Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 10(5): 798-810, 2022
DOI: https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i5.798-810.4605

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology

Available online, ISSN: 2148-127X | www.agrifoodscience.com | Turkish Science and Technology

# Biological Activities of Olive Oil Wastes and Their Potential for Use in Foods

**Aycan Ede[1,a], Sedef Nehir El[1,b,*]**

[1]*Department of Food Engineering, Department of Nutrition, Ege University, 35040 Bornova/İzmir, Turkey*
[*]*Corresponding author*

ARTICLE INFO

*Review Article*

Received : 03/08/2021
Accepted : 25/03/2022

*Keywords:*
Olive oil waste water
Pomace
Bioactive compound
Hydroxytyrosol
Oleuropein

ABSTRACT

During the production of olive oil two types of waste are generated: wastewater and olive pomace. Since these wastes have high biochemical and chemical oxygen needs, they have harmful effects on the environment. However, in addition to these damages, many bioactive compounds in olive are transferred to wastewater and pomace during oil processing. Hydroxytyrosol, tyrosol and oleuropein are bioactive components that are dominantly found in both olive oil wastewater and pomace, and these compounds have many bioactivities that positively affect human health. As a result of scientific studies, it has been proven that hydroxytyrosol, tyrosol and oleuropein compounds exhibit various bioactivities such as antioxidant activity, anti-inflammatory effect, cardioprotective effect, neuroprotective effect, chemoprevention properties, antidiabetic effect, antimicrobial and antiviral effect. These wastes are recycled in various sectors such as food, cosmetics and pharmaceuticals due to the bioactive components they contain. It has been reported by scientific studies that wastewater and pomace contain phenolic compounds, pectic polysaccharides and fibers. These can be used as natural preservatives, antioxidants, food enrichers, packaging materials in the food industry. In this review, the production methods, chemical and biological properties of olive oil wastewater and pomace and studies investigating the use potential of these wastes in the food sector are compiled.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10(5): 798-810, 2022

# Zeytinyağı Üretim Atıklarının Biyolojik Aktiviteleri ve Gıdalarda Kullanım Potansiyeli

MAKALE BİLGİSİ

*Derleme Makale*

Geliş : 03/08/2021
Kabul : 25/03/2022

*Anahtar Kelimeler:*
Zeytinyağı atık suyu
Prina
Biyoaktif bileşik
Hidroksitirozol
Oleuropein

ÖZ

Zeytinyağı üretimi sırasında atık su ve prina olmak üzere iki çeşit atık ortaya çıkmaktadır. Bu atıklar yüksek oranda biyokimyasal ve kimyasal oksijen ihtiyacına sahip oldukları için çevreye zararlı etkileri bulunmaktadır. Ancak, bu zararlarının yanısıra zeytinin içerdiği birçok biyoaktif bileşik yağa işleme sırasında atıklara geçmektedir. Hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein hem zeytinyağı atık suyunda hem de prinada baskın olarak bulunan biyoaktif bileşenler olup, bu bileşikler insan sağlığını olumlu etkileyen birçok biyoaktiviteye sahiptir. Yapılan bilimsel araştırmalar sonucunda hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein bileşiklerinin insan vücudunda antioksidan aktivite, antienflamatuar etki, kardiyoprotektif etki, nöroprotektif etki, kemoprevansiyon özellik, antidiyabetik etki, antimikrobiyal ve antiviral etki gibi çeşitli biyoaktiviteler gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu atıklar içerdikleri biyoaktif bileşenler nedeniyle gıda, kozmetik ve ilaç sektörü gibi çeşitli sektörlerde yeniden değerlendirilmektedir. Atık su ve prinanın içerdiği fenolik bileşikler, pektik polisakkaritler ve lifler sayesinde gıda sektöründe doğal koruyucu, antioksidan, fonksiyonel gıda üretiminde zenginleştirici bileşen, ambalaj materyali şeklinde kullanılabileceği yapılan bilimsel çalışmalarla bildirilmiştir. Bu derlemede zeytinyağı üretim atıkları olan atık su ve prinanın üretim yöntemleri, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden bahsedilmiş olup bu atıkların gıda sektöründeki kullanım potansiyelini araştıran çalışmalar derlenmiştir.

[a] *aycan0096@hotmail.com* *https://orcid.org/0000-0002-5023-7175* | [b] *sedef.el@ege.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-2996-0537*

This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

## Giriş

Dünyadaki zeytin üretim alanları yaklaşık 10 milyon hektar düzeyinde olup, bu zeytin üretim alanlarının büyük çoğunluğu İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Tunus gibi Akdeniz ülkelerindedir. Ancak son yıllarda Avustralya, Japonya ve Arjantin gibi ülkelerde de zeytin üretimine başlanmıştır. Dünya'da zeytinyağı üretimi, Tarım Ürünleri Piyasaları Zeytinyağı raporunda 2018/19 sezonunda 3,2 milyon ton olarak açıklanmıştır. Zeytinyağı üretiminde Avrupa Birliği (AB) ülkelerinin payı yıllara göre değişmekle birlikte ortalama %70'dir. Türkiye zeytinyağı üretiminde dünyada ilk beş ülke içerisinde yer almaktadır ve 2019 yılında üretilen 1 milyon 110 bin ton yağlık zeytin çeşitli şekillerde işlenerek yaklaşık 225 bin ton zeytinyağı elde edilmiştir (Tunç ve Ünlü, 2015; TEPGE, 2020). Zeytinyağı üretiminde iki temel üretim yöntemi kullanılmaktadır. Bunlar klasik pres yöntemi ile sürekli üretim yöntemi şeklindedir. Sürekli üretim yöntemi sistemde kullanılan dekantöre bağlı olarak iki fazlı ve üç fazlı üretim olarak ikiye ayrılmaktadır. İki ve üç fazlı üretim sonrasında ortaya zeytinyağı üretim atıkları çıkmaktadır. Bunlar zeytinyağı üretim atık suyu (diğer adıyla karasu) ve katı atık prinadır. Bu iki atık 89-100 g/L biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ) ve 80-200 g/L aralığında da kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) değerleri ile çevre açısından yüksek kirletici yüke sahip atıklardır. Ayrıca bu atıklar içerdiği bazı organik maddeler ve fenollerden kaynaklı bazı bitkiler ve mikroorganizmalara kısaca ekosisteme zararlı oldukları bilinmektedir. Bu BOİ ve KOİ konsantrasyonları şekerler, azotlu bileşikler, yağ asitleri, polialkoller, polifenoller, pektin ve yağları içermektedir (Sassi ve ark., 2006; El-Abbassi ve ark., 2012; Tunç ve Ünlü, 2015; Aggoun ve ark., 2016). Çevreye zararı olan bu atıkların değerlendirilmesi önemli bir konudur. Günümüzde dünyada zeytinyağı üretimi sırasında açığa çıkan zeytin yaprağı, karasu ve prina gibi üretim atıklarının değerlendirildiği alanlar şu şekilde sıralanabilir;

- Biyodizel, biyogaz gibi alternatif enerjilerin üretimi
- Hayvancılıkta yem olarak kullanım
- Jelleştirici ve fonksiyonel gıda bileşeni olarak gıdalarda kullanım
- Biyoplastik-biyopolimer, biyolojik yüzey aktif madde ve lipaz üretimi gibi biyoteknolojik uygulamalaralar
- İlaç sektörü
- Koruyucu madde ve doğal nemlendirici gibi kozmetik ürünleri

Zeytin, zeytinyağı ve zeytinyağı üretim atıkları iklim koşulları, yetiştirilme sistemi, tarım toprağı, hasat zamanı, ilaç ve gübre kullanımı, yağ üretimi sırasında kullanılan ekstraksiyon yöntemi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişen oran ve miktarlarda biyoaktif bileşikler içermektedir. Zeytinyağı üretim atıklarında baskın fenolik bileşikler olarak oleuropein, hidroksitirozol ve tirozol gibi sekoiridoit türevleri bulunmaktadır. Bu bileşiklerin antioksidan aktivite, antimikrobiyal, antitümör, antienflamatuar, hipoglisemik, anti-hipertansif, antidiyabetik ve antikolesterolemik gibi farklı biyoaktivitelere sahip oldukları bilinmektedir. Zeytinyağı üretim sürecinde zeytin fenoliklerinin %90'ından fazlasının zeytin prina ve karasuyuna geçmesi nedeniyle değerlendirilemediği tespit edilmiştir. Bu durum hem sağlık açısından değerlendirmeye açık olan bu atıkların kullanılmayıp atılarak çevreye zarar vermesi hem de zeytinyağı üreticilerine yönelik gelirlerin olumsuz etkilenmesi gibi ekonomik sonuçlara yol açabilmektedir. Bu yüzden zeytinyağı üretim atıklarının gıda bileşeni olarak değerlendirilmesinin araştırılması ve kullanılması zeytinyağı sektörünün ekonomik ve çevresel sürdürülebilirliği açısından önem taşımaktadır. Son zamanlarda zeytinyağı üretim atıklarında bulunan biyoaktif bileşiklerin sağlığa olan çeşitli yararlarından yola çıkılarak, zeytinin yağa işlenmesi sırasında uygulanan bazı işlemlerin ve aynı zamanda atıklara uygulanan ön işlem, ekstraksiyon, santrifüj, saflaştırma ve kurutma gibi çeşitli işlemlerin optimizasyonu ile bu bileşiklerin geri kazanılması ve gıdalarda fonksiyonel bileşen (ambalajlama materyali, oksidasyon önleyici, raf ömrünü arttıran doğal koruyucu vb.) olarak değerlendirilmesi yaygınlaşmaktadır. Örneğin baskın fenoliklerden olan hidroksitirozolün diğer tüm biyofenollere göre daha kolay saflaştırıldığı, 1 litre zeytinyağı atık suyundan 1,2 g hidroksitirosol ve yaklaşık 0,4 g flavonoid içeren bir ekstrakt elde etmenin mümkün olduğu çalışmalar ile ortaya konmuştur (De Marco ve ark., 2007). Amerika'da zeytin atığı özütlerinin son gıda ürününde 3 g/kg'a kadar olacak şekilde fırınlanmış ürünlerde, içeceklerde, tahıllarda, soslarda, baharatlarda, atıştırmalıklarda ve fonksiyonel gıdalarda antioksidan olarak kullanımı Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından genel olarak güvenli olarak onaylanmıştır (GRAS, GR No. 459) (Seçmeler ve Üstündağ, 2015; Veneziani ve ark., 2017).

Bu derlemede, zeytinyağı üretim atık suyu ve prinanın biyoaktif bileşenleri ve bu bileşenlerin biyoaktiviteleri, besleyicilik özellikleri ve sağlık üzerine etkileri incelenerek, gıdalarda kullanım potansiyelinin ortaya konması amaçlanmıştır.

## Zeytinyağı Üretim Atıkları

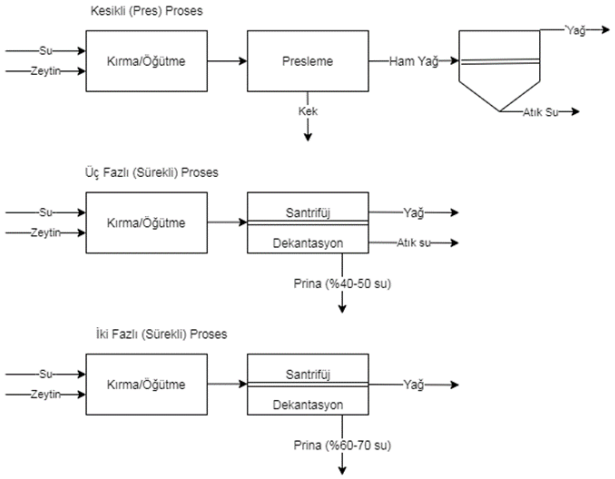
Zeytinyağı üretimi esnasında zeytinden yağın ekstraksiyonu üç temel adımdan oluşmaktadır. Bunlar meyve hücrelerinin parçalanarak yağın serbest kaldığı zeytin kırma aşaması, yağ verimini arttırmak için kalan hamurun karıştırılma aşaması ve kalan atıklardan yağın ayrılma aşaması şeklindedir (Aggoun ve ark. 2016). Zeytinyağı üretiminde kesikli (klasik presleme işlemi) üretim ve sürekli üretim (santrifüj işlemi) olmak üzere iki temel üretim metodu kullanılmaktadır. Kesikli üretimde, yağ hidrolik presler kullanılarak çıkartılmaktadır. Kesikli üretim prosesi besleme, hammadde depolama, temizleme, öğütme, sıkma, dekantasyon ve filtrasyon ünitelerinden oluşmaktadır. Pres teknolojisinde az su gerekmektedir ancak işlemin sonunda yüksek derecede (ürünün tonu başına 0,4-0,6 $m^3$) prina üretilmektedir (Oktav ve ark. 2003; Tunç ve Ünlü, 2015). Sürekli üretim işleminde besleme, yıkama, kırma ve hamur hazırlama üniteleri kullanılmaktadır. Bu sistem kullanılan ayırma tekniklerine ve sistemde kullanılan dekantöre bağlı olarak iki farklı teknolojiyi içerir. Bunlar iki fazlı ve üç fazlı proseslerdir. İki fazlı proses sonucunda yağ ve sulu prina olmak üzere

iki faz elde edilmektedir. Üç fazlı proses sonucunda yağ, atık su ve katı atık (prina) olmak üzere üç faz üretilmektedir. Üç fazlı işlemler su gerektiren bir üretim sürecidir. İki fazlı proseste, üç fazlı prosesten çok daha az su kullanılmaktadır. Üretimde görülen artış, iş gücü maliyetindeki azalma, daha az yer ihtiyacı, kalitede iyileşme, gelişmiş proses kontrolü ve üretimi kolaylaştıran otomasyon sistemi gibi avantajlarından dolayı zeytinyağı üretimi gerçekleştiren Akdeniz ülkelerinin çoğunda ana üretim metodu olarak 3 fazlı proses olan sürekli üretim yani santrifüj proses metodu kullanılmaktadır. Santrifüj dekantör sistemi ile yapılan üretim sırasında dekantörden zeytinyağı, yağ içeren katı atık (prina) ve atık su (karasu) olmak üzere üç farklı kısım elde edildiği için bu sisteme üç fazlı sistem ismi verilmektedir (Zbakh ve El Abbassi, 2012; Tunç ve Ünlü, 2015).

Zeytinyağı üretim atık suyu, zeytinyağı üretimi sırasında üç fazlı sistemin uygulanmasından sonra açığa çıkan atık sulardır. Üç fazlı proseste 1,0-1,2 $m^3$ atık su üretilmektedir. Prina zeytinyağı ekstraksiyonu sırasında değirmende işlenen zeytinin toplam ağırlığının %35-40'ını karşılayan, zeytinyağının ana yan ürünlerinden biri olan katı atıktır. Araştırmalar, 1 hektar zeytin ağacından 76 kg zeytin elde edildiğini ve 100 kg zeytin başına yaklaşık 40-70 kg prina üretildiğini göstermektedir (Ribeiro ve ark. 2020). Zeytinyağı üretiminde 3 fazlı sistem kullanıldığında %30 oranında katı atık olan prina, %20 zeytinyağı ve %50 oranında zeytinyağı üretim atık suyu elde edilmektedir. İki fazlı sistemde ise %70 oranında belirli bir miktar şeker içeren yarı katı prina ortaya çıkmaktadır (Spizzirri ve ark., 2020) (Şekil 1).

## Zeytinyağı Üretim Atık Suları ve Prinanın Fizikokimyasal Özellikleri

Zeytinyağı üretim atık suları tarımsal gıda endüstrileri tarafından üretilen, %83-92 oranında su içeren, pH'sı 4,8-5,5 aralığında yarı asidik, rengi kırmızıdan siyaha değişen ve hem zeytin meyvesinin suyundan hem de zeytinyağı üretimi sırasında sisteme su eklenmesi ile oluşan sulardır. Zeytinyağı üretimi atık suları en fazla santrifüj ile ekstraksiyon sistemi kullanılarak üretim gerçekleştiğinde açığa çıkmaktadır (Sassi ve ark., 2006; Tunç ve Ünlü, 2015; De Leonardis ve ark., 2018). Zeytinyağı atık suları düşük moleküler ağırlıklı fenol bileşiklerinden yüksek moleküler ağırlıklı kompleks bileşiklere kadar farklı moleküler ağırlık aralığında çeşitli fenolik bileşikleri yapısında bulundurmaktadır (Tunç ve Ünlü, 2015). Zeytinyağı üretim atık suları bulundurdukları bu fenolik bileşiklerin yanında şekerler, proteinler, fosfor gibi farklı birçok besin öğesine sahiptir. Ayrıca inorganik madde olarak farklı tür ve miktarlarda metaller de içermektedir (Zbakh ve El Abbassi, 2012) (Çizelge 1). Prina, fabrikada zeytinlerin sıkılmasından sonra arta kalan çekirdekler, posa, kabuklar, zeytin eti ve üretimde kullanılan ekstraksiyon basamağına göre belirli bir miktarda sudan oluşmaktadır. Prina karbonhidratlar, ekstraksiyon sonrasında kalan yağ ve fenolik bileşikler, ayrıca selüloz, hemiselüloz, lignin gibi yüksek oranda organik madde ve farklı inorganik maddeler içermektedir (Çizelge 1). Skualen, tokoferol, fosfolipidler ve steroller de prinada bulunan diğer bileşenlerdir (Spizzirri ve ark., 2020). Hem zeytinyağı atık suyunun hem de prinanın miktarı ve bileşenleri zeytin çeşidi, yetiştirme sistemi, meyvenin olgunluk derecesi, iklim şartları, tarım toprağı, hasat etme zamanı, pestisit ve gübre kullanımı ve kullanılan yağ ekstraksiyon işleminin türü gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Örneğin 2 fazlı ekstraksiyon sistemi kullanılarak elde edilen prinalar diğerlerine göre daha nemli, yarı katı atıklardır. İki fazlı ekstraksiyon sisteminden elde edilen prinalar %50-70 oranında, 3 fazlı ekstraksiyon sistemi ile elde edilen prinalar %40-54 oranında, geleneksel yöntem ile elde edilen prinalar ise %22-25 oranında nem içerirler (Dermeche ve ark., 2013, Gullón ve ark., 2020).




Şekil 1. Zeytinyağı ve atıklarının üretim şeması (Tunç ve Ünlü, 2015)
*Figure 1: Production of olive oil and its waste*

Çizelge 1. Zeytinyağı üretim atıklarının bileşimi
*Table 1. Proximate composition of olive oil wastes*

| Özellikler | Zeytinyağı Atıkları | |
|---|---|---|
| | Zeytinyağı atık suyu | Prina* |
| Kuru madde (%) | 6,33-7,19 | - |
| Kül (%) | 1 | 1,42-4 |
| pH | 2,24-5,9 | 4,9-6,8 |
| Organik madde (%) | 57,2-62,1 | 60,3-98,5 |
| P (%) | 0,19 | 0,03-0,14 |
| K (%) | 0,44–5,24 | 0,63–2,9 |
| Na (%) | 0,15 | 0,02-0,1 |
| Ca (%) | 0,42-1,15 | 0,23-1,2 |
| Mg (%) | 0,11-0,18 | 0,05-0,17 |
| Fe (%) | 0,26 ± 0,03 | 0,0526–0,26 |
| Lipit (%) | 0,03–4,25 | 3,76–18,0 |
| TFM | 0,63–5,45 | 0,4–2,43 |
| Toplam şeker (%) | 1,5–12,22 | 0,83–19,3 |
| Protein (%) | - | 2,87–7,2 |
| KOİ | 30-320 | - |
| BOİ | 35-132 | - |
| Selüloz (%) | - | 14,54 |
| Hemiselüloz (%) | - | 6,63 |
| Lignin (%) | - | 8,54 |

TFM: Toplam fenolik madde (%); KOİ: Kimyasal oksijen İhtiyacı (g/L); BOİ: Biyolojik oksijen İhtiyacı (g/L); *Prina: 2 fazlı sistemden elde edilen prinaya özgü değerlerdir, Kaynak: Dermeche ve ark. 2013

**Zeytinyağı Üretim Atıklarında Bulunan Biyoaktif Bileşenler ve Biyoaktiviteleri**

Fenolik bileşikler, sağlık üzerine etkileri, duyusal özellikleri ve ürünün raf ömrü açısından gıdalarda temel öneme sahiptir, Zeytinyağı üretim atıkları çok sayıda fenolik madde içermektedir. Zeytinyağı üretim atık sularındaki fenolik bileşikler molekül ağırlıklarına göre 2 kategoride incelenmektedir. İlki fenolik monomerler olan flavonoidler ve otookside olmamış taninler ve diğer molekül ağırlıkları ≤10 kDa olan bileşikler iken, diğer grup ise orta ve yüksek molekül ağırlıklı (≥10 kDa), birinci gruptaki fenolik bileşenlerin otooksidasyonu ve polimerizasyonu sonucu oluşan koyu renkli polimerler şeklindedir. Bu fenolik bileşenler kimyasal sentezlerine bağlı olarak üç ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

- Sinnamik asit, o-, p- kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit gibi sinnamik asit türevleri
- Benzoik asit, protocatechuic asit gibi benzoik asit türevleri
- Tirozol ve hidroksitirozol gibi b-3,4-dihidroksifeniletanol türevleri şeklindedir (Tsagaraki ve ark., 2007)

Zeytinyağı üretim atıklarının fenolik madde içeriği ve kompozisyonu karakteristik özelliklerinde de olduğu gibi zeytin türü, zeytinyağı üretiminde kullanılan üretim metodu tipi, ekstraksiyon işleminin türü ve iklim koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin Servili ve ark. (1999) çalışmalarında zeytinyağı üretim atık suları ile zeytinlerin fenolik kompozisyonlarının birbirinden farklı olduğunu, zeytinlerin sekoiridoit glikozitleri, zeytinyağı üretim atık sularının ise hidroksitirozol, dekarboksimetil oleuropein aglikonun dialdehit formu gibi sekoiridoit türevlerini içerdiğini bildirmiştir (Aggoun ve ark., 2016). Hem zeytinyağı atık suyunda hem de prinada bulunan baskın fenolik bileşikler hidroksitirozol, tirozol, oleuropein, kafeik asit, verbascoside, luteolin vanilik asit gibi bileşiklerdir. Zeytinyağı atıklarında bulunan ana fenolik bileşenler Çizelge 2, 3'de verilmiştir (Dermeche ve ark., 2013).

Zeytinyağı üretim atıklarında bulunan bu bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal, antitümoral, antienflamatuar, hipoglisemik, anti-hipertansif ve antikolesterolemik gibi farklı biyoaktivitelere sahip oldukları bilinmektedir. Bu özelliklerin özellikle hidroksitirosol, tirosol, verbasosid, oleuropein gibi fenolik bileşiklerle ilgili olduğu bilinmektedir (Gullón ve ark., 2020).

Belirli bir doku veya organda olumlu bir etkiye ulaşabilmesi için biyoaktif bileşenlerni biyoerişilebilirliği önemlidir, yani bileşiklerin sindirim sırasında gıda matrisinden salınıp daha sonrasında bağırsak hücreleri yoluyla bağırsaktan emilmeleri gerekmektedir. *In vitro* hücresel sistemlerden elde edilen deneysel sonuçlar, hidroksitirosolün pasif difüzyon ile ince bağırsak epitel hücrelerine taşındığını göstermiştir. Hayvanlarla ve insanlarla yapılan *in vivo* deneylerden elde edilen veriler, zeytinyağı fenoliklerinin bağırsak seviyesinde iyi emildiğini doğrulamıştır. Tirosol ve hidroksitirosol, insanlar tarafından doza bağlı olarak yüksek konsantrasyonda bulundukları zeytinyağlarından, yüksek oranda kana geçmektedir. Akdeniz ülkelerinde geleneksel olarak günlük diyet alımından daha düşük konsantrasyonlarda (25 ml / gün) dahi, bu fenoliklerin yaklaşık %98'inin plazma ve idrarda, başta glukurono-konjugatlar olmak üzere konjuge formlarda mevcut olduğu gösterilmiştir. D'Antuono ve ark. (2016) sofralık zeytinlerden elde edilen polifenollerin *in vitro* sindirim sonrasında biyoerişilebilirliklerini ve insan bağırsak hücre hattı olan Caco2 TC7'deki emilimlerini ve taşınmalarını değerlendiren bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonrasında zeytinde baskın olarak bulunan hidroksitirozol ve tirozolün biyoerişilebilirlik oranları sırasıyla %86,3 ve %100 olarak bulunmuştur (D'Antuono ve ark., 2016). Bir başka çalışmada da mide sindirimi sonrasında fenolik bileşenlerin tirosol, hidroksitirosol ve ilgili sekoiridoid yapılar (3,4-DHPEA-EDA ve p-HPEA-EDA) ve elenolik asitin mide koşullarındaki stabilitesinin yüksek, ince bağırsak koşullarında ise düştüğü bildirilmiştir (Soler ve ark., 2010; Rubio-Senent ve ark., 2015).

Pektinin safra asitlerini bağlayarak dışkı ile atılmasına neden olduğu bilinmektedir. Yağ sindirimi sırasında pankreastan salgılanan safra asitlerinin bu yol ile atılması, karaciğerde kolesterolden safra asitlerinin üretimini arttırarak, serum kolesterol seviyelerini düşürdüğü ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı düşünülmektedir. Rubio-Senent ve ark. (2015) zeytinyağı atığı olarak bilinen "alperujo"dan üç farklı şekilde pektin elde etmiş ve bu pektinlerin safra bağlama kapasitesini *in vitro* çalışmalar ile incelemişlerdir. Bu üç pektin özütünün safra asidi bağlanmasında kolik asit (CA) ve kenodeoksikolik asit (CDCA)'den daha yüksek bir deoksikolik asit (DCA) bağlanma yüzdesi ile önemli bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Elde edilen pektinlerin serum kolesterol seviyelerini düşürmeye ve bağırsak kanseri riskini azaltmaya katkıda bulunmak için biyomedikal bir uygulamaya sahip olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmadan yola çıkarak yazarlar bu atıkların yemek sonrası serum glikoz seviyelerini düşürmek üzere, yüksek lifli ancak düşük kalorili bileşenler olarak gıdalara eklenebileceğini bildirmişlerdir (Rubio-Senent ve ark., 2015).

Çizelge 2. Zeytinyağı atıklarında bulunan fenolik bileşikler
*Table 2. Phenolic compounds in olive oil wastes*

| Fenolik Bileşikler | Zeytinyağı Atık suyu | Prina |
|---|---|---|
| Fenolik asitler | | |
| Sinnamik asit | + | + |
| p-kumarik asit | + | + |
| Kafeik asit | + | + |
| Ferrulik asit | + | + |
| Vanilik asit | + | + |
| Gallik asit | + | + |
| 4-hidroksifenil asetik asit | + | - |
| Secoiridoidler ve türevleri | | |
| Oleuropein | + | - |
| Demetiloleuropein | + | + |
| Verbascoside | + | + |
| Tirozol | + | + |
| Hidroksitirozol | + | + |
| Flavonoidler | | |
| Luteolin | + | + |
| Luteolin 7-O-glukozit | + | + |
| Rutin | + | + |
| Kuersetin | + | + |
| Kuersetin 3-O-glukozit | - | - |

(+: bulunuyor, -: bulunmuyor); Kaynak: Dermeche ve ark., 2013

Çizelge 3. Zeytinyağı atık suyu ve prinadaki fenolik bileşiklerin biyoaktiviteleri
*Table 3. Bioactivities of phenolic compounds in olive oil wastewater and pomace*

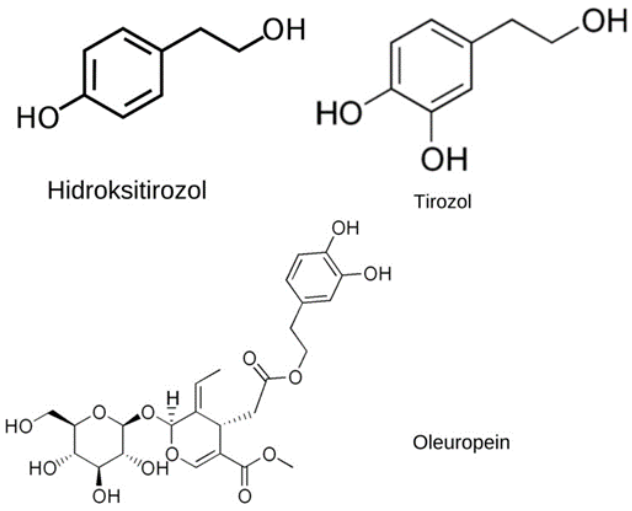
| Fenolik Bileşik | Biyoaktivite | Bulgular | Referanslar |
|---|---|---|---|
| Hidroksitirozol | Antioksidan Aktivite | Düşük yoğunluklu Lipoprotein (LDL) oksidasyonuna karşı koruyucu etki | Rietjens ve ark., 2007 |
| | | DNA onarım proteinleri veya faz II detoksifikasyon enzimlerinin aktivitesini arttırma | Bertelli ve ark., 2020 |
| | Kardiyoprotektif özellik | LDL'nin oksidasyona olan direncinin sağlanması ile koroner kalp hastalığı insidansında azalma | Bogani ve ark., 2007 |
| | | Toplam kolesterol düzeyinde azalma ve Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) düzeyinde artış ile oksidatif strese bağlı kronik ve dejeneratif hastalık riskinde azalma | Visioli, F. 2012 |
| | Kemoprevansiyon | İnsan promiyelositik lösemi hücrelerinin ve kolon adenokarsinom hücre çoğalmasının inhibisyonu, meme kanseri riskinde %62 azalma | De Marco ve ark., 2007; Toledo ve ark., 2015; Bernini ve ark. 2017 |
| | Antienflamatuar | Enflamasyona sebep olan TNF-α üretiminin inhibisyonu, COX ve INOX ekspresyonunu inhibe etme | Zhang ve ark. 2009; Martínez ve ark., 2019 |
| | Nöroprotektif | Parkinson hastalığı tedavisinde monoamin oksidaz (MAO) inhibitörünün etkinliğini arttırma, Alzheimer patolojsinde azalma | Visioli ve ark., 2018; Bertelli ve ark., 2020 |
| | Anti-mikrobiyal ve anti-viral özellik | İnsanda bağırsak ve solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olan *Staphylococcus aureus, Vibrio spp.* ve *Salmonella spp.* vb. farklı türlere karşı koruyucu etkinlik, *In vitro* anti-HIV aktivitesi | Bisignano ve ark.,1999; Lee-Huang ve ark., 2007 |
| | Anti-diyabetik etki | Diyabetin neden olduğu Hiperglisemi kontrolü ve oksidatif stresi azaltma ile diyabeti önleme | Hamden ve ark., 2009 |
| Oleuropein | Antioksidan Aktivite | Lipid oksidasyonunu önleme | Achat ve ark., 2012; Mancebo-Campos ve ark., 2014 |
| | Kardiyoprotektif Aktivite | Kronik miyokardiyal disfonksiyonun gelişiminde rol oynayan protein karbonillerini (PCs), nitrotirozini (NT) ve miyorkardiyal dokudaki lipid peroksidasyonunu azaltma, trigliserid, LDL ve toplam kolesterol miktarında azalma | Covas ve ark., 2006; Andreadou ve ark., 2007 |
| | Antienflamatuar | Karbon tetraklorür ($CCl_4$) ile indüklenen karaciğer hasarı olan farelerde oksidatif / nitrozatif stresi ve enflamatuar yanıtı azaltma ve karaciğer hasarını iyileştirme | Miles ve ark., 2005; Domitrović ve ark. 2012 |
| | Nöroprotektif | Beyin ödeminin, kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azaltma nörolojik eksiklikleri iyileştirme, Alzeihmer hastalığında plakaların ana bileşeni (amiloid-p-peptid (Aβ)) birikimini engelleme | Mohagheghi ve ark., 2011; Diomede ve ark., 2013 |
| | Anti-diyabetik etki | Hayvan çalışmalarında kan glikoz ve kolesterol seviyelerinde azalma | Jemai ve ark., 2009 |
| | Antikanser aktivite | Spontan tümör geliştirilen farelerde ağızdan 9-12 gün alım ile tümör hücre hatlarının çoğalmasının ve yayılmasının engellenme, hücre apoptozunu indükleme | Hamdi ve Castellon, 2005; Han ve ark., 2009 |
| Tirozol | Antioksidan aktivite | LDL oksidasyonunu önleme | Giovannini ve ark., 1999 |
| | Kardiyoprotektif | Uzun ömür proteinleri koruma ve doku hasarına bağlı strese karşı miyokardiyal koruma | Samuel ve ark., 2008 |
| | Nöroprotektif | Fare modellerinde geçici serebral arter tıkanıklığına karşı başarılı nöroprotektif etki. | Bu ve ark., 2007 |
| | Antienflamatuar | Pankreasın insülin üreten beta hücrelerine toksik etkili Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçan modellerinin karaciğer ve pankreası üzerinde anti-enflamatuar etki oluşturma | Chandramohan ve Pari, 2016 |

Oleuropein hidroksitirozol, elenolik asit sekoiridoidi ve bir glikoz molekülünden oluşan bir fenolik sekoiridoid glikozittir ve bu bileşik acı tat ve yoğun aromadan sorumludur (Şekil 2). Oleuropein zeytinlerde meyvenin kuru ağırlığının %14'ünü oluşturmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* olarak yapılan çalışmalar sonucunda toksik olmayan bu fenolik bileşen hipotansif, hipoglisemik ve antioksidan ajan olarak kabul edilmiş ve bu bileşenin reaktif oksijen ve nitrojen türlerini temizlediği bildirilmiştir (Andreadou ve ark., 2007; Domitrović ve ark., 2012; Hassen ve ark., 2015).

Tirozol (2-(4-hidroksifenil)-etanol) zeytin, zeytinyağı ve zeytinyağı üretim atıklarında bulunan, acılık üreten ve buruklığa neden olan oleuropeinin ve feniletil alkolün türevidir. Tirozol hidroksitirozolün bir tane daha orto-OH grubuna sahip olmasına rağmen, yapısal olarak hidroksitirozol ile özdeştir (Şekil 2). Tirozol diğer polifenollere göre çok daha kararlı bir bileşiktir ve daha az otooksidasyona maruz kalır. Bu özelliğinden kaynaklı olarak okside düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) varlığında, otooksidasyon başladığında diğer daha aktif doğal flavonoidler antioksidan aktivitelerinde ciddi bir azalma gösterirken ve hatta bazıları prooksidan hale geçerken tirozol değişmeyen bir antioksidan aktivite göstermektedir (Napolitano ve ark., 2010; Karković Marković ve ark., 2019). Dengeli bir diyet için günlük oleuropein kompleksi, tirozol gibi hidroksitirozol türevlerinin 5 mg olacak şekilde yaklaşık 20 gram sızma zeytinyağı ile alımının, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu azalttığı, yüksek yoğunluklu lipoproteinleri (HDL) arttırdığı ve normal kan basıncını koruyarak ve proinflamatuar süreçlerin riskini azalttığı için yeterli olduğu açıklanmıştır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) hidroksitirozolü kan lipidlerinin oksidasyondan koruyucusu olarak kabul etmiş ve ayrıca 2011 yılından itibaren zeytinyağı polifenolleri ile ilgili yapılan sağlık iddialarını onaylamıştır (Aggoun ve ark. 2016; Robles-Almazan ve ark. 2018). Hidroksitirozol iyi bir radikal oksijen (ROS) yakalayıcıdır. Özellikle süperoksit, hidrojen peroksit ve hipokloröz asit gibi serbest radikaller ile bir metal şelatör olarak işlev gören olağanüstü bir ROS temizleme kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir. Luo ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada insan prostat kanseri hücrelerine karşı ROS oluşumu sırasında hidroksitirozolün önemli bir etki mekanizması gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca buna ek olarak, hücre dışı süperoksit ve hidrojen peroksit girdisinin, hidroksitirozolün prostat kanseri hücrelerinde anti-proliferasyon etkisini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Robles-Almazan ve ark., 2018).

Oleuropeinin serbest radikal yakalayıcı olarak güçlü antioksidan aktivitesi esas olarak kimyasal yapısındaki hidroksil gruplarının (özellikle 1,2-dihidroksibenzen kısmının) varlığından kaynaklanmaktadır. Bu hidroksil grupları, oksidasyonu önlemek için hidrojen verebilmektedir. Birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışma ile oleuropeinin bu özelliği kanıtlanmış ve oleuropein ve oleuropein açısından zengin olan ekstraktların 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) radikalini yakalama yeteneklerinin sentetik antioksidan butil hidroksitoluenden (BHT) daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Oleuropein ve onun dialdehik türevi oleasinin *in vitro* hücresiz sistemlerde reaktif oksijen üretimini (süperoksit anyon $O.^{-2}$, Hidrojen peroksik $H_2O_2$; hipokloröz asit, HOCl) ve nitrojen türleri üretimini (nitrik oksit, NO; peroksinitrit, $ONOO^-$) bastırdığı yapılan çalışmalarla bilinmektedir. *In vivo* olarak oleuropeinin alloksan diyabetik sıçanlarda, kolesterolce zengin diyetle beslenen farelerde ve akut arseniğe maruz kalan farelerde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GRx), katalaz (CAT) gibi enzimatik antioksidanların seviyesini ve aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar oleuropeinin mide koşulları altında nitriti, nitrik oksite (NO) düşürmesi, mukus kalınlığının artması ve bağırsak patojenlerini (örneğin *Helicobacter pylori*) öldürme yeteneği ve mide şeritlerinde kas gevşemesine neden olma gibi yararlı etkiler gösterebileceği sonucuna varmışlardır (Hassen ve ark., 2015). Oleuropeinin antioksidatif ve antienflamatuar etkisinin yanında hücre zarı bütünlüğünü korumada eksojen hasar veren maddelere karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilen mukozal bariyerini güçlendirme yeteneğine bağlı olarak, mide koruyucu etkisinin de olduğu düşünülmektedir. Alirezaei ve ark. (2012) sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada etanolün neden olduğu mide hasarında oleuropein ve oleuropein açısından zengin özütlerin tedavisi sonucunda mide mukozal hasarlarının, ülser ve erozyon indekslerinin azaldığını ve lipid peroksidasyonunun da inhibe edildiğini bildirmişlerdir (Hassen ve ark., 2015). Oleuropeinin biyolojik sistemde aktif hale getirilen enflamasyon bölgesinde oldukça reaktif ve zararlı olan hipokloröz asidin (HOCl) oluşumunu katalize edebilen enzim olan miyeloperoksidaz (MPO) salınımını ve bu bölgede bulunan hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen üretimini azalttığı bilinmektedir (Czerwińska ve ark., 2012). Metabolomik sendrom kolesterol bozuklukları, obezite, diyabet, insülin direnci ve yüksek tansiyon gibi çeşitli parametrelerin bir arada bulunduğu durumdur. Hidroksitirozol metabolik sendromun önlenmesi ve tedavisinde etkili bir ajan olarak umut vaat etmektedir, ancak hidroksitirozolün metabolik sendroma karşı hangi mekanizmalar ile hareket ettiğinin belirlenmesinde daha fazla klinik araştırmaya gereksinim vardır. Yapılan bazı çalışmalar diyabetik sıçanlara verilen hidroksitirozol takviyesinin bağırsak maltaz, laktaz, sukraz ve lipaz aktivitelerinde önemli bir düşüşe, oksidatif stres durumunun azalmasının düşük glutatyon seviyelerinde bir artışa neden olduğunu göstermiştir (Robles-Almazan ve ark., 2018). Yapılan araştırmalar tirozolün Endoplazmik Retikulum (ER) stres kaynaklı hücre ölümüne karşı koruyucu etkisinin sinyal iletimi için moleküler bir temel sağladığı ve bu sebepten dolayı tip 2 diyabetin iyileştirilmesi için potansiyel bir terapötik etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Kan şekerini düşüren insülin hormonunu üretmekle görevli olan pankreatik β-hücrelerinin işlev bozukluğu tip 2 diyabet gelişimi için önemli bir belirleyicidir. Metabolik sendromda, uyarılmış insülin salgılanması nedeniyle, ER stresi, hücre yetmezliği için merkezi bir aracı görevi görür. Lee ve ark. (2016) tirozolün ER stresiyle ilişkili β hücresini işlev bozukluğuna karşı koruyup korumadığını araştırmışlardır. Bunun için pankreatik β-hücrelerini ve fare beta hücrelerinden olan NIT-I'i tirozol ile tunikamisin antibiyotiğine maruz bırakmışlardır. Tirozolün doza bağlı bir şekilde tunikamisin kaynaklı hücre ölümünü azalttığı ve ayrıca tirozolün apoptozla ilişkili belirteçlerin ekspresyonunu

azalttığını tespit etmişlerdir (Lee ve ark., 2016). Zeytinyağı atık suyu ekstreleri insan nötrofillerinde iltihabı teşvik eden ve inflamatuar hücrelerin üretimini aktive eden Lökotrien B4'ün güçlü bir şekilde inhibisyonunu sergilemektedir. Ayrıca zeytinyağı atık suyu özütleri reaktif oksijen türlerini temizleyerek, fosfolipazlar ve oksijenazlar gibi enzimlerin aktivitesini düşürüp bunun karşılığında pro-enflamatuar faktörlerin üretimini azaltabilmektedir (Hassen ve ark., 2015). Oksidatif stres teorisine göre LDL'nin oksidatif modifikasyonunun ateroskleroz gelişiminde anahtar bir rol oynadığı bilinmektedir. Hayvan modeli ile yapılan denemeler sonucunda hidroksitirozol ve oleuropeinin LDL oksidasyonunu önlediği ve aterosklerotik plakların gelişimini geciktirdiği bildirilmiştir. Bu durumun antioksidanların ateosklerozun önlenmesi ve tedavisinde etkin olabileceğinin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir (Zbakh ve El Abbassi, 2012). Kemik dokularında, kemiğin oluşumu, kemik oluşturan osteoblastlar ve kemiği emen osteoklastlar tarafından kontrol edilir ve bu iki hücre türü arasındaki bir dengesizlik, osteoporoz ve osteopetroz gibi kemik metabolik hastalıklarına yol açar. Hagiwara ve ark. (2011) fareler üzerinde yaptıkları çalışmayla zeytinyağı atıkları fenoliklerinden olan hidroksitirozol ve tirozolün osteoblastik MC3T3-E1 hücre kültürlerinde çok çekirdekli osteoklast oluşumunu engellediği ve oleuropeinin kemik oluşturan osteoblastlar tarafından kalsiyum birikimini arttırdığı bilinmektedir (Hagiwara ve ark., 2011).




Şekil 2. Tirozol, hidroksitirozol ve oleuropeinin kimyasal yapısı (Bayaz,2016)

*Figure 2. Chemical structure of tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein*

## Zeytinyağı Üretim Atık Suları ve Prinanın Gıdalarda Kullanım Potansiyeli

Gıda sektöründe tüketicinin sağlığını olumlu yönde etkileyecek olan fonksiyonel gıdalara olan ilgi günden güne artmaktadır. Zeytinyağı üretim atık suları ve prina içerdikleri fenolik bileşikler, pektik polisakkaritler ve lignoselülozik lifler sayesinde fenolik bileşiklerin kapsüllenmesi, antioksidan özellikler, jelleştirici maddeler, stabilize edici maddeler, yağ ikamesi, gıda ambalajlama için biyokompozitler ve gıda takviyesi gibi çeşitli teknolojik ve fonksiyonel işlevlere sahiptir. Farklı firmalar zeytinyağı üretim atık suyundan polifenolleri geri kazanma işlemine ve bunları gıdalarda doğal koruyucu madde ve çeşitli gıda ürünleri için biyoaktif katkılar olarak satışa sunmaktadır. Bu durum hem gıda atıklarının değerlendirilmesine hem de tüketiciler için yeni ve sağlıklı fonksiyonel gıdalar üretilmesine katkı sağlamaktadır (Nunes ve ark., 2016; Veneziani ve ark., 2017; Caporaso ve ark., 2018). Örneğin zeytin prinasının gıdalarda biyolojik olarak güvenilir bir şekilde çok işlevli bir bileşen olarak kullanılabilme potansiyeli Riberio ve ark. (2021) tarafından gerçekleştirilen bir çalışma ile bildirilmiştir. Çalışmada prinadan sıvı ile zenginleştirilmiş toz (LOOP) ve posa ile zenginleştirilmiş toz (POPP) elde etmişlerdir. Elde edilen bu tozlar kimyasal olarak karakterize edilmiş ve biyoaktiviteleri değerlendirilmiştir. Sıvı ile zenginleştirilmiş tozun annitol, potasyum ve hidroksitirosol kaynağı olarak, posa ile zenginleştirilmiş tozun ise antioksidan, diyet lifi ve oleik/linoleik asit kaynağı olarak kullanılabileceği ayrıca, posa ile zenginleştirilmiş tozda, lif ile taşınan antioksidanların ve posa ile zenginleştirilmiş tozun içeriğinde bulunan doymamış yağ asitlerinin kalın bağırsak sağlığına yararlı ve sinerjistik etkilerinin olabileceği bildirilmiştir (Ribeiro ve ark., 2021).

### *Yağ Endüstrisinde Kullanım Potansiyeli*

Zeytinyağı atık sularındaki fenollerin askorbik asit, tokoferol karışımı ve α-tokoferole kıyasla 20 kat ve hatta daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Galanakis ve ark., 2018). Doymamış yağ asitlerince zengin olan yağlar oksidasyona duyarlıdır ve bu nedenle bu yağların raf ömürlerini arttırmak için antioksidan ilavesi gerekebilmektedir. Bu ilave antioksidanlar gıda yan ürünleri ve atıklarından elde edilen doğal antioksidanlar veya sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanlar sağlık risklerinden dolayı genelde tercih edilmemektedir. Zeytin prinasından ekstraksiyon ile elde edilen polifenollerin mısır, soya, ayçiçeği, zeytin, kolza tohumu gibi çeşitli rafine yağlara ilave edilmesinden sonra yağların stabilitesi ve kalitesi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda zenginleştirilmiş tüm rafine yağların konsantrasyondan bağımsız olarak oksidasyona karşı daha stabil hale geldiği bildirilmiştir (Medina ve ark., 2006). Esposto ve ark. (2015) rafine zeytinyağına zeytinyağı atık suyundan geri kazanılan bir fenolik özütünü farklı konsantrasyonlarda eklemiş ve kızartmanın olumsuz etkilerini sınırlandırma potansiyelini incelemişlerdir. Sonuçta 400 mg fenol/kg özüt tokoferollerin oksidasyonunu ve düşük moleküler ağırlıklı aldehitlerin emisyonunu azaltmıştır (Esposto ve ark., 2015). Benzer şekilde De Leonardis ve ark. (2007) zeytinyağı atık suyundan elde edilen hidroksitirozol, tirozol, kafeik asit ve ferulik asit gibi serbest fenoliklerin farklı konsantrasyonlarda domuz yağlarına eklenmesinden sonra yağın oksidatif stabilizasyonunu incelemişler ve sonuçta doğal fenollerin domuz yağı oksidatif stabilizasyonu için oldukça etkili olduğunu doğrulamışlardır (De Leonardis ve ark., 2007).

***Unlu Mamuller ve Tahıl Ürünlerinde Kullanım Potansiyeli***

Unlu mamuller ve tahıl ürünleri besleyici özellikleri açısından biyoaktif bileşenlerce zenginleştirilip tüketici sağlığına yararlı fonksiyonel bir ürün haline gelmeye açık gıda ürünleridir. Bu durumdan yola çıkılarak unlu mamuller ve tahıl ürünlerinin zenginleştirilmesinde zeytinyağı atıklarını kullanan ve etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Galanakis ve ark. (2018) çalışmalarında zeytin değirmeni atık suyundan elde edilen polifenoller ve diğer doğal antioksidanlar (askorbik asit, tokoferoller karışımı; α, β, δ ve α-tokoferol) karışımını ekmek ve galeta ürünlerine ekleyerek, farklı depolama süreleri sonrasında mikrobiyal açıdan değerlendirmişlerdir. Bu bileşiklerin antioksidan etkilerinin yanısıra unlu mamullerde antimikrobiyal özellikleri de geliştirdiği ve raf ömrünü arttırabileceği sonucuna varılmıştır (Galanakis ve ark., 2018). Simonato ve ark. (2019) durum buğdayı irmiği ile hazırlanan makarnaların 0,5 ve 10 g/100 g olacak şekilde prina ile zenginleştirilmesi sonucunda toplam fenolik ve diyet lifi içeriklerinde ve antioksidan aktivitelerinde önemli düzeyde artış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca prinanın makarnaya eklenmesiyle, hızlı sindirilir nişasta oranında azalma, yavaş sindirilir ve dirençli nişastada ise artış olduğu kaydedilmiştir. Eklenelecek olan prina miktarına bağlı olarak prinanın fonksiyonel makarna üretiminde önemli bir bileşen olabileceği ve bu makarnaların glisemik yanıtı üzerinde olumlu bir etki yaratacağı bildirilmiştir (Simonato ve ark., 2019). Di Nunzio ve ark. (2020) tarafından farklı unlar ve fermantasyon teknikleri kullanılarak üretilen bisküvi ve ekmeklerde yağından arındırılmış prina ile zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu zenginleştirilmiş ürünlerde meydana gelen değişim ve bu ürünlerin *in vitro* sindirimi sonrasında Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi kullanılarak prina ilavesinin etkileri ve sitokin sekresyonu ölçülmüştür. Bu çalışmada, en çok artış ekşi mayalı ekmekte olmakla birlikte tüm ürünlerde toplam fenolik içeriğinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca insan sağlığı açısından antienflamatuar etkiye sahip olabilecek ürünün en yüksek toplam fenol içeriğine sahip olan %4 oranında prina ile zenginleştirilmiş geleneksel ekmekler olduğu sonucuna varılmıştır (Di Nunzio ve ark., 2020).

***Et ve Et Ürünlerinde Kullanım Potansiyeli***

Zeytin ve zeytinyağı üretim atıklarında bulunan biyoaktif bileşikler, et ve et ürünlerinin üretiminde genellikle renk koruyucu, oksidasyon önleyici, antimikrobiyal ajan gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Zeytin fenolleri, likopen, kateşin, tokoferol, askorbik asit ve kafeik asit gibi doğal antioksidan bileşiklerin sığır etindeki *in vitro* lipid oksidasyonu engelleme kapasitesi TBAR (2-thiobarbitürik asit) reaktif maddesi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda konsantrasyona bağlı olarak hem zeytin fenollerinin hem de askorbik asit veya kateşinin çiğ ette koruyucu katkı maddesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Zeytin fenolikleri için 100 mg fenol/L, askorbik asit ve kateşin için ise 500 mg/L'nin uygun olduğu ve 72 saat içinde lipid oksidasyonunu sınırladığı ve etin rengini etkili bir şekilde iyileştirdiği bildirilmiştir (Galanakis ve ark., 2018). Galanakis ve ark. (2010) çalışmalarında, zeytinyağı atık suyundan elde ettikleri suda çözünen ve çözünmeyen diyet lifi fraksiyonlarını havuç ve nişasta ile birlikte ve ayrı ayrı, köftelerde yağ ikamesi olarak kullanmış ve köftelerin kızartılması sırasında toplam su ve yağ kaybı veya yağ çekmesini karşılaştırılmışlardır. Sonuçlar, suda çözünen diyet lifinin yağ çekmeyi sınırlandırdığı ve yağ içeriği azaltılmış köftelerin pişirme özelliklerini iyileştirdiğini, az yağlı köfte katkı maddesi olarak havuç lifleri ile birlikte kullanılabileceğini göstermiştir (Galanakis ve ark., 2010). Cedalo ve ark. (2017) zeytinyağı üretim atıklarını %10 oranında balık köftesini zenginleştirmek için kullandıkları çalışmalarında, toplam fenolik açısından zengin ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip bir ürün elde edildiğini, ancak atıkların acı tadı nedeniyle duyusal açıdan uygun bulunmadığını, bunun için atıkların süt ile bir hidrasyon veya ekstraksiyon yöntemi ile bir ön işleme tabi tutulmasının acı bileşenlerin konsantrasyonunu azaltarak duyusal kaliteyi iyileştirebileceğini açıklanmışlardır (Cedola ve ark., 2017).

***Süt ve Süt Ürünleri ve Fermente İçeceklerde Kullanım Potansiyeli***

Son dönemlerde fonksiyonel içeceklerin üretiminde ürüne fonksiyonel bileşiklerin eklenmesi veya probiyotik özelliklere sahip, biyojenik bileşikler üreten mikroorganizmaların kullanılması gibi teknikler yaygınlaşmaktadır. Fermente sütler bu tür fonksiyonel içecek ürünleri arasında en çok bilinenlerdir. Servilli ve ark. (2011) zeytin atık suyundan elde edilen fenolik bileşiklerle zenginleştirilmiş ve fonksiyonel laktik asit bakterileri ile fermente edilmiş fonksiyonel sütlü içecek üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada fermente süt ürünleri zeytin atık suyundan ekstrakte edilen fenolik bileşenler ile 100 mg/L ve 200 mg/L şeklinde zenginleştirilmiş ve γ-amino bütirik asit (GABA) üreten *Lactobacillus plantarum C48* ve otokton insan gastrointestinal laktik asit bakterisi olan *Lactobacillus paracasei 15N* suşları ile fermente edilmiştir. Kontrol grubu olarak da fenolik bileşik içermeyen bir sütlü içecek kullanılmıştır. Her üç üründe de benzer laktoz tüketimi ve laktik asit sentezi görülmüştür. GABA konsantrasyonu hem fermantasyon hem de depolama sırasında artış göstermiştir. Bunun yanında fermantasyon sırasında toplam serbest amino asit konsantrasyonunda bir artış olduğu belirtilmiştir. Her iki fermente üründe de aynı fenolik kompozisyon olduğu ancak 3,4-dihidroksifeniletanol elenolik asit(3,4-DHPEA-EA), 3,4-DHPEA-Elenolik asit Di-Aldehit (3,4-DHPEA-EDA) oranlarında bir farklılık görüldüğü ve bu fenoliklerin depolama sırasında azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca ürünlerin 100 mg/L ve 200 mg/L oranında zenginleştirilmesinin duyusal açıdan uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Servili ve ark., 2011). Isıl işlem ve Maillard reaksiyonu sütün besleyici ve duyusal özelliklerini olumsuz etkileyebilmektedir. Zeytinyağı üretim atık suları Maillard reaksiyonunu kontrol edebilen ve sütün besleyici ve duyusal özelliklerini iyileştirebilen işlevsel bir bileşen olarak kullanılabilmektedir. Troise ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada zeytinyağı üretim atık sularından santrifüj, pektinaz muamelesi ve üç membrandan oluşan filtrasyon işleminden sonra elde edilen polifenolik özütler laboratuvar ölçekli UHT işlemi uygulanmadan önce %0,1 ve 0,05 a/h oranında süte ilave

edilmiş ve Maillard reaksiyonu ürünlerinin konsantrasyonu takip edilmiştir. Sonuç olarak, zeytinyağı üretim atık suyunun hidroksikarboniller ve dikarboniller gibi bileşiklerinin Maillard reaksiyonundan türetilen ve kötü lezzetin artmasına sebep olan reaktif karbonil türlerini inhibe edebileceğini bildirmişlerdir (Troise ve ark., 2014). Tüketicilerin ilgisinin arttığı fonksiyonel gıdalardan biri de yoğurttur. Besleyici özellikleri ve sağlığa olan birçok faydasından dolayı yoğurt tüketiciler tarafından çok tercih edilmekte ve tüketilmektedir. Diyet lifi, fenolik bileşikler ve doymamış yağ asitleri yoğurtta bulunmayan gıda bileşenleridir. Bu eksikliklerden yola çıkarak Ribeiro ve ark. (2020) zeytin prina katı ve sıvı fraksiyonlarından elde ettikleri toz formları yoğurda eklemişlerdir. Yoğurda %1 oranında sıvı ile zenginleştirilmiş prina tozu ve %2 oranında posa ile zenginleştirilmiş tozun ilave edilmesiyle, 120 gram standart bir yoğurt porsiyonununda 5 mg hidroksitriozol miktarının ve lif kaynağı olma koşulunun sağlandığını ve sağlık iddiası yapılabileceğini bildirmişlerdir. Prina ilavesinin yoğurdun antioksidan aktivitesini ve toplam fenolik içeriğini arttırdığı da açıklanmıştır. Ayrıca prina tozu ile birlikte zeytinyağı ilave edilmesinin doymamış yağ asidi içeriğini arttırdığını, fermantasyondan sonra hidroksitirozolü daha stabil hale getirdiğini ve *in vitro* sindirim sonrasında da biyolojik olarak daha erişilebilir olduğunu vurgulamışlardır (Ribeiro ve ark., 2020). Spizzirri ve ark. (2020) tarafından gerçekleştirilen ticari armut suyunun prinadan elde edilen ekstraktlarla zenginleştirildiği çalışmada farklı prina örneklerinden biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasına odaklanılmış ve 3 farklı ekstraksiyon metodu kullanılarak farklı ekstraktlar elde edilmiştir. Her ekstraktın H-NMR ile karakterizasyonu yapılmış ve daha sonra da ABTS ve DPPH radikal yakalama aktiviteleri değerlendirilmiştir. HNMR ile karakterizasyonu sonucunda ekstraktların kampesterol ve oleocanthal sekoiridoid bileşikleri açısından zengin olduğu ve bu bileşiklerin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Prina ekstraktlarındaki reaktif bileşiklerin radikal indükleme reaksiyonu ile inülin zincirlerine başarılı bir şekilde bağlanarak, makromoleküler konjugatlara dikkate değer antioksidan özellikler sağladığını ve bunları fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi için iyi bir bileşen haline getirdiği sonucuna varılmıştır. Bu sayede ekstrelerin eklendiği zenginleştirilmiş armut sularında toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerlerinde bir artış gözlemlenmiştir (Spizzirri ve ark., 2020).

### *Ambalaj Materyali Olarak Kullanım Potansiyeli*

Gıda ambalajlamanın temel amacı gıdayı oksidasyon ve mikrobiyal kaynaklı bozulmalardan koruyarak raf ömrünü uzatmaktır. Antioksidan veya antimikrobiyel maddeleri gıda ambalajlarına doğrudan eklemek, gıdaya eklemek ile karşılaştırıldığında, daha düşük miktarda aktif maddeye ihtiyaç duyulması, ürün yüzeyinde aktiviteye odaklanılması, gıda matrisinde kontrollü salım ve antioksidan ilavesi gibi üretim sürecinde ihtiyaç duyulan ek işlemlerin ortadan kaldırılması gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Antioksidan ambalajlamanın gıda oksidasyonunu ve buna bağlı olarak oluşabilecek gıdalardaki renk, tat ve koku değişimleri ile besin öğesi kayıplarının önlenmesinde bir öncü olabileceği düşünülmektedir. Hem bu avantajlar hem de tüketicilerin katkı maddesi içermeyen temiz etiketli gıdalara artan talebinden yola çıkılarak gıda ambalajlamada doğal antioksidanların kullanılmasına yönelik çalışmalar artmıştır. Bunun yanında bu çalışmalarda plastik malzeme tüketiminin çevresel zararlarından kaynaklı olarak biyolojik olarak parçalanabilen ambalajlar üretilmeye çalışılmaktadır. Ticari olarak temin edilebilen farklı biyolojik olarak parçalanabilir malzemeler arasında, poli-(hidroksi-3-butirat-ko-3-valerat) (PHBV), biyolojik kaynaklı olma ve potansiyel olarak gıda endüstrisi yan ürünlerinden hazırlanma avantajını sunan bakteriyel bir polyesterdir PHBV bariyer özelliklerini modüle ederken, malzemelerin tam biyolojik olarak parçalanabilirliğini korumak ve malzemelerin nihai maliyetini düşürmek için bu polyestere çeşitli düşük maliyetli lignoselülozik lifler karıştırılmaktadır. En ucuz ve çevre için en verimli selülozik liflerin gıda yan ürünlerinden elde edildiği bilinmektedir. Bu durumdan yola çıkarak Berthet ve ark. (2015) gıda ambalajlama uygulamalarında biyokompozitlerin geliştirilmesi için PHBV'de dolgu maddesi olarak buğday samanı lifleri, mayalanma sonrası artık tahıllardan elde edilen lif ve zeytin posasından türetilen lignoselülozik lifler olmak üzere üç farklı katı gıda yan ürününün kullanılmasını araştırmıştır. Çalışma ile birlikte PHBV bazlı bir kompozitte dolgu maddesi olarak zeytin değirmeni atıklarının kullanımı su buharı geçirgenliğinde 2,5 kat azalma gösterirken, buğday samanı liflerinin kullanımı 3,5 kat artış göstermiştir. Bu sonuçtan yola çıkılarak PHBV/buğday samanı lifleri kompozitlerinin solunum gıda ürünlerinin gereksinimlerine ulaşmak için, PHBV/zeytin değirmeni atığı lifleri kompozitlerinin ise suya duyarlı ürünler için daha uygun olacağı söylenebilmektedir (Berthet ve ark., 2015). Son zamanlarda kitosan mükemmel film oluşturma yeteneği, yüksek mekanik mukavemeti ve iyi bariyer kapasitesiyle ambalajlamada ilgi çeken doğal polimerlerdendir. Yapılan çalışmalarla prinadan pektin ekstrakte edilebileceği ve bu pektinin jelleşme yeteneğinin ticari olarak satılan turunçgil pektinine benzer olduğu bilinmektedir. Bu durumdan yola çıkarak De Moraes ve ark. (2018) farklı konsantrasyonlarda prina tozu ve mikropartiküllerinin dahil edilmesinin, gıda ambalajları için biyolojik olarak parçalanabilen kitosan filmler üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışma yapmıştır. Çalışmanın sonucunda kitosan filmlerin geliştirilmesinde prina kullanılmasının mümkün olduğu, ancak bu kalıntıların dahil edilmesinin filmlerin orijinal özelliklerinde değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. Kitosan matrisinde prina tozunun çözünürlüğünün olmamasının filmlerin geçirgenliğini ve suda çözünürlüğünü arttırdığını ancak antioksidan özelliklerinde de önemli bir iyileşme sağladığı bildirilmiştir. %10 oranında prina ilave edilen kitosan filmlerin su buharı geçirgenliği ve çözünürlüğünde bir değişiklik meydana gelmeden daha yüksek mekanik direnç ve daha homojen, kompakt bir yapıya sahip filmler ortaya çıkardığı ve bunun yanında antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca zeytin artıkları ile eklenen filmler, 31 gün boyunca kuruyemişlerin oksidasyonuna karşı koruyucu etki göstermiştir (De Moraes Crizel ve ark., 2018). Gıda kaynaklı mikroorganizmaların kontrolünde de sentetik antimikrobiyal koruyuculardansa doğal bileşiklerle kontrole olan ilgi ve talep hem üreticiler hem de tüketiciler tarafından artmaktadır. Gıda yan ürünlerinden elde edilen bileşikler antioksidan konusunda olduğu gibi antimikrobiyal ajan olarak da umut vermektedir. Zeytinyağı üretim yan

ürünlerinin patojenik bakteri ve mantarlara karşı bir antimikrobiyal potansiyele ve ayrıca yumuşakça öldürücü aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Fermente sosislerin yüzeyinde mantar büyümesi ürünün aroması ve diğer özelliklerine olumlu katkıda bulunan bazı reaksiyonlara yol açma, kendiliğinden maya ve bakteri gelişimine karşı koruma, rengi stabilize etme, ekşimeyi geciktirme, ışığa karşı koruma ve kuru kenar oluşma riskini azaltıp su kaybını düşürme gibi çeşitli olumlu yönlere sahiptir. Bunun olumlu yönlerin yanında sosislerin yüzeyinde büyüyen bazı mantar türleri kötü tatların, toksijenik ve alerjenik metabolitlerin üretimi gibi olumsuz sonuçlara yol açabilmektedir (Nunes ve ark., 2016; Veneziani ve ark., 2017). Chaves-López ve ark. (2015) doğal bileşiklerin İtalyan kuru, fermente edilmiş sosislerin olgunlaşma sürecinde yüzeyde oluşan ve istenmeyen mantar türlerini kontrol etme potansiyelini değerlendirmeyi ve ürünün mikrobiyolojik ve fiziksel-kimyasal özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışma yapmışlardır. %1,25 oranında polifenollerin kullanımının farklı *Penicillium, Aspergillus ve Cladosporium* türlerine ve %2,5 oranında kullanımının ise *Cladosporium cladosporioides, Penicillium aurantiogriseum, Penicillium commune* türlerine antogonist bir etki ettiği bildirilmiştir. Bu konsantrasyonlarda kullanılan zeytinyağı atık suyunun hem mantar büyümesini hem de spor çimlenmesini inhibe ederek türe bağlı antifungal aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle zeytin değirmeni atık sularının, duyusal özellikleri değiştirmeden ürünü hem oksidasyondan hem de istenmeyen mantarlardan korumak için sentetik antifungal bileşiklere potansiyel bir alternatif olarak kabul edilebileceği düşünülmektedir (Chaves-López ve ark., 2015). Zeytinyağı üretim atıklarının *Escherichia coli, Salmonella poona, Bacillus cereus, Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* gibi çeşitli mikrobiyal türlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu farklı çalışmalarla gösterilmiştir. Serra ve ark. (2008) zeytinyağı ve şarap üretiminden elde edilen atıktan türetilmiş iki özütün ve iyi tanınan üç standart antioksidanın (quercetin, hidroksitirozol ve oleuropein) antimikrobiyal aktivitelerini beş mikrobiyal türe (*Escherichia coli, Salmonella poona, Bacillus cereus, Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans*) mikroplaka fotometre deneyi uygulayarak ölçmüşlerdir. Çalışmalar sonucunda bu özlerin gıdalarda doğal antimikrobiyal ajanlar olarak önemli uygulamalara sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Bu doğal özlerin tek başına kullanılan antioksidanlara kıyasla daha yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Serra ve ark., 2008). Fasolato ve ark. (2015) membran ayırma işlemiyle zeytin vejetasyon suyundan fenolik bileşikleri elde edip saflaştırdığı ve bozulma bakterileri(spoiler), gıda kaynaklı patojenler ve starter kültürler gibi çeşitli gıda suşları üzerindeki bakterisidal etkilerini ve raf ömrü etkilerini *in vitro* olarak inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Fenoliklerin antibakteriyel aktivitesini *Staphylococcus, Listeria, Escherichia, Salmonella, Pseudomonas, Lactobacillus* ve *Pediococcus*'a karşı minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) ile test etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogens*'in fenoliklere karşı en düşük direnç seviyesine sahip olduğunu, Gram negatif türlerin (*S. Typhimurium* ve *Pseudomonas spp.)* bu durumdan etkilenmediğini ve starter kültürlerin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir (Fasolato ve ark., 2015).

Bu çalışmaların yanında zeytinyağı üretim atıklarının içerdiği hidroksitirozol fenolik maddesinden gelen antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde şarap üretiminde kükürt dioksit ($SO_2$) yerine kullanılabileceği düşünülmektedir. Ruiz-Moreno ve ark. (2015) bu düşünceden yola çıkarak zeytin değirmeni atıklarından elde edilen hidroksitirozol ekstraktları şaraplara hem tek başına hem de $SO_2$ ile birlikte uygulamıştır. Çalışma ile birlikte hidroksitirozol ekstresinin tek başına $SO_2$ kadar etkili olmadığını ancak şaraplarda antimikrobiyal spektrumları arttırmak ve olası koku özü katkılarını azaltmak için $SO_2$ ile birlikte kullanımının daha yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır (Ruiz-Moreno ve ark., 2015). Zeytinyağı üretim atıklarından olan karasu ve prinanın gıda maddelerini zenginleştirmede kullanılmasının yanında bir gıda maddesi olarak değerlendirilmesine dair iki adet çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri Pipko (2009)'nun patentini aldığı "Zeytinyağı Prina Sirkesi" çalışması diğeri ise Leonardis ve ark. (2018)'nin gerçekleştirdiği "Zeytinyağı atık suyundan sirke üretimi" çalışmasıdır. Bu çalışmalar sirkelerin üretim şekli, karakterizasyonu, antimikrobiyal aktiviteleri gibi konuları ele almaktadır. Çalışmalar sonucunda bu sirkelerin yüksek oranda fenolik maddeler içerdiği için sağlıklı ve tüketilebilir bir gıda olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır (Pipko, 2009; De Leonardis ve ark., 2018).

## Sonuç

Zeytinyağı üretimi sırasında atık su ve prina şeklinde sırasıyla %50 ve %70 gibi yüksek oranlarda ve çevreye oldukça zararlı atıklar ortaya çıkmaktadır. Bu atıklar üretim şekli, iklim koşulları, zeytin çeşidi, zeytinin yetiştirildiği toprak çeşidi, pestisit ve gübre kullanımı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişse de yüksek oranda fenolik madde içerir. Zeytinyağının içerdiği fenolik maddelerin serbest radikalleri temizleme, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe etme, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite gibi birçok sağlığa yararlı etkileri insan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların yanında *in vitro* ve *in vivo* deneylerle de kanıtlanmıştır. Bu etkilerin yanında beslenme açısından bakıldığında da fenolik bileşenlerin biyoerişilebilir olduğu yani *in vitro* koşullarda sindirildikten sonra ince bağırsakta emilim için hazır oldukları da literatürde bulunan farklı çalışmalarla gösterilmiştir. Zeytinyağı fenolikleri ve zeytinyağı atıklarında baskın fenolik bileşiklerden biri olan hidroksitirozolün çeşitli sağlık yararları otoriteler tarafından da kabul edilmeye başlamıştır.

Zeytinyağı üretim atık suları ve prina içerdiği fenolik bileşikler ve bu bileşiklerin sağlığa olan faydaları sayesinde gıdalarda zenginleştirici, doğal koruyucu ve ambalajlama materyali olarak kullanılmaya açık bir üründür. Bu konu ile ilgili çeşitli bilimsel çalışmalar yapılmış ve birçok olumlu sonuç elde edilmiştir. Ülkemizde gıda sektöründe bulunan firmaların bu çalışmalardan faydalanılıp hem toplum sağlığına katkıda bulunmak hem de bu atıkların çevreye olan zararını azaltmak amacıyla yeni ve çeşitli fonksiyonel gıdaların üretimi, yenilenebilir biyoplastik ambalajların üretimi ve kullanımı gibi çeşitli çalışmalara adım atması gerekmektedir.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Yazar Katkıları

Yazarlar makalenin yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır.

## Kaynaklar


Achat S, Tomao V, Madani K, Chibane M, Elmaataoui M, Dangles O, Chemat F. 2012. Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. Ultrasonics Sonochemistry, 19(4): 777-786. doi: https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.12.006

Aggoun M, Arhab R, Cornu A, Portelli J, Barkat M. 2016. Olive mill wastewater microconstituents composition according to olive variety and extraction process, Food Chemistry, 209, 72–80 doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.034

Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aligiannis N, Kremastinos DT. 2007. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 42(3): 549-558. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.01.007

Bernini R, Carastro I, Palmini G, Tanini A, Zonefrati R, Pinelli P, Romani A. 2017. Lipophilization of hydroxytyrosol-enriched fractions from Olea europaea L. byproducts and evaluation of the in vitro effects on a model of colorectal cancer cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65(31): 6506-6512. doi: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05457

Bertelli M, Kiani AK, Paolacci S, Manara E, Kurti D, Dhuli K, Michelini S. 2020. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. Journal of Biotechnology, 309: 29-33. doi: https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.016

Berthet MA, Angellier-Coussy H, Machado D, Hilliou L, Staebler A, Vicente A, Gontard N. 2015. Exploring the potentialities of using lignocellulosic fibres derived from three food by-products as constituents of biocomposites for food packaging. Industrial Crops and Products, 69: 110-122. doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.028

Bayaz M. 2016. Natürel Zeytinyağlarındaki Fenolik Bileşiklerin Biyolojik Aktivitesi. Akademik Gıda, 14(4): 441-450. ISSN Print: 1304-7582, Online: 2148-015X

Bisignano G, Tomaino A, Cascio RL, Crisafi G, Uccella N, Saija, A. 1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 51(8): 971-974. doi: https://doi.org/10.1211/0022357991773258

Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. 2007. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. Atherosclerosis, 190(1): 181-186. doi: https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.01.011

Bu Y, Rho S, Kim J, Kim MY, Lee DH, Kim SY, Kim H. 2007. Neuroprotective effect of tyrosol on transient focal cerebral ischemia in rats. Neuroscience Letters, 414(3): 218-221. doi: https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.08.094

Caporaso N, Formisano D, Genovese A. 2018. Use of phenolic compounds from olive mill wastewater as valuable ingredients for functional foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58(16): 2829-2841. doi: https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1343797

Cedola A, Cardinali A, Del Nobile MA, Conte A. 2017. Fish burger enriched by olive oil industrial by-product. Food Science and Nutrition, 5(4): 837-844. doi: https://doi.org/10.1002/fsn3.461

Cedola A, Cardinali A, D'Antuono I, Conte A, Del Nobile MA. 2020. Cereal foods fortified with by-products from the olive oil industry. Food Bioscience, 33: 100490. doi: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100490

Chandramohan R, Pari L. 2016. Anti-inflammatory effects of tyrosol in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. Journal of Functional Foods, 27: 17-28. doi: https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.043

Chaves-López C, Serio A, Mazzarrino G, Martuscelli M, Scarpone E, Paparella A. 2015. Control of household mycoflora in fermented sausages using phenolic fractions from olive mill wastewaters. International Journal of Food Microbiology, 207: 49-56. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.040

Covas MI, Nyyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJF, Kiesewetter H, Gaddi A, De la Torre R, Mursu J, Bäumler H, Nascetti S, Salonen JT, Fitó M, Virtanen J, Marrugat J. 2006. The effect of virgin and refined olive oils on heart disease risk factors. Annals of Internal Medicine, 145: 333–341. doi: https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-5-200609050-00006

Czerwińska M, Kiss AK, Naruszewicz M. 2012. A comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacein. Food Chemistry, 131(3): 940-947. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.082

D'Antuono I, Garbetta A, Ciasca B, Linsalata V, Minervini F, Lattanzio VM, Cardinali A. 2016. Biophenols from table olive cv Bella di Cerignola: Chemical characterization, bioaccessibility, and intestinal absorption. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64(28): 5671-5678. doi: 10.1021/acs.jafc.6b01642

Diomede L, Rigacci S, Romeo M, Stefani M, Salmona M. 2013. Oleuropein aglycone protects transgenic C. elegans strains expressing Aβ42 by reducing plaque load and motor deficit. PLoS one, 8(3): e58893. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058893

De Leonardis A, Macciola V, Lembo G, Aretini A, Ahindra Nag. 2007. Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater. Food Chem. 100 (3): 998–1004. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.057

De Leonardis A, Macciola V, Iorizzo M, Lombardi SJ, Lopez F, Marconi E. 2018. Effective assay for olive vinegar production from olive oil mill wastewaters. Food Chemistry, 240: 437-440. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.159

De Marco E, Savarese M, Paduano A, Sacchi R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. Food Chemistry, 104(2): 858-867. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.005

De Moraes Crizel T, De Oliveira Rios A, Alves VD, Bandarra N, Moldão-Martins M, Flôres SH. 2018. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. Food Hydrocolloids, 74: 139-150. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.007

Dermeche S, Nadour M, Larroche C, Moulti-Mati F, Michaud P. 2013. Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. Process Biochemistry, 48(10): 1532-1552. doi: https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.010

Di Nunzio M, Picone G, Pasini F, Chiarello E, Caboni MF, Capozzi F, Bordoni A. 2020. Olive oil by-product as functional ingredient in bakery products. Influence of processing and evaluation of biological effects. Food Research International, 131: 108940. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108940

Domitrović R, Jakovac H, Marchesi VV, Šain I, Romić Ž, Rahelić D. 2012. Preventive and therapeutic effects of oleuropein against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. Pharmacological Research, 65(4): 451-464. doi: https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.12.005

El-Abbassi A, Kiai H, Hafidi A. 2012. Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater, Food Chemistry, 132(1): 406-412 doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.013

Esposto S, Taticchi A, Di Maio I, Urbani S, Veneziani G, Selvaggini R, Servili M. 2015. Effect of an olive phenolic extract on the quality of vegetable oils during frying. Food Chemistry, 176: 184-192. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.036

Fasolato L, Cardazzo B, Balzan S, Carraro L, Taticchi A, Montemurro F, Novelli E. 2015. Minimum bactericidal concentration of phenols extracted from oil vegetation water on spoilers, starters and food-borne bacteria. Italian Journal of Food Safety, 4(2). doi: 10.4081/ijfs.2015.4519

Galanakis CM, Tornberg E, Gekas V. 2010. Dietary fiber suspensions from olive mill wastewater as potential fat replacements in meatballs. LWT-Food Science and Technology, 43(7): 1018-1025. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.09.011

Galanakis CM, Tsatalas P, Charalambous Z, Galanakis IM. 2018. Control of microbial growth in bakery products fortified with polyphenols recovered from olive mill wastewater. Environmental Technology and Innovation, 10: 1-15. doi: 10.1016/j.eti.2018.01.006

Giovannini C, Straface E, Modesti D, Coni E, Cantafora A, De Vincenzi M, Masella R. 1999. Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells. The Journal of Nutrition, 129(7): 1269-1277. doi: https://doi.org/10.1093/jn/129.7.1269

Gullón P, Gullón B, Astray G, Carpena M, Fraga-Corral M, Lage, MP, Simal-Gandara J. 2020. Valorization of by-products from olive oil industry and added-value applications for innovative functional foods. Food Research International, 109683. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109683

Hagiwara K, Goto T, Araki M, Miyazaki H, Hagiwara H. 2011. Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss. European Journal of Pharmacology, 662(1-3): 78-84. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.04.023

Hamden K, Allouche N, Damak M, Elfeki A. 2009. Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. Chemico-biological Interactions, 180(3): 421-432. doi: 10.1016/j.cbi.2009.04.002

Hamdi HK, Castellon R. 2005. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. Biochemical and Biophysical Research Communications, 334(3): 769-778. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.06.161

Han J, Talorete TP, Yamada P, Isoda H. 2009. Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology, 59(1): 45-53. doi: 10.1007/s10616-009-9191-2

Hassen I, Casabianca H, Hosni K. 2015. Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: Exceeding the expectation–A mini-review. Journal of Functional Foods, 18: 926-940.

Jemai H, El Feki A, Sayadi S. 2009. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(19): 8798-8804. doi: 10.1021/jf901280r

Karković Marković A, Torić J, Barbarić M, Jakobušić Brala, C. 2019. Hydroxytyrosol, tyrosol and derivatives and their potential effects on human health. Molecules, 24(10): 2001. doi: https://doi.org/10.3390/molecules24102001

Lee-Huang S, Huang PL, Zhang D, Lee JW, Bao J, Sun Y, Huang, PL. 2007. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol: Part I. Integrase inhibition. Biochemical and Biophysical Research Communications, 354(4): 872-878. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.01.071

Lee H, Im SW, Jung CH, Jang YJ, Ha TY, Ahn J. 2016. Tyrosol, an olive oil polyphenol, inhibits ER stress-induced apoptosis in pancreatic beta-cell through JNK signaling. Biochem. Biophys. Res. Commun., 469: 748–752. doi: https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.036Leonardis D.A., Macciola V., Iorizzo M., Lombardi J.S., Lopez F., Marconi E., 2018, Effective assay for olive vinegar production from olive oil mill wastewaters, Italy, Food Chemistry, 240(2018) 437–440 doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.159

Mancebo-Campos V, Salvador MD, Fregapane G. 2014. Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and 40 C) as compared to accelerated and antiradical assays. Food Chemistry, 150: 374-381. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.162

Martínez N, Herrera M, Frías L, Provencio M, Pérez-Carrión R, Díaz V, Crespo MC. 2019. A combination of hydroxytyrosol, omega-3 fatty acids and curcumin improves pain and inflammation among early-stage breast cancer patients receiving adjuvant hormonal therapy: Results of a pilot study. Clinical and Translational Oncology, 21(4): 489-498. doi: 10.1007/s12094-018-1950-0

Medina E, De Castro A, Romero C, Brenes M. 2006. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(14): 4954-4961. doi: 10.1021/jf0602267

Miles EA, Zoubouli P, Calder PC. 2005. Differential anti-inflammatory effects of phenolic compounds from extra virgin olive oil identified in human whole blood cultures. Nutrition, 21(3): 389-394. doi: 10.1016/j.nut.2004.06.031

Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasoulian B, Hashemi P, Pour MR. 2011. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood–brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. Phytomedicine, 18(2-3): 170-175. doi: 10.1016/j.phymed.2010.06.007

Napolitano A, De Lucia M, Panzella L, d'Ischia M. 2010. The chemistry of tyrosol and hydroxytyrosol: implications for oxidative stress. In Olives and olive oil in health and disease prevention (pp. 1225-1232). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-374420-3.00134-0

Nunes MA, Pimentel FB, Costa AS, Alves RC, Oliveira MBP. 2016. Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 35: 139-148. doi: https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.04.016

Oktav E, Çatalkaya EÇ, Şengül F. 2003. Zeytinyağı Endüstrisi Atıksularının Kimyasal Yöntemlerle Arıtımı. Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 5(3): 11-21.

Pipko G. 2009. U.S. Patent Application No. 12/282,370.

Ribeiro TB, Bonifácio-Lopes T, Morais P, Miranda A, Nunes J, Vicente AA, Pintado M. 2020. Incorporation of olive pomace ingredients into yoghurts as a source of fibre and hydroxytyrosol: Antioxidant activity and stability throughout gastrointestinal digestion. Journal of Food Engineering, 110476. doi: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110476

Ribeiro TB, Oliveira A, Coelho M, Veiga M, Costa EM, Silva S, Pintado M. 2021. Are olive pomace powders a safe source of bioactives and nutrients? Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(5): 1963-1978. doi: https://doi.org/10.1002/jsfa.10812

Rietjens SJ, Bast A, De Vente J, Haenen GRMM. 2007. The olive oil antioxidant hydroxytyrosol efficiently protects against the oxidative stress-induced impairment of the NO• response of isolated rat aorta. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 292(4): H1931-H1936. doi: https://doi.org/10.1152/ajpheart.00755.2006

Robles-Almazan M, Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Rodriguez-Garcia C, Quiles JL, Ramirez-Tortosa M. 2018. Hydroxytyrosol: Bioavailability, toxicity, and clinical applications. Food Research International, 105: 654-667. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.053

Rubio-Senent F, Rodríguez-Gutiérrez G, Lama-Muñoz A, Fernández-Bolaños J. 2015. Pectin extracted from thermally treated olive oil by-products: Characterization, physico-chemical properties, in vitro bile acid and glucose binding. Food Hydrocolloids, 43: 311-321. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.001

Ruiz-Moreno MJ, Raposo R, Moreno-Rojas JM, Zafrilla P, Cayuela JM, Mulero J, Cantos-Villar E. 2015. Efficacy of olive oil mill extract in replacing sulfur dioxide in wine model. LWT-Food Science and Technology, 61(1): 117-123. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.024

Samuel SM, Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Paul D, Maulik N. 2008. Akt/FOXO3a/SIRT1-mediated cardioprotection by n-tyrosol against ischemic stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(20): 9692-9698. doi: https://doi.org/10.1021/jf802050h

Sassi AB, Boularbah A, Jaouad A, Walker G, Boussaid A. 2006. A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. Process Biochemistry, 41(1): 74-78. doi: https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.074

Seçmeler Ö, Üstündağ ÖG. 2015. Zeytinyağı sektörü atık ve yan ürünlerindeki biyoaktif maddelerin değerlendirilmesi. Dünya Gıda Dergisi, 90-98.

Serra AT, Matias AA, Nunes AV, Leitão MC, Brito D, Bronze R, Duarte CM. 2008. In vitro evaluation of olive-and grape-based natural extracts as potential preservatives for food. Innovative food science and emerging technologies, 9(3): 311-319.

Servili M, Baldioli M, Selvaggini R, Miniati E, Macchioni A, Montedoro GF. 1999. High-performance liquid chromatography evaluation of phenols in olive fruit, virgin olive oil, vegetation waters and pomace and 1D- and 2D-nuclear magnetic resonance characterization. J. Am. Oil Chem. Soc. 76: 873–882.

Servili M, Rizzello CG, Taticchi A, Esposto S, Urbani S, Mazzacane F, Di Cagno R. 2011. Functional milk beverage fortified with phenolic compounds extracted from olive vegetation water, and fermented with functional lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 147(1): 45-52. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.006

Simonato B, Trevisan S, Tolve R, Favati F, Pasini G. 2019. Pasta fortification with olive pomace: Effects on the technological characteristics and nutritional properties. LWT, 114: 108368. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108368

Soler A, Romero MP, Macià A, Saha S, Furniss CS, Kroon PA, Motilva MJ. 2010. Digestion stability and evaluation of the metabolism and transport of olive oil phenols in the human small-intestinal epithelial Caco-2/TC7 cell line. Food Chemistry, 119(2): 703-714. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.017

Spizzirri UG, Carullo G, Aiello F, Paolino D, Restuccia D. 2020. Valorisation of olive oil pomace extracts for a functional pear beverage formulation. International Journal of Food Science and Technology. doi: https://doi.org/10.1111/ijfs.14591

Tarimsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE), Tarım Ürünleri Piyasaları Zeytinyağı, Temmuz 2020. Available from: https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge [Accessed 17 January 2021]

Toledo E, Salas-Salvadó J, Donat-Vargas C, Buil-Cosiales P, Estruch R, Ros E, Martínez-González MA. 2015. Mediterranean diet and invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a randomized clinical trial. JAMA Internal Medicine, 175(11): 1752-1760. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.4838

Troise AD, Fiore A, Colantuono A, Kokkinidou S, Peterson DG, Fogliano V. 2014. Effect of olive mill wastewater phenol compounds on reactive carbonyl species and Maillard reaction end-products in ultrahigh-temperature-treated milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(41): 10092-10100. doi: https://doi.org/10.1021/jf503329d

Tsagaraki E, Lazarides HN, Petrotos KB. 2007. Olive mill wastewater treatment. In Utilization of By-products and Treatment of Waste in the Food Industry (pp. 133-157). Springer, Boston, MA. ISBN: 978-0387-33511-7 (Online)

Tunç M, Ünlü A, Zeytinyağı üretim atıksularının özellikleri, çevresel etkileri ve arıtım Teknolojileri. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2015, 4(2): 44-74. doi: 10.17100/nevbiltek.211031

Veneziani G, Novelli E, Esposto S, Taticchi A, Servili M. 2017. Applications of recovered bioactive compounds in food products. In Olive Mill Waste (pp. 231-253). Academic Press. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00011-X

Visioli F, Romani A, Mulinacci N, Zarini S, Conte D, Vincieri F. F, Galli C. 1999. Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(8): 3397-3401. doi: https://doi.org/10.1021/jf9900534

Visioli F. 2012. Olive oil phenolics: Where do we stand? Where should we go? Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(10): 2017-2019. doi: https://doi.org/10.1002/jsfa.5715

Visioli F, Franco M, Toledo E, Luchsinger J, Willett WC, Hu FB, Martinez-Gonzalez MA. 2018. Olive oil and prevention of chronic diseases: Summary of an International conference. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 28(7): 649-656. doi: https://doi.org/10.1016/j.numecd.2018.04.004

Zbakh H, El Abbassi A. 2012. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. Journal of Functional Foods, 4(1): 53-65. doi: https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.002

Zhang X, Cao J, Zhong L. 2009. Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 379(6): 581. doi: https://doi.org/10.1007/s00210-009-0399-7