

Araştırma Makalesi

Zeytin Kara Suyu, Pirina ve Külünün Kimyasal İçeriği ile Antimikrobiyal Özellikleri

Elif ÖZBEY 

Gönderim: 4.03.2024
Kabul: 25.06.2024

Park ve Bahçe Bitkileri Bölümü, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Malatya, Türkiye; elif.ozbey@ozal.edu.tr

Özet: Ülkemiz zeytin ağacı yetiştiriciliği ve zeytinyağı üretimi konusunda dünyanın önde gelen ülkelerinden biridir. Zeytinyağı üretiminin ekstraksiyon süreci, yüksek organik yükleri nedeniyle ciddi çevresel sorunlara neden olabilecek yan ürünler üretir. Zeytinyağı üretimi sırasında, kullanılan üretim yöntemine bağlı olarak üç farklı yan ürün ortaya çıkmaktadır. Bunların yaklaşık %20' si zeytinyağı, %30 'u pirina ve yaklaşık %50' si de atık su olarak bildiğimiz kara sudur. Bu çalışmamızda zeytin işleme sürecinden elde edilen zeytin kara suyu, pirina ve atık durumundaki yaprak ve dal parçalarının yakıl-ması ile elde edilen külünün kimyasal içerikleri LC/MS ile tespit edilmiştir. Ayrıca kara su ve pirinanın antimikrobiyal aktiviteleri seçilmiş mikroorganizmalar üzerinde disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Buna göre; *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* türlerinde aktivite gözlenmezken diğer bütün türlerde antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. En iyi sonuç kara su örneklerinde ve *Bacillus spizizenii*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella aerogenes*, *Streptomyces pyogenes* ve *Candida albicans*' da 0.3 cm olarak ölçülmüştür. LC/MS sonuçları, kara suda 10 farklı fenolik bileşik olduğunu kanıtlarken yan ürünlerde olması beklenen hidroksitirosol: 153.05, oleuropein: 377.14, elenolik asit: 213.07 gibi temel bileşenler farklı miktarlarda tespit edilmiştir. Pirina da 6 bileşik tanımlanırken, hidroksitirosol ve oleuropein içeriğine rastlanamamıştır. Kül de ise kara su ve pirinada da tespit edilen Pinoresinol ve Gingerol dışında fenolik bileşik tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin kara suyu; pirina; antimikrobiyal aktivite

Chemical Content and Antimicrobial Properties of Olive Black Water, Pomace and Ash

Abstract: Our country is one of the world's leading countries in olive tree cultivation and olive oil production. The extraction process of olive oil production produces

by-products that can cause serious environmental problems due to their high organic load. During olive oil production, three different by-products are produced depending on the production method used. Approximately 20% of these are olive oil, 30% are pomace and approximately 50% are black water, which we know as wastewater. In this study, the chemical contents of olive black water, pomace and ash obtained by incineration of waste leaves and twigs were determined by LC/MS. In addition, the antimicrobial activities of black water and pomace were investigated by disk diffusion method on selected microorganisms. Accordingly, no activity was observed in *Pseudomonas. aeruginosa* and *Klebsiella. pneumoniae* species, while antimicrobial activity was detected in all other species. The best result was measured at 0.3 cm in black water samples and in *Bacillus. spizizenii*, *Enterococcus. faecalis*, *Klebsiella. aerogenes*, *Streptomyces. pyogenes* and *Candida. albicans*. LC/MS results proved that there are 10 different phenolic compounds in black water, while hydroxytyrosol, which is expected to be in by-products: 153.05, oleuropein: 377.14, elenolic acid: 213.07 were detected in different amounts. While 6 compounds were identified in pomace, hydroxytyrosol and oleuropein content was not found. No phenolic compounds were detected in ash except for Pinoresinol and Gingerol which were also detected in black water and pomace

Keywords: Olive black water; olive pomace; antimicrobial activity

1. Giriş

Yeni bir ekonomik kavram olan döngüsel ekonominin temel amacı ürün ömrü, geri dönüşüm ve yeniden kullanımın teşvik edilmesidir. Bu ekonomik ve çevresel sürdürülebilirliğe odaklanarak, tarımsal gıda yan ürünleri atık değil, değerlendirilmesi gereken kaynaklardır. Sürdürülebilir uygulamalar endüstriyel ölçekte zeytinyağı sektörüne uygulanabilir. Zeytin ağacı (*Olea europaea*) yetiştiriciliği özellikle yaygın olan ve giderek artan bir potansiyele sahiptir [1, 2].

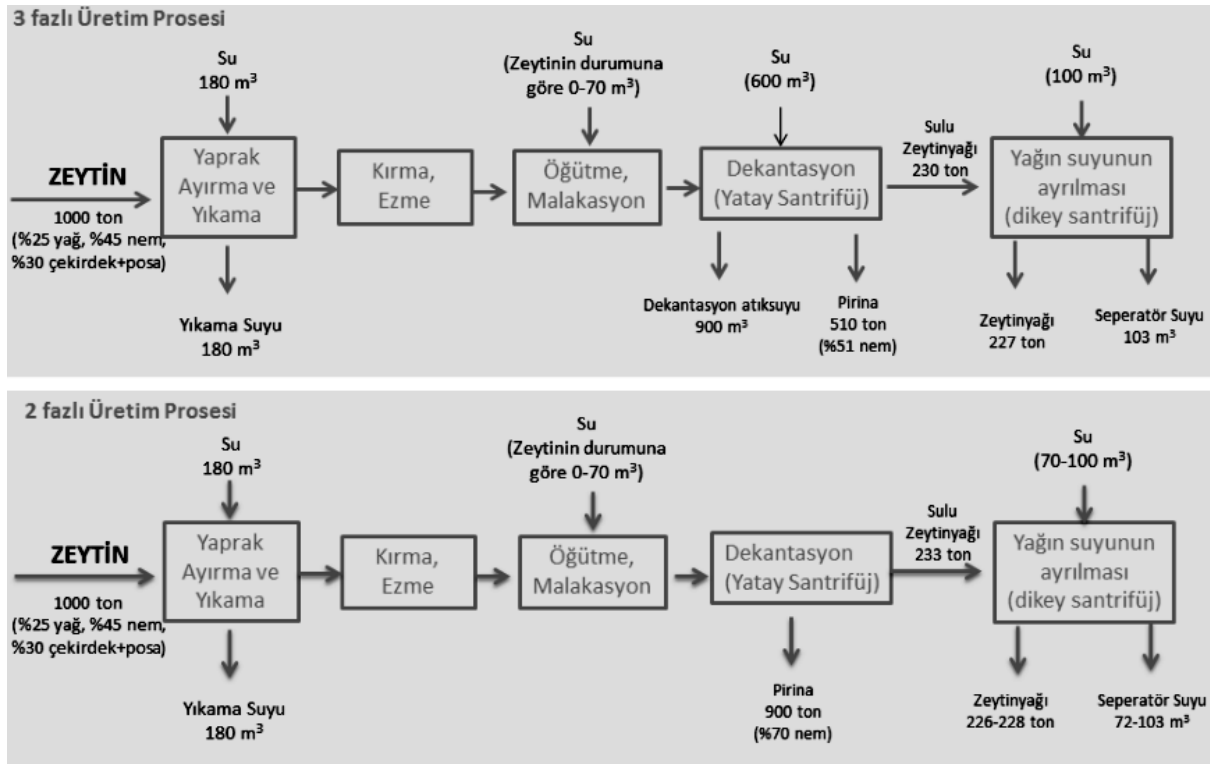
Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olmaları açısından önem taşımaktadır [3]. Sentetik antioksidanlara, antimikrobiyal bileşiklerin yan etkilerine ve toksisitesine karşı şüphelerin giderek artmasından dolayı bu doğal kaynaklara olan ilgi her geçen gün artmaktadır[4, 5].

Zeytinyağı üretimi, Akdeniz ülkelerinde önemli bir tarımsal-endüstriyel faaliyeti temsil etmektedir. Akdeniz ülkeleri tek başlarına dünya çapındaki toplam zeytinyağı üretiminin %98'ini gerçekleştirmektedir [6, 7]. Önde gelen zeytinyağı üreticileri [8]. Türkiye, Yunanistan, İtalya, Fransa, İspanya, Portekiz, Fas, Tunus, Cezayir, Mısır, İsrail ve Suriye'yi içeren Akdeniz havzasında; Avustralya kıtasının bir kısmında ve Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya eyaletinde zeytin ağacı yetiştirilmektedir [9, 10]. Zeytinyağı ekstraksiyonu, gıda sektöründeki en yoğun kirletici çıktısı olan endüstrilerden biridir [11]. Zeytinyağının mekanik olarak ekstraksiyonu toprak ve sucul çevrelerde yüksek fitotoksik etkiye sahip yan ürünler oluşturmaktadır. Birçok LCA analizi, zeytin ve zeytin yan ürünlerinin bu

sektörün sürdürülebilir bir üretime ulaşmasının önündeki en büyük engel olduğuna dikkat çekmektedir [12].

Zeytinyağı üretimi (Şekil 1) zeytin bahçelerinde zeytin ağaçlarının budanması ile başlar (genellikle her iki yılda bir) verimsiz ve eski dalların ortadan kaldırılmasıyla zeytinyağı üretimi iyileştirilir. Bu da büyük miktarda atık biyokütlenin oluşumu ile sonuçlanır [13]. Zeytinler toplandıktan ve zeytin değirmenine getirildikten sonra zeytinlerle birlikte toplanan yapraklar ayrılır. Zeytinyağının kendisini elde etmek için öğütme, karıştırma veya malaksasyon gibi işlemlere tabi tutularak ayıklama yapılır [13,14].

Yan ürün kompozisyonu, zeytinyağını ezilmiş zeytin posasından ayırmak için uygulanan işleme bağlıdır [13]. Üç fazlı sistem iki temel atık üretir: katı bir posa (zeytin posası veya zeytin çekirdeği) ve büyük miktarlarda separatörden gelen durulama suyu ile dekantasyon aşamasından gelen zeytin değirmeni suyudur [7]. Öte yandan, iki fazlı sistem üç fazlı yöntemin değiştirilmiş bir versiyonu olarak düşünülebilir ve yağ su ilavesi olmadan zeytin posası üretir ve bitkisel atık su sorununu ortadan kaldırır.



Şekil 1. Üç fazlı ve iki fazlı zeytinyağı ekstraksiyon sistemi kullanılarak zeytinyağı üretimi

İki fazlı sistem, yalnızca doğal olarak buharlaşan az miktarda artık su ve yarı katı bir ürün olan pirina üretir [15]. Literatüre göre, bir hektar zeytin ağacından yaklaşık 2500 kg zeytin elde edilir [7] ve 100 kg zeytin başına yaklaşık 40-70 kg pirina üretilmektedir [16-19]. Pirina günümüzde zeytinyağı endüstrisinde en bol bulunan ve en önemli yan üründür [10]. Fitotoksiktir, biyolojik olarak parçalanamaz ve arıtılması zordur. Organik bileşikler bakımından zengin bileşimi ve yüksek nem içeriğinden dolayı pirina önemli bir kirleticidir ve bu kirletici yan ürünün uygun şekilde arıtılması/değerlendirilmesi zeytin üreticileri ekonomik kârına zarar verdiği için zorunludur [6,20].

Zeytin fenoliklerinin %98'i pirina da kaldığı için zengin bir fenolik bileşik kaynağı olarak kabul edilir [17,21]. Pirinada tanımlanan ana fenolik bileşik hidroksitirozol ve türevleridir [17,21,22]. Yüksek miktarlarda bulunan diğer pirina fenolikleri ise oleuropein, tirosol ve elenolik asittir [17,23].

Zeytinyağı endüstrisi sonucu oluşan diğer atıklar ise zeytin yaprakları ve karasudur [24]. Zeytin yaprağı, çok sayıda biyoaktif bileşeni doğal olarak içinde barındıran bir yan üründür. Çoğunlukla ağacın budanması, hasat edilmesi ve üretim faaliyetleri esnasında açığa çıkar ve polifenolik bileşikler bakımından zengin bir üründür. 1 ton zeytinin işlenmesi sırasında 50-100 kg zeytin yaprağı atığı oluşmaktadır. Bu atıkların kullanılmayan kısmı ise yakılarak kül haline getirilmektedir [25].

Zeytinlerin yağa dönüşümünde önemli miktarlarda zeytin atık suyu olarak bildiğimiz kara su ortaya çıkmaktadır. Kara su, organik ve mineral madde açısından zengin, asidik karakterde olan bir yan üründür. Kara suyun miktarı ve fizikokimyasal özellikleri; üretimin yapıldığı yere, ürün alınan ağacın türüne, yaşına, hasat mevsimine ve ekstraksiyon yöntemlerine göre değişkenlik göstermektedir. Zeytin karasuyu miktar bakımından %83-96 su, %3.5-15 organik maddeler, %0.5-2 mineral tuzlardan oluşmaktadır. Organik kısım ise şeker, azot bileşikleri, uçucu asitler, polialkoller, pektin, yağ, polifenoller ve karasuya koyu rengi veren tanenleri içermektedir [26]. Bu çalışmanın amacı ülkemiz için büyük öneme sahip olan zeytinin yağa dönüşümü sürecinde oluşan çeşitli ara ürünlerin sahip oldukları fenolik bileşiklerin tespit edilmesi ve bu ara ürünlerin taşıdıkları antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesidir.

2. Materyalve Metod

2.1. Zeytin Kara Suyu, Pirina ve Külünün Eldesi

Çalışmada kullanılan karasu, pirina ve kül örnekleri Mersin'in Tarsus ilçesinde bulunan zeytinyağı işletmelerinden temin edilmiştir. Sıkımdan sonra elde edilen karasu ve zeytin ekstraksiyon işleminden elde edilen pirina ve kül Malatya Turgut Özal Üniversitesi Laboratuvarı'na getirilmiş ve uygulamalarda kullanılmaya kadar +4°C' de muhafaza edilmiştir.

2.2. Zeytin İşletmesi Yan Ürünlerinin Kimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi

Karasu, pirina ve kül içerisinde bulunan fenolik bileşiklerinin tanısı, standart maddelerin alınma zamanları, spektrumlarından ve literatür verilerinden yararlanılarak LC-MS yöntemi ile yapılmıştır. LC-MS analizleri Thermo Scientific marka elektrosprey kütle spektrometrisi (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX) kullanılarak negatif moda gerçekleştirilmiştir [27]. Standart maddelerin her biri farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak ve kolona enjekte edilerek her bir bileşik için kalibrasyon eğrisi oluşturulup miktar tayinleri belirlenmiştir.

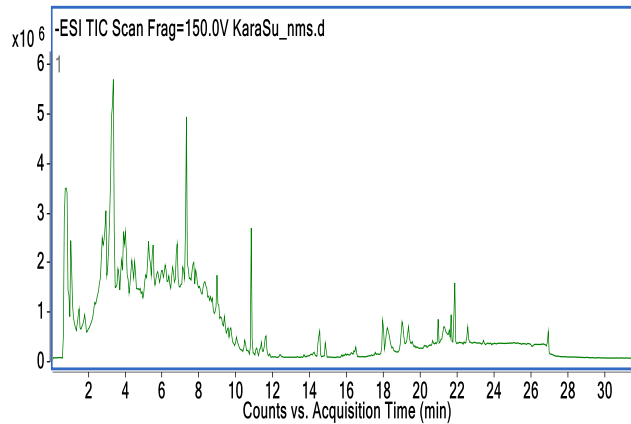
2.3. Zeytin Yan Ürünlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Zeytinyağı işletmesi yan ürünleri olan kara su ve pirinanın antimikrobiyal etkileri seçilmiş olan mikroorganizmalar üzerinde (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *B. spizizenii*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *K. aerogenes* ve *C. albicans*) test edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite için örnekler boş antibiyotik disklerine emdirilmiş ve pozitif

kontrol olarak da Cefadroksil antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile test edilen olan antimikrobiyal aktivite için hazırlanan Nutrient Agar ve Saboraud Dextroz Agar besi ortamlarına mikroorganizmaların ekimi yapılmış ve daha sonra örneklerin emdirildiği diskler ve CFR antibiyotik dikleri yerleştirilerek mikroorganizmaya uygun şekilde 37 ve 28 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri için 1 gün fungus için 3 günlük inkübasyon sonunda elde edilen zon çapları ölçülerek anti-mikrobiyal aktivite tespit edilmiştir.

3. BulgularveTartışma

Araştırmada kara su içinde Hydroxytyrosol, Acyclodihydroelenolic acid hexoside, Elenolic acid, Oleuropin, Verbacoside, Taxifolin, Trihydroxy-octadecenoic acid, Pinoresinol, Gingerol ve Maslinic acid olmak üzere 10 farklı fenolik bileşik farklı miktarlarda tespit edilmiştir (Şekil 2, Tablo 1). Pirina da Elenolic acid, Hydroxy-decarboxymethyl, Apigenin, Pinoresinol, Gingerol ve Maslinic acid olmak üzere 6 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir (Şekil 4, Tablo 3) Kül de ise kara su ve pirina da aynı miktarlarda tespit edilen Pinoresinol ve Gingerol fenolikleri tanımlanmıştır (Şekil 3, Tablo 2). Benzer çalışmalarda tirozol ve hidroksitirozol’ün zeytinyağlarında baskın olan fenolik bileşikler olduğu belirtilmiştir [28,29]. Fenollerin miktarı zeytinin yetiştiği bölgenin koşullarına, ekstraksiyon metoduna ve depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir [30].

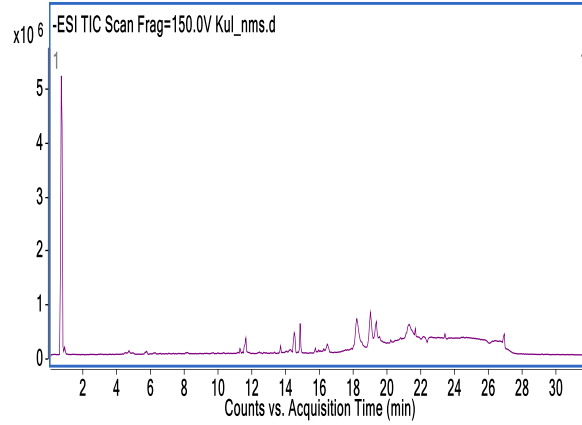


Şekil 2. LC/MS sonucu kara suda tespit edilen fenolik bileşikler

Tablo 1.LC/MS sonucu Kara su içeriğinde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları

| No | RT (dk) | Pik adı | Yükseklik |
|----|---------|--|-----------|
| 1 | 2.9 | Hydroxytyrosol | 153.05 |
| 2 | 3.3 | Acyclodihydroe- lenolic acid hexoside | 407.15 |
| 3 | 4.0 | Elenolic acid | 213.07 |
| 4 | 5.5 | Oleuropin | 377.14 |
| 5 | 7.3 | Verbacoside | 623.2 |
| 6 | 9.7 | Taxifolin | 303.2 |
| 7 | 10.8 | Trihyd- roxy-octadecenoic acid | 329.23 |

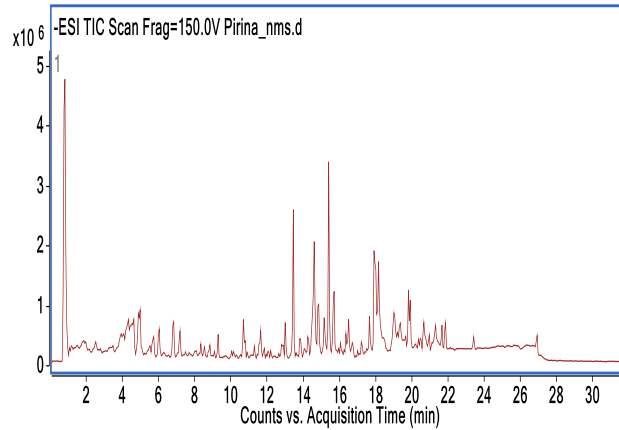
| | | | |
|----|------|---------------|--------|
| 8 | 11.6 | Pinoresinol | 357.05 |
| 9 | 14.9 | Gingerol | 293.17 |
| 10 | 18.0 | Maslinic acid | 471.34 |



Şekil 3. LC/MS sonucu külde tespit edilen fenolik bileşikler

Tablo 2. LC/MS sonucu külde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları

| No | RT (dk) | Pik adı | Yükseklik |
|----|---------|-------------|-----------|
| 1 | 11.6 | Pinoresinol | 357.06 |
| 2 | 14.9 | Gingerol | 293.17 |



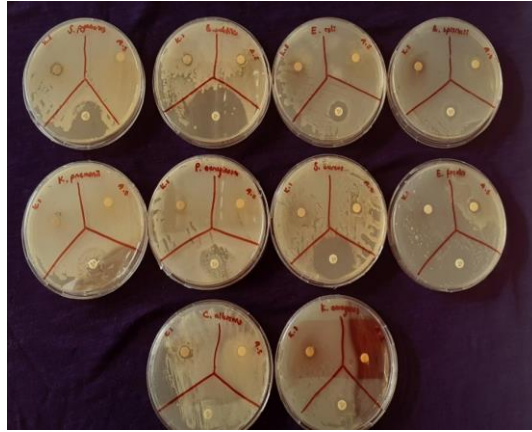
Şekil 4. LC/MS sonucu pirina da tespit edilen fenolik bileşikler

Tablo 3. LC/MS sonucu pirina içeriğinde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları

| No | RT (dk) | Pik adı | Yükseklik |
|----|---------|-------------------------|-----------|
| 1 | 4.9 | Elenolic acid | 229.07 |
| 2 | 7.1 | Hydroxy-decarboxymethyl | 199.09 |
| 3 | 10.8 | Apigenin | 269.04 |
| 4 | 11.6 | Pinoresinol | 357.05 |

| | | | |
|---|------|---------------|--------|
| 5 | 14.9 | Gingerol | 293.17 |
| 6 | 18.0 | Maslinic acid | 471.34 |

Kara su ve pirina örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde; *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* dışındaki diğer bütün türlerde antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. En iyi sonuç kara su örneklerinde ve *B. spizizenii*, *E. faecalis*, *K. aerogenes*, *S. pyogenes* ve *C. albicans*' da 0.3 cm olarak gözlemlenmiştir. Zeytin ve zeytin yan ürünlerinde bulunan oleuropeinin, mikroorganizmaların gelişme hızını geciktirdiği veya inhibe ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [31-34]. Çok sayıda çalışmada oleuropein ve türevlerinin *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *L. plantarum*, *M. catarrhalis*, *P. fragi*, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. carnosus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus* ve küfler üzerinde üremeyi engelleyici etkisinin olduğunu göstermiştir [5,35-38].



Şekil 5. Kara su ve Pirinanın antimikrobiyal aktivite sonuçları

4. Sonuç

Dünyadaki endüstriyel kaynaklı atıklar ve çeşitliliğinin zaman içinde arttığı düşünüldüğünde bu endüstrilerin atıklarının, yapılarındaki önemli bileşiklerden ötürü değerli maddelere dönüşme potansiyeline olduğu bilinmektedir. Ülkemiz için stratejik bir değeri olan zeytinin yağa dönüşümü esnasında meydana gelen zeytin yaprağı, pirina ve karasu gibi bileşikler de sahip oldukları fenolik bileşiklerden ötürü önem arz etmektedir. Bu bileşiklerin doğalkatki maddesi olarak kullanımı için, yan ürün olan zeytin yapraklarının, kara su ve pirina gibi ürünlerin değerlendirilme imkânına sahip olması ve taşıdıkları antimikrobiyal özellikler nedeniyle de sentetik kimyasallara alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar) bu makaleyle ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını bildirir.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yazar(lar) bu çalışmanın araştırma ve yayın etiğine uygun olduğunu beyan eder.

Kaynaklar

- [1] Souilem, S., Fki, I., Kobayashi, I., Khalid, N., Neves, M. A., Isoda, H., Sayadi, S., Nakajima, M. (2017). Emerging technologies for recovery of value-added components from olive leaves and their applications in food/feed industries. *Food and Bioprocess Technology*, 10(2), 229-248.
- [2] Xu, Y., Burton, S., Kim, C., Sismour, E. (2016). Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia-grown grape varieties. *Food Science & Nutrition*, 4(1), 125-133.
- [3] Oskay, D., Oskay, M. (2009). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi. *Ecological Life Sciences*, 4(2), 31-41.
- [4] Aytul, K. K. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications (Doktora Tezi), İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir-Türkiye.
- [5] Bisignano, G., Tomaino, A., Cascio, R. L., Crisafi, G., Uccella, L., Saija, A. (1999). On the In-vitro Antimicrobial Activity of Oleuropein and Hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, (51), 971-974.
- [6] Esteve, C., Marina, M. L, García, M. C (2015). Novel strategy for the revalorization of olive (*Olea europaea*) residues based on the extraction of bioactive peptides. *Food Chem.* (167), 272–280.
- [7] Rodrigues, F., Pimente, F. B., Oliveira, M. B. P. P. (2015). Olive by-products: Challenge application in cosmetic industry. *Ind. Crops Prod.*(70), 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.027>
- [8] Vogel, P., Kasper Machado, I., Garavaglia, J., Zani, V. T., de Souza D., Morelo, S. D. B. (2014). Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L) to human health. *Nutricion Hospitalaria*, 31(3), 1427-1433.
- [9] Başoğlu, F. (2010). Yemeklik Yağ Teknolojileri. Dora Yayın Dağıtım, Bursa.
- [10] Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochem.* (48), 1532–1552. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.010>
- [11] Filotheou, A., Ritzoulis, C., Avgidou, M., Kalogianni, E. P., Pavlou, A., Panayiotou, C. (2015). Novel emulsifiers from olive processing solid waste. *Food Hydrocoll.* (48), 274–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.029>
- [12] Muñio, I., Díaz, M. T., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Cañeque, V., Lauzurica, S., Fuente, J. (2017). Valorisation of an extract from olive oil waste as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *J. Clean. Prod.* (140), 24–932. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.175>
- [13] Negro, M. J., Manzanares, P., Ruiz, E., Castro, E., Ballesteros, M. (2017). The biorefinery concept for the industrial valorization of residues from olive oil industry, in: *Olive Mill Waste. Elsevier*, pp. 57–78. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00003-0>
- [14] Manzanares, P., Ruiz, E., Ballesteros, M., Negro, M. J., Gallego, F. J., López-Linares, J. C., Castro, E. (2017). Residual biomass potential in olive tree cultivation and olive oil industry in

- Spain: valorization proposal in a biorefinery context. *Spanish J. Agric. Res.* 15, e0206. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017153-10868>
- [15] Nunes, M. A, Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P. (2016). Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* (35), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.04.016>
- [16] AGAPA.(2015). Evaluación de la producción y usos de los subproductos de las agroindustrias del olivar en Andalucía. *Cons. Agric. Pesca Desarro.* <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14921.39520>
- [17] Nunes, M. A., Costa, A. S. G., Bessada, S., Santos, J., Puga, H., Alves, R. C, Freitas, V., Oliveira, M. B. P. P. (2018). Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid- and water-soluble components. *Sci. Total Environ.* (644), 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.350>
- [18] Romero-García, J. M., Niño, L., Martínez-Patiño, C., Álvarez, C., Castro, E., Negro, M. J. (2014). Biorefinery based on olive biomass. State of the art and future trends. *Bioresour. Technol.* (159), 421–432. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.062>
- [19] Ruiz, E., Romero-García, J. M., Romero, I., Manzanare, P., Negro, M. J, Castro, E. (2017). Olive-derived biomass as a source of energy and chemicals. *Biofuels, Bioprod. Biorefining* (11), 1077–1094. <https://doi.org/10.1002/bbb.1812>
- [20] Lama-Muñoz, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Fernández-Bolaños, J. (2012). Production, characterization and isolation of neutral and pectic oligosaccharides with low molecular weights from olive by-products thermally treated. *Food Hydrocoll.* (28), 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.008>
- [21] Araújo, M., Pimentel, F. B., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P. (2015). Phenolic compounds from olive mill wastes: Health effects, analytical approach and application as food antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.* (45), 200–211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.010>
- [22] Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., Fernández-Bolaños, J. (2012). New phenolic compounds hydrothermally extracted from the olive oil byproduct alperujo and their antioxidative activities. *J. Agric. Food Chem.* (60),1175–1186. <https://doi.org/10.1021/jf204223w>
- [23] Cioffi, G., Pesca, M. S., De Caprari, P., Braca, A., Severino, L., De Tommasi, N. (2010). Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. *Food Chem.* (121), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.013>
- [24] Dalkılıç, B. (2018). Zeytinyağı Endüstrisi Yan Ürünlerinin Hayvan Besleme Alanında Değerlendirilme Olanakları. *El-Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(3), 904–913. <https://doi.org/10.31202/ecjse.433078>
- [25] Seçmeler, Ö., ve Üstündağ, G. Ö. (2016). Zeytinyağı Sektörü Atık ve Yan Ürünlerindeki Biyoaktif Maddelerin Değerlendirilmesi. *Dünya Gıda Dergisi*, May 2015.
- [26] Çelik, G., Seven, Ü., Güçer, Ş. (2008). Zeytin karasuyunun değerlendirilmesi. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, 1, 162–167.
- [27] Ouni, Y., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M. (2011). Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin

- olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolute LC–ESI-TOF MS method. *Food Chem.*, (127), 1263-1267.
- [28] Boselli, E., Di Lecce, G., Strabbioli, R., Pieralisi, G., Frega, N. (2009). Are Virgin Olive Oils Obtained Below 27 °C Better than Those Produced at Higher Temperatures? *Food Sci Tech.*, (42), 748-757.
- [29] Alkan, D., Tokatli, F., Ozen, B.(2011). Phenolic characterization and geographical classification of commercial extra virgin olive oils produced in Turkey. *J Am Oil Chem Soc.*Basımda. doi 10.1007/s11746-011-1917-6.
- [30] Visioli, F., Poli, A., Gall, C. (2002). Antioxidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil. *Med Res Review*, (22), 65-75.
- [31] Sousa, A. I. C., Ferreira, R., Calhelha, P. B., Andrade, P., Valentao, R., Seabra, L., Estevinho, A., Bento and Pereira, J. A. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorg. Med. Chem.* (14), 8533-8538.
- [32] Sanchez, J. C, Alsina, M. K., Herrlein and Mestres, C. (2007). Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid Polym. Sci.* (285), 1351–1360.
- [33] Sudjana, A. N. C., D'Orazio, V., Ryan, N., Rasool, J., Ng, N., Islam, T. V, and Hammer, K. A. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int. J. Antimicrob. Age.* 33(5), 461-463.
- [34] Lee, O. H., Lee, B. Y. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresour. Technol.* 101(10), 37513754.
- [35] Juven, B., Henis, Y. (1970). Studies on antimicrobial activity of olive phenolic compounds. *J. Appl. Bact.* (33), 721-32.
- [36] Tassou, C. C, and Nychas, G. J. (1995). Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system. *Lett. Appl. Microbiol.* (20), 120-124.
- [37] Aziz, N. H., Farag, S. F., Mousa, L. A., Abo-Zaid, M. A.(1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios.* (93), 43–54.
- [38] Furneri, P. M., Marino, A., Saija, A., Uccella, N., Bisignano, G.(2002). In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *Int. J. Antimicrob. Age.* (20), 293-296.