazzez vd., 2011).

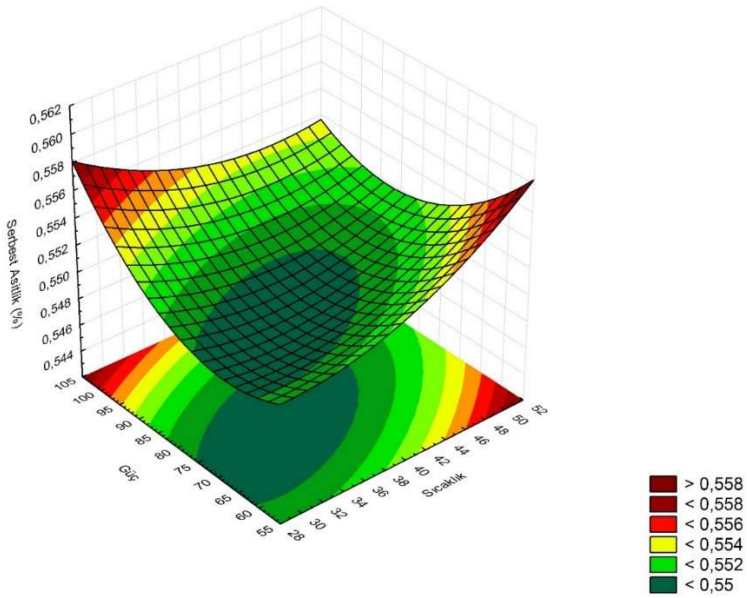
Çizelge 4.3'te zeytin ekstraktlarında yapılan serbest asitlik analizi sonuçları % oleik asit cinsinden verilmiştir. 1 g zeytin ekstraktında bulunan serbest asitlik değerleri %0,548±0,002 ve %0,557±0,004 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Zeytin ekstraktlarının serbest asitlik % oleik asit cinsinden değerleri

Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			**Serbest Asitlik Değeri (% oleik asit)**
Sıcaklık (°C)	**Süre (dk)**	**Güç (%)**	
40	5	60	0,557±0,004
30	10	100	0,556±0,004
40	15	100	0,549±0,001
50	10	100	0,554±0,002
40	15	60	0,548±0,002
50	15	80	0,548±0,005
30	5	80	0,552±0,003
40	5	100	0,549±0,004
30	10	60	0,553±0,000
30	15	80	0,551±0,002
50	5	80	0,550±0,001
50	10	60	0,555±0,004
40	10	80	0,548±0,006

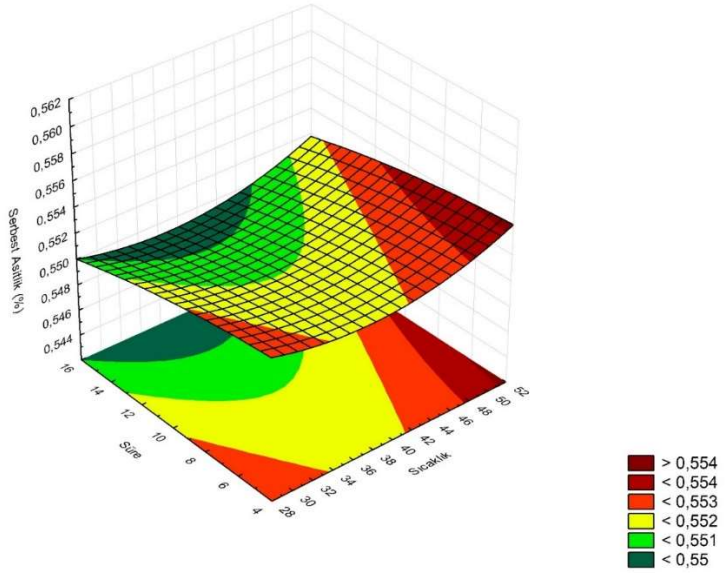
*Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 4.4'teki 3 boyutlu grafiğe bakıldığında güç sabit bir değerdeyken sıcaklığın artmasıyla serbest asitlik değerinde artış görülmektedir. Sıcaklığın etkisi mevcuttur.



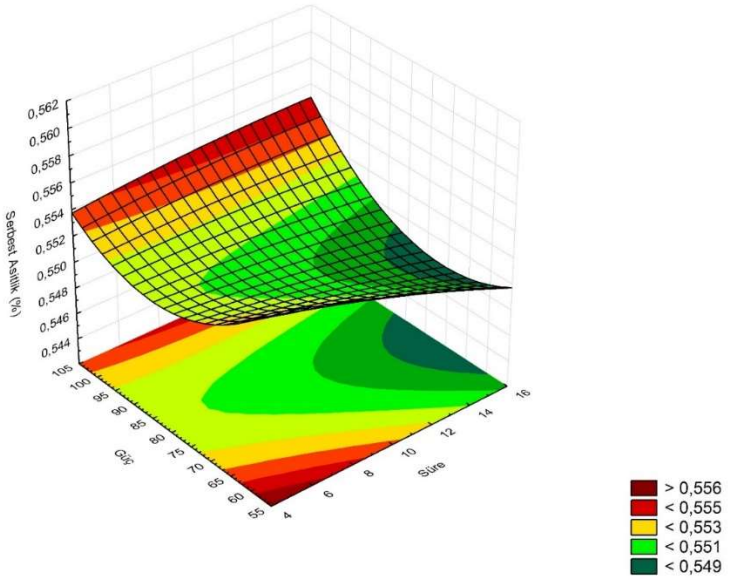
Şekil 4.4. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık)

Şekil 4.5'teki 3 boyutlu grafiğe bakıldığında sıcaklık sabit bir değerdeyken sürenin azalmasıyla serbest asitlik değerinde artış görülmektedir. Bu bağlamda sürenin etkisi mevcuttur.



Şekil 4.5. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık)

Şekil 4.6'daki 3 boyutlu grafiğe bakıldığında güç sabit bir değerdeyken sürenin artmasıyla serbest asitlik değerinde artış görülmektedir. Bu bağlamda sürenin etkisi mevcuttur. Koyu kırmızı bölge ile gösterilen alanda serbest asitlik değerinin 0,554 ve daha üstüne çıkabileceği görülmektedir. Koyu yeşil bölge ile gösterilen alanın ise serbest asitlik değerinin 0,555 ve altına düşebileceği görülmektedir.



Şekil 4.6. Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)

Serbest asitlik değerleri için 3 boyutlu yüzey grafiklerinden elde edilen eşitlikler Eşitlik 4.4-4.6'da verildiği gibidir.

Serbest Asitlik (%) = 0,5686-0,0009*x-5,5769E-5*y+1,1635E-5*x*x+1,25E-6*x*y- 1,0962E-5*y*y

(X: sıcaklık, Y: süre) (4.4)

Serbest Asitlik (%) = 0,5742-0,0002*x-0,0006*y+1,3606E-5*x*x-1E-5*x*y+6,2139E-6*y*y

(X: sıcaklık, Y: güç) (4.5)

Serbest Asitlik (%) = 0,5981-0,0011*x-0,0011*y-7,5E-6*x*x+1,3125E-5*x*y+5,9375E-6*y*y

(X: süre, Y: güç) (4.6)

Zeytin ekstraktlarında yapılan serbest asitlik analizi sonucunda elde edilen değerlerin birbirine yakınlığı nedeni ile uygulanan parametrelerde fark görülmemiştir. Yapılan ANOVA testinde *p* değerlerine bakıldığında 0,05'den büyük olduğu görülmektedir. Bu değerin üzerinde olması tüm değerler için istatistik olarak önemli olmadığını göstermektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Serbest asitlik için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,000134	0,000134	0,000015	0,80	0,617
Doğrusal	3	0,000032	0,000021	0,000007	0,38	0,768
Sıcaklık	1	0,000007	0,000000	0,000000	0,03	0,875
Süre	1	0,000020	0,000006	0,000006	0,34	0,564
Güç	1	0,000005	0,000017	0,000017	0,93	0,345
Kare	3	0,000056	0,000056	0,000019	1,02	0,406
	1	0,000010	0,000014	0,000014	0,73	0,402
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	0,000001	0,000000	0,000000	0,00	0,959
Güç*Güç	1	0,000045	0,000045	0,000045	2,46	0,133
Interaksiyon	3	0,000046	0,000046	0,000015	0,83	0,495
Sıcaklık*Süre	1	0,000000	0,000000	0,000000	0,00	0,968
Sıcaklık*Güç	1	0,000032	0,000032	0,000032	1,73	0,203
Süre*Güç	1	0,000014	0,000014	0,000014	0,75	0,398
Ölçüm Hatası	20	0,000370	0,000370	0,000018		
Uyum Eksikliği	3	0,000096	0,000096	0,000032	2,00	0,152
Saf Hata	17	0,000273	0,000273	0,000016		
Toplam	29	0,000504				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. $p<0.05$ önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.3. Fotometrik Renk İndeksi Analiz Sonuçları

Çizelge 4.5'te zeytin ekstraktlarının 460, 550, 620 ve 670 dalga boylarındaki absorbans değerleri ve hesaplanan fotometrik renk indeksi değerleri verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında renk değerlerinin 20,46±2,869 ile 83,70±2,220 aralığında değiştiği görülmektedir. En yüksek fotometrik renk indeksi değeri 50 °C, 10 dk ve %60 değerinde bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Zeytin ekstraklarına ait PCI değerleri

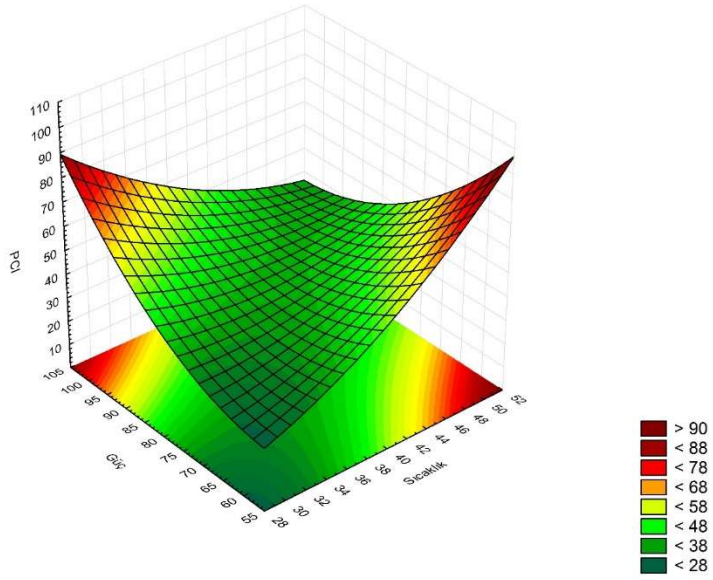
Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			Dalga boyu(λ)				PCI Değerleri
Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Güç (%)	460 nm	550 nm	620 nm	670 nm	
40	5	60	1,039± 0,035	0,740± 0,007	0,578± 0,007	0,456± 0,001	50,95±0,498
30	10	100	1,464± 0,373	0,968± 0,272	0,710± 0,272	0,522± 0,212	69,15±17,101
40	15	100	1,632± 0,225	1,068± 0,166	0,786± 0,166	0,570± 0,103	76,71±11,451
50	10	100	0,792± 0,382	0,527± 0,270	0,408± 0,270	0,259± 0,187	39,93±19,114
40	15	60	0,807± 0,270	0,529± 0,196	0,396± 0,196	0,297± 0,117	37,49±13,770
50	15	80	0,973± 0,181	0,663± 0,141	0,488± 0,141	0,334± 0,107	48,70±8,870
30	5	80	0,694± 0,090	0,464± 0,030	0,340± 0,030	0,233± 0,004	34,06±2,484
40	5	100	0,449 ±0,039	0,268± 0,037	0,187± 0,037	0,115± 0,014	20,46±2,869
30	10	60	0,637± 0,057	0,432± 0,035	0,333± 0,035	0,253± 0,026	30,39±2,247
30	15	80	1,015± 0,150	0,691± 0,121	0,512± 0,121	0,364± 0,089	50,01±7,816
50	5	80	0,823± 0,123	0,567± 0,076	0,427± 0,076	0,313± 0,031	40,55±5,776
50	10	60	1,789± 0,057	1,212± 0,021	0,926± 0,021	0,731± 0,007	83,70±2,220
40	10	80	0,886± 0,381	0,591± 0,265	0,440± 0,204	0,319± 0,165	40,87±17,475

*Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

Yapılan bir çalışmada sertifikalı organik ve konvansiyonel tarım yöntemlerinden elde edilen gemlik ve memecik cinslerine ait zeytinyağları karşılaştırılmıştır. Gemlik çeşiti zeytinlerden organik ve konvansiyonel tarım yöntemlerinden elde edilen zeytinyağlarında sırasıyla 3,24 ve 4,71 fotometrik renk indeksi değerleri bulunmuştur. Memecik cinslerinden elde edilen zeytinyağlarının renk indeksi değerleri ise 4,92 ve 5,32 olarak bulunmuştur (Dolgun vd., 2010).

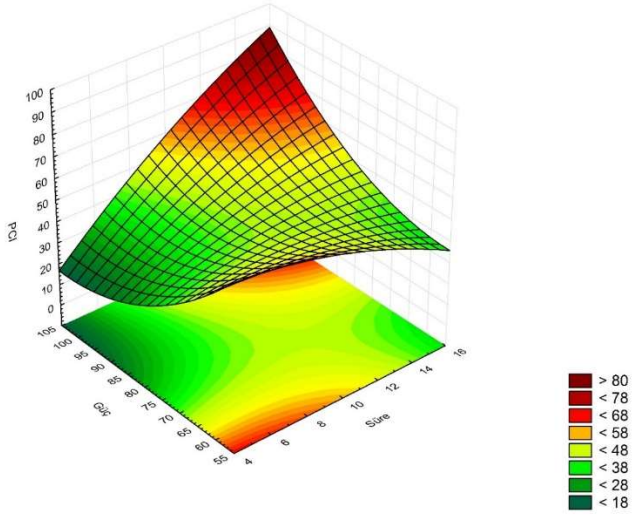
Bir başka çalışmada ise riviera zeytinyağının renk indeksi değeri kontrol örneklerinde 2,04 olarak bulunmuştur (Yüzereroğlu, 2021).

Zeytin ekstraktlarında yapılan renk indeksi analizi verilerine göre 3 boyutlu grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.7, 4.8, 4.9). Şekil 4.7'deki 3 boyutlu grafiğe bakıldığında güç ve sıcaklık değerlerinin azalması ile fotometrik renk indeksi değeri azalmaktadır. Güç ve sıcaklığın etkisi mevcuttur.



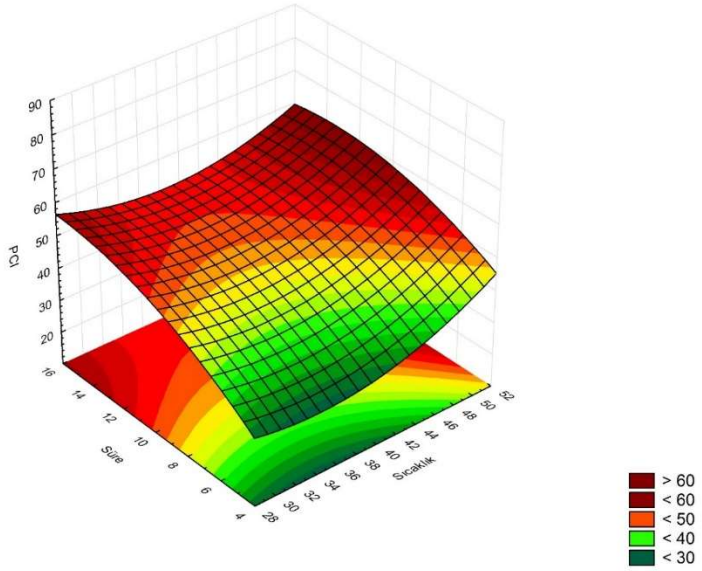
Şekil 4.7. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç)

Güç ve sürenin azalması ile fotometrik renk indeksi değerlerinde azalma olmaktadır. Bu bağlamda güç ve sürenin etkisi mevcuttur (Şekil 4.8). Ancak %55-60 güç düzeylerinde azalan süre ile birlikte genel eğilime aykırı olarak renk indeksi değerlerinde artış gözlenmiştir.



Şekil 4.8. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)

Sıcaklık sabit bir değerdeyken sürenin artması ile fotometrik renk indeksi değerlerinin arttığı görülmektedir. Sürenin etkisi mevcuttur (Şekil 4.9). Benzer bir yaklaşımla, sabit bir sürede düşük sıcaklıktan yüksek sıcaklığa doğru çıkıldıkça renk indeksi değerleri önce azalma göstermiş, daha sonra ise artış eğilimine girmiştir.



Şekil 4.9. Zeytin ekstraktının fotometrik renk indeksi değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)

Fotometrik renk indeksine ait 3 boyutlu grafiklerden elde edilen Eşitlikler 4.7- 4.9'da verilmektedir.

PCI = 66,579-3,4322*x+6,557*y+0,0524*x*x-0,039*x*y-0,1662*y*y

(X: sıcaklık, Y: süre) (4.7)

PCI = -60,5279+3,6637*x+0,4434*y+0,0619*x*x-0,1032*x*y+0,0232*y*y

(X: sıcaklık, Y: güç) (4.8)

PCI = 286,3967-9,1373*x-5,1373*y-0,1567*x*x+0,1743*x*y+0,0214*y*y

(X: süre, Y: güç) (4.9)

Zeytin ekstraktları fotometrik renk indeksleri için yapılan ANOVA testinde *p* değerlerine bakıldığında sıcaklık ve güç birlikte etki ettiğinde bu etki istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$). Süre ve güç birlikte etki ettiğinde de oluşan etki istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$). Gruplar arasındaki bu farklılıklar önem taşımaktadır. Bu farklılıklar çoklu karşılaştırma testi ile belirlenebilmektedir. Sıcaklık ve süre birlikte etki ettiğinde ise bu etki önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$)(Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Fotometrik renk indeksi için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	8157,9	8157,90	906,43	6,19	0,000
Doğrusal	3	1336,4	559,70	186,57	1,27	0,310
Sıcaklık	1	214,4	162,15	162,15	1,11	0,305
Süre	1	1118,5	253,10	253,10	1,73	0,203
Güç	1	3,5	50,71	50,71	0,35	0,563
Kare	3	954,9	954,88	318,29	2,17	0,123
	1	228,5	259,48	259,48	1,77	0,198
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	128,2	88,54	88,54	0,60	0,446
Güç*Güç	1	598,1	598,11	598,11	4,09	0,057
Interaksiyon	3	5866,7	5866,66	1955,55	13,36	0,000
	1	30,5	30,45	30,45	0,21	0,653
Sıcaklık*Süre						
	1	3405,6	3405,61	3405,61	23,27	0,000
Sıcaklık*Güç						
Süre*Güç	1	2430,6	2430,59	2430,59	16,61	0,001
Ölçüm Hatası	20	2927,0	2926,96	146,35		
Uyum	3	223,8	223,81	74,60	0,47	0,708
Eksikliği						
Saf Hata	17	2703,1	2703,14	159,1		
Toplam	29	11084,9				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. $p<0.05$ önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

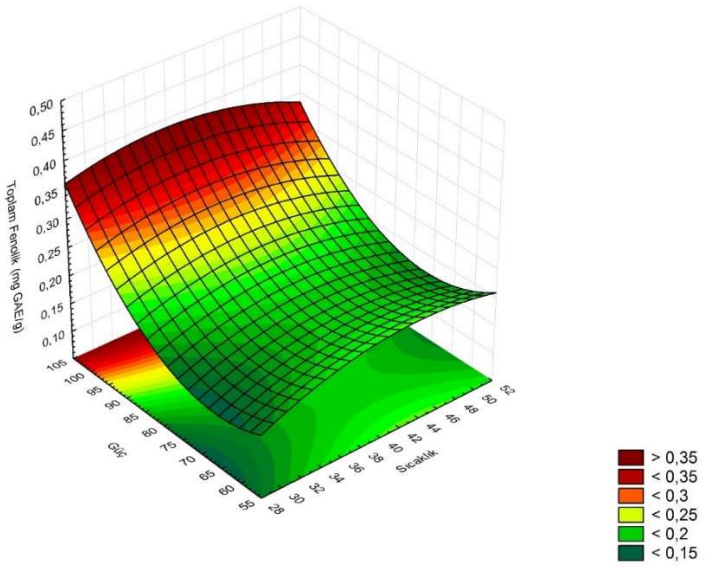
Toplam fenolik madde miktarlarına göre zeytinyağları 3 gruba ayrılmaktadır: toplam fenolik madde miktarı zeytinyağı için 0,5 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ve üzerinde ise yüksek bir fenolik madde içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. 0,25-0,5 mg GAE/g arasında ise orta miktarda fenolik madde içeriğine ve 0,25 mg GAE/g ve altı değerlerde ise düşük fenolik madde içeriğine sahip olduğunu göstermektedir (Karasu, 2015). Yapılan bir çalışma da soğuk pres zeytinyağında toplam fenolik madde miktarı 276,84 ± 5,78 mg/kg olarak bulunmuştur (Karasu, 2015). Bu çalışmada zeytin ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Numunelerin fenolik madde miktarı 0,13±0,036-0,42±0,071 mg GAE/g aralığında bulunmuştur. Bu aralıkta bulunması düşük veya orta düzeyde fenolik madde içeriğinin olduğunu göstermektedir. En yüksek toplam fenolik madde değeri 40 °C, 15 dk ve %100 güç düzeyinde bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Zeytin ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g)
Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Güç (%)	
40	5	60	0,26±0,040
30	10	100	0,38±0,123
40	15	100	0,42±0,071
50	10	100	0,31±0,055
40	15	60	0,13±0,036
50	15	80	0,22±0,036
30	5	80	0,14±0,014
40	5	100	0,22±0,004
30	10	60	0,18±0,008
30	15	80	0,19±0,010
50	5	80	0,15±0,002
50	10	60	0,20±0,002
40	10	80	0,22±0,084

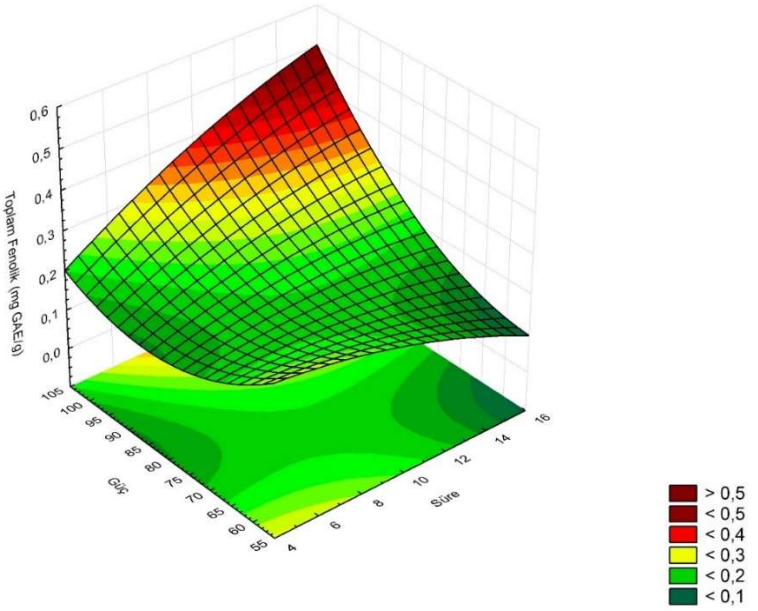
*Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

Zeytin ektraktlarında yapılan toplam fenolik analizi verilerine göre 3 boyutlu grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.10, 4.11, 4.12). Sıcaklık sabit bir değerdeyken gücün artmasıyla toplam fenolik madde miktarı da artmaktadır. Bu bağlamda gücün etkisi mevcuttur (Şekil 4.10).



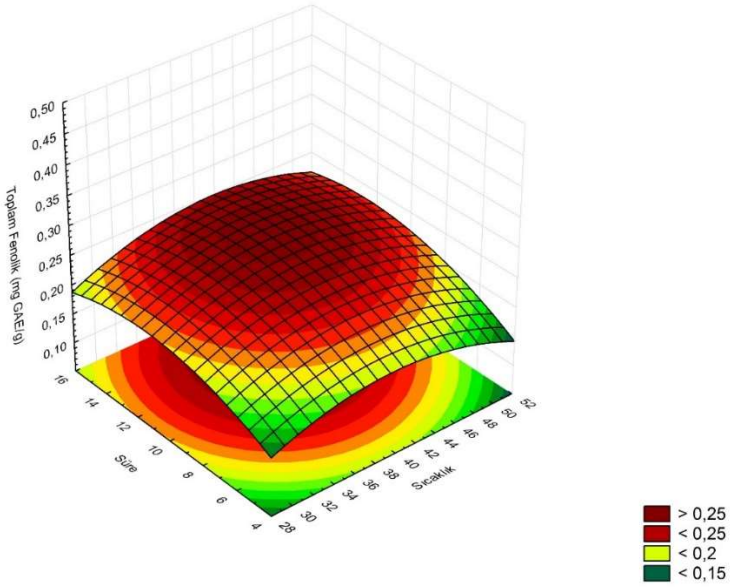
Şekil 4.10. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç)

Güç sabit bir değerdeyken sürenin artması ile toplam fenolik madde miktarı da genel olarak artmaktadır. Sürenin toplam fenolik madde değeri üzerine etkisi mevcuttur (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)

Şekil 4.12'de süre ve sıcaklığa karşı çizilmiş 3 boyutlu grafikte koyu kırmızı alanlar toplam fenolik değerinin 0,25 mg GAE/g ve üzerine çıkabileceğini, koyu yeşil alanlar ise 0,15 mg GAE/g ve altına düşebileceğini göstermektedir. Grafikte de görüldüğü gibi çoğu kısım koyu kırmızı renkli olup değerlerin büyük kısmının 0,25 mg GAE/g ve üzerinde olduğunu göstermektedir. Genel olarak maksimum toplam fenolik madde miktarları yaklaşık olarak 6-7 dk.dan itibaren 38-42 °C aralığında gözlenmiştir.



Şekil 4.12. Zeytin ekstraktının toplam fenolik madde değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-sıcaklık)

Toplam fenolik madde miktarlarına ait 3 boyutlu grafiklerden elde edilen eşitlikler Eşitlik 4.10-4.12'de verilmektedir.

Toplam Fenolik (mg GAE/g) = -0,3851+0,0251*x+0,0222*y-0,0003*x*x+0,0001*x*y- 0,0011*y*y

(X: sıcaklık, Y: süre) (4.10)

Toplam Fenolik (mg GAE/g) = 0,2691+0,0263*x-0,0181*y-0,0003*x*x-6,25E-5*x*y+0,0001*y*y (4.11)

Toplam Fenolik (mg GAE/g) = 1,4283-0,0436*x-0,0289*y-0,0009*x*x+0,0008*x*y+0,0001*y*y

(X: süre, Y: güç) (4.12)

Zeytin ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları için yapılan ANOVA testinde *p* değerlerine bakıldığında güçte gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Güç ve güç birlikte etki ettiğinde bu etki istatistik olarak önemli çıkmıştır (p<0,05). Süre ve güç birlikte etki ettiğinde de oluşan etki istatistik olarak önemli çıkmıştır (p<0,05). Gruplar arasındaki bu farklılıklar önem taşımaktadır. Bu farklılıklar çoklu karşılaştırma testi ile belirlenebilmektedir. Bunların dışında sıcaklık, süre ve interaksiyonları için ise bu etki önemsiz çıkmıştır (p>0,05)(Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Toplam fenolik madde için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	**DF**	**Seq SS**	**Adj SS**	**Adj MS**	**F**	**P**
Regresyon	9	0,168978	0,168978	0,018775	5,84	0,001
Doğrusal	3	0,076516	0,044763	0,014921	4,64	0,013
Sıcaklık	1	0,000294	0,006276	0,006276	1,95	0,178
Süre	1	0,008622	0,008767	0,008767	2,73	0,114
Güç	1	0,067600	0,023249	0,023249	7,24	0,014
Kare	3	0,037406	0,037406	0,012469	3,88	0,025
	1	0,006881	0,005755	0,005755	1,79	0,196
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	0,005856	0,004124	0,004124	1,28	0,271
Güç*Güç	1	0,024669	0,024669	0,024669	7,68	0,012
Interaksiyon	3	0,055056	0,055056	0,018352	5,71	0,005
Sıcaklık*Süre	1	0,000295	0,000295	0,000295	0,09	0,765
Sıcaklık*Güç	1	0,001250	0,001250	0,001250	0,39	0,540
Süre*Güç	1	0,053511	0,053511	0,053511	16,65	0,001
Ölçüm Hatası	20	0,064268	0,064268	0,003213		
Uyum Eksikliği	3	0,001278	0,001278	0,000426	0,11	0,950
Saf Hata	17	0,062990	0,062990	0,003705		
Toplam	29	0,233246				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. p<0.05 önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.5. Sekoiridoid Fenolik Bileşen Kompozisyonu Sonuçları

4.5.1. Oleuropeine ait sonuçlar

Çizelge 4.9' da ultrasonik ekstraksiyon koşullarında çalışılan zeytin ekstraktlarında oleuropein içerikleri verilmiştir. Zeytin ekstraktlarında oleuropein 5,33±0,45 ile 34,39±0,47 ng/µL arasındaki değerlerde bulunmuştur. En yüksek oleuropein değeri 50 °C, 15 dk ve %80 güçte elde edilmiştir.

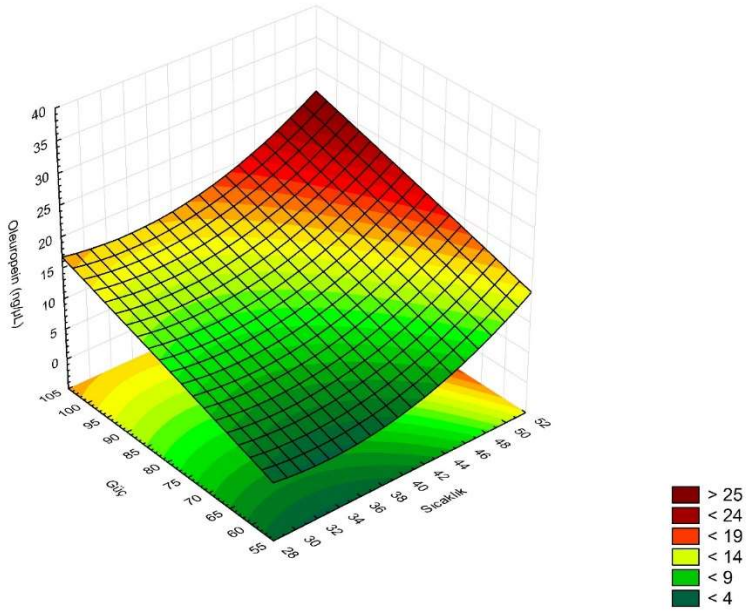
Çizelge 4.9. Zeytin ekstraktlarında oleuropein içerikleri (ng/µL)

Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			**Oleuropein (ng/µL)**
Sıcaklık (°C)	**Süre (dk)**	**Güç (%)**	
40	5	60	6,71±1,67
30	10	100	16,08±0,23
40	15	100	20,18±0,67
50	10	100	19,69±0,03
40	15	60	8,64±1,02
50	15	80	34,39±0,47
30	5	80	5,33±0,45
40	5	100	14,11±0,47
30	10	60	6,20±0,30
30	15	80	12,97±0,57
50	5	80	9,44±0,74
50	10	60	10,35±0,73
40	10	80	9,70±2,17

Yapılan bir çalışmada Aydın, Muğla, İzmir ve Manisa illerine ait farklı çeşitteki zeytinlerde olgunlaşma dönemlerine dikkat edilerek 2008-2009 yıllarına ait hasat zamanında toplanan zeytinlerden elde edilen zeytinyağlarında oleuropein içeriği 13,12 mg/kg ve 0,20 mg/kg aralığında bulunmuştur (Bayrak, 2010).

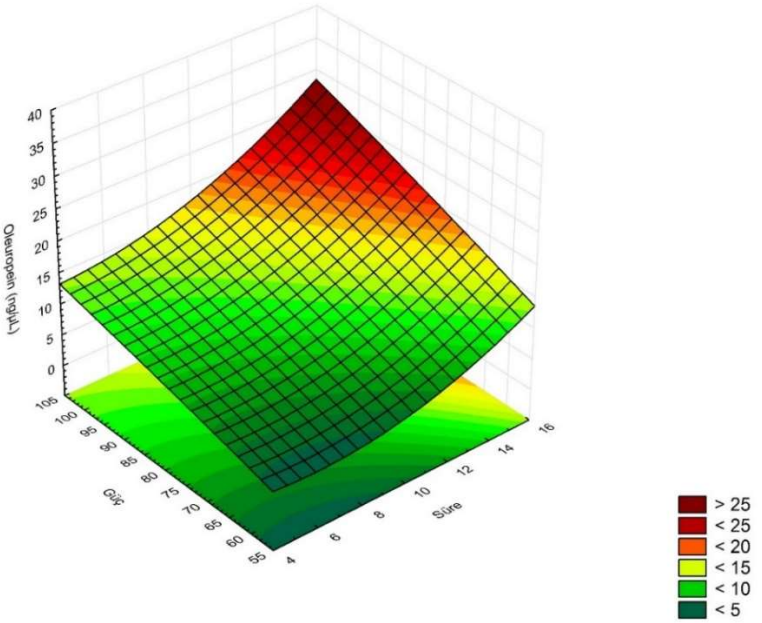
Yapılan diğer bir çalışmada ise, zeytin yapraklarındaki oleuropein miktarı 69.91 g/kg olarak bulunmuştur (Lama-Muñoz vd., 2019)

Zeytin ektraktlarında yapılan sekoiridoid fenolik bileşen analizinde oleuropein verilerine göre 3 boyutlu grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.13-4.15). Şekil 4.13'e göre güç ve sıcaklık arttıkça oleuropein miktarı artmaktadır. Güç ve sıcaklığın oleuropein üzerine etkisi mevcuttur.



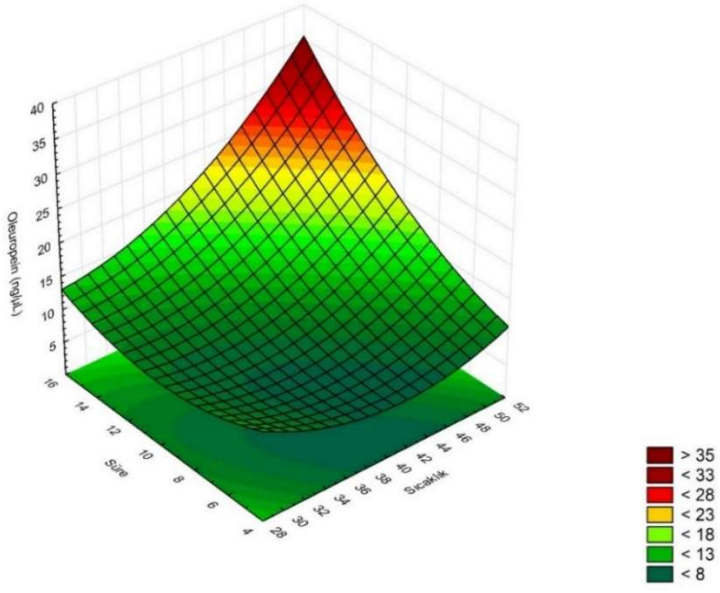
Şekil 4.13. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-sıcaklık)

Şekil 4.14'e bakıldığında ise güç ve sürenin artması ile oleuropein miktarında artış olmaktadır. Hem gücün hem de sürenin oleuropein üzerine etkisi mevcuttur.



Şekil 4.14. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre)

Şekil 4.15 incelendiğinde 12 dk ve üzerindeki sabit sürede sıcaklık arttıkça oleuropein miktarında artış olmaktadır.



Şekil 4.15. Zeytin ekstraktının oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre)

Oleuropein değerlerine ait 3 boyutlu grafiklerden elde edilen eşitlikler 4.13-4.15'te verilmektedir.

Oleuropein (ng/µL) = 79,7537-3,0425*x-4,5043*y+0,0324*x*x+0,0866*x*y+0,1029*y*y (4.13)

(X: sıcaklık, Y: süre)

Oleuropein (ng/µL) = 21,1296-1,972*x+0,2934*y+0,0305*x*x-0,0007*x*y-0,0002*y*y (4.14)

(X: sıcaklık, Y: güç)

Oleuropein (ng/µL) = -1,8637-1,6782*x+0,1835*y+0,0932*x*x+0,0103*x*y-0,0003*y*y (4.15)

(X: süre, Y: güç)

Zeytin ekstraktlarındaki oleuropein miktarları için yapılan ANOVA testinde *p* değerlerine bakıldığında sürede gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Sıcaklık ve süre birlikte etki ettiğinde bu etki istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$). Sıcaklık-güç ve süre-güç interaksiyonları için ise bu etki önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$)(Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Oleuropein değerleri için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	1330,57	1330,57	147,841	7,52	0,000
Doğrusal	3	1052,99	184,90	61,633	3,13	0,048
Sıcaklık	1	277,06	79,95	79,955	4,06	0,057
Süre	1	411,89	114,45	114,455	5,82	0,026
Güç	1	364,05	0,43	0,435	0,02	0,883
Kare	3	119,05	119,05	39,683	2,02	0,144
	1	69,81	78,06	78,060	3,97	0,060
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	49,12	49,20	49,203	2,50	0,129
Güç*Güç	1	0,12	0,12	0,122	0,01	0,938
Interaksiyon	3	158,53	158,553	52,845	2,69	0,074
	1	149,82	149,82	149,818	7,62	0,012
Sıcaklık*Süre						
	1	0,15	0,15	0,146	0,01	0,932
Sıcaklık*Güç						
Süre*Güç	1	8,57	8,57	8,570	0,44	0,517
Ölçüm Hatası	20	393,39	393,39	19,669		
Uyum Eksikliği	3	230,13	230,13	76,710	7,99	0,002
Saf Hata	17	163,26	163,26	9,603		
Toplam	29	1723,96				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. $p<0.05$ önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.5.2. Oleaceine ait sonuçlar

Çizelge 4.11' de ultrasonik ekstraksiyon koşullarında çalışılan zeytin ekstraktlarında oleacein içerikleri verilmiştir. Zeytin ekstraktlarında oleacein 0,76±0,07 ile 6,03±0,51 ng/µL arasındaki değerlerde bulunmuştur. En yüksek oleacein miktarı 40 °C, 5 dk ve %100 güç uygulandığında elde edilmiştir.

Çizelge 4.11. Zeytin ekstraktlarında oleacein içerikleri (ng/µL)

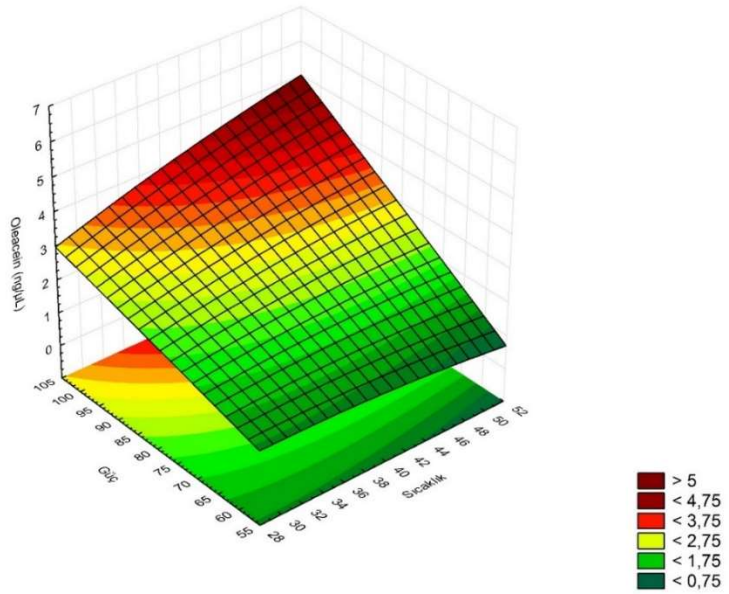
Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			**Oleacein (ng/µL)**
Sıcaklık (°C)	**Süre (dk)**	**Güç (%)**	
40	5	60	0,76±0,07
30	10	100	2,19±0,50
40	15	100	3,60±0,01
50	10	100	3,28±0,07
40	15	60	0,99±0,06
50	15	80	4,27±0,10
30	5	80	1,01±0,13
40	5	100	6,03±0,51
30	10	60	2,12±0,47
30	15	80	3,49±0,01
50	5	80	2,30±0,07
50	10	60	1,51±0,01
40	10	80	2,30±0,22

Oleacein miktarı zeytinyağında 111-285 mg/kg ve zeytin ağacının fiziksel etkileri sulama vs. bağlı olarak bu miktar 780 mg/kg a kadar artış göstermektedir (Ötleş ve Özyurt, 2012). Yapılan bir çalışmada Yunan örneklerin de oleacein miktarları Çizelge 4.12' de verildiği gibidir (Karkoula vd., 2014). Oleacein miktarı, Koroneiki çeşitinin menşei Paros olan örneğinde 588 mg/kg olarak en yüksek oranda bulunmuştur. Bunun yanı sıra Throuba çeşidinin menşei Thassos olan örnekte en az miktarda (51 mg/kg) bulunmuştur (Karkoula vd., 2014).

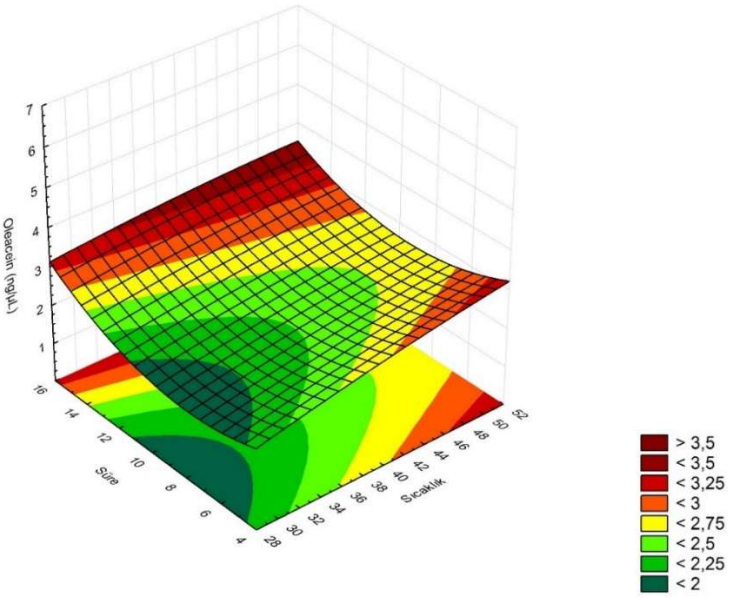
Çizelge 4.12. Yunan örneklerine ait oleacein miktarları (Karkoula vd., 2014)

Çeşit	**Menşei**	**Oleuropein aglikon miktarı(mg/kg)**
Koroneiki	Paros	98-588
	Antiparos	279-410
	Zakynthos	189-297
	Messinia	283
	Crete	268
Wild	Crete	389
	Lakonia	103
Throuba	Thassos	51-214
Lokal	Zakynthos	185
Thiaki	Ithaki	320

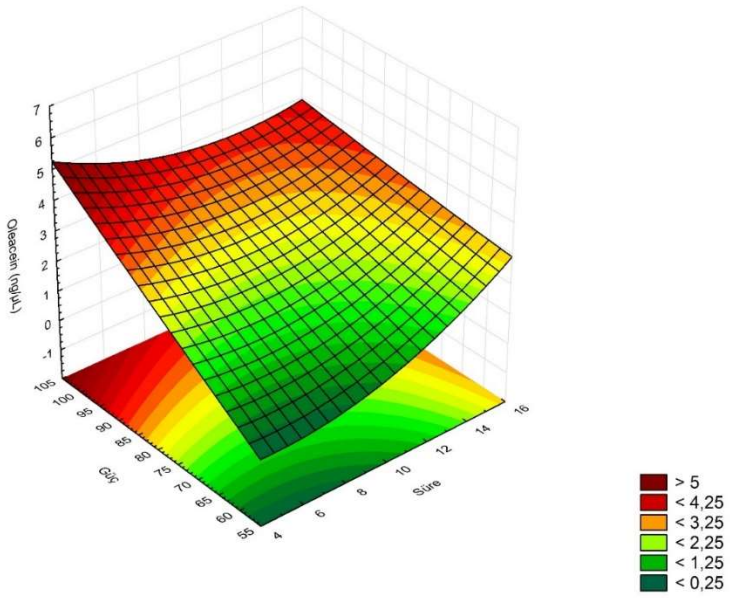
Şekil 4.16-4.18'de zeytin ekstraktlarından elde edilen oleacein verilerine göre 3 boyutlu grafikler verilmektedir. Şekil 4.16'daki grafiğe bakıldığında güç ve sıcaklık değerlerinin artması ile oleacein miktarında artış olduğu görülmektedir. Bu bağlamda güç ve sürenin oleacein miktarı üzerinde etkisi mevcuttur. Şekil 4.17'de ise süre sabit bir değerdeyken sıcaklık artması ile oleacein miktarı arttığı görülmektedir. Bu bağlamda sıcaklığın oleacein üzerine etkisi mevcuttur. Güç artarken oleacein miktarında artış vardır. Gücün oleacein üzerine etkisi de mevcuttur (Şekil 4.18).



Şekil 4.16. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç)



Şekil 4.17. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre)



Şekil 4.18. Zeytin ekstraktının oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafik (süre-güç)

Oleacein değerlerine ait 3 boyutlu grafiklerden elde edilen eşitlikler 4.16-4.18'de verilmektedir.

Oleacein (ng/µL) = 0,6448+0,1012*x-0,2539*y-0,0005*x*x-0,0026*x*y+0,0206*y*y (4.16)

(X: sıcaklık, Y: süre)

Oleacein (ng/µL) = 1,5604-0,064*x-0,0182*y-0,0009*x*x+0,0021*x*y-3,7981E-5*y*y (4.17)

(X: sıcaklık, Y: güç)

Oleacein (ng/µL) = -5,9287+0,1713*x+0,1158*y+0,0208*x*x-0,0066*x*y+7,1635E-5*y*y (4.18)

(X: süre, Y: güç)

Zeytin ekstraktlarındaki oleacein miktarları için yapılan ANOVA testinde *p* değerlerine bakıldığında sıcaklık, süre ve güçteki gözlemlenen fark ve bunların birbirleri ile etkileşimleri önemsiz çıkmıştır (p>0,05)(Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Oleacein değerleri için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	33,6625	33,6625	3,74028	2,81	0,026
Doğrusal	3	26,5109	0,4293	0,14311	0,11	0,955
Sıcaklık	1	1,6256	0,0440	0,04400	0,03	0,858
Süre	1	1,2656	0,3070	0,30702	0,23	0,636
Güç	1	23,6196	0,0374	0,03743	0,03	0,868
Kare	3	2,0388	2,0388	0,67961	0,51	0,679
	1	0,0627	0,0207	0,02068	0,02	0,902
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	1,9717	1,9745	1,97446	1,48	0,237
Güç*Güç	1	0,0045	0,0045	0,00446	0,00	0,954
Interaksiyon	3	5,1129	5,1129	1,70428	1,28	0,308
Sıcaklık*Süre	1	0,1301	0,1301	0,13005	0,10	0,758
Sıcaklık*Güç	1	1,4450	1,4450	1,44500	1,09	0,310
Süre*Güç	1	3,5378	3,5378	3,53780	2,66	0,119
Ölçüm Hatası	20	26,6090	26,6090	1,33045		
Uyum Eksikliği	3	20,8080	20,8080	6,93602	20,33	0,000
Saf Hata	17	5,8009	5,8009	0,34123		
Toplam	29	60,2715				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. p<0.05 önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.5.3. Oleocanthala ait sonuçlar

Çizelge 4.14' te ultrasonik ekstraksiyon koşullarında çalışılan zeytin ekstraktlarından elde edilen oleocanthal içerikleri verilmiştir. Zeytin ekstraktlarında oleocanthal 3.77±0.01 ng/µL ile 14,16 ±0,13 ng/µL arasındaki değerlerde bulunmuştur. En yüksek oleocanthal değeri 50 °C, 10 dk ve %60 güçte bulunmuştur.

Çizelge 4.14. Zeytin ekstraktlarında oleocanthal içerikleri (ng/µL)

Ultrasonik Ekstraksiyon Koşulları			Oleocanthal (ng/µL)
Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Güç (%)	
40	5	60	8,62 ±0,03
30	10	100	9,88 ±0,23
40	15	100	11,65 ±0,07
50	10	100	7,42 ±0,06
40	15	60	6,10 ±0,13
50	15	80	7,14 ±0,07
30	5	80	3,77 ±0,01
40	5	100	11,09 ±0,42
30	10	60	6,16 ±0,01
30	15	80	7,58 ±0,19
50	5	80	7,51 ±0,01
50	10	60	14,16 ±0,13
40	10	80	9,26 ±0,167

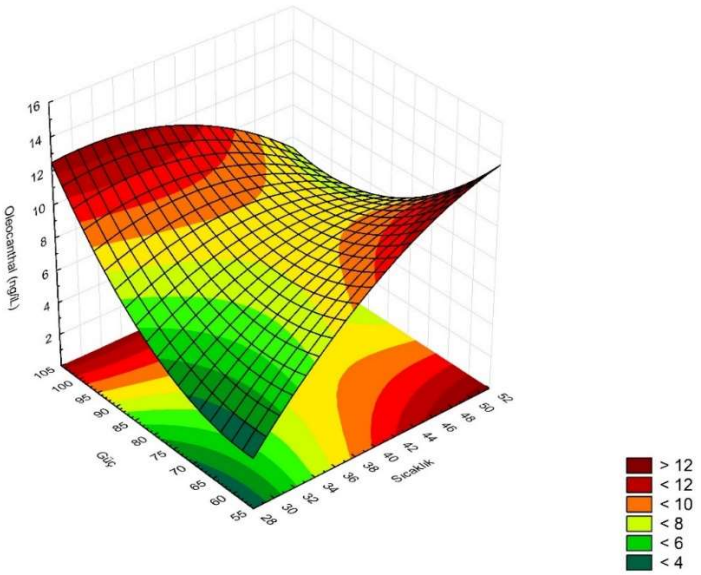
Yapılan bir çalışmada yüz sızma zeytinyağı numunesi duyusal özellikleri ve fenolik bileşik bileşimi açısından değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda oleocanthalın miktarı ortalama olarak 77,9 mg/kg bulunmuştur (Ötleş ve Özyurt, 2012).

Zeytinyağında bulunan oleocanthal konsantrasyonu çalışmalar arasında değişiklik gösterebilmektedir. Çizelge 4.15’ teki verilere göre, Kaliforniya'dan Olio Santo yağı en düşük oleocanthal seviyesine sahipken, İtalya'dan Falconero yağı en yüksek oleocanthal seviyesine (189.9 µg/g) sahiptir (Impellizzeri ve Lin, 2006).

Çizelge 4.15. 10 Farklı Sızma Zeytinyağındaki Oleocanthal Konsantrasyonları (µg/g) (Impellizzeri ve Lin, 2006)

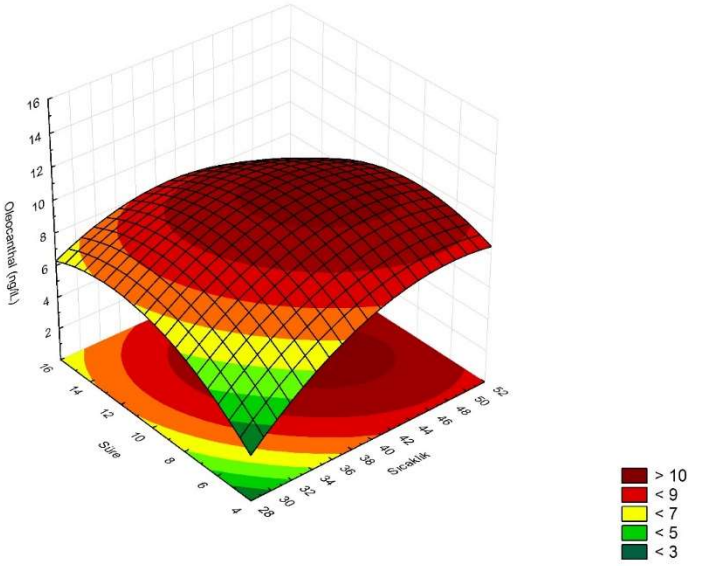
Zeytinyağı kökeni	**Ortalama miktarı (µg/g)**
Olio Santo (Kaliforniya)	22,6
Sitia (Girit)	37,1
Caroli (İtalya)	41,9
Lucini (İtalya)	43,1
Horio (Minerva, Yunanistan)	49,1
Spitiko (Volos, Yunanistan)	51,8
Colonna (İtalya)	83,4
Frantoio di Santa Tea (İtalya)	130,7
Laudemio (İtalya)	153,7
Falconero (İtalya)	189,9

Şekil 4.19-4.21'de zeytin ekstraktlarındaki oleocanthal verilerine ilişkin 3 boyutlu grafikler verilmektedir. 32 ile 36 °C aralığındaki bir sabit sıcaklıkta güç arttıkça oleocanthal miktarı artmaktadır (Şekil 4.19). Ancak daha yüksek sıcaklıklarda bu eğilimin devam etmediği ve artan güç değerlerinde oleocanthal miktarının önce azaldığı, daha sonra ise bir miktar artış gösterdiği gözlenmiştir.



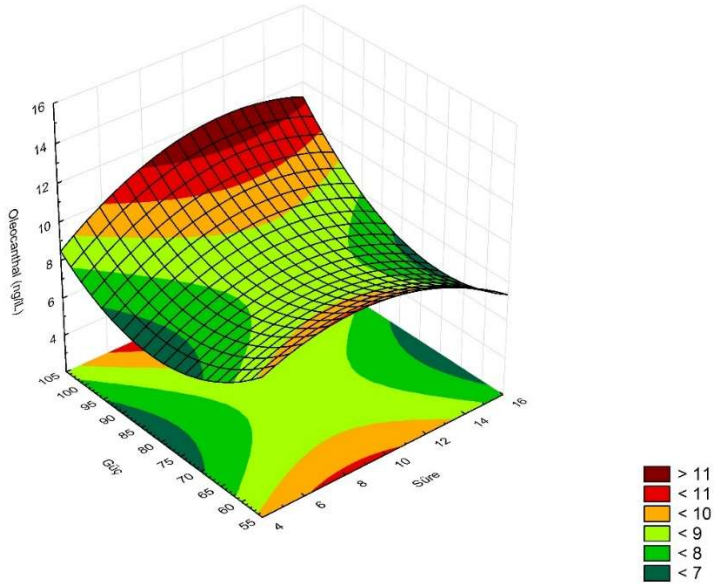
Şekil 4.19. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-güç)

Şekil 4.20 incelendiğinde, 38°C'nin altındaki sıcaklıklarda süre artışıyla oleocanthal miktarı önce bir miktar artmakta daha sonra ise azalma eğilimine girmektedir. Sabit bir sürede sıcaklık değerinin artmasıyla oleocanthal miktarında artış olmaktadır.



Şekil 4.20. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (sıcaklık-süre)

%75 dolaylarında sabit bir güçte sürenin arttıkça oleocanthal miktarı öncelikle artmakta daha sonra bir miktar azalmaktadır (Şekil 4.21). Buna zıt şekilde, sabit sürede güç arttırıldığında oleocanthal miktarı önce bir miktar azalmakta, daha sonra ise artış göstermektedir.



Şekil 4.21. Zeytin ekstraktının oleocanthal değerlerine ait 3 boyutlu grafik (güç-süre)

3 boyutlu grafiklerden elde edilen oleocanthal değerlerine ait eşitlik 4.19, 4.20 ve 4.21'de verilmektedir.

Oleocanthal (ng/µL) = -32,6108+1,4989*x+2,0844*y-0,0147*x*x-0,0209*x*y-0,0606*y*y

(X: sıcaklık, Y: süre) (4.19)

Oleocanthal (ng/µL) = -34,5485+2,1571*x-0,0914*y-0,0125*x*x-0,0131*x*y+0,004*y*y

(X: sıcaklık, Y: güç) (4.20)

Oleocanthal (ng/µL) = 32,3138+0,4561*x-0,6902*y-0,0518*x*x+0,0077*x*y+0,004*y*y

(X: süre, Y: güç) (4.21)

Zeytin ekstraktlarındaki oleocanthal miktarları için yapılan ANOVA testindeki *p* değerlerine bakıldığında sıcaklıkta gözlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Süre ve güçte gözlemlenen farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Sıcaklık ve güç birlikte etki ettiğinde bu etki istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$). Sıcaklık-süre ve süre-güç interaksiyonları için ise bu etki önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$). Güç ve güç birlikte etki ettiğinde bu etki istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Oleocanthal değerleri için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	**DF**	**Seq SS**	**Adj SS**	**Adj MS**	**F**	**P**
Regresyon	9	142,249	142,249	15,8055	4,58	0,002
Doğrusal	3	26,334	63,903	21,3011	6,18	0,004
Sıcaklık	1	19,536	53,549	53,5491	15,53	0,001
Süre	1	0,548	7,595	7,5952	2,20	0,153
Güç	1	6,250	0,560	0,5603	0,16	0,691
Kare	3	47,730	47,730	15,9101	4,61	0,013
	1	13,934	13,625	13,6251	3,95	0,061
Sıcaklık*Sıcaklık						
Süre*Süre	1	17,033	14,439	14,4394	4,19	0,054
Güç*Güç	1	16,763	16,763	16,7634	4,86	0,039
İnteraksiyon	3	68,185	68,185	22,7284	6,59	0,003
Sıcaklık*Süre	1	8,736	8,736	8,7362	2,53	0,127
Sıcaklık*Güç	1	54,706	54,706	54,7058	15,86	0,001
Süre*Güç	1	4,743	4,743	4,7432	1,38	0,255
Ölçüm Hatası	20	68,965	68,965	3,4483		
Uyum Eksikliği	3	39,015	39,015	13,0049	7,38	0,002
Saf Hata	17	29,951	29,951	1,7618		
Toplam	29	211,215				

DF: Serbestlik derecesi, Seq SS: Ardışık kareler toplamı, Adj SS: Düzeltilmiş kareler toplamı, Adj MS: Düzeltilmiş kareler ortalaması, P: Olasılık istatistiği. $p<0.05$ önem değeri dikkate alınarak analiz edilmiştir.

4.6. Optimizasyona Ait Sonuçlar

Yanıt yüzeyi yönteminde deneysel olarak elde edilen veriler işlenerek bir model oluşturulmuştur. Elde edilen model yardımı ile deneysel olarak çalışma yapılmadığı parametrelerdeki sonuçlar tahmin edilmektedir. Eşitlik 4.22 - 4.28 ‘de RSM yönteminden elde edilen eşitlikler verilmiştir.

$$pH = 5{,}54542 + 0{,}02792x_1 - 0{,}05096x_2 - 0{,}01726x_3 - 0{,}00026x_1^2 + 0{,}00162x_2^2 + 0{,}00013x_3^2 - 0{,}00023x_1x_2 - 0{,}00012x_1x_3 + 0{,}00025x_2x_3 \quad (4.22)$$

$$Serbest\ asitlik\ (\%) = 0{,}586917 - 0{,}000230x_1 - 0{,}001258x_2 - 0{,}000696x_3 + 0{,}000014x_1^2 - 0{,}000003x_2^2 + 0{,}000006x_3^2 + 0{,}000001x_1x_2 - 0{,}000010x_1x_3 + 0{,}000013x_2x_3 \quad (4.23)$$

$$PCI = 26{,}3428 + 4{,}2670x_1 - 7{,}9413x_2 - 1{,}1931x_3 + 0{,}0593x_1^2 - 0{,}1385x_2^2 + 0{,}0225x_3^2 - 0{,}0390x_1x_2 - 0{,}1032x_1x_3 + 0{,}1743x_2x_3 \quad (4.24)$$

$$Toplam\ Fenolik\ Madde\ \left(mg\frac{GAE}{g}\right) = 0{,}787333 + 0{,}026548x_1 - 0{,}046738x_2 - 0{,}025548x_3 - 0{,}000279x_1^2 - 0{,}000945x_2^2 + 0{,}000144x_3^2 + 0{,}000121x_1x_2 - 0{,}000062x_1x_3 + 0{,}000818x_2x_3 \quad (4.25)$$

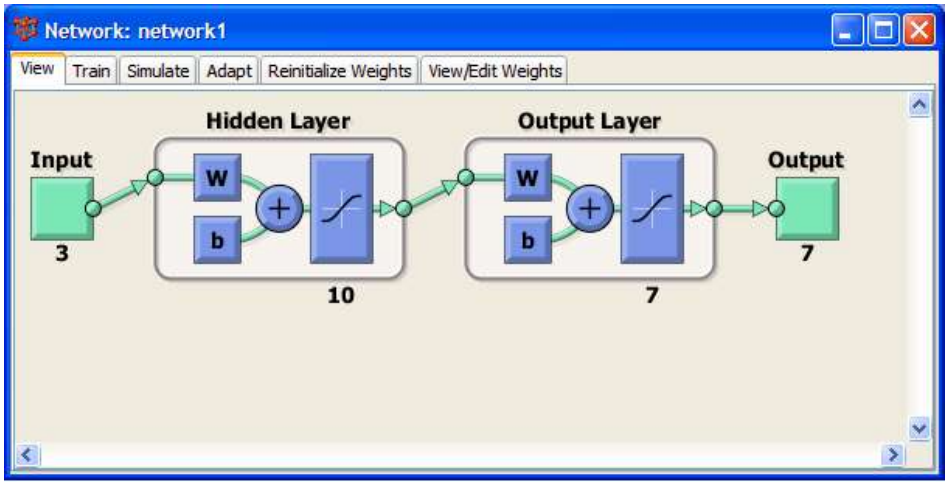
$$Oleuropein\ \left(\frac{ng}{\mu L}\right) = 68{,}9725 - 2{,}9964x_1 - 5{,}3403x_2 + 0{,}1105x_3 + 0{,}0325x_1^2 + 0{,}1032x_2^2 + 0{,}0003x_3^2 + 0{,}0866x_1x_2 - 0{,}0007x_1x_3 + 0{,}0103x_2x_3 \quad (4.26)$$

$$Oleacein\ \left(\frac{ng}{\mu L}\right) = -2{,}31917 - 0{,}07029x_1 + 0{,}27658x_2 + 0{,}03242x_3 - 0{,}00053x_1^2 + 0{,}02068x_2^2 + 0{,}00006x_3^2 - 0{,}00255x_1x_2 + 0{,}00212x_1x_3 - 0{,}00665x_2x_3 \quad (4.27)$$

$$Oleocanthal\ \left(\frac{ng}{\mu L}\right) = -45{,}2933 + 2{,}4522x_1 + 1{,}3757x_2 - 0{,}1254x_3 - 0{,}0136x_1^2 - 0{,}0559x_2^2 + 0{,}0038x_3^2 - 0{,}0209x_1x_2 - 0{,}0131x_1x_3 + 0{,}0077x_2x_3 \quad (4.28)$$

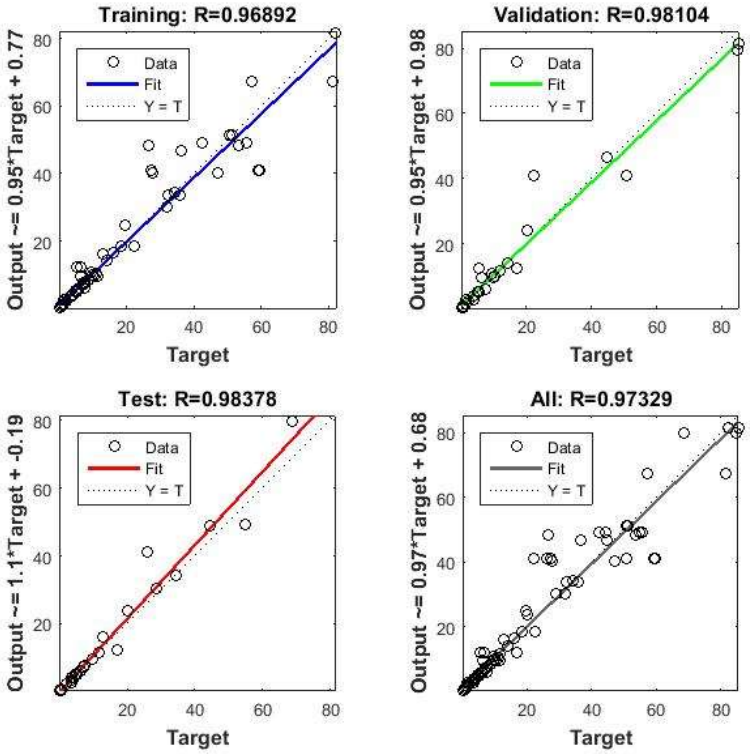
$$x_1: Sıcaklık(°C)\ ;\ x_2: Süre\ (dk)\ ; x_3: Güç\ (\%)$$

Yapay sinir ağı yöntemi kullanılarak yapılan tahminde kullanılan dizayn arayüzü Şekil 4.22'de gösterilmektedir. 3 adet bağımsız değişkenin ve 7 adet bağımlı değişkenin gizli katmandaki 10 nöron tarafından işlendiği bu yapay sinir ağı modelinin deneysel verilerin tahminindeki uygunluğu eğitim, test, validasyon ve genel korelasyon katsayıları kullanılarak değerlendirilmektedir (Şekil 4.23).



Şekil 4.22. Yapay sinir ağı dizayn arayüzü

Regresyon, yapay sinir ağının deneysel verinin gerçek değere en yakın olacak şekilde tahmin etmeye ne kadar yaklaştığını ortaya koymaktadır. R değerlerinin 1'e olan yakınlığı yapay sinir ağının deneysel veriye yakın değerler tahmin ettiğini göstermektedir. Genel regresyon katsayısına bakıldığında regresyon katsayısı 0,97329 bulunmuştur. Doğrusal çizgilerde yer alan noktalara bakıldığında ise çoğu çizgi üzerinde yer almaktadır. Buna göre, bu çalışmanın amacına uygun bir şekilde eğitilmiş yapay sinir ağına parametreler girildiğinde çıktıların tahmin edici olarak tahmin edilebilirliği söylenebilir.



Şekil 4.23. Yapay sinir ağına ait regresyon grafikleri

Çizelge 4.17'de deneysel olarak elde edilen değerlerin RSM ve yapay sinir ağları tahminine ait karşılaştırması verilmiştir. 40 °C, 5 dk ve %60 güçteki deneysel olarak elde edilen pH veri ortalaması 5,225 bulunmuştur. RSM yöntemi ile bu değer 5,198 olarak tahmin edilirken yapay sinir ağı yöntemi ile bu değer 5,193 olarak tahmin edilmiştir. 30 °C, 10 dk ve %100 parametrelerinde deneysel verilerin ortalaması fotometrik renk indeksi değeri için 69,149 olarak bulunmuştur. RSM yöntemi ile bu değer 73,229 ve yapay sinir ağı ile de 67,375 olarak tahmin edilmiştir. 30 °C, 5 dk ve %80 parametrelerinde oleuropein için deneysel veri ortalaması 5,330 bulunmuştur. RSM ile bu değer 10,625 olarak bulunurken yapay sinir ağları ile bu değer deneysel veriye çok yakın bir şekilde 5,331 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.17. pH, serbest asitlik, PCI ve toplam fenolik madde miktarları için deneysel sonuçları, yanıt yüzeyi yöntemi ve yapay sinir ağları ile tahminlerin karşılaştırılması

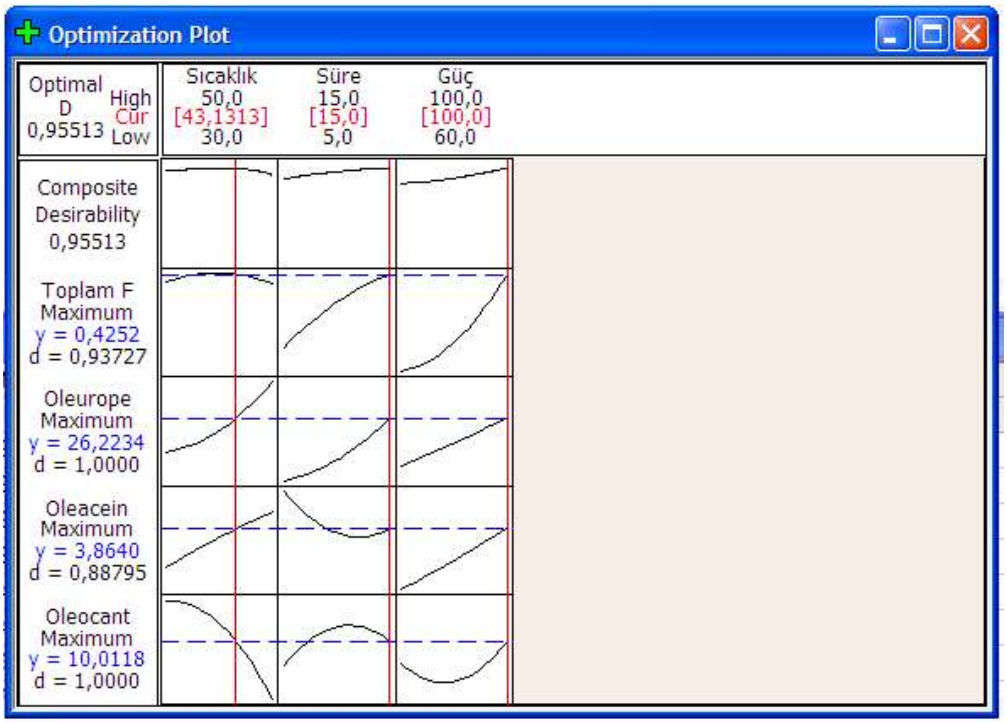
Parametreler			**Analiz Çıktıları**						
Sıcaklık (°C)	**Süre (dk)**	**Güç (%)**	**pH**	**Serbest Asitlik (%)**	**PCI**	**Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g)**	**Oleuropein (ng/µL)**	**Oleacein (ng/µL)**	**Oleocanthal (ng/µL)**
40	**5**	**60**							
	Deneysel veri ortalaması		5,225	0,557	50,954	0,261	6,710	0,760	8,620
	RSM ile tahmin		5,198	0,554	55,005	0,252	3,601	0,684	9,325
	ANN ile tahmin		5,193	0,545	51,350	0,262	6,733	0,769	8,248
30	**10**	**100**							
	Deneysel veri ortalaması		5,165	0,556	69,149	0,337	16,080	2,190	9,880
	RSM ile tahmin		5,163	0,555	73,229	0,328	13,824	2,746	11,540
	ANN ile tahmin		5,183	0,557	67,375	0,324	16,624	2,319	10,047
40	**15**	**100**							
	Deneysel veri ortalaması		5,120	0,549	76,710	0,420	20,180	3,600	11,650
	RSM ile tahmin		5,148	0,553	72,658	0,429	23,289	3,676	10,945
	ANN ile tahmin		5,110	0,550	79,621	0,404	23,914	4,128	11,561
50	**10**	**100**							
	Deneysel veri ortalaması		5,090	0,554	39,933	0,308	19,690	3,280	7,420
	RSM ile tahmin		5,026	0,552	39,285	0,311	21,876	4,234	8,520
	ANN ile tahmin		5,001	0,546	48,292	0,364	24,820	3,261	7,531
40	**15**	**60**							
	Deneysel veri ortalaması		5,110	0,548	37,486	0,133	8,640	0,990	6,100
	RSM ile tahmin		5,071	0,549	36,866	0,135	11,679	2,576	8,155

	ANN ile tahmin	5,040	0,554	40,168	0,127	8,510	0,946	6,063
50	**15 80**							
	Deneysel veri ortalaması	4,940	0,552	48,700	0,218	34,390	4,270	7,140
	RSM ile tahmin	4,977	0,550	53,400	0,207	29,095	3,240	6,745
	ANN ile tahmin	4,919	0,548	49,136	0,206	34,377	4,270	7,245
30	**5 80**							
	Deneysel veri ortalaması	5,180	0,549	34,056	0,140	5,330	1,010	3,770
	RSM ile tahmin	5,143	0,551	29,357	0,152	10,625	2,040	4,165
	ANN ile tahmin	5,291	0,546	33,750	0,187	5,331	1,049	3,772
40	**5 100**							
	Deneysel veri ortalaması	5,135	0,553	20,456	0,221	14,110	6,030	11,090
	RSM ile tahmin	5,174	0,552	21,075	0,219	11,071	4,444	9,035
	ANN ile tahmin	5,107	0,553	18,502	0,197	14,150	6,030	10,315
30	**10 60**							
	Deneysel veri ortalaması	5,025	0,549	30,385	0,175	6,200	2,120	6,160
	RSM ile tahmin	5,089	0,550	31,033	0,173	4,014	1,166	5,060
	ANN ile tahmin	5,065	0,549	30,219	0,157	5,963	2,160	6,110
30	**15 80**							
	Deneysel veri ortalaması	5,115	0,551	50,010	0,185	12,970	3,490	7,580
	RSM ile tahmin	5,089	0,549	49,981	0,186	12,118	2,858	6,625
	ANN ile tahmin	5,141	0,558	49,011	0,202	16,171	3,584	7,644
50	**5 80**							
	Deneysel veri ortalaması	5,050	0,550	40,551	0,148	9,440	2,300	7,510
	RSM ile tahmin	5,076	0,552	40,580	0,148	10,293	2,933	8,465

	ANN ile tahmin	5,230	0,545	46,683	0,171	10,730	2,262	6,042
50	**10 60**							
	Deneysel veri ortalaması	5,045	0,555	83,699	0,197	10,350	1,510	14,160
	RSM ile tahmin	5,047	0,555	79,619	0,206	12,606	0,954	12,500
	ANN ile tahmin	5,097	0,545	81,463	0,199	9,765	1,486	14,157
40	**10 80**							
	Deneysel veri ortalaması	5,057	0,549	40,864	0,224	9,700	2,303	9,257
	RSM ile tahmin	5,057	0,549	40,864	0,224	9,700	2,303	9,257
	ANN ile tahmin	5,076	0,549	40,997	0,242	12,208	2,618	9,418

Bu çalışmada, bağımlı değişkenler olan analiz sonuçlarının (pH, serbest asitlik, fotometrik renk indeksi, toplam fenolik madde miktarı ve sekoiridoid kompozisyonu) amaca göre minimize ya da maksimize edilmesi amacıyla Minitab istatistik paket programı içerisinde yer alan Response Optimizer menüsü kullanılarak optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Diğer analiz sonuçlarının çok fazla değişmediği ya da kıyasla daha az önem taşıdıkları düşünüldüğünden, optimizasyon çalışması kapsamında toplam fenolik madde miktarı ve sekoiridoid bileşen miktarlarının maksimuma gitmesi amaçlanmıştır. Buna yönelik olarak seçilen ağırlık değerleri o fonksiyonun toplamdaki önemini ifade ettiğinden oleuropein, oleacein ve oleocanthalın eşit öneme sahip olduğu göz önünde bulundurularak 0,2 değeri verilmiş, toplam fenolik madde miktarı ise 0,6 değerini almıştır. Şekil 4.24'te Response Optimizer'dan elde edilen optimizasyon diyagramı ve Çizelge 4.18'de ise optimizasyondaki fonksiyonların alt, üst ve hedef değerleri ile kullanılan ağırlıkları görülmektedir



Şekil 4.24. RSM ile belirlenen sürecin optimum değerleri için çizim

Çizelge 4.18. Toplam fenolik madde, oleuropein, oleacein ve oleocanthal RSM ile yanıt optimizasyonu

Parametreler	Hedef	Alt	Hedef	Üst	Ağırlık
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g)	Maksimum	0	0,5	0,5	0,4
Oleuropein (ng/µL)	Maksimum	5	20,0	0,5	0,2
Oleacein (ng/µL)	Maksimum	0	7,0	20,0	0,2
Oleocanthal (ng/µL)	Maksimum	6	10,0	7,0	0,2

Başlangıç değerleri sıcaklık 30 °C, süre 5dk ve güç %60'tır. Arzu edilen optimizasyonun sağlanabileceği parametreler ise sıcaklık 43,1313 °C, süre 15 dk ve güç %100 olarak hesaplanmışır. Optimizasyon çalışmasından elde edilen verilere göre eğer bu parametrelerde çalışılsaydı fonksiyonlar maksimuma ulaşacaktı ve Çizelge 4.19'daki değerleri alacaktı. Çizelge 4.19'a bakıldığında toplam fenolik madde için maksimuma gidebilecek değeri 0,4252 mg GAE/g bulunurken %93,7 oranda arzu edilebildiği görülmektedir. Oleuropein, oleacein ve oleocanthalın maksimuma gidebileceği değerleri sırası ile 26,2234, 3,8640 ve 10,0118 ng/µL bulunmuştur. Oleacein %88,7 oranda arzu edilebilirken oleuropein ve oleocanthal %100 oranda uygulanabilir ve arzu edilebilir olarak bulunmuştur. Tüm işlemin arzu edilebilirliği %95,51 bulunmuştur ve optimizasyonun bu anlamda başarılı olduğu ifade edilebilir.

Çizelge 4.19. Arzu edilen optimizasyon için kullanılan parametrelere göre tahmin edilen yanıtlar

Parametreler	Tahmini Yanıtlar	Arzu Edilirlik (Desirability)
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g)	0,4252	0,937267
Oleuropein (ng/µL)	26,2234	1,000000
Oleacein (ng/µL)	3,8640	0,887950
Oleocanthal (ng/µL)	10,0118	1,000000
Tüm fonksiyonlar için arzu edilebilirlik		0,955131

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında farklı ultrason işlem koşullarının zeytin ekstraktlarının fizikokimyasal özelliklerine olan etkilerinden elde edilen sonuçlar ve sonuçlara ilişkin öneriler şu şekilde özetlenebilir.

- Zeytin ekstraktlarının pH değerleri ortalama olarak 5,1 olarak bulunmuştur ve bu değer literatür ile uyumludur. Ultrasonik ekstraksiyon koşullarındaki sıcaklık, süre ve güç faktörlerine bağlı olarak pH değişiminin önemli olmadığı saptanmıştır.

- Zeytin ekstraktının serbest asitlik değerleri % oleik asit cinsinden 0,548-0,557 aralığında ve birbirine yakın değerlerde bulunmuştur.

- Zeytin ekstraktında fotometrik renk indeksi sonuçları ise 20,46±2,869 - 83,70±2,220 aralığında bulunmuş ve literatürdeki değerlerin üzerinde olduğu saptanmıştır. Uygulanan ultrasonik güç ve ekstraksiyon sıcaklığının azalması ile fotometrik renk indeksi değerinin azaldığı görülmüştür.

- Zeytin ekstraktlarındaki toplam fenolik madde içeriği 0,13±0,036-0,42±0,071 mg GAE (gallik asit eşdeğer)/g aralığında bulunmuş ve bu değerlerin literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Ultrasonik gücün toplam fenolik madde miktarı için etkili bir faktör olduğu saptanmıştır. Gücün artması ile toplam fenolik madde miktarının arttığı saptanmıştır.

Tez çalışmasında farklı koşullarda elde edilen zeytin ekstraktlarındaki sekoiridoid kompozisyonuna ait verilerden elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

- Sekoiridoid fenolik bileşen kompozisyonu analizinde oleuropein içeriği 5,33±0,45 - 34,39±0,47 ng/µL olarak bulunmuştur. Bu değer literatür ile karşılaştırıldığında zeytinyağında bulunan oleuropein miktarının üzerindeki değerlerde olduğu saptanmıştır. Bu durumun, zeytin ekstraktı olmasından kaynaklandığı ve sulu fazın daha fazla olması sebebiyle fenolik bileşiklerin ekstrakta daha çok geçtiği düşünülmektedir.

- Oleacein içeriği ise 0,76±0,07-6,03±0,51 ng/µL aralığında bulunmuştur. Zeytin ekstraktındaki oleacein içeriği literatür ile kıyaslandığında zeytinyağında bulunmuş oleacein miktarının üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu durumun, zeytin ekstraktı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

- Zeytin ekstraktında oleocanthal içeriği ise 3,77±0,01 ve 14,16 ±0,13 ng/µL arasındaki değerlerde bulunmuştur. Bu değerlerin literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Yanıt yüzey yöntemine ait Box-Behnken dizaynı ile gerçekleştirilmiş bu çalışma ile elde edilen veriler matematiksel olarak modellenmiştir. Elde edilen modeller, deneysel olarak çalışılmayan ultrasonik ekstraksiyon koşullarında da sonuçların tahmin edilebilirliğini sağlamıştır. Hem RSM hem de yapay sinir ağları teknikleri ile bağımlı değişkenlerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Oleacein için arzu edilebilirlik %88,7 orandayken, oleuropein ve oleocanthal için arzu edilebilirlik her ikisi için de %100 oranda uygulanabilir olarak bulunmuştur. Tüm işlemin arzu edilebilirliği %95,51 bulunmuştur ve uygulanan optimizasyonun bu anlamda başarılı olduğu öne sürülebilir.

Geleneksel ekstraksiyon tekniklerine alternatif olarak kabul edilen ultrason destekli ekstraksiyonun, hızlı işlem süresi, düşük sıcaklık gereksinimi, etkin ekstraksiyon verimi gibi avantajları sebebiyle bilimsel camiaya ve konu ile ilgilenen kişi/kurumlara faydalı olacağı düşünülmüştür.

Ultrason tekniğinin de zeytinde uygulanabilirliği konusunda çok fazla sayıda araştırmaya rastlanmamıştır. Ultrason ekstraksiyon tekniği ile zeytinden bir ekstrakt elde etmenin mümkün olduğu görülmüştür.

Bu tez çalışması literatürde yeterli sayıda veriye sahip olmayan oleacein ve oleocanthal bileşenlerinin ultrasonik ekstraksiyon koşullarından nasıl etkilendiğini ortaya koyarak literatüre bu anlamda yeni veriler kazandırmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Akdemir, E. O. (2022). *Zeytinyağı Endüstrisi Atıksularının Kitosan ile Koagülasyonunda Box-Behnken İstatistiksel Deney Tasarım Yönteminin Uygulanması.* BSEU Journal of Science, 9(1), 241–248. https://doi.org/10.35193/bseufbd.1009083

Alifakı, Y. Ö., Şakıyan, Ö., & İşçi, A. (2018). *Gilaburu (Vibirnum opulus L.) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu.* Gıda, 43(5), 846–855. https://doi.org/10.15237/gida.gd18069

Anonim (2019). *2018 Yılı Zeytin ve Zeytinyağı Raporu*. T.C. Ticaret Bakanlığı Esnaf, Sanatkârlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, 27 s.

AOCS. (2003). American Oil Chemists' Society. Methods: Cc 13c-50, Ca 5a-40. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. AOCS Press, Champaign, IL.

Barizão, É. O., Boeing, J. S., Martins, A. C., Visentainer, J. V., & Almeida, V. C. (2015). *Application of Response Surface Methodology for the Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate (Punica granatum L.) Seed Oil.* Food Analytical Methods, 8, 2392–2400. https://doi.org/10.1007/s12161-015-0135-5

Bayaz, M. (2016). *Natürel Zeytinyağlarındaki Fenolik Bileşiklerin Biyolojik Aktivitesi.* Akademik Gıda, 14(4), 441–450.

Bayrak, A., Kiralan, M., Çalıkoğlu, E., Kara, H. (2010). *Ege Bölgesi Zeytinyağlarının Aroma Profilleri ve Bazı Kalite Özelliklerinin Araştırılması.* Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: 08B4343006.

Bimakr, M., Rahman, R. A., Taip, F. S., Adzahan, N. M., Islam Sarker, Md. Z., & Ganjloo, A. (2012). *Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (Benincasa hispida) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition.* Molecules, 17(10), 11748–11762. https://doi.org/10.3390/molecules171011748

KAYNAKLAR DİZİNİ

Binboğa, Ö. (2020) *Yoğunlaştırılmış güneş kolektörleri ile zeytin karasuyunun bertarafının incelenmesi.* [Yüksek Lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=wf-FPgY-5qjHEzEoOgvMs-8aK7XbYOPq6j7AwUdPtmkMEbaYjh4cJUJVIMNrgbD6

Cevik, S., Aydin, S., Sermet, O. S., Ozkan, G., & Karacabey, E. (2017). *Optimization of Olive Oil Extraction Process by Response Surface Methodology.* Akademik Gıda, 15(4), 337–343. https://doi.org/10.24323/akademik-gida.370090

Chanioti, S., & Tzia, C. (2017). *Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity.* LWT-Food Science and Technology, 79, 178-189. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.029

Çerkez, M., & Kızıldemir, Ö. (2020). *Yiyecek-İçecek İşletmelerinde Yapay Zekâ Kullanımı.* Türk Turizm Araştırmaları Dergisi, 4(2), 1264–1278. https://doi.org/10.26677/tr1010.2020.394

Dedebaş, T., Dursun Çapar, T., Ekici, L., & Yalçın, H. (2021). *Yağlı Tohumlarda Ultrasonik-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi ve Avantajları.* European Journal of Science and Technology, 21, 313–322. https://doi.org/10.31590/ejosat.759702

Dobiáš, P., Pavlíková, P., Adam, M., Eisner, A., Beňová, B., & Ventura, K. (2010). *Comparison of pressurised fluid and ultrasonic extraction methods for analysis of plant antioxidants and their antioxidant capacity.* Central European Journal of Chemistry, 8, 87–95. https://doi.org/10.2478/s11532-009-0125-9

Dolgun, O., Ozkan, G., & Erbay, B. (2010). *Comparison of olive oils derived from certified organic and conventional agricultural methods.* Asian Journal of Chemistry, 22(3), 2339–2348.

Filipek, A., Czerwińska, M. E., Kiss, A. K., Wrzosek, M., & Naruszewicz, M. (2015). *Oleacein enhances anti-inflammatory activity of human macrophages by increasing CD163 receptor expression.* Phytomedicine, 22(14), 1255–1261. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.10.005

KAYNAKLAR DİZİNİ

Gentile, L., Uccella, N. A., & Sivakumar, G. (2017). *Soft-MS and computational mapping of oleuropein.* International Journal of Molecular Sciences, 18(5), 992. https://doi.org/10.3390/ijms18050992

Giacometti, J., Žauhar, G., & Žuvić, M. (2018). *Optimization of ultrasonic-assisted extraction of major phenolic compounds from olive leaves (Olea europaea L.) using response surface methodology.* Foods, 7(9), 149. https://doi.org/10.3390/foods7090149

Gikas, E., Bazoti, F. N., & Tsarbopoulos, A. (2007). *Conformation of oleuropein, the major bioactive compound of Olea europea.* Journal of Molecular Structure: Theochem, 821(1–3), 125–132. https://doi.org/10.1016/j.theochem.2007.06.033

Görgüç, A., Özer, P., & Yılmaz, F. M. (2020). *Simultaneous effect of vacuum and ultrasound assisted enzymatic extraction on the recovery of plant protein and bioactive compounds from sesame bran.* Journal of Food Composition and Analysis, 87, 103424. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103424

Gülcü, M., & Demirci, A. Ş. (2008). *Zeytin ve Yaprağındaki Biyoaktif Bileşenler Ve Sağlık Üzerine Etkileri.* I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi, s 194-198. Edremit/Balıkesir.

Impellizzeri, J., & Lin, J. (2006). *A simple high-performance liquid chromatography method for the determination of throat-burning oleocanthal with probated antiinflammatory activity in extra virgin olive oils.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(9), 3204–3208. https://doi.org/10.1021/jf052870b

İnce, A. E., Şahin, S., & Şümnü, S. G. (2013). *Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound.* Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37, 69–75. https://doi.org/10.3906/tar-1201-1

Jalili, F., Jafari, S. M., Emam-Djomeh, Z., Malekjani, N., & Farzaneh, V. (2018). *Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Canola Seeds with the Use of Response Surface Methodology.* Food Analytical Methods, 11, 598-612. https://doi.org/10.1007/s12161-017-1030-z

KAYNAKLAR DİZİNİ

Kahyaoğlu, T., & Kaya, S. (2006). *Determination of optimum processing conditions for hot-air roasting of hulled sesame seeds using response surface methodology.* Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(10), 1452–1459. https://doi.org/10.1002/jsfa.2509

Karasu, S. (2015). *Soğuk Pres Yağlar Kullanılarak Üretilen Salata Soslarının Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi.* [Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=Br_XTptK8CZ70f0JGX9xEim4fdYQp38MNTSWty7P-cigLsI-IqZlDkujLpqOoxyy

Karkoula, E., Skantzari, A., Melliou, E., & Magiatis, P. (2014). *Quantitative measurement of major secoiridoid derivatives in olive oil using qNMR. Proof of the artificial formation of aldehydic oleuropein and ligstroside aglycon isomers.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(3), 600–607. https://doi.org/10.1021/jf404421p

Ketenoglu, O. (2020). E*xtraction of Peanut Oil Using Thermosonication: Modeling and Multiobjective Optimization of Process Parameters Using Box-Behnken Design.* Journal of Oleo Science, 69(6), 585-595. https://doi.org/10.5650/jos.ess19309

Ketenoğlu, O. (2020). *Greener approaches and innovative technologies for the extraction of edible oils in food industry.* 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), Bildiri Kitapçığı, s 43, Ankara, Türkiye.

Kılıç, K., Onal-Ulusoy, B., & Boyacı, İ. H. (2007). *A novel method for color determination of edible oils in L*a*b* format.* European Journal of Lipid Science and Technology, 109(2), 157–164. https://doi.org/10.1002/ejlt.200600211

Kılıç, T. M., & Turhan, Ş. (2023). *Türkiye'nin Sofralık Zeytin İhracatı ve Değeri Arasındaki İlişki: ARDL Sınır Testi Yaklaşımı*. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 10(2), 206–213. https://doi.org/doi.org/10.30910/turkjans.952769

Kiritsakis, A., & Markakis, P. (1988). *Olive Oil: A Review*. Advances in Food Research, 31, 453–482. https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60170-6

Koç, B., & Kaymak-Ertekin, F. (2010). *Yanıt Yüzeyi Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları*. Gıda, 35(1), 1–8.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Lama-Muñoz, A., Del Mar Contreras, M., Espínola, F., Moya, M., Romero, I., & Castro, E. (2019). *Optimization of oleuropein and luteolin-7-o-glucoside extraction from olive leaves by ultrasound-assisted technology.* Energies, 12(13), 2486. https://doi.org/10.3390/en12132486

Lazzez, A., Vichi, S., Kammoun, N. G., Arous, M. N., Khlif, M., Romero, A., & Cossentini, M. (2011). *A four year study to determine the optimal harvesting period for Tunisian Chemlali olives.* European Journal of Lipid Science and Technology, 113(6), 796–807. https://doi.org/10.1002/ejlt.201000474

Li, H., Pordesimo, L., & Weiss, J. (2004). *High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans.* Food Research International, 37(7), 731–738. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.02.016

Lozano-Castellón, J., López-Yerena, A., De Alvarenga, J. F. R., Del Castillo-Alba, J. R., Vallverdú-Queralt, A., Escribano-Ferrer, E., & Lamuela-Raventós, R. M. (2020). *Health-promoting properties of oleocanthal and oleacein: Two secoiridoids from extra-virgin olive oil.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(15), 2532-2548. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650715

Lucas, L., Russell, A., & Keast, R. (2011). *Molecular Mechanisms of Inflammation. Anti-Inflammatory Benefits of Virgin Olive Oil and the Phenolic Compound Oleocanthal.* Current Pharmaceutical Design, 17(8), 754–768. https://doi.org/10.2174/138161211795428911

Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (Eds). (2016). *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments.* John Wiley & Sons, Inc.

Ötleş, S., & Özyurt, V. H. (2012). *Oleuropein ve Önemi*. Zeytin Bilimi, 3(1), 59–71. https://dergipark.org.tr/en/pub/zeytin/issue/28965/309894

Özkan, Z. (2021). *Zeytinyağı*. Ürün raporu, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE), 24 s.

Öztemel, E. (Ed.). (2012). *Yapay Sinir Ağları,* (3.Baskı). Papatya Yayıncılık.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Pérez Rubio, A. G., Belaj, A., Pascual, M., & Sanz, C. (2017). *The Natural Variation of Phenolic Compounds in the Fruits and Oils of Olive (Olea europaea L.) In Miloš, J (Ed.), Handbook of Olive Oil: Phenolic Compounds, Production and Health Benefits* (pp. 115-131). Nova Science Publishers, Inc.

Perrier, A., Delsart, C., Boussetta, N., Grimi, N., Citeau, M., & Vorobiev, E. (2017). *Effect of ultrasound and green solvents addition on the oil extraction efficiency from rapeseed flakes.* Ultrasonics Sonochemistry, 39, 58-65. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.003

Polini, B., Digiacomo, M., Carpi, S., Bertini, S., Gado, F., Saccomanni, G., Macchia, M., Nieri, P., Manera, C., & Fogli, S. (2018). *Oleocanthal and oleacein contribute to the in vitro therapeutic potential of extra virgin oil-derived extracts in non-melanoma skin cancer.* Toxicology in Vitro, 52, 243–250. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.06.021

Sakar, E., & Ünver, H. (2011). *Türkiye'de Zeytin Yetiştiriciliğinin Durumu Ve Ülkemizde Yapılan Bazı Seleksiyon Ve Adaptasyon Çalışmaları.* Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 15(2), 19–25. http://dergipark.gov.tr/harranziraat/issue/18435/194131

Saklar, S., Katnas, S., & Ungan, S. (2001). *Determination of optimum hazelnut roasting conditions.* International Journal of Food Science and Technology, 36(3), 271–281. https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2001.00457.x

Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., & Ghazali, H. M. (2013). *Ultrasound-assisted extraction (UAE) and solvent extraction of papaya seed oil: Yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile.* Molecules, 18(10), 12474–12487. https://doi.org/10.3390/molecules181012474

Sarıkaya, R., Elçin, A. E., Mutluer, B., Selvi, M., & Erkoç, F. (2008). *Ankara Piyasısından Temin Edilen Sofralık Siyah Zeytin Salamuralarının Mikrobiyolojik Analizi*. Gıda, 33(3), 117–122.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Tan, C. X., Chong, G. H., Hamzah, H., & Ghazali, H. M. (2018). *Comparison of subcritical CO_2 and ultrasound-assisted aqueous methods with the conventional solvent method in the extraction of avocado oil.* The Journal of Supercritical Fluids, 135, 45-51. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.036

Taticchi, A., Selvaggini, R., Esposto, S., Sordini, B., Veneziani, G., & Servili, M. (2019). *Physicochemical characterization of virgin olive oil obtained using an ultrasound-assisted extraction at an industrial scale: Influence of olive maturity index and malaxation time*. Food Chemistry, 289, 7-15. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.041

TGK. (2017). *Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği.* Resmi Gazete (17.09.2017), Sayı: 30183. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/09/20170917-9.htm

Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). *Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects.* The Journal of Nutritional Biochemistry, 13(11), 636–644. https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00229-2

Tunalıoğlu, R. (2010). *Türkiye Zeytinciliğinde Tarihsel ve Ekonomik Gelişmeler*. Zeytin Bilimi, 1(1), 15–22.

UİB Ar&Ge Şubesi. (2021). *Zeytin Raporu.* Uludağ İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, 13s.

Ünlüel, İ., & Aydın, Ö. (2016). *Bir Zeytin Fenoliği Olan Oleuropeinin Sağlığımız Üzerine Etkileri.* Zeytin Bilimi, 6(2), 77–81.

Valadez-Blanco, R., Virdi, A. I. S., Balke, S. T., & Diosady, L. L. (2007). *In-line colour monitoring during food extrusion: Sensitivity and correlation with product colour.* Food Research International, 40(9), 1129–1139. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.06.008

KAYNAKLAR DİZİNİ

Velioğlu, H. M. (2010). *Görüntü işleme teknolojisi ve yapay sinir ağlarının gıda ürünlerinde bazı kalite özelliklerinin belirlenmesinde kullanılması*.[Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=zD1B0cW7zVr3VcnZjitVXpTFc0yQKzmZ3I5fLuWH1GtXGP3jzXECrZdVC66bCyiX

Vougogiannopoulou, K., Lemus, C., Halabalaki, M., Pergola, C., Werz, O., Smith III, A. B., Michel, S., Skaltsounis, L., & Deguin, B. (2014). *One-step semisynthesis of oleacein and the determination as a 5-lipoxygenase inhibitor.* Journal of Natural Products, 77(3), 441–445. https://doi.org/10.1021/np401010x

Yıldız, G., & Uylaşer, V. (2011). *Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein.* Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(1), 131–142. https://dergipark.org.tr/en/pub/ziraatuludag/issue/16757/174225

Yorulmaz, A., & Tekin, A. (2008). *Zeytin ve Zeytinyağı Fenolikleri*. I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi, Bildiri Kitapçığı, s 24-31. Edremit/Balıkesir.

Yüzereroğlu, Ö. (2021). *Defne (Laurus nobilis L.) ve Karabaş Otu (Lavandula stoechas L.) Uçucu Yağlarının Rafine Ayçiçek Ve Riviera Zeytinyağlarının Oksidatif Stabilitelerine Etkileri*. [Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=v7BkNnnepTnbhn8rNR77LQ130OdNh0du9N2YEmcMj8XlBcdweYYhSu2uOcTIsLco

Zhang, Z. S., Wang, L. J., Li, D., Jiao, S. S., Chen, X. D., & Mao, Z. H. (2008). *Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed.* Separation and Purification Technology, 62(1), 192–198. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.01.014