



Antioxidant, Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract and Oleuropein, Their Possibilities Usage in Foods

Mustafa Bayram^{1,a}, Semra Topuz^{1,b,*}, Cemal Kaya^{1,c}

¹Food Engineering Department, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Tokat Gaziosmanpaşa University, 60250 Tokat, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 18/10/2019 Accepted : 02/01/2020</p> <p>Keywords: Olive leaf Extraction Phenolic compounds Oleuropein Antimicrobial activity</p>	<p>Olive leaves which is one of the by-products of olive tree cultivation and olive processing industry, have been used in traditional folk medicine for centuries. In recent studies, it has been determined that olive leaf has many bioactivities and these effects have been associated with high phenolic compound content. The most dominant phenolic compound of olive leaf is oleuropein, which is the heterosidic ester of elenolic acid and 3,4-dihydroxyphenylethanol. Therefore, some studies have been carried out for extracting high value added compounds from olive leaves in recent years. Antioxidant and antimicrobial activities of crude phenolic extract and oleuropein have been investigated. Moreover, some studies have been carried out to increase the possibility of using olive leaf extract and oleuropein in food industry due to increasing suspicion of side effects and toxicity of synthetic food preservatives. In this review, it was aimed to investigate phenolic compounds of olive leaf extract, phenolic compound extraction from olive leaf as well as antioxidant, antimicrobial activity of olive leaf extract and oleuropein and possibilities of use in foods.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(2): 337-347, 2020

Zeytin Yaprağı Ekstraktı ve Oleuropeinin Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitesi, Gıdalarda Kullanım Olanakları

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 18/10/2019 Kabul : 02/01/2020</p> <p>Anahtar Kelimeler: Zeytin yaprağı Ekstraksiyon Fenolik bileşikler Oleuropein Antimikrobiyal aktivite</p>	<p>Zeytin ağacı yetiştiriciliği ve zeytin işleme endüstrisinin yan ürünlerinden biri olan zeytin yaprağı yüzyıllar boyunca geleneksel halk hekimliğinde kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise zeytin yaprağının birçok biyoaktiviteye sahip olduğu belirlenmiş ve bu etkiler içeriğinde bulunan yüksek fenolik bileşik miktarı ile ilişkilendirilmiştir. Zeytin yaprağında bulunan en baskın fenolik bileşik elenolik asit ve 3,4-dihidroksifeniletanolün heterozidik esteri olan oleuropeindir. Bundan dolayı, zeytin yaprağından katma değeri yüksek bileşiklerin ekstrakte edilmesine yönelik bazı çalışmalar gerçekleştirilmiş ve elde edilen ham fenolik ekstrakt ve oleuropeinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca sentetik gıda koruyucularının yan etkisi ve toksisitesine karşı şüphelerin artmasından dolayı zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropeinin gıda sanayiinde kullanım olanaklarının artırılmasına yönelik bazı çalışmalarda gerçekleştirilmiştir. Bu derlemede, zeytin yaprağı fenolik bileşikleri ve zeytin yaprağından fenolik bileşik ekstraksiyonu, zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropeinin antioksidan kapasitesi, antimikrobiyal aktivitesi ile gıdalarda kullanım olanaklarının incelenmesi amaçlanmıştır.</p>

^a mustafa.mbayram@gop.edu.tr
^c cemal.kaya@gop.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-8232-226X>
<https://orcid.org/0000-0001-8354-9565>

^b semra.topuz@gop.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0002-9122-0839>



Giriş

Tarımsal ürünlerin hasat edilmesi ve endüstriyel olarak işlenmesi sonucunda birçok yan ürün ortaya çıkmakta ve bu yan ürünlerin bazıları önemli düzeyde çeşitli fenolik bileşikler ihtiva edebilmektedir (Souilem ve ark., 2017). Bitkilerin sekonder metabolitleri olan ve bitkinin bazı zararlılara karşı kendini savunmasında rol oynayan fenolik bileşikler (Oskay ve Oskay, 2009) antioksidan, antimikrobiyal aktivite göstermeleri bakımından da büyük önem arz etmektedir (Xu ve ark., 2016). Bu doğal kaynaklara araştırmacıların ilgisi sentetik antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin yan etkisi ve toksisitesine karşı şüphelerin giderek artmasından (Aytul, 2010) ve klinik olarak geniş bir kullanım alanına sahip sentetik antimikrobiyal maddelere zamanla mikroorganizmalar tarafından direnç oluşturulabilmesinden dolayı artmaktadır (Bisignano ve ark., 1999). Zeytin ağacı yetiştiriciliğinde ve zeytin işleme endüstrisinde de fenolik bileşikler açısından zengin yan ürünler ortaya çıkmaktadır (Talhaoui ve ark., 2015).

Zeytin ağacı, botanik orijin sınıflandırma sistemine göre 29 cins ve yaklaşık 600 türe sahip Oleaceae familyasının (Bıçakçı ve ark., 2009; Elgin-Cebe ve ark., 2012), *Olea* cinsinin *Olea europaea* türünün *Olea europaea sativa* alt türüne dahildir (Boskou, 1996). Dünyanın tropik ve ılıman bölgelerine özgü olan zeytin ağacı, tarımı yapılan en eski bitkilerden biridir (Özcan ve Matthäus, 2017). Dünyanın pek çok yerinde yetiştirilen zeytin ağacının temel alanı %98 üretim payı ile Akdeniz Bölgesi'dir (Vogel ve ark., 2014). 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 (Başoğlu, 2010).

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2017 verilerine göre dünyada 10.804.517 hektar alan (hA) üzerinde 20.872.788 ton zeytin meyvesi üretiminin 2.100.000 tonu (dünya üretiminin yaklaşık %10,1'i) 846.062 hA üzerinde Türkiye'de gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2017a).

Dünya üzerinde zeytin meyvesi genel olarak sofralık zeytine ve yağa işlenerek değerlendirilmektedir. Zeytin ağacının kalan kısımları ve zeytinin endüstriyel olarak işlenmesi sonucunda açığa çıkan kalıntılar ise zeytin yan ürünleri olarak nitelendirilmektedir (Souilem ve ark., 2017). Zeytin yaprağı da bu yan ürünlerden birisidir (Talhaoui ve ark., 2015). Son zamanlarda yapılan araştırmalar neticesinde, zeytin yaprağının sağlık üzerine olumlu etkilere sahip olduğu belirtilmiş ve bu durum yaprakta bulunan fenolik bileşikler ile ilişkilendirilmiştir. Sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan fenolik bileşikler, gıda sanayinde fonksiyonel gıda bileşeni, gıda katkı maddesi ve doğal renklendirici olarak da kullanılabilmektedir (Altok ve ark., 2008). Bundan dolayı literatürde zeytin, zeytin yaprağı ekstraktı ve ekstraktın ana sekoiridoit bileşiğinin (oleuropein) gıdalarda kullanım olanağının araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır (Erbay ve İçer, 2010).

Zeytin Yaprığı

Tarımsal ve endüstriyel yan ürünlerin birçoğu teknolojik uygulamalarla değerlendirilmemekte, ayrıca bunların depolanması ve yok edilmesi üreticiler için

maliyeti arttırmaktadır. Söz konusu yan ürünlerden biri olan zeytin yaprağı; zeytin ağaçlarının budanması, zeytin meyvelerinin toplanması ve zeytinyağının üretim basamaklarından biri olan temizleme-harmanlama işlemleri sırasında açığa çıkmaktadır. Budama ile açığa çıkan zeytin yaprağı miktarı budama şekli ve ağacın yaşına bağlı olarak 12 ile 30 kg/ağaç aralığında değişkenlik göstermektedir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011). Zeytin yaprağı, yağ ekstraksiyonu için toplanan zeytin ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Talhaoui ve ark., 2015).

Zeytin ağacı yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bazı bölgelerde, zeytin yaprakları çiftlik hayvanlarının beslenmesinde veya zeytin dalları ile birlikte yakacak olarak kullanılabilir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011). Ayrıca zeytin yaprağı yüzyıllar boyunca geleneksel olarak, ağız temizliğinde, mide ve bağırsak hastalıklarının, idrar yolu enfeksiyonlarının ve bronşiyal astımın tedavisinde kullanılmıştır (Sabry, 2014). Günümüzde ise insan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda zeytin yaprağının hipoglisemik (Wainstein ve ark., 2012), antihipertansif (Romero ve ark., 2016), antikarsinojenik (Boss ve ark., 2016), antioksidan (Difonzo ve ark., 2017), antimikrobiyal (Liu ve ark., 2017), antiinflamatuvar (Qabaha ve ark., 2018) etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yaprağının gösterdiği bu etkiler içeriğinde bulunan yüksek fenolik bileşik miktarı ile ilişkilendirilmiştir (Vogel ve ark., 2014).

Zeytin Yaprığında Bulunan Fenolik Bileşikler

Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşikler: sekoiridoitler (oleuropein, dimetiloleuropein, verbaskozit, ligitrosid, oleurosid), fenolik asit ve türevleri (vanilik asit, kafeik asit, vanilin), fenolik alkoller (tirozol, hidroksitirozol) ve flavonlar (luteolin-7-glikozit, apijenin-7-glikozit, diosmetin-7-glikozit, luteolin ve diosmetin), flavonoller (kuersetin, izoramnetin, rutin), flavanolları (kateşin, gallokateşin) içeren flavonoidler şeklinde sınıflandırılabilir (Şahin, 2011; Talhaoui ve ark., 2015). Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Şekil 1'de verilmiştir.

Zeytin yapraklarının en baskın fenolik bileşiği oleuropeindir. Bunu hidroksitirozol, luteolin ve apijenin flavon-7-glikozitleri ve verbaskozit takip etmektedir. Hidroksitirozol, oleuropeinin temel parçalanma ürünüdür. Meyvenin olgunlaşması sırasında ve zeytinin işlenmesi sonucunda oleuropein miktarında azalma ve hidroksitirozol miktarında artma meydana gelmektedir (Özcan ve Matthäus, 2017).

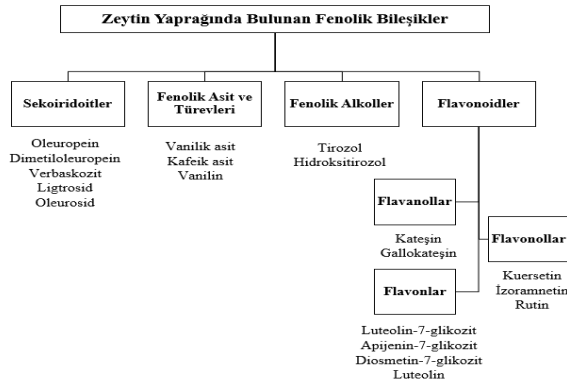
Oleuropein

Oleuropein bileşiği Oleaceae familyasına ait pek çok bitkide bol miktarda bulunan sekoiridoit adı verilen kumarin benzeri bileşiklerin çok spesifik bir grubuna ait fenolik bileşiktir (Bouaziz ve Sayadi, 2005).

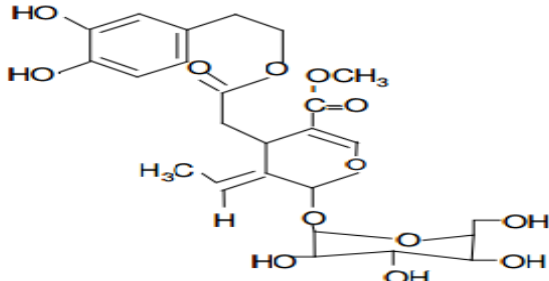
Elenolik asit ve 3,4-dihidroksifeniletanolün heterozidik esteri olan oleuropein, zeytin meyvesi ve yaprağında doğal olarak bulunmaktadır (İraqi ve ark., 2005). Yani oleuropein molekülü hidroksitirozol olarak bilinen 4-(2-

hidroksietil)benzen-1,2-diol, elonolik asit olarak adlandırılan sekoiridoit ve glikoz molekülü olmak üzere üç yapısal birimden oluşmaktadır (Omar, 2010a). Oleuropeinin molekül formülü $C_{25}H_{32}O_{13}$ ve molekül ağırlığı 540.518 g/mol olup (Anonim, 2017b) organik yapısı Şekil 2'de verilmiştir.

Oleuropeini önemli kılan sahip olduğu antimikrobiyal (Sanchez ve ark., 2007) antioksidan (Dua ve ark., 2015), antidiyabetik (Qadir ve ark., 2016), antikanser (Goulas ve ark., 2009), antiinflamatuvar, hipokolesterolemik (Hadrich ve ark., 2016), kardiyovasküler sistemi koruyucu (Bulotta ve ark., 2014), obeziteyi önleyici (Vogel ve ark., 2014) etkileridir.



Şekil 1. Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşikler
Figure 1. Phenolic compounds found in olive leaves



Şekil 2. Oleuropeinin yapısal formülü (Winkelhausen ve ark., 2015)

Figure 2. Structural formula of oleuropein

Oleuropeinin Biyosentezi

Oleuropein bileşiği esas olarak Oleaceae familyasında baskın olarak bulunmakta ve bu familyada alt cins sınıflandırılmasında kemotaksonomik bir belirteç sayılmaktadır (Hassen ve ark., 2015).

Oleuropein, geranil pirofosfattan (GPP) türetilen ligstrositten türetilmektedir. Metabolik yolun ilk adımı geraniol sentaz (GES) tarafından katalize edilmekte ve ürün olarak geraniol oluşmaktadır. Geraniol ise 10-hidroksilaz (GE10H) aracılığıyla 10-hidroksigeraniol'a dönüştürülmektedir (GE10H=CYP76B alt familyasına ait bir sitokrom P450 monoooksijenaz). NADH dehidrojenaz (NDHI)'in biyokimyasal aktivitesiyle 10-hidroksigeraniol, deoksiloganik asit aglikona çevrilmektedir. Deoksiloganik asitin (çeşitli monotermen indol alkaloidleri ve oleuropein'in bir öncüsü) oluşumu için deoksiloganik asit aglikona ait glikozilik grupların transferi glikoziltransferaz

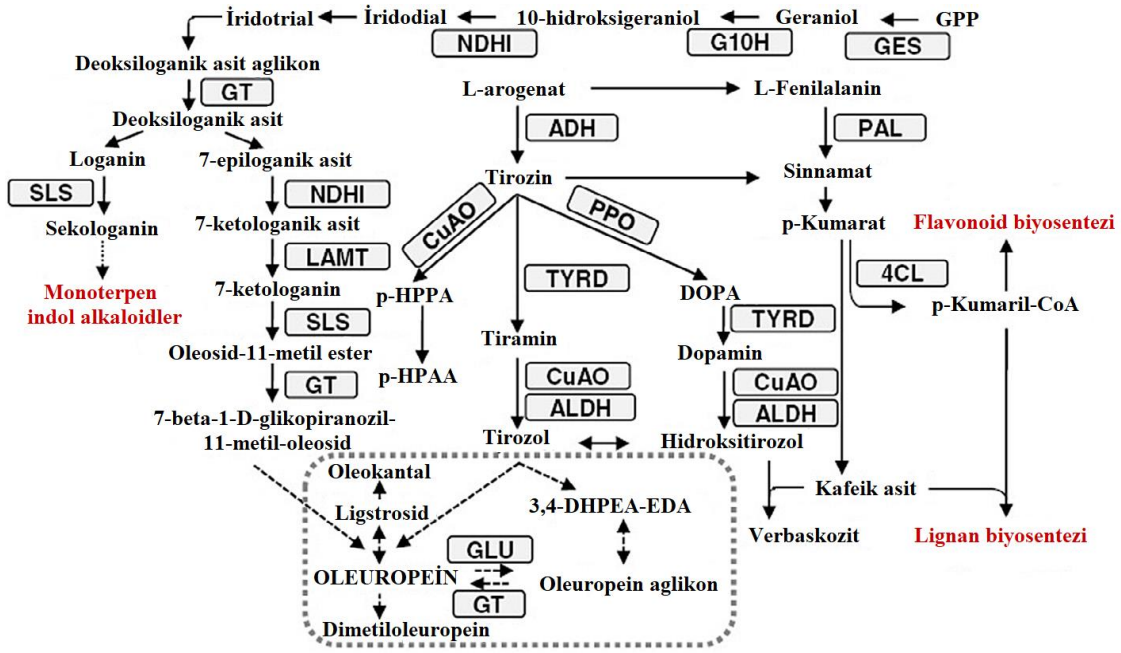
(GT) aracılığıyla yapılmaktadır. Deoksiloganik asit 7-epiloganik asit oluşturmak üzere siklopentan halkasının 7- α -hidroksilasyonuna uğramakta, ayrıca NDHI aracılığıyla hidroksil grubunun oksidasyonu ile 7-ketologanik aside dönüştürülmektedir. Sonrasında, 7-ketologaninin oluşumunu sağlayan 7-ketologanik asitin metilasyonu ise loganik asit metiltransferaz (LAMT) ile katalize edilmektedir. Bu noktada, sekologanin sentaz (SLS) oleosid-11-metil ester oluşumunu sağlar ve daha sonra oleosid-11-metil ester GT tarafından 7- β -1-D-glikopiranosil-11-metil oleoside glikolize edilir. Bu sonuncu bileşen, ligstrosid oluşturmak üzere tirozol ile bir esterifikasyon reaksiyonuna girer ve son aşamada hidroksilasyon reaksiyonuyla oleuropein oluşur (Hassen ve ark., 2015). Oleuropein bileşiğinin biyosentez yolu Şekil 3'te verilmiştir.

Zeytin Yaprağından Oleuropeinin Ekstraksiyonu

Zeytin yapraklarından fenolik bileşik ekstraksiyonunda genellikle klasik çözücü ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Klasik çözücü ekstraksiyon yönteminin etkinliğini; çözücü tipi, pH, sıcaklık, ekstraksiyon sayısı, katı:sıvı oranı ve katı maddenin parçacık büyüklüğü gibi birçok faktör etkileyebilmektedir. Zeytin yaprağı ekstraksiyonunda çözücü olarak genellikle etanol, metanol, etil asetat, su, hekzan veya dietil eter kullanılmaktadır. Klasik çözücü ekstraksiyonunda, kullanılan çözücü çeşidine bağlı olarak son üründe kabul edilemez toksik kalıntılar bulunabilmektedir. Ayrıca, pH ve yüksek sıcaklık gibi parametrelerde fenolik bileşik kaybına neden olabilmektedir (Souilem ve ark., 2017). Son yıllarda, sentetik ve organik kimyasalların kullanımını azaltan, işlem süresini kısaltan, daha iyi verim ve kalitede ekstrakt elde edilmesine yardımcı olan çevre dostu yöntemler üzerine çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Azmir ve ark., 2013). Mikroalgda destekli ekstraksiyon (Japón-Luján ve ark., 2006a), ultrason destekli ekstraksiyon (Ahmad-Qasem ve ark., 2013), süper kritik akışkan ekstraksiyon (Şahin ve ark., 2011), basınçlı sıvı ekstraksiyon (Xynos ve ark., 2012) zeytin yaprağından fenolik bileşik ekstraksiyonunda kullanılan güncel tekniklerden bazılarıdır. Taamalli ve ark. (2012) zeytin yaprağından ekstrakt eldesinde mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyon ve klasik çözücü ekstraksiyonun etkinliğini karşılaştırmışlardır. Mikroalgda kullanılarak elde edilen ekstraktlarda çoğunlukla polar karaktere sahip daha fazla sayıda fenolik bileşik tespit edilmiştir. Ayrıca, basınçlı sıvı ekstraksiyon tekniğinde, klasik çözücü ekstraksiyonuna (% 80'lik metanol) kıyasla daha yüksek (iki kat) ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Benzer şekilde birçok araştırma yapılmıştır. Zeytin yaprağından fenolik ekstrakt eldesinde kullanılan yöntemlerden bazıları Çizelge 1'de verilmiştir.

Zeytin yaprağından elde edilen fenolik ekstraktın miktarı ve bileşimini kullanılan ekstraksiyon yöntemleri dışında zeytin ağacının cinsi, hasat dönemi, çevresel ve iklimsel şartlar, bitki hastalıkları, toprak çeşidi, coğrafi bölge, olgunluk, nem içeriği gibi birçok faktör etkileyebilmektedir (Romani ve ark., 1999).

Fenolik madde açısından zengin zeytin yaprağının oleuropein miktarının %1-14 arasında değişiklik gösterebildiği belirtilmiştir (Yıldız ve Uylaşer, 2011).



Şekil 3. Oleuropein bileşiminin biyosentez yolu (Alagna ve ark., 2012; Hassen ve ark., 2015)
Figure 3. Biosynthesis pathway of oleuropein compound

Çizelge 1 Zeytin yaprağı ekstraksiyonunda kullanılan ekstraksiyon teknikleri
Table 1 Extraction techniques used in olive leaf extraction

Ekstraksiyon Tekniği	Ekstraksiyon Parametreleri	Zeytin Yaprakları Çeşidi	Toplam fenolik madde	R
Klasik çözücü ekstraksiyonu	Deiyonize su %80'lik metanol %70'lik etanol %80'lik aseton	<i>Chétoui</i>	Deiyonize su: 16,52 mg GAE/g kuru yaprak %80 metanol: 24,09 mg GAE/g kuru yaprak %70 etanol: 24,36 mg GAE/g kuru yaprak %80 aseton: 24,93 mg GAE/g kuru yaprak	1
Ultrason destekli ekstraksiyon	%70'lik etanol	<i>Istrska belica</i>	138,4 mg GAE/g kuru yaprak	2
Klasik çözücü ekstraksiyonu	%70'lik etanol	<i>Istrska belica</i>	32,7 mg GAE/g kuru yaprak	2
Basınçlı sıvı ekstraksiyon	Çevrim sayısı (1; 2), sıcaklık (60; 80; 100°C) ve zaman (5; 10; 15 dak.)	<i>Croatian</i>	Optimum parametreler (2 çevrim, 80 °C, 5 dak.) 53,15 mg GAE/g kuru yaprak	3
Basınçlı sıvı ekstraksiyon	Su	<i>Hojiblanca</i>	58,7 mg GAE/g kuru yaprak	4
Mikrodalda destekli ekstraksiyon	%80'lik metanol, 80°C, 6 dak.	<i>Oueslati</i> <i>Chetoui</i> <i>Chemlali</i> <i>El Hor</i> <i>Jarboui</i> <i>Chemchali</i>	<i>Oueslati</i> :%16,7 <i>Chetoui</i> : %10,6 <i>Chemlali</i> : %11,2 <i>El Hor</i> : %11,6 <i>Jarboui</i> : %5,2 <i>Chemchali</i> : %12,1	5
Klasik çözücü ekstraksiyonu	%80'lik metanol, oda sıcaklığı, 24 saat	<i>Oueslati</i> <i>Chetoui</i> <i>Chemlali</i> <i>El Hor</i> <i>Jarboui</i> <i>Chemchali</i>	<i>Oueslati</i> :%9,4 <i>Chetoui</i> : %8,1 <i>Chemlali</i> : %8,2 <i>El Hor</i> : %8,2 <i>Jarboui</i> : %9,1 <i>Chemchali</i> : %16,8	5
Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon	CO ₂ +etanol, 40°C, 1 saat, 150 bar	<i>Oueslati</i> <i>Chetoui</i> <i>Chemlali</i> <i>El Hor</i> <i>Jarboui</i> <i>Chemchali</i>	<i>Oueslati</i> :%9,5 <i>Chetoui</i> : %8,9 <i>Chemlali</i> : %5,8 <i>El Hor</i> : %8,2 <i>Jarboui</i> : %9,7 <i>Chemchali</i> : %5,8	5

R: Referans; 1: Abaza ve ark. (2011); 2: Cifa ve ark. (2018); 3: Putnik ve ark. (2017); 4: Herrero ve ark. (2011); 5: Taamalli ve ark. (2012)

Zeytin yaprağının oleuropein miktarı üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde; Savournin ve ark. (2001) 14 çeşit zeytin ağacına ait kuru yapraklardaki oleuropein miktarının %9,0-14,3 aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Bouaziz ve Sayadi (2005) hasat zamanına bağlı olarak kuru zeytin yaprağındaki oleuropein miktarının %12,4-14,2 aralığında değiştiğini belirlemişlerdir. Jemai ve ark. (2008) Chemlali çeşidine ait kuru yapraklardaki oleuropein miktarını %4,32 olarak saptamışlardır. Ayrıca Japón-Luján ve ark. (2006b) dinamik ultrason enerji desteğiyle yaptığı ekstraksiyonda kuru zeytin yaprağındaki oleuropein miktarını 22,61 mg/g (%2,3) olarak belirlemişlerdir. Mohamed ve ark. (2018) Güney Tunus'ta 21 çeşit zeytin ağacından toplanan yaprakların oleuropein miktarlarının 0,11-4,74 mg/g kuru yaprak aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Şahin (2011) sokshlet yöntemi ile zeytin yapraklarından fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirdiği bir çalışmada, çözücü olarak etanol, metanol ve su kullanmıştır. Ekstraksiyon işlemleri sonrasında etanol, metanol, su için oleuropein miktarları sırasıyla; 2,90 mg/g kuru yaprak, 37,55 mg/g kuru yaprak, 3,83 mg/g kuru yaprak olarak tespit edilmiştir.

Japón-Luján ve ark. (2006a) kuru zeytin yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik ekstrakte ettikleri bir çalışmada, %80 etanol konsantrasyonu, 8 dak. süre, 200 W gücü optimum ekstraksiyon koşulu olarak belirlemişlerdir. Bu parametreler kullanılarak yapılan ekstraksiyonda oleuropein miktarı 1,01 mg/g kuru yaprak olarak tespit edilmiştir.

Şahin (2011) yaptığı çalışmada, süperkritik CO₂ yardımıyla zeytin yapraklarından fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Çalışmada çözücü olarak etanol, metanol ve su kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda oleuropein miktarları etanol, metanol, su ekstraktları için sırasıyla 2,90 mg/g kuru yaprak, 14,24 mg/g kuru yaprak, 10,91 mg/g kuru yaprak olarak tespit edilmiştir.

Zeytin Yapağı ve Oleuropeinin Antioksidan Aktivitesi

Zeytin yapağı ekstraktında bulunan oleuropein ve diğer fenolik bileşikler sahip olduğu yüksek antioksidan aktiviteden dolayı gıdalarda doğal antioksidan olarak kullanılabilir. Antioksidanlar gıdaların işlenmesi ve depolanması sürecinde meydana gelen lipid peroksidasyon sürecini geciktirmek, raf ömrünü arttırmak için kullanılabilir (Bouaziz ve Sayadi, 2005).

Oleuropein serbest radikalleri temizlediğinden dolayı güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Cicerale ve ark., 2012). Sahip olduğu bu özellik *in vitro* ve *in vivo* testlerle kanıtlanmıştır. Oleuropeinin sahip olduğu potansiyel antioksidan aktivite esas olarak hidroksil gruplarının varlığından (özellikle 1,2-dihidroksibenzen kısmı) kaynaklanmaktadır. Hidroksil grupları oksidasyonu engellemek için kendi hidrojenlerini vererek serbest radikalleri nötralize etmektedir. Oleuropein, hem serbest radikalleri süpürebilme hem de metal şelatlama aktivitesine sahip olduğundan metallerin başlattığı lipid oksidasyonlarından membranları koruyabilmektedir (Hassen ve ark., 2015). Bu varsayımı destekler nitelikte, Czerwińska ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, oleuropein ve dialdehidik türevi olan oleasinin

in vitro hücresiz sistemlerde reaktif oksijen (superoksit anyon, O₂⁻; hidrojen peroksit, H₂O₂; hipokloröz asit, HOCl) ve nitrojen türleri (nitrik oksit, NO; peroksinitrit, ONOO⁻) üretimini baskıladığı tespit edilmiştir. Ayrıca, oleuropeinin HOCl oluşumunu katalize eden miyeloperoksidaz enziminin salınımını azalttığı da belirlenmiştir. Yine hücresiz sistemlerde, oleuropeinin meme kanseri MCF-7 ve T-47D hücre hatlarından reaktif oksijen oluşumunu tetikleyen H₂O₂'yi belirgin bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir (Bulotta ve ark., 2011).

Bazı *in vivo* çalışmalarda ise oleuropeinin alloksana bağlı şeker hastalığına sahip tavşanlarda (Al-Azzawie ve Alhamdani, 2006), kolesterol açısından zengin diyetle beslenen sıçanlarda (Jemai ve ark., 2009) ve akut arseniğe maruz kalmış sıçanlarda (Kotyzová ve ark., 2011) süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz gibi enzimatik antioksidanların seviyesini ve aktivitesini ve glutatyon, α -tokoferol, β -karoten, askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanların seviyesini arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca oleuropeinin karbon tetraklorür (CCl₄) toksikasyonuna maruz kalmış farelerin stoplazma ve çekirdeklerinde Cu/Zn süperoksit dismutaz aktivitesini ve glutatyon seviyesini artırıp, HO-1 ve Nrf2'nin ekspresyonunu başlattığı, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve 3-nitrotirozin seviyelerinde önemli azalmalara neden olduğu belirtilmiştir (Domitrović ve ark., 2012). Bu etkilerin yanı sıra, oleuropeinin kreatin fosfokinaz, kreatin fosfokinaz-MB, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz aktivitelerini arttırdığı, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunu inhibe ettiği, tiyobarbitirik asit (TBA) reaktif maddelerini ve protein karbonillerin oluşumunu engellediği belirlenmiştir (Andreadou ve ark., 2007).

Oleuropein bileşiğinin serbest radikal oluşumunu önlemesi, serbest radikal oluşum reaksiyonlarını katalize eden Cu ve Fe gibi metal iyonlarını şelatlama ve siklooksijenaz yolunu etkilemeden, lipoksijenaz gibi bazı antiinflamatuvar enzimleri inhibe edebilme yeteneği ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Hem oleuropein hemde hidroksitirozolun, hipoklorik asit türevi radikaller ve nötrofillerin solunum patlamasını engelleyebildiği ve süperoksit anyonları temizleyebildiği bildirilmiştir (Özcan ve Matthäus, 2017).

Literatürde oleuropein bileşiğinin gıda teknolojisi alanında antioksidan ajan olarak kullanımına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır (Dua ve ark., 2015).

Benavente-Garcia ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, zeytin yaprağında bulunan bazı bireysel fenolik bileşikler tespit etmiş ve bileşiklerin 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazol-6-sülfonik asit kation radikalini (ABTS⁺) giderme aktivitelerini sırasıyla rutin > kateşin \approx luteolin > zeytin yapağı ekstraktı \approx hidroksitirozol > diosmetin > kafeik asit > verbaskozit > oleuropein > luteolin-7-glikozit \approx vanilik asit \approx diosmetin-7-glikozit > apijenin-7-glikozit > tirozol > vanilin olarak belirlemişlerdir.

Bir başka çalışmada zeytin yapağı ekstraktının *in vitro* antioksidan aktivitelerini değerlendirmek için, zeytin yapağı ekstraktının 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini giderme aktivitesi ölçülmüş ve bütillendirilmiş hidroksianisol (BHT) (IC₅₀:17,02 μ g/ml) ile karşılaştırılmıştır. Zeytin yapağı ekstraktları serbest

radikalleri süpürmeyi başarmış ve BHT'ye kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir. Nitekim, birçok çeşidin yaprak ekstaktı [Chemlali (IC50: 7,90 µg/mL), Rosicola (IC50: 10,88 µg/mL), Limouni (IC50: 12,25 µg/mL), Chetoui (IC50: 15,09 µg/mL), Meskid (IC50: 15,24 µg/mL) ve Lucques (IC50: 16,10 µg/mL)] BHT'den daha yüksek aktivite göstermiştir (Salah ve ark., 2012).

Zeytin Yaprığı ve Oleuropeinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Gıda kaynaklı patojenler insan sağlığına önemli derecede olumsuz etkide bulunan salgınlara neden olabilmektedir. Bu nedenle, gıda kaynaklı patojenlerin kontrolü gıda endüstrisi için büyük önem arz etmektedir. Gıda kaynaklı patojenler, sentetik ve doğal antimikrobiyal bileşikler olarak sınıflandırılabilen gıda koruyucularının kullanılması ile kontrol altına alınabilmektedir. Bitkisel antimikrobiyal maddeler, sentetik gıda koruyucularına kıyasla, genellikle daha güvenli olarak kabul edilmekte ve insan sağlığına yararlı etkileri olabileceğinden daha fazla dikkat çekmektedir. Ayrıca, bitkisel antimikrobiyallerin gıdaların muhafaza süresini uzatmasının yanı sıra lezzet verici özelliğinden de yararlanılabilmektedir (Liu ve ark., 2017). Klinik olarak geniş bir kullanım alanına sahip antimikrobiyal ilaçlar ciddi yan etkilere sebep olmalarının yanı sıra sahip oldukları dar antimikrobiyal spektrumdan ve zamanla mikroorganizmalar tarafından kendilerine oluşturulan dirençten dolayı yerini oleuropein gibi bitkisel kaynaklı antimikrobiyal maddelere bırakmaktadır (Bisignano ve ark., 1999).

Oleuropein ve hidroksitirozolun 5 ATCC bakteri suşuna (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006, *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176, *Salmonella* Typhi ATCC 6539, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ve 44 klinik izolata (*H. influenzae*, 8 suş; *M. catarrhalis*, 6 suş; *Salmonella* spp., 15 suş; *V. cholerae*, 1 suş; *V. alginolyticus*, 2 suş; *V. parahaemolyticus*, 1 suş; *S. aureus*, 5 penisiline duyarlı suş ve 6 penisiline dirençli suş) karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Oleuropeinin ATCC suşları için minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin 62,5-500 µg/mL, klinik izolatlar için 31,25-250 µg/mL aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Hidroksitirozolun ATCC suşları için MİK değerlerinin 0,24-7,85 µg/mL, klinik izolatlar için 0,97-31,25 µg/mL aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda hidroksitirozolun oleuropeinden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Bisignano ve ark., 1999).

Furneri ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, oleuropeinin *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma pirum*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış ve oleuropeinin 20-320 mg/L (µg/mL) aralığındaki konsantrasyonlarının yukarıda belirtilen *Mycoplasma* türlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. *M. hominis*, *M. fermentans*, *M. pneumoniae* ve *M. pirum* için MİK değerleri sırasıyla 20; 20; 160 ve 320 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Markin ve ark. (2003) su kullanarak zeytin yapraklarından elde edilen fenolik ekstaktının bazı bakteri [*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (10⁶ kob/mL)] dermatofitlere (*Trichophyton mentagrophytes*,

Microsporum canis, *Trichhophyton robrum* (10⁵ kob/mL)] ve mayaya [*Candida albicans* (10⁵ kob/mL)] karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. *B. subtilis* hariç diğer bakterilerin tamamı %0,6 konsantrasyonunda zeytin yaprağı ekstaktı tarafından 3 saat içinde inhibe edilmiştir. *B. subtilis*'in inhibisyonu için bu oran %20 olarak tespit edilmiştir. *C. albicans*'ın inhibisyonu %15 konsantrasyonunda zeytin yaprağı ekstaktı ile 24 saatte gerçekleşirken, dermatofitlerin tamamının inhibisyonu %1,25 konsantrasyonunda zeytin yaprağı ekstaktı ile 3 gün olarak tespit edilmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) ise *P. aeruginosa* için %0,13, *K. pneumoniae* ve *E. coli* için %0,3, *S. aureus* için %0,6 olarak tespit edilmiştir.

Sudjana ve ark. (2009) ticari zeytin yaprağı ekstaktının 122 çeşit mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırdıkları çalışmada, ekstaktın en yüksek aktiviteyi *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* ve *S. aureus*'a karşı gösterdiğini tespit etmişlerdir. *S. aureus* için MİK değeri %0,78 olarak tespit edilmiştir.

Oleuropeinin *S. aureus* (Gram-pozitif bakteri) üzerine antimikrobiyal etkisinin, *E. coli* (Gram-negatif bakteri) üzerine olan etkisinden daha fazla olduğu tespit edilmiş ve bu durum hücre yapılarındaki farklılıklarla ilişkilendirilmiştir (Sanchez ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada zeytin yapraklarının sulu ekstaktlarının antimikrobiyal aktivitesi Gram-pozitif (*Bacillus cereus*, *B.subtilis*, *S. aureus*), Gram-negatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) bakteriler ve mayalara (*C. albicans*, *C. neoformans*) karşı araştırılmıştır. Ekstakt, test edilen tüm bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Zeytin yaprağı ekstaktının konsantrasyona bağlı olarak geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Pereira ve ark., 2007).

Korukluoğlu ve ark. (2010) zeytin yaprağından farklı çözücüler (aseton, dietileter, etil alkol, su) kullanarak elde ettikleri ekstaktların 11 Gram-pozitif bakteri (*B. cereus*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus cerevisiae*, *Leuconostoc mesenteroides*) ve 6 Gram-negatif bakteri (*Salmonella* Typhimurium, *S. Enteritidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acetobacter* spp.) üzerine antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Aseton, dietil eter, etil alkol kullanılarak elde edilen ekstaktların test edilen mikroorganizmaların tamamına karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenirken, su kullanılarak elde edilen ekstaktın hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Çalışmada aseton, dietil eter ve etil alkol kullanılarak elde edilen ekstaktların test mikroorganizmaları için MİK değerlerinin sırasıyla 26-170 µg/mL, 25-178 µg/mL, 26-185 µg/mL aralığında değiştiği tespit edilmiştir.

Zehra ve ark. (2016) 4 farklı tıbbi bitki (*Ocimum basilicum*, *Cymbopogon citratus*, *O. europaea*, *Eucalyptus camaldulens*) yapraklarına ait ekstaktların, 4 Gram-pozitif bakteriye (*E. faecalis*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*), 4 Gram-negatif bakteriye (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. Typhi*) ve 1 mayaya (*C. albicans*) karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. *S. epidermidis* hariç diğer tüm mikroorganizmalar üzerine en yüksek antimikrobiyal etkinliği *O. europaea*'dan elde edilen ekstaktın gösterdiği belirlenmiştir.

Dominciano ve ark. (2016) ticari dezenfektan, oleuropein ve bu ikisinin kombinasyonunun *E. coli* için MİK değerlerini araştırmışlardır. Bakteri süspansiyonu (10^8 kob/mL), oleuropein (0,4 mg/mL), paraasetik asit (%2,0), benzalkonium klorit (%1,0), klorheksidin diglukonat (%2,0), sodyum hipoklorit (%2,0) ve hidrojen peroksit (%3,0) solüsyonları kullanılmıştır. Oleuropein, paraasetik asit, benzalkonium klorit, klorheksidin diglukonat, sodyum hipoklorit ve hidrojen peroksit için MİK değerleri sırasıyla 0,2; 0,312; 0,156; 0,312; 2,5; 0,234 mg/L olarak tespit edilmiştir. Ayrıca oleuropein ve ticari dezenfektanların kombinasyonunda, bakterisidal etkinin arttığı belirlenmiştir.

Liu ve ark. (2017) zeytin yaprağı ekstraktının gıda kaynaklı *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Enteritidis* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 62,5 mg/mL'lik konsantrasyonda zeytin yaprağı ekstraktının bu üç patojenin gelişmesini neredeyse tamamen engellediği belirlenmiştir. Ayrıca, taramalı elektron mikroskobu ile *L. monocytogenes*'in kamçıların işlevini yitirmesinden dolayı hücre hareketliliğinde azalma tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra zeytin yaprağı ekstraktının *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis*'in biyofilm oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Ruiz-Barba ve ark. (1991) alkali uygulanmış, sıcaklık uygulanmış ve herhangi bir işlem uygulanmamış yeşil zeytin salamuralarından ekstrakt elde etmişlerdir. Ekstraktların su ile hazırlanmış çözeltilerinin (4 mg/mL) *Lb. plantarum*'a (10^6 kob/mL) karşı antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. 121°C'de 15 dak. sıcaklık uygulaması bakterilerin inhibisyonuna neden olurken, alkali uygulanmış oleuropein *Lb. plantarum*'ün gelişimini teşvik etmiştir.

Winkelhausen ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, zeytinyağı üretimi sırasında meydana gelen yan ürünlerden biri olan zeytin posasının sahip olduğu fenolik bileşikler ekstrakte edilmiş ve oleuropein içeren bu ekstraktların *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* ve *Fusarium culmorum* küflerinin gelişimini engellediği tespit edilmiştir.

Korukluoğlu ve ark. (2006) taze zeytin yapraklarından farklı çözücüler (su, etanol, aseton, etil asetat) kullanarak elde ettikleri ekstraktların *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Saccharomyces uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida oleophila*, *Metschnikowia fructicola* ve *Kloeckera apiculata*'ya karşı antimikrobiyal etkinliklerini belirlemişlerdir. Bu ekstraktların antifungal aktiviteleri disk difüzyon testi, MİK testi, ve minimum mantar öldürücü konsantrasyon (MFK) ile belirlenmiştir. Çözücü olarak su kullanılarak elde edilen ekstraktın test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkinliği belirlenmemiştir. Diğer ekstraktların MİK değerleri 10-28 µg/mL, MFK değerleri 20-48 µg/mL ve inhibisyon zon çapları 1,5-9,3 mm aralığında belirlenmiştir. Test edilen mayaların aseton ve etil asetat ekstraktlarına karşı daha duyarlı olduğu ve mayalar arasında en dirençli olanın *S. cerevisiae* ATCC 9763'ün olduğu tespit edilmiştir.

Zorić ve ark. (2016) zeytin yaprağı ekstraktının *C. albicans* ATCC 10231 ve *Candida dubliniensis* CBS 7987 suşlarına karşı antimikrobiyal etkinliğini incelemişler ve *C. albicans* için MİK değerini 46,875 mg/mL ve *C.*

dubliniensis için MİK değerini 62,5 mg/mL olarak tespit etmişlerdir.

Oleuropein antimikrobiyal etkisini, diğer fenolik bileşiklerde olduğu gibi bakteriyel membranlara zarar vererek veya hücrenin peptidoglukan tabakasını bozarak gösterdiği düşünülmektedir. Oleuropein ve membran lipidleri arasındaki etkileşimi tam anlamıyla açıklayabilmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bazı araştırmacılara göre bu etkinin nedeni oleuropeinin sahip olduğu orto-difenol yapısıdır. Ancak oleuropeinin antimikrobiyal mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır (Omar, 2010b). Oleuropeinin antimikrobiyal etkisini kesin olarak aydınlatmak amacıyla yapılan bir çalışmada antimikrobiyal etkinin ekzosiklik 8,9-olefinik işlevselliği ile karakterize edilen (Ryan ve ark., 2002), yüzey aktif özelliği sayesinde hücre membranlarını parçalayabilen oleosidlerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Soler-Rivas ve ark., 2000). Bakteriyel membran fonksiyonlarını bozması, fenolik bileşiklerin bilinen ortak bir özelliğidir. Membran bozulması; membran geçirgenliğinde değişikliklere ve membranla ilişkili enzim fonksiyonlarında kayba neden olabilmektedir. Hücreden düşük molekül ağırlıklı metabolitlerin kaybına otolitik enzimlerin parçaladığı protein ve nükleik asitlerin de eşlik ettiği bildirilmiştir (Hugo ve Bloomfield, 1971).

Zeytin Yaprığı Ham Ekstraktının ve Oleuropeinin Gıdalarda Kullanım Olanakları

Zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropein sahip olduğu biyolojik aktivitelerden dolayı gıda sanayinde potansiyel kullanım olanağına sahiptir (Souilem ve ark., 2017). Bitkisel yağlara katılan yüksek stabiliteye sahip bazı sentetik antioksidanlar kanser gelişimini teşvik ettiğinden bu antioksidan ajanların kullanımı giderek azalmaktadır (Frag ve ark., 2007). Rafine yemeklik yağlara (mısır, soya fasulyesi, yüksek oleik içerikli ayçiçek, ayçiçek, zeytin, kanola ve kolza tohumundan elde edilen yağlar vb.) zeytin yaprağı ekstraktı ve hidrolizatları eklenerek, yağların oksidatif stabilitesi ve antioksidan kapasitesi artırılabilir. Böylece sentetik antioksidanlara doğal kaynaklı alternatifler oluşturulabilir (Bouaziz ve ark., 2010). Rafine zeytinyağlarının oksidatif stabilizasyonu zeytin yaprakları kullanılarak sağlanabilmektedir (Jaber ve ark., 2012). Ayrıca zeytin yaprağı ekstraktı, çoklu doymamış yağ asitlerine karşı daha yüksek koruma sağlayarak soya ve kızartma yağlarının da raf ömrünü arttırabilir (Malheiro ve ark., 2013; Zribi ve ark., 2013). Zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropein sahip olduğu antioksidan ve antimikrobiyal etkilerden dolayı et ürünlerinde doğal bir koruyucu olarak kullanılabilir (Dua ve ark., 2015). Belirli dozlarda zeytin yaprağı, çiğ sütte doğal olarak bulunan *S. thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* gibi bakterilerin canlılığını etkilemeden fermente süt ürünlerinin fonksiyonelleğini arttırdığından zeytin yaprağı ve bundan elde edilecek ekstraktların süt ürünlerinde kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır (De Leonardis ve ark., 2008). Zeytin yaprağı ve oleuropeinin gıdalarda kullanımı üzerine yapılan çalışmalar Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2 Zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropeinin gıdalarda kullanım olanakları

Table 2 Possibilities usage of olive leaf extract and oleuropein in foods

Uygulama Alanı	Uygulama ve Konsantrasyon	Özellik	R
Ayçiçek yağı	<i>Kronakii</i> çeşidi zeytin yaprağı ekstraktı (Polifenol içeriği: 600; 1.200; 2.400 ppm) ve 200 ppm BHT eklenmesi 5 gün, 180±5°C'de 5 saat boyunca ısıtma işlemi	Antioksidan aktivitede artış, BHT içeren örnekler nazaran yağların stabilitesinde artış	1
Rafine zeytinyağı ve rafine soya yağı	Hidroksitirozol miktarı yüksek zeytin yaprağı hidrolizati (500 ppm) ilavesi	Oksidatif bozulmaya karşı direnç Trans-yağ asidi oluşumunda düşüş	2
Mısır yağı	Zeytin yaprağı ekstraktı ilavesi	Toplam fenolik maddede 9,5 kat antioksidan aktivitede 14 kat artış	3
Yüksek oleik asitli ayçiçek yağı ve kanola yağı	Zeytin yaprağı ekstraktı ilavesi 180°C ısıtma işlemi	Polar bileşiklerin oluşumunda azalma (Antipolimerik etki), Antioksidan aktivitede artış	4
Paketli pişmemiş dana kıymadan yapılmış köfte	Zeytin yaprağı ekstraktı ilavesi (100-200 µg/gram et) Aerobik veya modifiye atmosfer (%80 O ₂ : %20 CO ₂) ile paketlenme 4 °C'de 12 gün depolama	TBA değerinde %41-80 aralığında azalma, a* değerinde (aerobik paketlenmiş) %22, a* değerinde (MAP) %56 artış, Toplam canlı sayısı üzerine herhangi bir etki tespit edilmemiş	5
Kızarmış koyun kaburgalarından yapılan Tabaq-Maz	≈%18 oranında oleuropein içeren zeytin yaprağı ekstraktı ilavesi	TBA, serbest yağ asitliği değerinde azalma, Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında azalma, Toplam aerobik psikrofilik bakteri sayısında azalma, Toplam maya ve küf sayılarında azalma Duyusal parametrelerde gelişme	6
Dana kıyması	Zeytin yaprağı ekstraktı ve zeytin yaprağı tozu ilavesi (100-150 µg fenolik bileşik/gram et)	TBA değerinde %25-65 aralığında azalma, Metmyoglobin oluşumunda azalma, Depolama ve çözünme kayıplarında azalma	7
Fermente sucuk	Zeytin yaprağı ekstraktı (0; 125; 250 ve 500 ppm) ilavesi	Serbest yağ asidi ve TBA değerinde azalma, Laktik asit bakteri ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında azalma	8
Domuz kıyması	Zeytin yaprağı ekstraktı (%2; %5; %10 ve %15) içeren aktif plastik film ile kaplama 16 gün boyunca 4°C'de depolama	Oksidasyon stabilitesinde artış	9
Rekonstitüe yağsız süt	<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lb. acidophilus</i> mikroorganizmaları ve zeytin yaprağı ekstraktı (etanol, metanol, su) ilavesi	Mikroorganizma sayısı ve kısa zincirli yağ asidi üretiminde artış	10
Süt ve yoğurt	Zeytin yaprağı ekstraktı ilavesi 21 gün soğukta depolama	<i>Lb. acidophilus</i> ve <i>B. bifidum</i> sayısında artış, Ürün tadında gelişme	11
Kayıslı az yağlı yoğurt	Farklı konsantrasyonlarda zeytin yaprağı ekstraktı (%0; 0,1; 0,2 ve 0,4) ilavesi	Kuru madde, kül, protein miktarı, pH değeri ve <i>S. thermophilus</i> sayısında önemli ölçüde değişme, Su tutma kapasitesinde azalma, Antioksidan aktivitede artış	12

R: Referans; 1: Farag ve ark. (2007); 2: Zribi ve ark. (2013); 3: Şahin ve ark. (2017); 4: Jiménez ve ark. (2017); 5: Hayes ve ark. (2010); 6: Dua ve ark. (2015); 7: Aouidi ve ark. (2017); 8: Kurt ve Ceylan (2017); 9: Moudache ve ark. (2017); 10: Haddadin (2010); 11: Marhamatizadeh ve ark. (2013); 12: Peker ve Aslan (2017)

Sonuç

Yapılan çalışmalar incelendiğinde zeytin yaprağının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu belirtilmiş ve bu durum yaprakta bulunan fenolik bileşiklerle (özellikle oleuropein) ilişkilendirilmiştir. Zeytin yapraklarına farklı ekstraksiyon teknikleri uygulanarak oleuropein bakımından zengin zeytin yaprağı

ekstraktı elde edilebilmektedir. Zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropeinin sahip olduğu biyoaktivite sayesinde gıdalara fonksiyonel özellikler kazandırabileceği ve gıdaların raf ömrünü uzatabileceği belirlenmiştir. Ancak çalışmalarda zeytin yaprağı ekstraktı ve oleuropeinin antimikrobiyal etki mekanizması yeterince açıklanamamakta bundan

dolayı antimikrobiyal etki mekanizmasını aydınlatacak araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, oleuropeinin gıdalarda kullanım olanakları kapsamında yapılan çalışma sayısı ise sınırlıdır. Bundan dolayı, oleuropein açısından zenginleştirilmiş ürün elde edilirken kullanılan yöntemleri optimize etmek için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

- Abaza L, Youssef NB, Manai H, Haddada FM, Methenni K, Zarrouk M. 2011. Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*, 62(1): 96-104.
- Ahmad-Qasem MH, Cánovas J, Barrajón-Catalán E, Micol V, Andrés J, García-Pérez JV. 2013. Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17: 120-129.
- Alagna F, Mariotti R, Panara F, Caporali S, Urbani S, Veneziani G, Esposto S, Taticchi A, Rosati A, Rao R, Perrotta G, Servili M, Baldoni L. 2012. Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. *BMC Plant Biology*, 12(1): 162.
- Al-Azzawie HF, Alhamdani MSS. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life sciences*, 78(12): 1371-1377.
- Altıok E, Bayçın D, Bayraktar O, Ülkü S. 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62(2): 342-348.
- Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aliogiannis N, Savvari P, Gorgoulis V, Papalabros E, 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.
- Anonim 2017a. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. [Erişim Tarihi: 10/07/2019].
- Anonim, 2017b. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleuropein>. [Erişim Tarihi: 5/07/2019].
- Aouidi F, Okba A, Hamdi M. 2017. Valorization of functional properties of extract and powder of olive leaves in raw and cooked minced beef meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(10): 3195-3203.
- Aytul KK. 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications (Doktora Tezi), İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir-Türkiye.
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, Jahurul MHA, Ghafoor K, Norulaini NAN, Omar AKM. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 117(4): 426-436.
- Basmacıoğlu-Malayoğlu HB, Aktaş B. 2011. Zeytinyağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ile zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, 52(1): 49-58.
- Başoğlu F. 2010. Yemeklik Yağ Teknolojileri. Dora Yayın Dağıtım, Bursa.
- Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Rio JA. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. Leaves. *Food Chemistry*, 68(4): 457-462.
- Bıçakçı A, Altunoğlu MK, Tosunoğlu A, Çelenk S, Canitez Y, Malyer H, Sapan N. 2009. Türkiye’de Oleaceae familyasına ait allerjenik Olea (zeytin ağacı) ve Fraxinus (dişbudak ağacı) polenlerinin havadaki dağılımları. *Asthma Allergy Immunol*, 7: 133-146.
- Bisignano G, Tomaino A, Cascio RL, 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.
- Boskou D. 1996. Olive oil chemistry and technology. History and characteristics of the olive tree. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1-6.
- Boss A, Bishop K, Marlow G, Barnett M, Ferguson L. 2016. Evidence to support the anti-cancer effect of olive leaf extract and future directions. *Nutrients*, 8(8): 513.
- Bouaziz M, Sayadi S. 2005. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(7-8): 497-504.
- Bouaziz M, Feki I, Ayadi M, Jemai H, Sayadi S. 2010. Stability of refined olive oil and olive-pomace oil added by phenolic compounds from olive leaves. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(8): 894-905.
- Bulotta S, Corradino R, Celano M, D’Agostino M, Maiuolo J, Oliverio M, Procopio A, Iannone M, Rotiroli D, Russo D. 2011. Antiproliferative and antioxidant effects on breast cancer cells of oleuropein and its semisynthetic peracetylated derivatives. *Food Chemistry*, 127(4): 1609-1614.
- Bulotta S, Celano M, Lepore SM, Montalcini T, Pujia A, Russo D. 2014. Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Translational Medicine*, 12(1): 219.
- Cicerale S, Lucas LJ, Keast RSJ. 2012. Antimicrobial, antioxidant and antiinflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 129-135.
- Cifa D, Skrt M, Pittia P, Di Mattia C, Poklar Ulrih N. 2018. Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction. *Food Science & Nutrition*, 6: 1128-1137.
- 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.
- De Leonardis A, Aretini A, Alfano G, Macciola V, Ranalli G. 2008. Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, 226(4): 653-659.
- Difonzo G, Russo A, Trani A, Paradiso VM, Ranieri M, Pasqualone A, Summo C, Tamma G, Silletti R, Caponio F. 2017. Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. *Journal of Functional Foods*, 31: 63-70.
- Dominciano LCC, Oliveira CAF, Lee SH, Corassin CH. 2016. Individual and combined antimicrobial activity of oleuropein and chemical sanitizers. *Journal of Food Chemistry Nanotechnology*, 2(3): 124-127.
- 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.
- Dua S, Bhat ZF, Kumar S. 2015. Effect of oleuropein on the oxidative stability and storage quality of Tabaq-Maz, fried mutton ribs. *Food Bioscience*, (12): 84-92.
- Elgin-Cebe G, Konyalıoğlu S, Zeybek U. 2012. *Olea europaea* var. *Europaea* (Zeytin) Yaprak İnfüzyonunun Antioksidan Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(3): 209-212.
- Erbay Z, Icier F. 2010. The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*, 26(4): 319-334.
- Farag RS, Mahmoud EA, Basuny AM. 2007. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(1): 107-115.

- Furneri PM, Marino A, Saija A, Uccella N, Bisignano G. 2002. In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (20): 293-296.
- Goulas V, Exarchou V, Troganis AN, Psomiadou E, Fotsis T, Briasoulis E, Gerothanassis IP. 2009. Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, (53): 600-608.
- Haddadin MSY. 2010. Effect of olive leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(8): 787-793.
- Hadrich F, Mahmoudi A, Bouallagui Z, Feki I, Isoda H, Fève B, Sayadi S. 2016. Evaluation of hypocholesterolemic effect of oleuropein in cholesterol-fed rats. *Chemico-Biological Interactions*, (252): 54-60.
- 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.
- Hayes JE, Stepanyan V, Allen P, O'grady MN, Kerry JP. 2010. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84(4): 613-620.
- Herrero M, Temirzoda TN, Segura-Carretero A, Quirantes R, Plaza M, Ibañez E. 2011. New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *Journal of Chromatography A*, 1218(42): 7511-7520.
- Hugo WB, Bloomfield SF. 1971. Studies on the mode of action of the phenolic antibacterial agent fenchlor against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* II. The effects of fenchlor on the bacterial membrane and the cytoplasmic constituents of the cell. *Journal of Applied Bacteriology*, 34(3): 579-591.
- Iraqi R, Vermeulen C, Benzekri A, Bouseta A, Collin S. 2005. Screening for Key Odorants in Moroccan Green Olives by Gas Chromatography-Olfactometry/Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, (53): 1179-1184.
- Jaber H, Ayadi M, Makni J, Rigane G, Sayadi S, Bouaziz M. 2012. Stabilization of refined olive oil by enrichment with chlorophyll pigments extracted from Chemlali olive leaves. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(11): 1274-1283.
- Japón-Luján R, Luque-Rodríguez JM, De Castro ML. 2006a. Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(4): 753-759.
- Japón-Luján R, Luque-Rodríguez JM, De Castro ML. 2006b. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1108(1): 76-82.
- Jemai H, Bouaziz M, Feki I, El Feki A, Sayadi S. 2008. Hypolipidemic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-Biological Interactions*, 176(2-3): 88-98.
- 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.
- Jiménez P, García P, Bustamante A, Barriga A, Robert P. 2017. Thermal stability of oils added with avocado (*Persea americana* cv. Hass) or olive (*Olea europaea* cv. Arbequina) leaf extracts during the French potatoes frying. *Food Chemistry*, 221: 123-129.
- Korukluoglu M, Sahan Y, Yigit A, Karakas R. 2006. Antifungal activity of olive leaf (*Olea Europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey. *Annals of Microbiology*, 56(4): 359.
- Korukluoglu M, Şahan Y, Yiğit A, Tümay-Özer E, Gücer Ş. 2010. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* L. leaf extracts. *Journal of Food Processing and Preservation*, (34): 383-396.
- Kotyzová D, Hodková A, Eybl V. 2011. The effect of olive oil phenolics-Hydroxytyrosol and oleuropein on antioxidant defence status in acute arsenic exposed rats. *Toxicology Letters*, (205): S222.
- Kurt Ş, Ceylan HG. 2017. Effects of olive leaf extract on the oxidation stability and microbiological quality of dry fermented sausage (sucuk). *Carpathian Journal of Food Science & Technology*: 9(4): 178-188.
- Liu Y, McKeever LC, Malik NS. 2017. Assessment of the antimicrobial activity of olive leaf extract against foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8: 113.
- Malheiro R, Casal S, Teixeira H, Bento A, Pereira JA. 2013. Effect of olive leaves addition during the extraction process of overmature fruits on olive oil quality. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2): 509-521.
- Marhamatizadeh MH, Ehsandoost E, Gholami P, Mohaghegh MD. 2013. Effect of olive leaf extract on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* for production of probiotic milk and yoghurt. *International Journal of Farming Allied Sciences*, 2: 572-578.
- Markin D, Duek L, Berdicevsky I. 2003. In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro*. *Mycoses*, 46(3-4): 132-136.
- Mohamed MB, Guasmi F, Ali SB, Radhouani F, Faghim J, Triki T, Kammoun NG, Baffi C, Lucini L, Benincasa C. 2018. The LC-MS/MS characterization of phenolic compounds in leaves allows classifying olive cultivars grown in South Tunisia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 78: 84-90.
- Moudache M, Nerin C, Colón M, Zaidi F. 2017. Antioxidant effect of an innovative active plastic film containing olive leaves extract on fresh pork meat and its evaluation by Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 229: 98-103.
- Omar SH. 2010a. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal*, (18): 111-121.
- Omar SH. 2010b. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica*, (78): 133-154.
- Oskay D, Oskay M. 2009. Bitki sekonder metabolitlerin biyoteknolojik önemi. *Ecological Life Sciences*, 4(2): 31-41.
- Özcan MM, Matthäus B. 2017. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology*, 243(1): 89-99.
- Peker H, Arslan S. 2017. Effect of Olive Leaf Extract on the Quality of Low Fat Apricot Yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5): e13107.
- Pereira AP, Ferreira IC, Marcelino F, Valentão P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira JA. 2007. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12(5): 1153-1162.
- Putnik P, Barba FJ, Španić I, Zorić Z, Dragović-Uzelac V, Kovačević DB. 2017. Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europaea*). *Food and Bioprocess Technology*, 106: 19-28.
- Qabaha K, AL-Rimawi F, Qasem A, Naser SA. 2018. Oleuropein is responsible for the major anti-inflammatory effects of olive leaf extract. *Journal of Medicinal Food*, 21(3): 302-305.
- Qadir NM, Ali KA, Qader SW. 2016. Antidiabetic Effect of Oleuropein from *Olea europaea* Leaf against Alloxan Induced Type 1 Diabetic in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59.
- Romani A, Mulinacci N, Pinelli P, Vincieri FF, Cimato A. 1999. Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (3): 964-967.
- Romero M, Toral M, Gómez-Guzmán M, Jiménez R, Galindo P, Sánchez M, Olivares M, Galvez J, Duarte J. 2016. Antihypertensive effects of oleuropein-enriched olive leaf extract in spontaneously hypertensive rats. *Food & Function*, 7(1): 584-593.

- Ruiz-Barba JL, Garrido-Fernandez A, Jimenez-Diaz R. 1991. Bactericidal action of oleuropein extracted from green olives against *Lactobacillus plantarum*. Letters in Applied Microbiology, 12(2): 65-68.
- Ryan D, Antolovich M, Prenzler P, Robards K, Lavee S. 2002. Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. Scientia Horticulturae, 92(2): 147-176.
- Sabry OM. 2014. Beneficial health effects of olive leaves extracts. Journal of Natural Sciences Research, 4(19): 1-9.
- Salah MB, Abdelmelek H, Abderraba M. 2012. Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. Medicinal Chemistry, 2(5): 107-111.
- Sanchez JC, Alsina MA, Herrlein MK, Mestres C. 2007. Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. Colloid Polymer Science, (285): 1351-1360.
- Souilem S, Fki I, Kobayashi I, Khalid N, Neves MA, 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.
- Sudjana AN, D'Orazio C, Ryan V, Rasool N, Ng J, Islam N, Riley TV, Hammer KA. 2009. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. International Journal of Antimicrobial Agents, 33(5): 461-463.
- Şahin S. 2011. Zeytin Ağacı Yapraklarından Süperkritik-CO₂ ile Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropein Miktarının İncelenmesi. (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Şahin S, Bilgin M, Dramur MU. 2011. Investigation of oleuropein content in olive leaf extract obtained by supercritical fluid extraction and soxhlet methods. Separation Science and Technology, 46(11): 1829-1837.
- Şahin S, Bilgin M, Sayım E, Güvenilir B. 2017. Effects of natural antioxidants in the improvement of corn oil quality: olive leaf vs. lemon balm. International Journal of Food Science & Technology, 52(2): 374-380.
- Savournin C, Baghdikian B, Elias R, Dargouth-Kesraoui F, Boukef K, Balansard, G. 2001. Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Olea europaea* leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(2): 618-621.
- Soler-Rivas C, Espín JC, Wichers HJ. 2000. Oleuropein and related compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(7): 1013-1023.
- Taamalli A, Arráez-Roman D, Barrajón-Catalán E, Ruiz-Torres V, Pérez-Sánchez A, Herrero M, Ibanez E, Micol V, Zarrouk M, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. 2012. Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. Food and Chemical Toxicology, 50(6): 1817-1825.
- Talhaoui N, Taamalli A, Gómez-Caravaca AM, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A. 2015. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. Food Research International, 77: 92-108.
- Vogel P, Kasper Machado I, Garavaglia J, Zani VT, de Souza D, Morelo SDB. 2014. Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L) to human health. Nutricion Hospitalaria, 31(3): 1427-1433.
- Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z. 2012. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. Journal of Medicinal Food, 15(7): 605-610.
- Winkelhausen E, Pospiech R, Laufenberg G. 2005. Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia, 24(1): 41-46.
- 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.
- Xynos N, Papaefstathiou G, Psychis M, Argyropoulou A, Aligiannis N, Skaltsounis AL. 2012. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. The Journal of Supercritical Fluids, (67): 89-93.
- Yıldız G, Uylaşer V. 2011. Doğal bir antimikrobiyel: oleuropein. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(1): 131-142.
- Zehra A, Naqvi SBS, Ali SQ. 2016. In Vitro Evaluation of Antimicrobial Effect of Extracts of Medicinal Plant's Leaves. Journal of Medical Microbiology Diagnosis, 5: 236.
- Zorić N, Kopjar N, Kraljić K, Oršolić N, Tomić S, Kosalec I. 2016. Olive leaf extract activity against *Candida albicans* and *C. dubliniensis*—the in vitro viability study. Acta Pharmaceutica, 66(3): 411-421.
- Zribi A, Gargouri B, Jabeur H, Rebaï A, Abdelhedi R, Bouaziz M. 2013. Enrichment of pan-frying refined oils with olive leaf phenolic-rich extract to extend the usage life. European Journal of Lipid Science and Technology, 115(12): 1443-1453.