

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**



**FONKSİYONEL BEYAZ ÇİKOLATA ÜRETİMİNDE  
KAPSÜLLENMİŞ ZEYTİN YAPRAĞININ KULLANIMI**

Yüksek Lisans Tezi

**Begüm Ceren DUYAN**

Danışman

**Dr. Öğr. Üyesi Belkıs TEKGÜLER**

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.MUH.1904.21.015 proje numarası ile desteklenmiştir.

**SAMSUN  
2023**

## TEZ KABUL VE ONAYI

**Begüm Ceren DUYAN** tarafından, **Dr.Öğrt. Üyesi Belkıs TEKGÜLER** danışmanlığında hazırlanan **“FONKSİYONEL BEYAZ ÇİKOLATA ÜRETİMİNDE KAPSÜLLENMİŞ ZEYTİN YAPRAĞININ KULLANIMI ”** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 20.7.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

|        | Unvanı Adı Soyadı<br>Üniversitesi<br>Ana Bilim/Ana Sanat Dalı                                           | Sonuç                                                                     |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Başkan | Prof. Dr. İlkay KOCA<br>Ondokuz Mayıs Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Ana Bilim<br>Dalı               | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul<br><input type="checkbox"/> Ret |
| Üye    | Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Remzi<br>OTAG<br>Giresun Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Ana Bilim<br>Dalı     | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul<br><input type="checkbox"/> Ret |
| Üye    | Dr. Öğr. Üyesi. Belkıs<br>TEKGÜLER<br>Ondokuz Mayıs Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Ana Bilim<br>Dalı | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul<br><input type="checkbox"/> Ret |

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

17/ 07/ 2023

Begüm Ceren DUYAN

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı :** FONKSİYONEL BEYAZ ÇİKOLATA ÜRETİMİNDE KAPSÜLLENMİŞ ZEYTİN YAPRAĞININ KULLANIMI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 17.07.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 12

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

17/07/ 2023

Dr. Öğr. Üyesi Belkıs TEKGÜLER

## ÖZET

### FONKSİYONEL BEYAZ ÇİKOLATA ÜRETİMİNDE KAPSÜLENMİŞ ZEYTİN YAPRAĞININ KULLANIMI

Begüm Ceren DUYAN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı  
Yüksek Lisans, Temmuz/2023  
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Belkıs TEKGÜLER

Bu çalışmada, ülkemizin önemli tarım ürünlerinden olan zeytinin, yağa işlenmesi sırasında elde edilen üretim artıklarından olan zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktın enkapsüle edilip beyaz çikolataya katılarak fonksiyonel özellikte çikolata üretilme potansiyeli araştırılmıştır.

Bunun için kurutulmuş zeytin yaprakları ekstrakte edilmiş ve ardından sprey kurutma yöntemi ile süt tozu ile kapsüle edilmiştir. Yağsız süt tozu ile kapsüle edilen zeytin yaprağı ekstraktları yağsız süt tozu ikamesi olarak beyaz çikolata üretiminde kullanılmıştır. Beyaz çikolata örnekleri kontrol örneği de dahil olmak üzere toplam 4 formülasyona göre üretilmiştir. Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı tozunun %0, % 3, % 6 ve % 9 (m/m) düzeylerinde çikolataya eklenmiştir. Üretimi laboratuvar şartlarında gerçekleştirilen çikolata örneklerinin kuru madde, renk, su aktivitesi gibi fiziksel özellikleri ile toplam fenolik madde tayininve DPPH serbest radikalini giderme etkisi gibi antioksidan özellikleri belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada çikolata örneklerindeki kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı miktarı arttıkça fenolik madde miktarları yaklaşık 4,5 kat, DPPH radikali giderme etkisi değerleri ise yaklaşık 5,6 kat arttığı tespit edilmiştir. Yapılan duyusal analizler sonucunda çikolatadaki kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranı arttıkça duyusal beğeni azalsa da özellikle %3 ve %6 oranlarında kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı eklenen çikolatalar tüketiciler tarafından kabul görmüştür. Ayrıca %3 oranda kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı eklenen çikolataların kontrol örneği ile benzer duyusal özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Acı tadı sebebiyle günlük tüketimimizde yer almayan zeytin yaprağının, çikolata ürünlerine katılarak insanların günlük tüketimine sunulabilme imkanı doğmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Beyaz Çikolata, Zeytin Yaprağı, Fonksiyonel Çikolata

## ABSTRACT

### USE OF ENCAPSULATED OLIVE LEAF IN PRODUCTION OF FUNCTIONAL WHITE CHOCOLATE

Begüm Ceren DUYAN  
Ondokuz Mayıs University  
Institute of Graduate Studies  
Department of Food Engineering  
Master, 2023  
Supervisor: Assist. Prof. Dr. Belkıs TEKGÜLER

In this study, the potential of producing chocolate with functional properties was investigated by encapsulating the extract obtained from olive leaves, which is one of the production residues obtained during the processing of olive, one of the important agricultural products of our country, into oil and adding it to white chocolate.

For this, dried olive leaves were extracted and then encapsulated with milk powder by spray drying method. Olive leaf extracts encapsulated with skimmed milk powder have been used as a substitute for skim milk powder in the production of white chocolate. White chocolate samples were produced according to a total of 4 formulations, including the control sample. 0%, 3%, 6% and 9% (m/m) levels of encapsulated olive leaf extract powder were added to chocolate. The physical properties such as dry matter, color, water activity and antioxidant properties such as total phenolic substance determination and DPPH free radical removal effect were determined in the chocolate samples produced under laboratory conditions.

In the study, it was determined that as the amount of encapsulated olive leaf extract in the chocolate samples increased, the amount of phenolic substances increased approximately 4.5 times and the DPPH radical scavenging effect values increased approximately 5.6 times. As a result of the sensory analyzes, although the sensory taste decreases as the encapsulated olive leaf extract ratio in the chocolate increases, especially the chocolates with 3% and 6% encapsulated olive leaf extract were accepted by the consumers. In addition, it was stated that chocolates with 3% encapsulated olive leaf extract had similar sensory properties with the control sample. Olive leaf, which is not included in our daily consumption due to its bitter taste, has been added to chocolate products and offered to people's daily consumption.

**Keywords:** White Chocolate, Olive Leaf, Fuctional Chocolate

## ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi birikim ve desteklerini benimle paylaşan akademik hayatımda ilerlememe destek olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Belkıs TEKGÜLER'e ve tez sürecimde benden desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. İlkay KOCA'ya teşekkür ve şükranlarımı sunuyorum. Ayrıca tez sürecim boyunca imkan ve desteklerini benden esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na ve tüm öğretim elemanlarına teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benim için her türlü fedakârlığı gösteren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimle...

Begüm Ceren DUYAN

# İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                     |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEZ KABUL VE ONAYI .....                                                                                            | i    |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI .....                                                                                | ii   |
| TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI .....                                                                          | ii   |
| ÖZET .....                                                                                                          | iii  |
| ABSTRACT .....                                                                                                      | iv   |
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....                                                                                             | v    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                   | vi   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                                                       | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                               | viii |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                                               | ix   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                      | 1    |
| 2. KURAMSAL TEMELLER VE LİTERATÜR ÖZETİ .....                                                                       | 5    |
| 2.1. Zeytin Yaprağı .....                                                                                           | 5    |
| 2.1.1. Zeytin Yaprağı Antioksidan Aktivitesi .....                                                                  | 8    |
| 2.1.2. Zeytin Yaprağının Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivitesi .....                                              | 8    |
| 2.1.3. Zeytin Yaprağı ile Yapılan Zenginleştirme Çalışmaları .....                                                  | 10   |
| 2.2. Kapsülasyon Yöntemleri .....                                                                                   | 11   |
| 2.3. Çikolata .....                                                                                                 | 14   |
| 2.3.1. Beyaz Çikolata Üretiminde Kullanılan Hammaddeler ve Özellikleri .....                                        | 16   |
| 2.3.2. Çikolata Üretim Teknolojisi .....                                                                            | 19   |
| 2.4. Çikolata zenginleştirmeye ilgili çalışmalar .....                                                              | 21   |
| 3. MATERYAL YÖNTEM .....                                                                                            | 26   |
| 3.1. Materyal .....                                                                                                 | 26   |
| 3.2. Yöntem .....                                                                                                   | 26   |
| 3.2.1. Ekstrakt Eldesi ve Kapsüle Ekstrakt Tozu Eldesi .....                                                        | 26   |
| 3.2.2. Çikolata Üretimi .....                                                                                       | 27   |
| 3.2.3. Analizler .....                                                                                              | 30   |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....                                                                                       | 35   |
| 4.1. Zeytin Yaprağı Ekstraktı ve Kapsüle Edilmiş Zeytin Yaprağı Ekstraktının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ..... | 35   |
| 4.2. Zeytin yaprağının enkapsülasyonu ve enkapsüle tozların antioksidan özellikleri .....                           | 38   |
| 4.3. Çikolata Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....                                                   | 39   |
| 4.3.1. Renk Analizi .....                                                                                           | 39   |
| 4.3.2. Toplam Fenolik Madde Tayini, DPPH Serbest Radikalini Giderme Etkisi .....                                    | 42   |
| 4.3.3. Peroksit Sayısı ve Serbest Asitlik Sayısı Değerleri .....                                                    | 47   |
| 4.3.4. Sertlik Analiz Sonuçları .....                                                                               | 49   |
| 4.3.5. Duyusal Analiz Sonuçları .....                                                                               | 50   |
| 5. SONUÇ .....                                                                                                      | 56   |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                     | 58   |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                      | 68   |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                                               |                                                     |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| DPPH                                          | : 2,2-difenil-1-pikrihidrazil                       |
| FOSHU                                         | : Özel Sağlık Kullanımı İçin Gıda                   |
| HCL                                           | : Hidroklorik Asit                                  |
| HPLC-DAD                                      | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Dedektörü |
| IN                                            | : İnülin                                            |
| KOH                                           | : Potasyum Hidroksit                                |
| MD                                            | : Maltodekstrin                                     |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>               | : Sodyum karbonat                                   |
| Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | : Sodyum tiyosülfat                                 |
| OE                                            | : Oleuropein                                        |
| OLE                                           | : Zeytin Yaprağı Özütü                              |
| PUFA                                          | : Çoklu Doymuş Yağ Asitleri                         |
| TPC                                           | : Toplam Fenolik Madde                              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Zeytin yaprağının görünümü .....                                                         | 6  |
| Şekil 2.2.Kapsülasyon işlem şeması .....                                                            | 12 |
| Şekil 2.3. Kakao ağacı ve kako meyvesinin görünümü .....                                            | 14 |
| Şekil 2.4. Çikolata üretim şeması.....                                                              | 19 |
| Şekil 3.1. Kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı.....                                               | 26 |
| Şekil 3.2.Çikolata üretim akış şeması .....                                                         | 28 |
| Şekil 3.3.Çikolata üretimi .....                                                                    | 29 |
| Şekil 3.4. Farklı miktarlarda kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen çikolatalar.       | 30 |
| Şekil 3.5 Duyusal analiz panelist değerlendirmesi .....                                             | 33 |
| Şekil 4.1.Çikolata örneklerinin depolama süresince L değerindeki değişimleri.....                   | 40 |
| Şekil 4.2.Çikolata örneklerinin depolama süresince a değerindeki değişimleri .....                  | 40 |
| Şekil 4.3.Çikolata örneklerinin depolama süresince b değerindeki değişimleri .....                  | 41 |
| Şekil 4.4.0. Gün ile 60. Gün arasında hesaplanan $\Delta E$ değeri.....                             | 41 |
| Şekil 4.5. Çikolata örneklerine ait TPC değerlerinin depolama sürecindeki değişimleri .....         | 43 |
| Şekil 4.6.DPPH serbest radikalini giderme etkisi .....                                              | 45 |
| Şekil 4.7.60 gün depolamayla DPPH değerlerinde meydana gelen % değişim .....                        | 46 |
| Şekil 4.8.Çikolata örneklerinin depolama süresince peroksit sayısı değişimleri .....                | 48 |
| Şekil 4.9. Çikolata örneklerinin depolama süresince sertlik değeri değişimleri .....                | 50 |
| Şekil 4.10.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre renk değerlendirmesi.....                       | 51 |
| Şekil 4.11.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre görünüm değerlendirmesi .....                   | 51 |
| Şekil 4.12.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre tekstür değerlendirmesi.....                    | 52 |
| Şekil 4.13.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre tat değerlendirmesi.....                        | 52 |
| Şekil 4.14.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre acılık değerlendirmesi.....                     | 53 |
| Şekil 4.15.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre ağız hissi değerlendirmesi.....                 | 53 |
| Şekil 4.16.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre koku değerlendirmesi.....                       | 54 |
| Şekil 4.17.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre genel kabul edilebilirlik değerlendirmesi ..... | 54 |
| Şekil 4.18.0. Güne ait duyusal analiz radar grafiği .....                                           | 55 |
| Şekil 4.19.60. Güne ait duyusal analiz radar grafiği .....                                          | 55 |

## TABLÖLER DİZİNİ

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1. Zeytin yaprağının fenolik bileşik kompozisyonu .....                                 | 6  |
| Tablo 2.2.Zeytinin farklı kısımlarındaki oleuropein konsantrasyonları.....                      | 7  |
| Tablo 2.3.Kapsülleme teknikleri ve Kullanım alanları .....                                      | 14 |
| Tablo 2.4.Beyaz çikolata formülasyonu .....                                                     | 16 |
| Tablo 2.5.Kakao yağı bileşenleri .....                                                          | 17 |
| Tablo 3.1. Deneme Çikolata Formülasyonu .....                                                   | 28 |
| Tablo 3.2. Teksür analiz cihazı çalışma koşulları .....                                         | 33 |
| Tablo 3.3. Duyusal analiz formu.....                                                            | 34 |
| Tablo 4.1.Zeytin yaprağı ekstraktına ait kuru madde ve renk değerleri .....                     | 35 |
| Tablo 4.2. Farklı sıcaklıklarda zeytin yaprağına ait TPC ve DPPH sonuçları .....                | 36 |
| Tablo 4.3. 80 °C’de farklı sürelerle ait zeytin yaprağına ait TPC ve DPPH sonuçları.....        | 36 |
| Tablo 4.4. Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı tozunun bazı fiziksel özellikleri .....               | 38 |
| Tablo 4.5.Çikolata örneklerinin renk özellikleri .....                                          | 42 |
| Tablo 4.6.Zeytin Yaprığı Ekstraktlı Çikolata Örneğine Ait Fenolik Madde Miktarı Değerleri ..... | 43 |
| Tablo 4.7.Çikolataların DPPH serbest radikalini giderme etkisi .....                            | 44 |
| Tablo 4.8.Çikolata örneklerine ait peroksit sayısı değişimi .....                               | 47 |
| Tablo 4.9.Çikolata örneklerinin serbest yağ asitlerindeki değişim .....                         | 48 |
| Tablo 4.10. Çikolatalara ait sertlik değerleri.....                                             | 49 |

# 1. GİRİŞ

Günümüzde gıda teknolojisindeki en önemli trendlerden biri, tüketicilerin fonksiyonel veya sağlığı geliştiren gıda ürünlerini tercih etmesiyle belirlenmektedir. Gıda, sadece açlığı gidermek, beslenmenin temel yapı taşlarını (protein, karbonhidrat, yağ, vitaminler, mineraller gibi) sağlamak için bir vasıta değildir (Hasler, 2000; Bigliardi ve Galati, 2013). “Sağlıklı olma” kavramı, gıda seçimini belirleyen etmenlerden biridir (Saher vd., 2004). Pek çok tüketici, diyetlerini önerilen beslenme kurallarına uyarlayamadığından veya bu konuda isteksiz olduğundan, favori ürünlerinin daha sağlıklı versiyonlarını tercih etmektedir (Arvanitoyannis, 2005). Beslenmenin sağlık ve refah üzerindeki etkisine ilişkin bilgiler, son yıllarda birçok kronik hastalık riskini azaltan, yeni ve sağlıklı gıdaların tasarlanmasına yol açmıştır. Modifiye edilmemiş ürünlere kıyasla, sağlığa yararlı olacak şekilde fonksiyonel bileşenlerle modifiye edilmiş geleneksel gıdalar, *fonksiyonel gıdalar* olarak değerlendirilmektedir (Kaur ve Das, 2011).

İşlevsel gıdaları geliştirme ihtiyacı, 1980’lerden başlayarak artan sağlık hizmetleri ve yaşlanan nüfusun sağlığını iyileştirme amacıyla ortaya çıkmıştır. 1990’larda, fonksiyonel gıdalara olan ilgi büyük ölçüde artmıştır. Bu ürünler, sağlığı iyileştirebilir, hastalığın başlamasını geciktirebilir veya bir hastalığı tedavi edebilir şeklinde betimlenmiştir. Bu tür bir tanım içerisinde yer alan ürünlerin, gıdalar ve ilaçlar arasındaki ayrımı bulanıklaştırdığı kesindir (Mark-Herbert, 2004). “Fonksiyonel gıda” terimi ilk olarak 1993 yılında “Nature” haber dergisinde “Japonya, gıda ve ilaç arasındaki sınırı araştırıyor” başlığı altında ortaya çıkmıştır (Henry, 2010; Kaur ve Das, 2011). 1991’de Japonya’da Sağlık Bakanlığı, sağlığa etkisi belirlenmiş fonksiyonel bir bileşenin eklendiği veya “özel sağlık kullanımı için gıda (FOSHU)” adı verilen gıdalar için belirli sağlık beyanlarının oluşturulması ve sağlıkla ilgili belirli bir gıda kategorisinin onaylanması konusunda kurallar oluşturmuştur (Arai, 1996; Menrad, 2003; Henry, 2010). Fonksiyonel gıdalar genellikle “normal bir diyetin parçası olarak tüketilerek fizyolojik faydalar sağlayan ve/veya temel beslenme işlevlerinin yanı sıra kronik hastalık olasılığını azaltan, geleneksel gıdalara görünüş olarak benzer gıdalar” olarak da tanımlanmaktadır (Arvanitoyannis, 2005). Bu gıdalar, fizyolojik olarak aktif bileşiklere sahip bitkisel ürünleri, bakteriyel suşlar veya hayvansal kökenli ürünleri içerebilir, sağlığa yararlarıyla kronik hastalık riskini

azaltabilirler (Raghuveer ve RV, 2009). Fonksiyonel yiyecekler hap veya kapsül olmayıp günlük diyetin bir parçası olarak tüketilirler. Bir hastalığın yönetimi için tıp doktoru tarafından uygulanan tıbbi gıdalar ve diyeti tamamlama amaçlı gıda dışı bir ürün olan diyet takviyeleri fonksiyonel gıdalar olarak kabul edilmemektedir (König, 2016). Fonksiyonel gıdanın sınırlarını daha iyi tanımlamak için, beslenme eksikliği ile hastalık riskinin azaltılması gibi diğer fizyolojik etkiler arasında ayırım yapmak önemlidir. Ancak tüm gıdaların bazı besinsel işlevleri vardır (Bigliardi ve Galati, 2013). Fonksiyonel gıdaya tüketicilerin talebi giderek artmakta ve talep edilen ürün devamlı değişkenlik göstermektedir (Menrad, 2003). Çağımız tüketicileri, yedikleri yiyeceklerin sağlıklı olmasını veya hastalıkları önleyebilecekleri nitelikte olmasını beklemektedir (Granato vd., 2010). Bu sebeple gıdaların fonksiyonel hale getirilmesi daha da önem kazanmaktadır. Araştırmacılar, birçok farklı gıdanın fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için çalışmalar yapmışlardır. Bu doğrultuda, zenginleştirilmiş ve aynı zamanda tüketiciler için uygun fiyatta, yenilikçi çikolata formülünün tasarlanması ve geliştirilmesi önemli hale gelmiştir (Moigradean vd., 2022). Günümüze kadar antioksidanlar ve polifenoller içeren çikolatalar ve bağırsak sağlığı için probiyotik çikolatalar gibi çikolata pazarı için bir çok fonksiyonel ürün geliştirilmiştir (Belščak-Cvitanović vd., 2012).

Duyusal olarak çok sevildiği için tüketilen çikolatayla ilgili yapılan son yıllardaki çalışmalarda, yüksek polifenol içeriği sebebiyle bitter çikolata ve kakaonun insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olabileceği görülmüştür (Ackar, 2013). Bileşenleri gereği beyaz çikolatada kakao polifenolleri bulunmamaktadır. Bu yönüyle beyaz çikolata, zenginleştirilmek için iyi bir adaydır. Aynı zamanda diğer çikolata türleri de zenginleştirilebilir; çünkü bitter çikolata dışındaki çikolata çeşitleri, düşük kakao içeriği kullanılarak yapılıp ve fitokimyasallarla zengin bir kaynak olarak kabul edilmezler (Barisic vd., 2019). Tüketici talebiyle de birlikte üreticiler, sıradan çikolata yerine organik çikolata, yüksek kakaolu polifenol bakımından zengin çikolata, probiyotik çikolata ve prebiyotik çikolata gibi çikolata çeşitleriyle ürün yelpazelerini genişletmek istemektedir (Erdem vd., 2014).

Araştırmalar, bitter çikolatanın, sütlü çikolataya göre sağlık üzerine olumlu etkisinin yüksek polifenol içeriğiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, formülasyonunda yağsız kakao katı maddeleri bulunmayan beyaz çikolata diğer

çikolata türlerinden daha da az fonksiyonel bir ürün olarak kabul edilmektedir. Fındık, kurutulmuş meyveler veya fenolik bileşiklerce zengin diğer bitki kaynaklarını beyaz çikolataya ekleyerek fonksiyonel bileşenlerce zenginleştirme konusunda birçok çalışma yapılmıştır (Loncarevic, 2019).

Fenolik bileşikler, bitkilerde doğal olarak oluşan karmaşık bir gruptur. Sofralık zeytin ve zeytinyağı fenolik bileşenlerce zengindir. Fenolik bileşikler, hastalık direncinde, zararlılara karşı korunmada ve türlerin yayılmasında önemli rol oynayan bitki sekonder metabolitleridir (Silva vd., 2006). Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprakları mikroorganizma ve böcek saldırısına karşı direnç gösterebilmektedir (Furneri vd., 2002). Zeytin yaprağı ekstresi, bakteri, mantar ve mikoplazmaya karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler içerir. Ayrıca antioksidatif ve anti-inflamatuar aktivitelere sahiptir (Lee-Huang vd., 2003). Fenolik fraksiyonun konsantrasyonu zeytin yaprağında yağa göre birkaç kat daha fazladır. Fenolik bileşik miktarı çeşide ve iklime bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar, bu biyoaktif bileşiklerin güçlü antioksidan aktivite sergilediğini göstermektedir (Han vd., 2009). Yapılan çalışmalarda, zeytinlerin acı tadından sorumlu sekoiridoid olan “oleuropeinin” bazı bakteri ve mikro mantarın büyüme hızını engellediği veya geciktirdiği görülmüştür (Furneri vd., 2002). Oleuropein, çok düşük toksisite ve insan sağlığı üzerinde antioksidan, kolesterol düşürücü, kardiyoprotektif, antiinflamatuar, hipoglisemik veya antimikrobiyal gibi birçok faydalı etki göstermektedir (Gonzalez vd., 2019). Bilim dünyasında, oleuropeinin antimikrobiyel ve antioksidatif özelliği nedeniyle, alternatif bir gıda katkı maddesi olma potansiyeli olduğu düşünülmektedir (Furneri vd., 2002; Silva vd, 2006; Yıldız ve Uylaşer, 2010; Bayram vd., 2020).

Zeytinyağı üretimi sırasında zeytin ağaçlarının budanması ile atık olarak büyük miktarda yaprak ortaya çıkar. Atık olan zeytin yaprakları potansiyel bir biyoaktif bileşik kaynağıdır (Gonzalez vd., 2019). Bu çalışmada, ülkemizin önemli tarım ürünlerinden olan zeytinin, yağa işlenmesi sırasında elde edilen üretim artıklarından olan zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktın enkapsüle edilip beyaz çikolataya katılarak fonksiyonel özellikte çikolata üretilme potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma 4 aşamadan oluşmaktadır: a) Zeytin yapraklarının ekstraksiyonu ve optimum noktanın belirlenmesi, b) Ekstraktın süt tozu ile enkapsüle edilmesi, c) Enkapsüle edilmiş zeytin

yapraklarından çikolata eldesi, d) Elde edilen çikolatanın kalite özelliklerinin belirlenmesi.



## 2. KURAMSAL TEMELLER VE LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Zeytin Yaprığı

Zeytin, Akdeniz ve çevresindeki ülkelerde barışın simgesi olmakla birlikte bundan 6000 yıl öncesine kadar dayanan bir tarihe sahiptir. Uzun yıllar Akdeniz’de yetiştirilen Dünya’da kültüre alınan ilk ağaç türlerinden birisi olan zeytin, birçok ülkenin gelir kaynağı olmuştur (Efe vd., 2013). Zeytin, Akdeniz diyetinin temel ögesi olup, Akdeniz’de yaşayan toplumların sosyal, kültürel ve gastronomi mirasının bir basamağıdır (Serreli vd., 2017). Zeytin yetiştiriciliğinin başlaması, Akdeniz medeniyetlerinin genişlemesiyle aynı zamana denk gelmektedir. Zeytin, Akdeniz adalarında, İspanya, İtalya, Fransa, Yunanistan ve Türkiye gibi farklı ülkelerde geleneksel ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (El vd., 2009). Günümüzde yapılan çalışmalar ışığında, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi önem arz eden rahatsızlıkların engellenmesinde meyve ve sebze yönünden zengin, zeytin ve zeytin ürünlerinden oluşan Akdeniz diyeti beslenme tarzının başarılı olduğu görülmektedir. Özellikle birçok klinik çalışma göstermiştir ki yalnız meyve ve sebze içeriği yüksek beslenme modeline sahip kişilerde adı geçen hastalıklar açısından ölüm oranı diğerlerine göre daha düşüktür (Köçkar vd., 2010). Akdeniz diyetinin faydaları, yalnız zeytinyağının doymuş ve doymamış yağ asitleri kompozisyonuna değil, içerdiği fenolik bileşiklerinin antioksidan niteliklerine de atfedilebilir (Tripoli vd., 2005).

Fenolik bileşikler, bitkilerde doğal olarak ortaya çıkan önemli bir grup olup hastalık direncinde, zararlılara karşı korunmada önemli rol oynayan bitki sekonder metabolitleridir. Bu bileşiklere olan ilgi antioksidan aktiviteleri ve sağlık yararlarını desteklemesi ile ilgilidir. Zeytin, zeytin yaprağı ve zeytinyağı da fenolik bileşenlerce zengindir (Silva vd., 2006). Zeytin fenolik fraksiyonu taze posa ağırlığının %1 ile %3’ü arasında değişir. Yapısında 36’dan fazla farklı bileşik vardır. Bileşimi; işleme yöntemine, çeşidine, agronomik uygulamalara ve zeytinlerin olgunlaşma düzeyine bağlı olarak nitelik ve miktar açısından değişebilir. İçerdiği fenolik bileşikler; fenolik asitler, fenolik alkoller, flavonoidler ve sekoiridoidler olarak sınıflandırılabilir (Serreli vd., 2017). Sekoiridoidler, yalnız *Oleaceae* familyasının bitkilerinde bulunan bir grup bileşiktir ve zeytin polifenollerinin çoğunluğunu (zeytin yaprağı polifenollerinin ~%85’ini) oluşturur (Boss vd., 2016).

Zeytin yaprağı (Şekil 2.1.), zeytin ağacı yetiştiriciliği ve zeytinyağı fabrikalarından bol miktarda elde edilen yan üründür.



Şekil 2.1. Zeytin yaprağının görünümü

Esas olarak ağaçların budanması ve zeytinlerin hasat edilmesi ve işlenmesi sırasında büyük miktarlarda yaprak oluşur. İstatistiksel olarak miktarları tam olarak bilinmemekle birlikte her 100 kg işlenmiş zeytin için yaklaşık 3-5 kg yaprak kaldığı tahmin edilmektedir (De Leonardis vd., 2008). Oleuropeinin hidrolizi oleuropein aglikon, elenolik asit, hidroksitirosol ve bir glikoz molekülüne yol açar. Hidroksitirosol bir fenolik alkoldür ve zeytin yaprağında en çok bulunan ikinci fenolik bileşiktir (Boss vd., 2016). Zeytin yaprağındaki farklı fenolik bileşenlerin oranları Tablo 2.1’de belirtilmiştir.

Tablo 2.1. Zeytin yaprağının fenolik bileşik kompozisyonu (Han vd., 2009).

| Bileşen               | Konsantrasyon (mg/kg) |
|-----------------------|-----------------------|
| Hidroksitirosol       | 219 ± 3               |
| Oleuropein            | 2231 ± 52             |
| Dimetil-oleuropein    | 984 ± 47              |
| Verbaskosid           | 27.45 ± 4.05          |
| Rutin                 | 15.80 ± 4.51          |
| Luteolin 7-O-glukosit | 15.80± 4.51           |

Zeytin yaprağı ekstraktındaki ana aktif bileşen, sekoiridoid grubunun doğal bir ürünü olan oleuropeindir (Al-azzawi, 2004). Zeytin ağacının yapraklarından elde edilen koyu kahverengi bir sıvıdır. Geniş sağlık faydalarına sahip doğal bir ilaç olarak

pazarlanan oleuropein acı bir tada sahiptir (Sudjana vd., 2009). 1800'lü yıllarda malarla hastalığı sebebiyle gelişen ateşin önlenmesinde kullanılan oleuropein, 1908 yılında keşfedilmiş, 1960 yılında izole edilmiş ve 1970 yılında ise kimyasal yapısı belirlenmiştir (Ünlüel ve Aydın, 2016).

Zeytinin kardiyovasküler hastalıklara karşı yararlı yönlerinden birkaçı vazodilatör, anti-trombosit agregasyonu, anti-enflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden kaynaklanır. Bu özellik oleuropein içeriğiyle ilişkilidir (Ghanbari vd., 2012). Zeytin çeşidi ve zeytinleri yenilebilir hale getirmek için kullanılan işlem sofralık zeytinlerde oleuropein içeriğini büyük ölçüde etkiler. Benzer şekilde, zeytin çeşidi, olgunlaşma evresi, yağ eldesi ve ekstraksiyon teknikleri gibi çeşitli etmenler, sızma zeytinyağındaki oleuropeinin nihai içeriğini belirler (Barbaro vd., 2014). Doğada oleuropein, büyüme aşamasında net ağırlığın %14'üne kadar zeytin ağacının meyvesinde birikir ve zeytin yeşile döndükçe miktarı azalır. Antosiyaninlerin varlığı nedeniyle zeytin koyu kahverengiye döndüğünde ise oleuropein oranındaki azalış giderek belirginleşir (Tripoli vd., 2005). Oleuropein ve diğer polifenoller bakımından zeytin yaprakları (%1-14) zeytinyağından (%0.005-0.12) daha zengindir. Zeytin meyvesinin acılığı esas olarak oleuropein oluşumuna atfedilir ve sofralık zeytin işleminde acılığın giderilmesi gerekir (Ghanbari vd., 2012). Kısaca, oleuropein zeytinin farklı kısımlarında farklı miktarlarda bulunur (Tablo 2.2) (Barbaro vd., 2014).

Tablo 2.2.Zeytinin farklı kısımlarındaki oleuropein konsantrasyonları (Barbaro vd., 2014)

| Kısımlar                   | Oleuropein miktarı,<br>mg/g (kuru maddede) |
|----------------------------|--------------------------------------------|
| Yapraklar                  | 2.1-134                                    |
| Dallar                     | 11-18.9                                    |
| Kökler                     | 1.9-6                                      |
| Tomurcuklar                | 15.7-58.4*                                 |
| Çiçekler                   | 15.3-20.9*                                 |
| Meyve                      | 0.3-50.8*                                  |
| Sofralık Zeytin            | 0.4-21.7                                   |
|                            | 0.0-0.1                                    |
|                            | 0.0-0.5*                                   |
| Naturel birinci zeytinyağı | 0.0-11.2**                                 |
| Zeytinyağı                 | -                                          |
| Zeytin ezmesi              | 0.4                                        |
| Zeytin fabrikası atık suyu | 0.0-6.5                                    |

\*Yaş ağırlıkta; \*\*mg/kg

### 2.1.1. Zeytin Yaprağı Antioksidan Aktivitesi

Zeytin yaprakları, sağlığı geliştirici faydaları çok sayıda bilimsel veri ile desteklendiğinden, bilim camiasının ve dünya çapındaki endüstrilerin ilgisini çekmektedir (Kiritsakis vd., 2018). Son zamanlardaki makalelerde, zeytin yapraklarının fenoliklerin varlığından kaynaklanan yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu vurgulanmaktadır (Tarchoune vd., 2019). Zeytin ağacı yaprakları Akdeniz bölgesinde geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Boss vd., 2016). Zeytin yaprağı ekstresinin enerji düzeylerini artırma, kan basıncını düşürme, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemlerini destekleme gibi sağlık yararları vardır. Ayrıca antimikrobiyel aktiviteleri sayesinde zeytin yaprağı ekstresi *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi farklı patojenlere karşı direnç gösterebilmektedir (Liu vd., 2017).

Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenoliklerin antioksidan ve antimikrobiyal niteliklerini incelemek için yapılan bir çalışmada, nitrit temizleme yöntemini kullanarak zeytin yaprağı ekstraktındaki bireysel ve birleşik fenoliklerin potansiyel kemopreventif etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar zeytin yaprağı ekstraktındaki fenolik bileşiklerin (vanilin hariç), hem bireysel hem de birleşik fenolikler olarak güçlü nitrit süpürme yetenekleri sergilediğini ve ayrıca süperoksit dismutaz benzeri aktivite ortaya çıkardığını göstermiştir (Lee ve Lee, 2010).

Zeytin yaprağı ekstraktının, zeytinyağı, ayçiçek yağı, palm yağı ve bitkisel katı yağlar gibi yağlara eklenerek radikal süpürme aktivitesi ve oksidatif stabilitesini artırılabilirliği ifade edilmiştir (Salta vd., 2007). Yapılan bir başka çalışmada, rafine edilerek elde edilen zeytin ve kabuk yağlarına hidroksitirozol ve oleuropeince zengin zeytin yaprağı katılmasının, zeytin yaprağında bulunan fenolik antioksidanların etkisi ile stabilitelerinin artarak depolama süresince bozulmalarını engellediği belirtilmiştir (Bouaziz vd., 2008).

### 2.1.2. Zeytin Yaprağının Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivitesi

Oleuropein, test edildiği tüm virüslere ve bakterilere karşı olağanüstü virüsidal ve bakterisidal aktivite gösteren elenolik asit üretmek için vücutta parçalanır. Oleuropein bağışıklık yanıtını artırılabilir ve vücudun enfeksiyonla daha etkili bir şekilde savaşmasını sağlayabilir. Oleuropeinin mikroorganizmalara karşı çalışabilmesi için belirli yollar vardır. Bunlar:

- Patojeni canlı tutan bazı amino asit üretim süreçlerine müdahale etme,
- Hücrede zarda virüs yayılmasını, tomurcuklanmasını veya düzenliğini engelleyerek virüsleri etkisiz hale getirme,
- Sağlıklı bir hücrenin RNA'sını değiştirmek için retrovirüsün ihtiyaç duyduğu viral enzimlerin, ters transkriptazın ve proteazın üretimini engelleyerek retrovirüsün nötralize edilmesi (bu insan immün yetmezlik virüsü (HIV) için de geçerlidir),
- Mikroorganizmaları ve yabancı maddeleri sindiren makrofajların immün sistem cevabı olan fagositozu uyarma (Al-azzawi, 2004).

Pereira vd. (2007), zeytin yapraklarının ekstraktındaki mevcut fenolik bileşikler, HPLC/DAD kullanarak analiz etmiş ve çeşitli mikroorganizmalara karşı *in-vitro* aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Mikrobiyel büyüme hızı değerlerine göre, antimikrobiyel aktiviteyi sırasıyla *Bacillus cereus* ~ *Candida albicans* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus* > *Cryptococcus neoformans* ~ *Klebsiella pneumoniae* ~ *Pseudomonas aeruginosa* > *Bacillus subtilis* olarak belirlemişlerdir.

Markin vd. (2008), zeytin yaprağının bakteri ve mantarlar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmış ve *in vitro* antimikrobiyal etki sergilediğini bulmuşlardır. Zeytin yapraklarının, dirençli iki bakteri türü olan *Klebsiella* ve *Pseudomonas*'a karşı özellikle etkili olduğunu kanıtlamışlardır.

Liu vd. (2017), gıda kaynaklı patojenlere (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enteritidis*) karşı zeytin yaprağı ekstresinin antimikrobiyal etkisini araştırmışlar ve 62.5 mg/ml'lik bir konsantrasyonda üç patojenin de büyümesini neredeyse tamamen inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Tunus'ta bulunan 3 *Olea europaea* L. çeşidinin (Neb jemel, Chemchali ve Chemlali) yapraklarından temin edilen uçucu fraksiyonların kimyasal özelliklerini, antibakteriyel ve antifungal etkilerini inceleyen bir çalışmada, taze ve kurutulmuş yapraklardan elde edilen uçucu fraksiyonların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri dört farklı bakteri ve mantar suşuna karşı değerlendirilmiş ve uçucu fraksiyonların önemli antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu belirlenmiştir (Brahmi vd., 2012).

Başka bir çalışmada zeytin posasından elde edilen fenolik bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda (% 0.1 ve % 0.2) kullanımı, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* ve

*Fusarium culmorum* üzerinde antifungal aktivite göstererek gelişmelerini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Winkelhausen vd., 2005). Ayrıca *H. pylori* ve *C. jejuni* üzerinde zeytin yaprağı ekstraktının antimikrobiyal aktivite kaydettiği rapor edilmiştir (Sudjana vd., 2009).

### 2.1.3. Zeytin Yaprığı ile Yapılan Zenginleştirme Çalışmaları

Farag vd. (2007), kızartmada kullanmak üzere ayçiçek yağını farklı oranlarda (400, 800, 1600 ve 2400 ppm) zeytin yaprağı ve 200 ppm oranında BHT ile zenginleştirip ayçiçek yağlarının dayanımını arttırmayı hedeflemişlerdir. Katkısız ayçiçeği yağının yüksek oranda değişime uğradığını belirtmişler ve zeytin yaprağı eklenen yağın oksidatif stabilitesinin, BHT eklenen yağın oksidatif stabilitesinden daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır.

Zeytin yaprağını, palm, zeytin ve ayçiçeği yağlarına ilave ederek oksidatif stabilitelerindeki değişimini inceleyen bir çalışmada oleuropein, hidroksitirozol ve kersetince zengin olan zeytin yaprağı ekstraktının yemeklik yağların oksidatif stabilitesini önemli ölçüde arttırdığı ve sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilecek etkili bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (Salta vd., 2007).

Paiva-Martins vd. (2007), zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle rafine zeytinyağlarının toplam fenolik madde miktarını natürel zeytinyağı fenolik madde miktarına ulaştırmaya çalışmışlardır. 50- 320 L rafine zeytinyağının fenolik madde miktarını, 1 kg zeytin yaprağından elde edilen ekstrakt ile natürel zeytinyağı fenolik madde miktarı seviyesine çıkardığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu ilavenin rafine zeytinyağının stabilitesini arttırdığını ve tadında iyileşme sağladığını ifade etmişlerdir.

Hayes vd. (2010), zeytin yaprağı ekstraktının paketlenmiş köftelerin oksidasyonu üzerindeki etkisini incelemek için yaptıkları çalışma sonucunda 100 ve 200 ppm zeytin yaprağı ekstraktının köftelerin raf ömrünü uzatmada faydalı olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar, et endüstrisinde sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilecek etkili bir alternatif olabileceğini ifade etmişlerdir.

Ganje vd. (2016), zeytin yaprağı ekstraktı, mikrokapsüllü zeytin yaprağı ekstraktı ve benzoat içeren dökme domates salçasına hızlandırılmış raf ömrü testi uygulamışlar ve bunun için farklı sıcaklık (30, 40 ve 50°C) uygulamışlardır. Ürünlerin renk ve pH değerlerindeki değişimleri izlemişlerdir. Araştırmacılar, mikrokapsüllü zeytin yaprağı ekstraktı içeren numunelerin renk ve pH değerleri diğerleriyle

karşılaştırıldığında, domates salçasının orijinal kalitesini çok iyi koruyabildiğini, kapsüllenmemiş zeytin yaprağı ekstraktı içeren numunelerin, bu belirleyici indeksi uzun süre muhafaza etme açısından bütün numuneler arasında en kötü performansı sergilediğini belirtmişlerdir.

Palmeri vd. (2016), durum buğdayı unu ve zeytin yaprağı ekstraktı katılan krakerler ile durum buğdayı unu ve su katılarak hazırlanan krakerleri karşılaştırmışlardır. Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen krakerlerin, fenolik içeriğinin daha zengin olduğunu ve antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca elde ettikleri verilere göre zeytin yaprağı ekstraktı kullanımının kraker üretiminde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

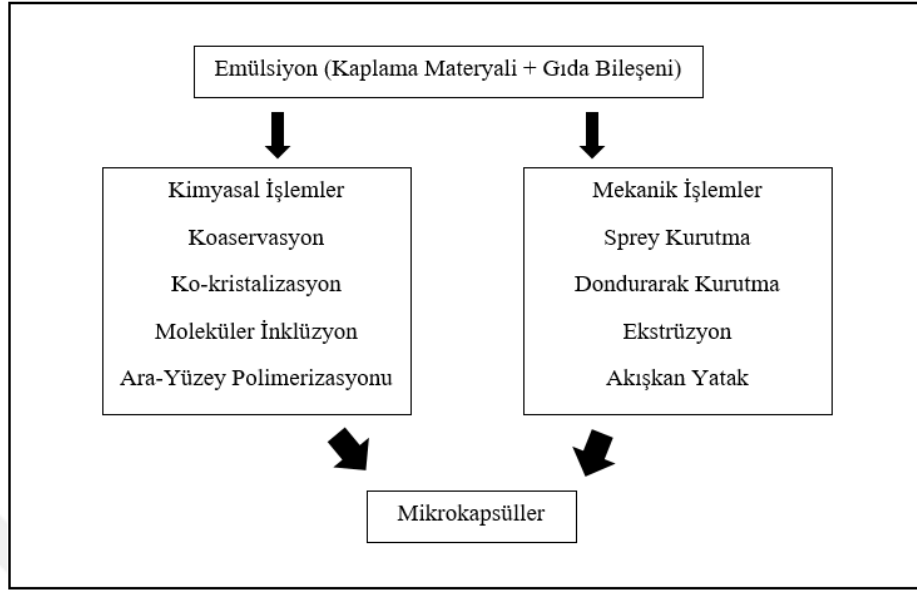
Zoidou vd. (2017), oleuropein ve kurutulmuş zeytin yaprağı ilave etikleri sütlerden yoğurt elde etmişlerdir. Üretilen yoğurtların, laktik asit bakterileri, pH ve asitlik yönünden zeytin yaprağı eklenmeyen yoğurda benzeyen nitelikler gösterdiğini, fakat viskozite ve su tutma kapasitesi açısından kontrol örneğine göre daha iyi özellikler gösterdiğini ifade etmişlerdir. Elde ettikleri yoğurtların geleneksel yoğurtlara benzer bir tat, renk ve doku sergilediğini vurgulayan araştırmacılar, zeytin yaprağı ve oleuropeinin süt ve yoğurt karışımlarına eklenebileceği sonucuna varmışlardır.

Kiritsakis vd. (2018), zeytin yaprağı ekstraktı katılan zeytinyağını, ekstrakt katılmadan üretilen zeytinyağı ile karşılaştırmıştır. Ekstrakt ilave edilen yağlarda toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin yükseldiğini belirtmişlerdir. Karatoneoid ve klorofillerin arttığını ve dolayısıyla da daha koyu yeşil renkte istenen bir yağ elde edilebileceğini vurgulamışlardır. Zeytin yaprağı ekstraktının, yağların raf ömrünü uzatarak fonksiyonel özelliklerini artırabilmek için doğal bir katkı maddesi olabileceğini ifade etmişlerdir.

## **2.2. Kapsülasyon Yöntemleri**

Bir malzemenin başka bir malzeme ile kaplandığı veya içine hapsoldüğü tekniğe kapsülleme denir (Madene, 2006). Kapsüllemenin temel amacı, ışık, nem ve oksijenin istenmeyen etkileri ve olumsuz çevresel koşullardan çekirdek malzemeyi koruyarak ürünün raf ömrünün artmasına katkıda bulunmak ve kapsülün kontrollü bir şekilde serbest bırakılmasını teşvik etmektir (Mahdavee, 2014; Mahdavi vd., 2016). Gıda

bileşenlerinin tadı, kokusu ve uçucu bileşenleri kapsülleme ile kontrol edilebilir (Anwar, 2010).



Şekil 2.2. Kapsülasyon işlem şeması (Madene, 2006).

Günümüze kadar pek çok mikrokapsülleme tekniği geliştirilmiştir. Düşük maliyet ve ulaşımı kolay ekipman ve iyi kalitede toz partikül üretimi nedeniyle gıda endüstrisinde spreyle kurutma halen en yaygın kullanılan teknolojidir (Baranauskien vd., 2006; Jafari, 2007). Püskürtmeli kurutma tekniği ile kapsülleme işlemi gıda endüstrisinde 1950'lerin sonlarından bu yana kullanılmaktadır (Desai ve Jin Park, 2005).

Püskürterek kurutma yöntemi ile kapsüllemede maltodekstrin, kitozan, dekstran ve laktoz gibi karbonhidratlar, karboksimetilselüloz, metilselüloz ve etilselüloz gibi selülozlar ve arap gamı, peynir altı suyu proteini, gluten, kazein ve jelatin gibi aljinatlar kaplama materyali olarak kullanılabilir (Desai ve Jin Park, 2005). Bu yöntem sayesinde su aktivitesi düşük, kullanımı kolay ve depolaması uzun olan kaliteli toz partiküller elde edilir (Carneiro vd., 2013). Su aktivitesinin azaltılması sonucu ürünlerin mikrobiyolojik stabiliteleri sağlanır, kimyasal ve/veya mikrobiyolojik bozulmaların önüne geçilir ve depolama ile taşıma maliyetleri azaltılır ve ürünlerin spesifik özellikleri korunur (Gökmen vd., 2012).

Gonzalez vd. (2020), zeytin yaprağı özütünü (OLE), in vitro gastrointestinal sindirim sırasında oleuropeinin (OE) tavrını, biyoerişilebilirliğini ve potansiyel biyoyararlanımını incelemek için maltodekstrin (MD) ve inulin (IN) ile kaplayıp

püskürterek kurutmuşlardır. Oleuropeinin biyoerişilebilirliğini, OLE–MD ve OLE–IN durumlarında, kapsüllenmemiş OLE'den 10 kat daha yüksek bulmuşlardır. Oleuropeinin biyoerişilebilirliği hem OLE-MD hem de OLE-IN durumunda kapsüllenmemiş numuneden daha yüksek olduğundan, kapsüllemenin OE'nin gastrointestinal koşullarda korunmasını sağladığını belirtmişlerdir.

Sprey kurutmadan sonra en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi uzun bir dehidrasyon süresi gereksinimi olan *dondurarak kurutma*dır. Bu teknikten, suda çözünen esansların ve doğal aromaların veya ilaçların kapsüllemesinde yararlanılmaktadır (Mahdavee, 2014). Isıya duyarlı materyallerin dehidrasyonunda, sıklıkla suda çözünür esanslar ve doğal aromaların kapsüllemesinde kullanılır (Gökmen vd, 2012).

Gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri de *akışkan yataklı kaplama* yöntemidir (Gökmen vd., 2012). Bu teknik, prensip olarak kaplama materyalinin (sıvı) püskürtme başlığıyla yatak içerisinde yer alan partiküllerin üzerine püskürtülerek katman halinde kapsüllerin oluşmasına dayanmaktadır (Desai ve Jin Park, 2005). Bir diğer kapsülleme yöntemi olan *koaservasyon* tipik olarak aroma yağlarını kapsüllemek için kullanılır. Balık yağı içeren besinler, vitaminler, koruyucular, enzimler ve benzerlerinin kapsüllemesi için de kullanılabilir. Bu işlemin maliyeti yüksek ve işlem basamakları karmaşıktır (Gouin, 2004). Oksidasyonu ve uçuculuğu azaltmak için ortaya çıkan kapsülleme tekniklerinden biri olan *moleküler inklüzyon*, prensip olarak aromaların, siklodekstrinlerin iç boşluğuna dahil olmasını içermektedir (Choi vd., 2009). *İyonik jelasyon* kapsülleme yöntemi; hidrofobik, hidrofilik, sıcaklığa duyarlı, akışkan veya viskoz farketmeksizin hemen hemen her bileşen kapsüllenebildiğinden, mikrokapsüllemeye yaygın olarak kullanılmaktadır. Laboratuvar ölçeklerinde yürütülmesi ne kadar kolay olsa da sürecin ölçeğini büyütmek oldukça zordur. Kapsül gözeneklerinin çok olması ve işleme maliyetlerinin fazla olması da dezavantajları arasında yer almaktadır (Gouin, 2004). *Ekstrüzyon yöntemi*, hidrokolloidlerle kapsül yapmak için kullanılan eski ve yaygın bir yöntem olmakla birlikte probiyotik bakterilerin hayatta kalma oranını %80-95'e kadar artırmaktadır (Krasaekoopt vd., 2003).

Tablo 2.3.Kapsülleme teknikleri ve kullanım alanları

| Kapsülleme Tekniği              | Kullanım Alanı                                                       |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Koaservasyon Yöntemi            | Sakız, diş macunu, unlu mamuller                                     |
| Sprey Kurutma Yöntemi           | Şekerleme, süt tozu, hazır tatlılar, gıda aromaları, hazır içecekler |
| Akışkan Yataklı Kurutma Yöntemi | Hazır yemekler, şekerlemeler                                         |
| Sprey Soğutma Yöntemi           | Hazır yemekler, buzlar                                               |
| Ekstrüzyon Yöntemi              | Hazır içecekler, şekerlemeler, çaylar                                |
| Moleküler İnküzyon Yöntemi      | Şekerleme, hazır içecekler                                           |

### 2.3. Çikolata

Çikolata en popüler kakao ürünüdür. Tarihi Meksika Aztekleri ve Peru İnkalarının kakao çekirdeklerini para olarak kullandığı ve sıcak sıvı anlamına gelen 'Chocolatl' adlı bir içecek ürettiği bilinmektedir (Owusu, 2010). Çikolata, genellikle yaklaşık 20 derece ekvatora yakın bir iklim kuşağında bulunan küçük çiftliklerde yetiştirilen *Theobroma* kakao ağacının (Şekil 2.3.) ince öğütülmüş fermente çekirdeklerinden elde edilir (Mcshea vd., 2008).



Şekil 2.3. Kakao ağacı ve kako meyvesinin görünümü (Anonim, 2023)

Nesillerdir insanlar tarafından yaygın tüketilir (Barisic, 2019). Çikolata devamlı bir yağ fazında (yaklaşık %65-75), katı maddeleri (şeker ve yağsız kakao kuru maddesi) içeren bir süspansiyondur (Fernandes vd., 2013; Torres-Moreno vd., 2015). Ortam sıcaklığında (yaklaşık 25 °C) katıdır ve ağızda kolay erir (Fernandes vd., 2013).

Çikolata ve çikolata ürünleri, enerji ve besin yoğunluğu yüksek ürünler olarak nitelendirilirler ve 3000 kcal/kg'dan fazla enerji değerine sahiptirler (Torres-Moreno vd., 2015). Çikolatanın faydalı etkileri, ana bileşeni olan kakaodan kaynaklanmaktadır. Kakao, önemli miktarda yağ (kakao yağı olarak %40-50), proteinler ve metilksantinler (teobromin ve kafein), mineraller (potasyum, fosfor, bakır, demir, çinko ve magnezyum) ve önemli miktarda antioksidan içerir (Birtea, 2020).

Bitter, sütlü ve beyaz çikolata farklı oranlarda kakao, süt ve kakao yağı içerir. Bileşimlerindeki farklılık sebebiyle nihai ürünler farklı oranlarda yağ, protein ve karbonhidrat içeriğine sahiptir. Üretim süreçleri, tüketici tercihleri ve ticari uygulamalardaki değişiklikler nedeniyle de çikolata farklılık gösterir (Afoakwa vd., 2014).

Türk Gıda Kodeksi Kakao ve Çikolatalı Ürünler Tebliği'ne (Tebliğ no: 2017/29) göre;

-çikolata; kakao ürünleri ile şekerlerden elde edilen, en az % 18 kakao yağı ve en az %14 yağsız kakao kuru maddesi içeren toplam kakao kuru maddesi içeriği en az % 35 olan ürün,

-beyaz çikolata; kakao yağı, süt veya süt ürünleri ve şekerden oluşan, içeriğinde en az %20 kakao yağı ile en az %14 süt kuru maddesi barındıran ve süt yağı miktarı en az %3.5 olan ürün,

-sütlü çikolata; kakao ürünleri, şekerler ve süt veya süt ürünlerinden elde edilen, toplam kakao kuru maddesi en az % 20, süt kuru maddesi en az % 20, yağsız kakao kuru maddesi en az % 2.5, süt yağı en az % 5, toplam yağı (kakao yağı ve süt yağı) en az % 25 olan ürün olarak tanımlanmaktadır.

Bitter, sütlü ve beyaz çikolatanın ardından Belçikalı çikolata üreticisi Callebaut tarafından 2017 yılında dördüncü bir çikolata türü olarak tanıtılan yakut (Ruby) çikolata, diğer çikolata türleri gibi kakao ağacı *Theobroma cacao* L.' nin tohumları olan kakao çekirdeklerinden üretilmektedir. Normal çikolata üretiminin aksine, ya az fermente edilmiş ya da tercihen fermente edilmemiş kakao çekirdekleri anlamına gelen 'Lavados' çekirdekleri kullanılır (Tuenter vd., 2021).

Çikolatanın ana bileşenleri olan kakao çekirdekleri, polifenoller açısından zengindir. Fakat fermentasyon, kavurma ve çikolata üretimi sırasında polifenoller önemli ölçüde azalır veya muhtemelen epimerlerine dönüşürler (Loncaveric vd., 2018). Polifenollerin faydalı etkileri nedeniyle yalnızca yüksek yüzdelerde kakao, flavonoidler, teobromin ve düşük şeker içeriğine sahip bitter çikolatanın sağlığı geliştirici etkisi olduğu söylenebilir. Ek olarak, süt proteinleriyle etkileşimi nedeniyle beyaz çikolatada flavanoidlerin bağırsakta emilimi azalır (Birtea, 2020).

### 2.3.1. Beyaz Çikolata Üretiminde Kullanılan Hammaddeler ve Özellikleri

Beyaz çikolata şeker, süt kuru madde bileşenleri (esas olarak tam yağlı süt tozu; ancak bazı formülasyonlarda yağsız süt tozu, peynir altı suyu tozu ve laktoz kullanılabilir), kakao yağı, soya lesitini ve vanilinden yapılır. Nitekim beyaz çikolatanın “beyaz çikolata” olarak adlandırılabilmesi için bileşiminde tam yağlı süt tozu ve kakao yağı içermesi gerekir. Beyaz çikolata, sürekli bir yağ fazı (esas olarak kakao yağı veya ikamesi) ile kaplanmış küçük şeker parçacıkları ve süt katıları içeren bir üründür (Vercet, 2003). Genel olarak beyaz çikolata formülasyonu ve oranları Tablo 2.4’de belirtilmiştir.

Tablo 2.4. Beyaz çikolata formülasyonu (Vercet, 2003).

| Bileşen        | %    |
|----------------|------|
| Kakao Yağı     | 27.0 |
| Yağlı Süt tozu | 23.0 |
| Şeker          | 49.6 |
| Lesitin        | 0.4  |
| Toplam Yağ     | 32.8 |

#### 2.3.1.1. Kakao Yağı

Kakao yağı esas olarak Güney Amerika ve Batı Afrika’da yetiştirilen Theobroma ağacından elde edilir (Gunstone, 2001). Karakteristik bir kokuya, aromaya ve uçuk sarı renge sahiptir (Naik ve Kumar, 2014). Kakao çekirdeklerinden elde edilen kakao yağı, kuru ağırlık bazında %50-57’yi oluşturur ve çikolatanın erime özelliklerinden sorumludur (Jahurul vd., 2013). Kakao yağı, olgun kakao çekirdeklerinin preslenmesiyle elde edilir ve kakao endüstrisinin değerli bir yan

ürünüdür. 25 °C'nin altındaki sıcaklıkta kırılgandır, yaklaşık 34 °C sıcaklıkta elde yumuşar ve ağızda erir (Naik ve Kumar, 2014). Kakao yağı, palmitik, stearik ve oleik olmak üzere üç ana yağ asidinden oluşur ve bunlar kakao yağındaki yağ asitlerinin %95'inden fazlasını oluşturur. Yaklaşık oranları ise %29-38 oleik asit (C 18:1), %29-38 stearik asit (C 18:0) ve 20- %26 palmitik asit (C 16:0) şeklindedir (Pirouzian vd., 2020).

Kakao yağı, kendine has özellikleri nedeniyle diğer tüm bitkisel katı ve sıvı yağlar ile karşılaştırıldığında çok değerli ve pahalıdır. Kakao yağı, organoleptik ve fiziksel özellikler üzerinde büyük bir etkiye sahip olan çikolata ve diğer şekerleme ürünleri için önemli bir bileşendir (Gunstone, 2001). Kakao yağı, nişasta ve bileşiminde diğer bitkisel yağlara nazaran daha yüksek oranda doymuş yağ asitlerinden palmitik asit ve stearik asit içeren doymuş yağ,  $\beta$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferol ve  $\gamma$ -tokoferol formundaki E vitamini gibi yağda çözünen antioksidanlar içerir. Ayrıca az miktarda kafein ve teobromin de içermektedir (Naik ve Kumar, 2014). Kakao yağının bazı bileşenleri ve bu bileşenlerin miktarları Tablo 2.5' de belirtilmiştir.

Tablo 2.5.Kakao yağının bazı özellikleri

| Bileşen                                    | Miktar    |
|--------------------------------------------|-----------|
| İyot sayısı                                | 32-35     |
| Sabunlaşma değeri (mgKOH/g)                | 192-199   |
| Asit değeri (mg NaOH/g)                    | 1.04-1.68 |
| Peroksit değeri (meq g O <sub>2</sub> /kg) | 1.00-1.10 |
| Erime noktası (°C)                         | 29-40     |

### 2.3.1.2. Şeker

Şeker, insan beslenmesi için en önemli substratlardan biridir. Dünyada yaklaşık 115 ülkede şeker üretilmektedir. Hindistan, Brezilya, Tayland, Avustralya ve Çin dünyadaki toplam şeker üretiminin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır (Chauhan vd., 2011). Şekerler karbonhidratların önemli bir formudur ve muhtemelen tüm yeşil bitkilerde bulunur, ayrıca çoğu meyve ve sebzede önemli miktarlarda bulunurlar. Sakkaroz, fruktoz ve glikozdan oluşan bir disakkarittir. Şeker genellikle şeker kamışı, mısır, şeker pancarı ve manyok vb. ile üretilir. Ancak çoğu ülkede şeker kamışı şeker üretiminde kullanılmaktadır, çünkü genel maliyet, çevresel etkiler, şeker üretim oranı ve şeker üretim yüzdesi gibi çeşitli unsurlar dikkate alınmaktadır (Chauhan vd., 2011).

Çikolatanın temel bileşenlerinden biri olan şeker, çikolatada inert bir bileşen olarak kabul edilir. Ürüne tatlılık, tekstür kazandırmak amacıyla kullanılır. Çikolata çeşide bağlı olmakla birlikte yaklaşık % 30-60 oranında şeker içermektedir (Afoakwa vd., 2007; Aidoo vd., 2013).

#### **2.3.1.3. Süt Tozu**

Süttozu, yağlı, yağ kısmen veya tamamen alınmış süt, krema veya bu ürünlerin karışımından suyun doğrudan uzaklaştırılması ile elde edilen ve son üründe nem içeriğinin ağırlıkça en fazla %5 oranında olduğu katı ürünü ifade eder (TGK, Tebliğ No: 2005/18). Sıvı sütü, kuru toza dönüştürmek nakliye maliyetini düşürür ve raf ömrünü uzatır. Süt tozunun sıvı sütün yeniden yapılandırılmasına ek olarak, unlu mamüller ve şekerleme ürünleri ve hatta hayvan yemi gibi gıda maddelerinde bir bileşen olarak birçok farklı şekilde kullanımı vardır (Munir vd., 2018).

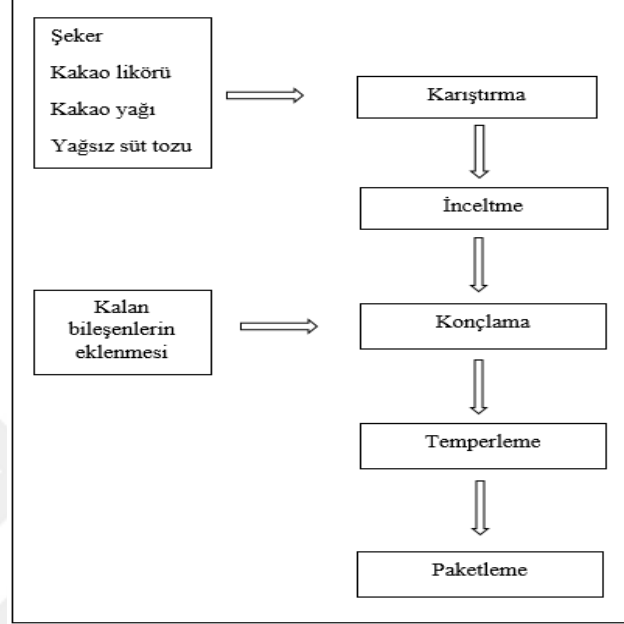
Süt tozu laktoz, süt yağı, protein ve mineral içerir ve oda sıcaklığında çoğunlukla sıvıdır. Çikolata dokusunu yumuşatır ve sertleşmeyi yavaşlatır. Süt proteinleri, sütlü çikolatanın dokusuna katkıda bulunur. Püskürterek kurutulmuş yağsız süt tozu veya tam yağlı süt tozu olarak eklenen süt katıları, ısıl işlem ve kurutma koşullarına bağlı olarak lezzet, doku ve sıvı akış özelliklerine katkıda bulunur (Afoakwa vd., 2007).

#### **2.3.1.4. Emülgatör**

Emülgatörler, yağ ve su gibi birbiri ile karışmayan iki veya daha fazla faz arasında homojen bir karışım oluşmasını ve bu karışımın sürekliliğini sağlarlar (TGK Tebliğ No:2008/22). Şeker kristallerinin hidrofilik doğası nedeniyle, emülgatörün küçük bir kısmı, örneğin soya lesitini veya poligliserol polirisinoleat, genellikle hidrofobik kakao yağı ile homojenize etmek için eklenmektedir (Svanberg, 2013). Emülgatörler, çikolata kütlelerinin akış özelliklerini değiştirmek için uzun süredir kullanılmaktadır. Özel moleküler yapıları nedeniyle, yüzey aktif bileşenler, dağılmış ve sürekli faz arasındaki ara yüzey gerilimini düşürür ve reolojinin yanı sıra, nem ve sıcaklığa duyarlılık ile tavlama davranışı gibi bir dizi özelliğini etkiler. Ek olarak, yağ çiçeklenmesine karşı hassasiyeti, yağ göçüne karşı kararlılık ve oksidasyon gibi bazı özelliklerini etkileyebilirler. Çikolata üretiminde en yaygın olarak kullanılan emülgatör lesitindir (Schantz, 2005). Lesitin, glikolipit, trigliserit ve fosfolipitlerden oluşan bir karışımdır. Çikolatada istenen kıvamın eldesi için genellikle %1 oranında kullanılmaktadır (Afoakwa vd., 2007).

### 2.3.2. Çikolata Üretim Teknolojisi

Çikolata üretim prosesleri genellikle, çikolata hammaddelerinin karıştırılması, inceltilmesi ve konçlanması gibi ortak özellikleri paylaşır. Aranan sonuç, modern şekerlemelerde arzu edilen ürünlerin pürüzsüz dokuları ve ağızda pütürlülük algısının ortadan kaldırılmasıdır (Afoakwa vd., 2007).



Şekil 2.4. Çikolata üretim şeması (Afoakwa vd., 2007).

#### 2.3.2.1. Karıştırma

Kakao likörü ve şeker dahil çeşitli malzemeler karıştırılır ve iyice karışana kadar yoğrulur. Kullanılan tek tek bileşenlerin miktarı, üretilen çikolatanın türüne ve üreticinin tercihinine bağlıdır. Bitter çikolata için karıştırılan bileşenler kakao likörü ve şekerdir. Sütlü çikolata için ise üreticinin tercihinine bağlı olarak toz veya yoğunlaştırılmış biçimde süt de eklenir (Owusu vd., 2010).

Çikolata likörü şeker, ekstra kakao yağı, süt katı maddeleri, emülgatörler ve aromalarla karıştırılır. Beyaz çikolata üretilecek ise kakao katıları tam yağlı süt tozu veya çikolataya süt yağı ve yağsız süt katıları katan benzer bir şey ile ikame edilir. Karışım, çelik merdaneler kullanılarak çikolatadaki katıların parçacık boyutunu küçülten bir işleme tabi tutulur (Stortz ve Marangoni, 2011).

#### 2.3.2.2. İnceltme

Geleneksel olarak çikolata, kombine öğütme için diğer bileşenlere eklenmeden önce şekerin yaklaşık 100 mikron ortalama parçacık boyutuna ayrı ayrı öğütülmesiyle

yapılmış olsa da, genel eğilim öğütmeden önce tüm bileşenlerin karıştırılmasıdır. Karıştırıldıktan sonra, karışım bir dizi ağır silindirden geçirilerek bileşenleri kuru bir pul halinde preslenir, inceltir. İnceltme işleminin amacı bileşenlerin partikül boyutunu ilgili ürünün spesifikasyonlarının gerektirdiği boyutlara indirmek ve ürüne ağız rahatsız etmeyen bir pürüzsüzlük hissi kazandırmaktır. İnceltme süreci, şüphesiz, çikolata karışımının, nihai üründe önemli aroma bileşiklerinin salınması için optimal olan bir parçacık boyutuna ulaşılmasını sağlamaktır (Owusu vd., 2010).

#### **2.3.2.3. Konçlama**

Ana çikolata proses adımlarından biri konçlamadır. Konçlama, sıvı çikolata üretme (tüm katı parçacıklar yağ ile kaplanmıştır), uçucu asitleri buharlaştırma, uygun bir viskozite elde etme, fazla nemi uzaklaştırma ve istenen bir rengi geliştirmek için yapılan bir karıştırma ve ısıtma işlemidir (Barisic vd., 2019). Belirli bir sıcaklıkta (>40 °C) ısıtma sırasında çikolata kütlesinin karıştırılması, kesilmesi ve havalandırılmasından oluşan bu işlem çikolata kütlesinin hedeflenen kalite özelliklerine ulaşmada önemlidir. Konçlama, nihai tat ve aromanın oluşumu, reolojik parametrelerin ayarlanması ve çikolata kütlesinin düzgün tekstür kazandırılmasında önemli bir adımdır (Engeseth ve Pangan, 2018; Toker vd., 2019). Konçlama sırasındaki maksimum sıcaklık, çikolata formülasyonuna ve istenen tada bağlıdır (Engeseth ve Pangan, 2018). Konçlama sıcaklığındaki buharlaşmayla çikolatanın ekşiliği azalır ve tipik çikolata aroması gelişir (Owusu vd., 2010). Ekipman tasarımı farklılıklarından dolayı konçlama sıcaklığında, süresinde ve kesme türündeki değişiklikler viskoziteyi, dokuyu ve aromayı etkiler (Toker vd., 2019). Şeker, yağsız kakao ve süt tozu gibi katı parçacıklar yağ ile kaplanır. Parçacıkların yağla kaplanması, çikolatada istenen pürüzsüz dokuyu ve çıtırılığı destekler (Owusu vd., 2010).

#### **2.3.2.4. Temperleme**

Temperleme, eritilmiş çikolatanın çalkalanarak kontrollü soğutulmasıdır. Kakao yağı, yapısında farklı erime derecelerine sahip yağ kristalleri barındırır. Bu kristalleri uygun şekilde yapılandırmak için akışkan haldeki çikolataya, “temperleme” olarak isimlendirilen bir dizi ısıtma-soğutma işlemi uygulanır. Bu sayede çikolata, hemen erimeyen, parlak ve canlı bir görünüm kazanır. Temperleme sayesinde, kakao yağı kristalleri uygun polimorfik formda çekirdeklenir ve daha sonra tüm kütle boyunca kristalizasyon süreci bu polimorfik formda gelişir. Bu polimorfik form, istenen parlak görünümü ve gelişmiş raf ömrü özelliklerini verir. Spesifik olarak, çikolata 43-46°C'ye

ısıtılır. Bu sıcaklıkta yağ kristalleri erir. Çikolata daha sonra karıştırılarak 24-29°C'ye soğutulur ve sonraki işlemlerden önce tekrar 30-31°C'ye ısıtılır. Temperleme koşulları kullanılan kakao çekirdeklerine göre değişkenlik gösterir. Mevcut kakao yağı miktarı gerekli temperleme koşullarını etkileyebilir. Temperlenmiş çikolata kalıplanabilir. Çikolata daha sonra yavaşça başlangıçta 18°C'ye ve daha sonra 7°C'ye soğutulur (Stortz ve Marangoni, 2011; Engeseth ve Pangan, 2018; Doğan, 2016).

#### 2.4. Çikolata zenginleştirmeye ilgili çalışmalar

Belščak-Cvitanović vd. (2012), konsantre ve dondurularak kurutulmuş kırmızı ahududu yaprağı (*Rubus idaeus* L.) ekstresi ile zenginleştirilmiş sütlü, yarı sütlü ve bitter çikolataların biyoaktif içeriğini, fiziksel ve duyuşal özelliklerini incelemiştir. Kullanılan ahududu yaprağı ekstraktı konsantrasyonlarının, çikolataların biyoaktif profilini geliştirmek için yeterince etkili olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Foong vd. (2013), probiyotik bir çikolata geliştirmek için bitter çikolataya izole ettikleri *Lactobacillus plantarum* dahil etmişlerdir. 4°C'de 3 aylık saklamanın ardından *L. plantarum* koloni sayısında, başlangıçtaki koloni sayısından (8 log cfu/g'den 6.5 log cfu/g'ye) bir azalma (%81.25 canlı mikroorganizma) gözlemlemişlerdir. Ayrıca potansiyel probiyotiklerin eklenmesinin kontrol bitter çikolatasına kıyasla bitter çikolatanın fizikokimyasal özelliklerini bozmadığını belirlemişlerdir. Bu çalışma ile bitter çikolatanın kabul edilebilir canlı kalan mikroorganizma sayısı ile potansiyel probiyotik *L. plantarum* için bir taşıyıcı olarak kullanılmaya uygun olduğunu ifade etmişlerdir.

Komes vd. (2013), beş farklı kuru meyve (kuru erik, papaya, kayısı, kuru üzüm ve turna yemişi) çeşidinin sütlü ve bitter çikolata üretiminde katkı maddesi olarak kullanılma potansiyelini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda kurutulmuş meyvelerin, çikolataya eklendiğinde antioksidan kapasitelerinin ve fenolik bileşiklerinin arttığı tespit edilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre, genel olarak en yüksek kabul edilebilirlik kayısı bitter çikolata ve turna yemişli sütlü çikolatada kaydedilmiştir.

Erdem vd. (2014), *B. indicus* HU36'nın bitter çikolatadaki canlılığını incelemiştir. Mikrobiyolojik analizlerle *B. indicus* HU36'nın bitter çikolatada yüksek bir hayatta kalma oranına sahip olduğunu kanıtlamış ve aşılana tüm

numuneler, istenen probiyotik bakteri yüküne (5 log cfu/g) sahip olduğunu göstermişlerdir. *B. indicus* HU36'nın probiyotik bitter çikolata üretimini için verimli bir şekilde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Belščak-Cvitanović vd. (2015), geniş bir tüketici kitlesine hitap eden fonksiyonel gıda üretme eğilimleri doğrultusunda, dondurularak kurutulmuş ve konsantre ısırgan otu özleri ile zenginleştirilmiş çikolataları formüle etmişler ve 12 aylık depolama sürecinde polifenoller ve antioksidan kapasite açısından stabilitelelerini değerlendirmişlerdir. Zenginleştirilmiş çikolatalarda toplam polifenol, klorojenik asit ve flavonoid türevleri (ısırgan otu ekstraktından kaynaklanan) içeriklerinde artış sağlanmıştır. Dondurularak kurutulmuş ekstraktın katıldığı çikolataların polifenol içeriğinin, konsantre ekstraktın katıldığı çikolatalara kıyasla daha çok arttığını belirlemişlerdir. Isırgan otu ile zenginleştirilmiş çikolatalar daha yoğun acılık ve burukluk sergilerken, sütlü ve yarı tatlı olanlara göre bitter çikolatalar tercih edildiğini ifade etmişlerdir.

Aroyeun vd. (2016), yeşil çayı toz haline getirmiş ve farklı oranlarda çikolataya eklemişlerdir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında; yeşil çay tozunun artmasıyla antioksidan aktivite değerinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Bu çalışma aynı zamanda %10'luk organoleptik eşikte, yeşil çay takviyesinin çikolatanın polifenol içeriğinde önemli bir fark olmadığını fakat %40-50 eşikte çikolatanın tadının ve genel kabul edilebilirliğinin, renk ve tatlılığının bozulduğunu belirlemişlerdir

Dean vd. (2016), fıstık kabuklarından elde edilen fenolik bileşiklerin sütlü çikolatanın zenginleştirilmesi için yeni bir antioksidan kaynağı olarak kullanımını araştırmışlardır. Kapsüllenmiş fıstık kabuğu ekstresinin alt eşik (% 0.8) eklenmesi ile tüketicinin sütlü çikolatayı beğenmesinin kontrol olarak sütlü çikolata ile denk olduğu sonucuna varmışlardır. Ekstraktların acılıklarını azaltmak için maltodekstrin ile kapsülleme yöntemini kullanmışlardır. Ayrıca test edilen seviyelerde fıstık kabuğu ekstresinin eklenmesinin, *in vitro* koşullarda ürünün antioksidan kapasitesini arttırdığını belirtmişlerdir.

Godočiková vd. (2017), karadut ve iğde ilavesinin bitter çikolatanın antioksidan özelliklerinin iyileştirilmesi üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Kontrol olarak kullanılan sade bitter çikolataya göre karadut ile zenginleştirilmiş çikolatanın daha

yüksek polifenol ve antioksidan kapasite değerleri gösterdiğini belirtmişlerdir. İğde ile zenginleştirmenin ise antioksidan özelliklerde önemli bir değişime yol açmadığını, ancak daha düşük kakao içeriğine rağmen biyoaktif bileşiklerin seviyelerini artırdığını tespit etmişlerdir.

Ilmi vd. (2017), çikolatayı farklı konsantrasyonlarda kapsüllenmiş böğürtlen suyu ile zenginleştirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonuçlarına göre beyaz çikolataya böğürtlen suyu kapsülünün % 6-10 oranda eklenmesi, toplam polifenol içeriğini 1.8'den 3.8 kata çıkarmıştır. Ayrıca, beyaz çikolatanın tatlılığını azaltmış ve hoş meyve aromasına katkıda bulunmuştur. Beyaz çikolataya kapsüllenmiş böğürtlen suyunun eklenmesi, çekici renk ve böğürtlen tadı olan yeni bir zenginleştirilmiş çikolatanın yaratılmasını sağlamıştır.

Morais-Ferreira vd. (2017), goji berry (GB) ve sakaroz ikamesi yapılmış ve yapılmamış fonksiyonel (prebiyotik) beyaz çikolataların tanımlayıcı duyuşal profilini ve tüketici kabulünü değerlendirmişlerdir. 7 farklı formülasyonda hazırlanan çikolatalar panelistlerden tüm duyuşal özellikler için 9 puanlık bir ölçekte 6'nın üzerinde puan aldığını bildirmişlerdir. Bu nedenle, GB ilaveli veya ilavesiz prebiyotik beyaz çikolataların gıda endüstrisi için umut verici bir alternatif olabileceğini belirtmişlerdir.

Loncaveric vd. (2018), beyaz çikolatayı 60, 80 ve 100 g/kg konsantrasyonlarında kapsüllenmiş böğürtlen suyu ile zenginleştirmişlerdir. Beyaz çikolatanın toplam polifenol içeriğinin enkapsüle böğürtlen içeren çikolatalarda yükseldiğini belirtmişlerdir. Beyaz çikolataya kapsüllenmiş böğürtlen suyunun eklenmesi, çekici renk ve böğürtlen tadı ile zenginleştirilmiş yeni tip çikolataların üretilmesine fayda sağladığını ifade etmişlerdir.

Mirkovic vd. (2018), bitter çikolataya kapsüllenmiş potansiyel probiyotik *Lactobacillus plantarum* 564 ve ticari probiyotik *Lactobacillus plantarum* 299v eklemişler ve bu ilaveyle çikolataların aroma profillerinde farklılık kaydetmemişlerdir. Bitter çikolatanın mikrokapsüllenmiş probiyotik bakterilerle zenginleştirilmesinin, duyuşal bakımdan beğenilen ve bileşim özellikleri bakımından fonksiyonel bir ürün verdiği sonucuna varmışlardır. Bakteriyel hücrelerin yüksek canlılığı ve kabul edilebilir duyuşal özellikleri nedeniyle, kapsüllenmiş probiyotiklerin (*Lb. plantarum*

564 ve *Lb. plantarum* 299v), probiyotik bitter çikolata üretiminde başarıyla kullanılabileceğini kaydetmişlerdir.

Martini vd. (2018), bitter çikolatayı sakura yeşil çay yaprakları ve zerdeçal tozu ile zenginleştirerek fenolik içeriğini arttırmışlardır. Bu şekilde fenoliklerce zenginleştirilmiş bitter çikolatada şeker ve kalori miktarı da azaltılarak daha sağlıklı bir çikolata üretilebileceğini bildirmişlerdir.

Muhammad vd. (2018), gomalak, ksantan sakızı ve tarçın özütünün bir kombinasyonundan oluşan liyofilize koloidal nanopartiküller kullanarak çikolatanın besinsel özelliklerini geliştirmeyi amaçladıkları çalışmalarında; çikolatalarda polifenol içeriğı ve antioksidan aktiviteyi arttırmada en etkili yöntemin tarçın özütü içeren liyofilize koloidal nanopartikül kullanımı olduğu sonucuna varmışlardır. Nanokapsüllemenin, tarçın özü ile zenginleştirilmiş çikolatada aroma değişikliğini azaltarak tarçınla zenginleştirilmiş çikolatanın aroma profilini iyi yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Assi-Clair vd. (2019), şarap fermentasyonundan izole edilen iki farklı aroma üreten *Saccharomyces cerevisiae* suşu ile aşılanmış kakao çekirdeğı fermentasyonunu ve bunlardan elde edilen ham kakao maddesinin uçucu profili ve üretilen çikolataların duyuusal özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Her iki türün de ham kakaoda uygun şekilde aroma aktif esterler, aldehytler, ketonlar ve pirazinler ürettiğini ve *S. cerevisiae*'nın 0.5 g/kg aşılanmasının ham kakao çekirdeklerinin uçucu profilini önemli ölçüde iyileştirerek zenginleştirilmiş yoğun taze meyveler ve çiçeksi aromaya sahip çikolata üretiminde mümkün olduğunu belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlardan yola çıkarak *S. cerevisiae* olarak seçilmiş mayaların, kakao fermentasyon sürecini, arzu edilen aromalı ham kakao malzemesini ve üretilen yüksek aromalı çikolataları iyileştirmek için umut verici ve alternatif olanaklar olarak uygulanabileceğini ifade etmişlerdir.

Barisic vd. (2020), kakao kabuğu ilavesinin ve farklı bileşenlerle (kakao yağı eşdeğerleri, emülgatörler, süt bileşenleri) kombinasyonunun bitter ve sütlü çikolataların polifenolleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kakao kabuğunun, varolan biyoaktif bileşiklerin içeriğini ihmal edilebilir derecede azaltmasına rağmen çikolata üretiminde diyet lifi kaynağı olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Faccinnetto-Beltrán vd. (2021), omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri ve probiyotikler (*L. plantarum* 299v ve *L. rhamnosus* GG) ile bir sütlü çikolata formülasyonu geliştirmişlerdir. Balık yağı, omega-3 kaynağı olarak çikolataya dahil edilmiştir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlara dayanarak, tüketicilerden yeterli duyuşsal kabul ile probiyotikler ve omega-3 eklenmiş bir çikolata formülasyonu elde etmenin mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Muhammad vd. (2021), beyaz çikolatanın sağılığı geliştirici özelliklerini iyileştirmek için tarçın (*Cinnamomum burmannii*) ekstraktlarını kullanmışlardır. Çalışmada belirtilen analiz sonuçlarına göre kapsüllenmiş tarçın özütü, beyaz çikolatanın fenolik içeriğini 47.6 µg EE/g'den 1060.6 µg'a çıkarmıştır. Tarçın ekstraktının eklenmesinin, beyaz çikolatanın kateşin, prosiyanidin B<sub>1</sub>, prosiyanidin B<sub>2</sub> ve protokatekuik asit içeriklerinin yanı sıra antioksidan aktivitesini önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir.

Gupta vd. (2022), işlenmiş yeşil yaprak (*Moringa oleifera* ve *Basella alba*) ilavesiyle β-karoten ile zenginleştirilmiş çikolatalar geliştirmeyi amaçlamış ve duyuşsal özellikler ve besinsel kompozisyon açısından değerlendirmişlerdir. Moringa yaprağı ikamesi besin içeriklerinin çoğunu artırmasına rağmen, duyuşsal açıdan kontrole göre daha düşük puan almıştır. % 8 oranında işlenmiş moringa yaprağı tozu ile desteklenmiş β-karoten ile zenginleştirilmiş çikolataların, beslenme kalitesini artırdığını ifade etmişlerdir.

Monteiro vd. (2023), baobab tozu konsantrasyonunun fonksiyonel bitter çikolatanın geliştirilmesindeki fiziksel, kimyasal ve duyuşsal değerlendirmeler dahil olmak üzere etkisini incelemişlerdir. Sonuçlar, baobab tozunun dahil edilmesi ile antioksidan aktivitenin 2297 mmol TE/100 g'a kadar arttığını tespit etmişlerdir. %3 baobab içeren bitter çikolatanın duyuşsal değerlendirmesi "genel lezzet" parametresinde en yüksek değerlendirme puanına sahip olurken, %9 baobab içeren en düşük değerlendirme puanını almıştır.

### 3. MATERYAL YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada, ekstrakt eldesinde Mersin'den toplanan ve gölgede kurutulan zeytin yaprakları kullanılmıştır. Beyaz çikolata üretiminde materyal olarak kakao yağı (Metro Chef), pudra şekeri (Smart Kimya, Türkiye), yağsız süt tozu (Gusto Pastacılık, Türkiye), yağlı süt tozu (Halloum Gıda, Türkiye), lesitin (Smart Kimya, Türkiye) kullanılmıştır.

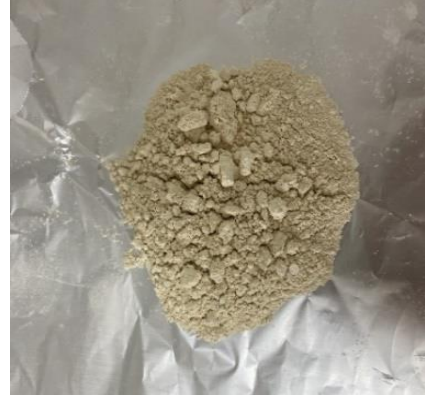
Çikolataların kimyasal analizlerinde kullanılan kimyasalların tümü analitik saflıkta olup Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Ekstrakt Eldesi ve Kapsüle Ekstrakt Tozu Eldesi

Kurutulmuş zeytin yaprakları ekstraksiyondan önce öğütülmüştür. Zeytin yapraklarının ekstraksiyonu saf su (1g /20 mL) ile farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlarda toplam fenolik madde (TPC) ve DPPH serbest radikal giderme etkisi incelenmiştir. Elde edilen verilere göre optimum nokta belirlenmiştir.

Belirlenen optimum koşulda elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı, suda çözünür katı madde miktarı %15 olacak şekilde yağsız süt tozu ile karıştırılarak emülsiyon elde edilmiştir. Oluşturulan ekstrakt ve süt tozu emülsiyonu sprey kurutma yöntemi kullanılarak kapsüle edilmiştir. İşlem püskürtmeli kurutucu (Buchi Mini Spray Dryer B-290, İsviçre) ile yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kapsüllemiş zeytin yaprağı ekstraktı

Püskürtmeli kurutma işlem koşullarında, hava giriş sıcaklığı 140-150 °C, hava çıkış sıcaklığı 66-73 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Çözeltiler püskürtmeli kurutucuya oda sıcaklığında (25±2°C) verilmiştir.

### 3.2.2. Çikolata Üretimi

Çikolata üretimi için belirli kalite sınırları çerçevesinde, hedeflenen görünüm, yapı ve duyu özelliklere sahip üründe kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı farklı oranlarda süt tozu ile ikame edilerek kullanılmıştır. Beyaz çikolata üretimi Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliği'nde (TGK, 2023) belirtildiği gibi; bileşiminde en az % 14 süt kuru maddesi, en az % 3.5 süt yağı ve en az % 20 kakao yağı olacak şekilde belirtilen formülasyonun değiştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca formülasyonda belirlenen kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı maksimum oranı ön denemeler sonucu belirlenmiştir. Bu oran, yapılan duyu analizler sonucu duyu tüketim eşiği olarak öngörülmüştür.

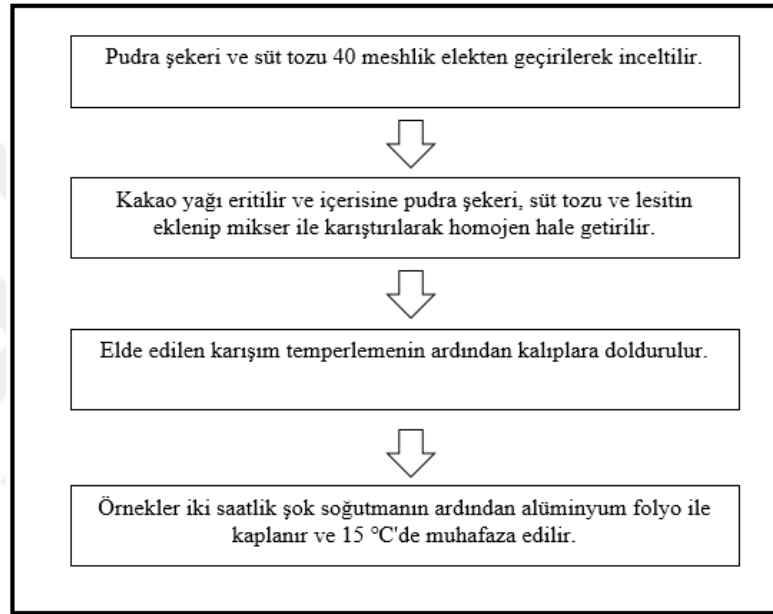
Beyaz çikolata örnekleri (kontrol örneği dahil) 4 farklı formülasyonda üretilmiştir. Beyaz çikolata formülasyonunda kakao yağı, pudra şekeri, yağsız süt tozu, yağlı süt tozu ve lesitin kullanılmıştır. Beyaz çikolata üretiminde tüketici beğenisini olumsuz etkileyecek kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktının yağsız süt tozunun ikamesi olarak kullanım miktarları yapılan ön denemelerle belirlenmiştir. Formülasyonda pudra şekeri (%33), yağsız süttozu (% 10.5), kakao yağı (%46) ve lesitin (%0.1) oranları sabit tutulmuştur (Tablo 3.1). Üretim ve analizler tekrarlı olarak yapılmıştır.

Zeytin yaprağı ekstraktındaki oleuropeinden kaynaklanan acı tad, tüketici beğenisini olumsuz etkileyeceğinden, beyaz çikolata formülasyonunda Tablo 3.1'deki oranlar kullanılarak deneme örnekleri üretilmiştir. Beyaz çikolata üretiminde materyal olarak kakao yağı, pudra şekeri, yağsız süt tozu, yağlı süt tozu, lesitin kullanılmıştır.

Kontrol örneği ve kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktının ekleneceği çikolataların üretimi; bileşenleri karıştırma, mikser ile karıştırma, konçlama, dinlendirme, temperleme ve kalıplara dökme işlemleri uygulanarak laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1. Deneme Çikolata Formülasyonu (100g)

| Örnek Kodları  | Kapsüle Edilmiş Zeytin Yaprağı Ekstraktı (g) | Pudra Şekeri (g) | Yağlı Süt Tozu (g) | Yağsız Süt Tozu (g) | Kakao Yağı (g) | Lesitin (g) |
|----------------|----------------------------------------------|------------------|--------------------|---------------------|----------------|-------------|
| <b>Kontrol</b> | 0                                            | 33               | 10.5               | 10.4                | 46             | 0.1         |
| <b>Ç1</b>      | 3                                            | 33               | 10.5               | 7.4                 | 46             | 0.1         |
| <b>Ç2</b>      | 6                                            | 33               | 10.5               | 4.4                 | 46             | 0.1         |
| <b>Ç3</b>      | 9                                            | 33               | 10.5               | 1.4                 | 46             | 0.1         |



Şekil 3.2.Çikolata üretim akış şeması

Üretim ilk olarak pudra şekeri, yağsız süt tozu, yağlı süt tozu ve kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı baharat öğütücü yardımıyla öğütülmüş ve ardından pudra şekeri 40 meshlik elekten geçirilmiştir. Böylece katı maddelerin partikül boyutu küçültülmüştür. Kakao yağının eritilmesi ve üretimdeki sıcaklıkların ayarlanabilmesi için Benmari yöntemi kullanılmıştır. Bileşenlerin karıştırılması aşamasında sıcaklık sürekli kontrol edilerek istenen değerler arasında kalması sağlanmıştır. İlk olarak kakao yağının 2/3'si 45-50 °C' de Benmari yöntemi kullanılarak eritilmiştir. Ardından şeker bir mikser yardımıyla kakao yağı ile karıştırılmıştır.

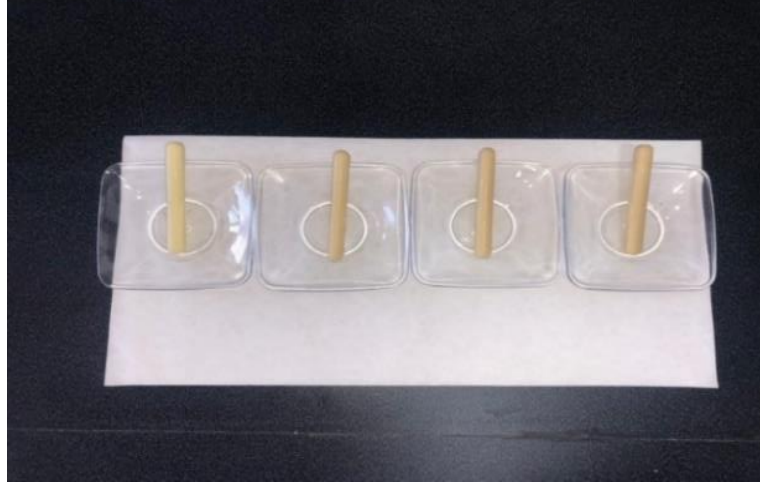
Homojen bir karışım elde edebilmek ve son ürünlerdeki kumsu yapıyı gidermek amacıyla 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu işlemin ardından yağlı ve yağsız süt tozları, karışıma yavaş yavaş eklenerek karıştırma işlemine 10 dakika daha devam edilmiştir. Bu aşamada karışıma daha homojen ve akışkan bir yapı kazandırmak

amacıyla 10 dakika blender ile karıştırılmıştır. Kakao kitlesinin tamamının ve lesitin de eklenmesinin ardından mikser ile karıştırmaya 30 dakika daha devam edilmiştir. Bu işlem süresince sıcaklık 50-55°C arasında tutulmuş ve çikolata karışımı 30 dakika oda sıcaklığında dinlendirilmiştir. Dinlendirme aşamasında sıcaklık 40°C' yi geçmeyecek şekilde ayarlanmıştır. Son olarak toz ürünlerin partikül boyutlarını küçültmek ve son ürünlerdeki kumlu yapıyı azaltmak amacıyla sıcaklık tekrar 45-50 °C' ye yükseltilmiş ve blender ile 10 dakika süreyle karıştırılmıştır.

Temperleme aşamasına gelindiğinde; başka bir kaba çikolata miktarının yaklaşık 1/2'i aktarıldıktan sonra karıştırılarak 32°C'ye kadar hızla soğutulmuştur. Kalan çikolata bu sürede sürekli karıştırılmıştır. 32°C'ye getirilen çikolata ile birleştirilerek sıcaklık 29°C'ye ulaşana kadar soğutma işlemine devam edilmiştir. Homojen karışım temperlemenin ardından kalıplara dökülmüştür. Kalıplama işleminde; uzun çubuklardan oluşan silikon kalıplar kullanılmıştır. 7-10 °C'de yaklaşık 2 saat soğutulmuştur. Örnekler kalıptan çıkarılıp alüminyum folyo ile ambalajlanmış ve analiz edilene kadar 15 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3). Çikolata analizleri 0. gün ve 60. gün olmak üzere iki defa yapılmıştır.



Şekil 3.3.Çikolata üretimi



Şekil 3.4. Farklı miktarlarda kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen çikolatalar

### **3.2.3. Analizler**

#### **3.2.3.1. Renk Tayini**

Renk ölçümü, Konica Minolta CR-400 renk ölçüm ve DP-400 veri işleme cihazı (Japonya) ile CIE (Commission International L'Eclairage, İngilizce: International Commission of Illumination, ICI) renk skalası (L, a, b) metoduyla yapılmıştır. L\* değeri 0 (siyah) ile 100 (beyaz) aralığında olup, a\* değeri kırmızı-yeşil ve b\* değeri ise sarı-mavi skalayı göstermektedir.

#### **3.2.3.2. Nem Tayini**

Örneklerde kurumadde miktarı AOAC yöntemi kullanılarak saptanmıştır. Darası alınan nikel kaplara örnekler belirli bir miktarda tartılıp önce 105°C' de vakumlu etüvde (Nüve EV-018, Türkiye) sabit ağırlığa gelene kadar kurutularak hesaplanmıştır. Sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.3.3. Toplam fenolik madde tayini ve DPPH serbest radikalini giderme etkisinin belirlenmesi**

Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite, zeytin yaprağı ekstraktlarında direkt olarak çikolata örneklerinde ise Çağındı (2009), yöntemi modifiye edilerek ön ekstraksiyondan sonra elde edilenlerde yapılmıştır. Bunun için homojenize edilmiş çikolata örneğinden 3 g alınıp üzerine 30 mL metanol:su (50:50) eklenerek 50 °C'de su banyosunda 15 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra, santrifüj tüpüne aktarılarak 4500 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edilerek üst faz 100 mL'lik bir balon jojeye

aktarılmıştır. Kalıntıda aynı işlemler 2-3 kez tekrarlanmıştır. Üst fazlar toplanarak 100 mL'ye metanol:su (50:50) ile tamamlanmıştır. Adi filtre kağıdından süzülerek analizlere hazırlanmıştır.

#### **3.2.3.4. Toplam fenolik madde tayini**

Toplam fenolik madde içeriği, alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile reaksiyon sonucunda rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Zeytin yapraklarının saf su ile ekstrakte edilmiş, analize uygun konsantrasyonlar hazırlamak için saf su ile seyreltilmiştir. Uygun oranda seyreltilen ekstrakt üzerine Folin-Ciocalteu ayracı eklenerek karanlık ortamda 5 dakika bekletildikten sonra doygun Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi karıştırılıp karanlık bir ortamda 2 saat daha bekletilmiştir. Bu süre sonunda 760 nm dalga boyunda tanığa karşı okunmuştur. Kimyasal saf galik asit ile çizilmiş standart kalibrasyon eğrisi yardımıyla toplam fenolik madde miktarı mg/kg cinsinden hesaplanmıştır.

#### **3.2.3.5. DPPH serbest radikalini giderme etkisinin belirlenmesi**

Örneklerin DPPH radikalini indirgeme etkisini belirlemede hazırlanan ekstraktan 50 µL alınıp 1 mL 100 µmol/L DPPH çözeltisi ile karıştırılıp 1 saat sonra 517 nm dalga boyunda okuma yapılarak absorbansları belirlenmiştir. Aşağıdaki formül yardımıyla önce DPPH' ın % inhibisyonu sonra Trolox ile hazırlanan çözeltiler yardımıyla kalibrasyon eğrisi çizilip antioksidan aktivitesi hesaplanmıştır (Li vd., 2010).

**% İnhibisyon** = Kontrol örneğinin absorbansı-Örneğin absorbansı / Kontrol örneğinin absorbansı x 100

#### **3.2.3.6. Kapsüllerde yüzey fenolik madde miktarının belirlenmesi**

Yüzey fenol miktarı (YF) analizi Robert vd. (2010) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. 600 mg enkapsüle toz üzerine 6 mL etanol-metanol karışımı (1:1) eklenmiş ve ardından oda sıcaklığında 30 sn süre ile vortekslenmiştir. Daha sonra 4500 rpm'de 1 dakika süre ile santrifüj edilerek ve supernatantta bulunan fenolik madde miktarı 3.2.3.4. te belirtildiği gibi yapılmıştır. Kapsülasyon verimliliği aşağıda verilen yöntemle göre hesaplanmıştır:

YF (%) = Yüzey fenolik madde miktarı / Toplam fenolik madde miktarı x 100

Kapsülasyon etkinliği= 100 – YF (%)

YF (%) = Yüzey fenolik madde miktarı / Toplam fenolik madde miktarı x 100

Kapsülasyon etkinliği= 100 – YF (%)

### 3.2.3.7. Çözünürlük Özelliği Analizi

Çözünürlük Analizi Çözünürlük analizi, Karrar vd. (2021)'in bildirdikleri yöntemle göre yapılmıştır. 0.5 g toz tartılmış ve 50 mL su içeren tüpe eklenmiştir. Çözelti homojen oluncaya karıştırılıp santrifüjlenmiş (3000 rpm'de 5 dakika), üst kısımdan 10 mL alınmış 70 °C'de 24 saat kurutulup aşağıdaki formülle % çözünürlük hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Çözünürlük} = (\text{üst fazın kuru maddesi(g)} / \text{numune ağırlığı (0.5g)}) \times 100$$

### 3.2.3.8. Peroksit Sayısı Analizi

Peroksit sayısı tayininde AOAC tarafından önerilen yöntem kullanıldı (Latimer, 2012). Soxhelet yöntemi ile elde edilen yağ örneklerinden 2 g alınıp üzerine 10 mL kloroform katılarak çözündürülmüştür. Çözündürülen örneklerin üzerine 15 mL glasiyel asetik asit ve 1 mL doygun KI çözeltisi eklenmiştir. Erlenin ağzı kapatılarak 1 dakika çalkalanarak karanlık ortamda 5 dakika ağzı kapalı olarak bekletilmiştir. 5 dakika sonunda 75 mL damıtık su ve 1 mL %1'lik nişasta çözeltisi eklenerek 0.001 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisiyle renk açılana kadar titre edilmiştir. Aşağıdaki formüle göre sonuç hesaplanmıştır:

$$V_{\text{har}} = \text{Örnek için harcanan Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 - \text{tanık için harcanan Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$$

$$PS = \frac{V_{\text{har}} \times N}{m (\text{örnek miktarı})} \times 1000$$

### 3.2.3.9. Serbest Yağ Asitliği Analizi

Serbest yağ asitliği tayini Latimer (2012)'e göre yapılmıştır. 2 g yağ örneği 0.01 g duyarlılıkla 250-300 mL'lik bir erlene tartılmıştır. Üzerine 30-150 mL kadar nötr eter-alkol karışımından eklenerek yağ örneği iyice çözündürülmüştür. 0.1 N KOH'le %1'lik fenolfitaleyn eşliğinde açık pembe renge kadar titre edilmiştir. Harcanan KOH miktarından % serbest asitlik veya asit sayısı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Serbest Asitlik} = \frac{V_{\text{har}} \times N \times 0.282}{m (\text{örnek miktarı})} \times 100 \quad \text{Asit sayısı} = \% \text{ Serbest Asitlik} \times 2$$

### 3.2.3.10. Sertlik Analizi

Üretilen çikolata örneklerinin ait sertlik (hardness) değerleri Texture Analyzer Model TA.XT-plus (İngiltere) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümde 5 mm silindir prob (P/5) kullanılmıştır. Örneklerde 2 noktadan ölçüm yapılarak ortalama sertlik

değerleri hesaplanmıştır. Analizler paralel olarak yapılmış ve çalışma koşulları Tablo 3.2’de belirtilmiştir.

Tablo 3.2. Teksür analiz cihazı çalışma koşulları

| Metot Koşulu            | Değer       |
|-------------------------|-------------|
| <b>Test Modu</b>        | Sıkıştırma  |
| <b>Ön Test Hızı</b>     | 1.00 mm/sn  |
| <b>Test Hızı</b>        | 1.00 mm/sn  |
| <b>Post Test Hızı</b>   | 10.00 mm/sn |
| <b>Hedef Modu</b>       | Uzaklık     |
| <b>Uzaklık</b>          | 5 mm        |
| <b>Tetik Tipi</b>       | Auto Force  |
| <b>Kırma Modu</b>       | Kapalı      |
| <b>Tetik Gücü</b>       | 5.0 g       |
| <b>Dara Modu</b>        | Otomatik    |
| <b>İleri seçenekler</b> | Açık        |
| <b>Kontrol Fırını</b>   | Devredışı   |

#### 3.2.3.11. Duyusal Analiz

Çalışmada çikolata formülasyonlarının duyu değerlendirmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyeleri ve lisansüstü öğrencilerini içeren 12 panelistin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. İçerikleri belirtilmeyen ve sadece sayılar ile kodlanan örnekler panelistlerin değerlendirmesine sunulmuştur (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Duyusal analiz panelist değerlendirme

Panelistlerin örnekleri görünüm, tekstür, ağız hissi, koku, tat, acılık, renk ve genel kabul edilebilirlik kategorilerinde 1’den 9’a kadar beğeni derecelerine göre puanlandırmaları istenmiştir. En çok beğenilen 9 puan alırken hiç beğenilmeyen 1 puan olacak şekilde değerlendirilmiştir. Örneklerin belirlenen kriterler açısından değerlendirilmesinde Tablo 3.3’te yer alan form kullanılmıştır.

Tablo 3.3. Duyusal analiz formu

| Duyusal özellik | Örnek Kodları |  |  |  |  |
|-----------------|---------------|--|--|--|--|
|                 |               |  |  |  |  |
| Görünüm         |               |  |  |  |  |
| Tekstür         |               |  |  |  |  |
| Ağız Hissi      |               |  |  |  |  |
| Koku            |               |  |  |  |  |
| Tat             |               |  |  |  |  |
| Acılık          |               |  |  |  |  |
| Renk            |               |  |  |  |  |
| Genel           |               |  |  |  |  |

#### 3.2.3.12. İstatistiksel Analiz

Bütün analizler tekerrürlü yapılmış, ortalama standart sapmaları hesaplanmıştır. Veriler SPSS programı (Version 16.0, SPSS Inc., Chicago, ABD) ile varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. İstatistik açıdan farklılık ( $p<0.05$ ) Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Zeytin Yaprığı Ekstraktı ve Kapsüle Edilmiş Zeytin Yaprığı Ekstraktının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Zeytin yaprakları, ekstrakt elde edilmeden önce yıkanıp gölgede kurutulmuştur. Yaprakların kuru madde değeri %95.82 ve  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri sırasıyla 54.94, -6.13, +20.23 olarak belirlenmiştir. Zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktın kuru madde değeri ise %2.08 ve  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri sırasıyla 25.06, 3.10, 7.57 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Zeytin yaprağı ekstraktına ait kuru madde ve renk değerleri

|                                 | Kurumadde (%) | Renk       |           |            |
|---------------------------------|---------------|------------|-----------|------------|
|                                 |               | $L^*$      | $a^*$     | $b^*$      |
| <b>Zeytin Yaprığı</b>           | 95.82±0.20    | 54.94±0.52 | -         | 20.13±0.30 |
| <b>Zeytin Yaprığı Ekstraktı</b> | 2.08±0.02     | 25.06±0.22 | 6.13±0.14 | 3.10±0.10  |
|                                 |               |            |           | 7.57±0.04  |

Tablo 4.1’den görüldüğü gibi, yapraklarda yeşil renk hakimken ekstrakta kahverengi renge gidiş olmuştur. Bu değişimin nedeni, yaprağa yeşil rengi veren klorofilin yüksek sıcaklıkta ısıtılması sırasında yapısında yer alan Mg’un ayrılarak feofitin oluşmasıdır.

Ekstraksiyon, polifenol analizi için numune ön işleminin en önemli adımlarından biridir. Genel olarak, uygun dağılım katsayısına ulaşmak için bir fenolik bileşiğin iki karışmayan faz arasında dağılımının yapıldığı bir ayırma işlemidir (Talhaoui vd., 2015). Fenolik bileşiklerin zeytin yapraklarından ekstraksiyonu için mikrodalga, basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri gibi ileri teknolojilerin kullanımı dahil olmak üzere bir dizi yöntem önerilmiştir (Goldsmith vd., 2014). En yaygın olarak kullanılan ekstraksiyon sistemi, zeytin yapraklarının bir çözücü içinde maserasyonu ile katı-sıvı ekstraksiyonu olmuştur. Zeytin yaprakları için yaygın olarak kullanılan özütleme çözücüler metanol, etanol, aseton, etil asetat ve dietil eter ile polifenollerin özütlenmesi için olağan çözücüler olarak sulu alkol karışımlarıdır (Talhaoui vd., 2015). Bununla birlikte, bu çözücüler genellikle yüksek enerji maliyetlerine sahip olabilir ve bertaraf edilmesi gerçek tarımsal atığın kendisinden daha tehlikeli olabilen aşırı çözücü atık üretimine yol açabilir. Bu nedenle, “yeşil” ekstraksiyon prosedürlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Su, ucuz, tehlikesiz

bir çözücüdür. Bir dizi bitki materyalinden yüksek antioksidan aktiviteye sahip çok çeşitli fenolik bileşikleri verimli bir şekilde çıkardığı gösterilmiştir (Goldsmith vd., 2014). Bu nedenle, çalışmada elde edilecek ekstraktın çikolata üretiminde kullanılması nedeniyle zeytin yaprağı ekstraktının eldesinde damıtık su kullanılmıştır. Maserasyon tekniği kullanılarak toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite açısından en yüksek verimi sağlayan koşullar, bir ön çalışmayla belirlenmiştir. Zeytin yaprağı ve damıtık su oranı (1:20, g/mL) sabit tutulmuş, sıcaklık ve süreler değiştirilmiştir. Çalışmada önce süre sabit tutulmuş (30 dakika) farklı sıcaklıklarda (Tablo 4.2) ekstraksiyon yapılmıştır.

Tablo 4.2. Farklı sıcaklıklarda zeytin yaprağına ait TPC ve DPPH sonuçları

| Sıcaklık, °C | TPC, mg GAE/g           | DPPH, mmol TE/g          |
|--------------|-------------------------|--------------------------|
| 50           | 32.23±0.02 <sup>d</sup> | 220.57±1.09 <sup>d</sup> |
| 60           | 37.33±0.02 <sup>c</sup> | 273.26±0.91 <sup>c</sup> |
| 70           | 45.27±0.03 <sup>b</sup> | 338.30±0.96 <sup>b</sup> |
| 80           | 55.92±0.02 <sup>a</sup> | 417.39±0.90 <sup>a</sup> |
| 90           | 55.03±0.02 <sup>a</sup> | 410.44±1.03 <sup>a</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır

Tablo 4. 2’den görüldüğü gibi, sıcaklık arttıkça hem toplam fenolik madde hem de DPPH serbest radikali giderme etkisi artmıştır. Artış 80 °C’ye kadar devam etmiştir. Optimum sıcaklık 80 °C olarak seçilmiş ve bu sıcaklıkta sabit tutularak sürenin etkisi araştırılmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. 80 °C’de farklı sürelerle ait zeytin yaprağına ait TPC ve DPPH sonuçları

| Süre, dakika | TPC, mg GAE/g             | DPPH, mmol TE/g           |
|--------------|---------------------------|---------------------------|
| 15           | 53.69±0.21 <sup>c</sup>   | 400.64±0.31 <sup>b</sup>  |
| 30           | 55.17±0.03 <sup>bc</sup>  | 406.32±0.30 <sup>b</sup>  |
| 45           | 56.90±0.02 <sup>abc</sup> | 427.33±0.45 <sup>ab</sup> |
| 60           | 57.92±0.02 <sup>ab</sup>  | 435.29±0.40 <sup>ab</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır

Tablo 4.3’den görüldüğü gibi, ekstraksiyon süresi arttıkça toplam fenolik madde ve DPPH serbest radikali giderme etkisi artmıştır. Hem sıcaklık hem süre dikkate alınarak esas ekstraksiyon 80°C ve 60 dakika olarak seçilmiştir.

Zeytin yaprağı, basit fenoller, flavonoidler (flavonlar, flavanonlar, flavonoller ve flavan-3-oller) ve sekoiridoidler olmak üzere çok çeşitli fenolik bileşik türevlerini içerir. Zeytin yaprağı ekstraktının ana bileşeni oleuropeindir. Oleuropein, sekoiridoidler olarak adlandırılan özel bir kumarin benzeri bileşikler grubuna aittir. Oleuropein'in farmakolojik etkileri vardır. Antimikrobiyal, antioksidatif, antiviral, antiaterojenik, kalp koruyucu ve antihipertansif özelliklere sahiptir (Borjan vd., 2020).

Günümüze kadar, zeytin yaprağından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine birçok çalışma (Ahmad-Qasem, 2013; Goldsmith vd., 2014; Sifaoui vd., 2016; Rosa vd., 2019; Dobrincic vd., 2020) yapılmıştır. Goldsmith vd. (2014), zeytin yaprağından fenolik bileşikleri ekstrakte etmede gerekli optimum koşulları araştırmışlardır. Yüzey yanıt metodolojisi ve Box Behnken dizaynı kullanarak yaptıkları çalışmada, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi ile örnek: solvent oranını bağımsız değişken olarak seçmişlerdir. Fenolik bileşikler için optimum koşulları; 90 °C, 70 dakika ve 1:100 g/mL oranında belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise optimum koşullar 80 °C ve 60 dakika bulunmuştur. Sifaoui vd. (2016), merkezi kompozit dizayn kullanarak zeytin yaprağından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu optimize etmişlerdir. Çalışmada toplam fenolik değerinin 30.01-58.06 mg/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çözücü olarak su kullandıkları çalışmada optimum koşulları; 1:50 örnek: su oranı, 60 °C, 30 dakika, 7 pH ortamında 280 rpm hızla çalkama olarak kaydetmişlerdir. Rosa vd. (2019), farklı ekstraksiyon koşullarının zeytin yapraklarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 24 saatlik su ile maserasyon sonucunda toplam fenolik madde miktarını 57.28 mg<sub>GAE</sub> /g olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada su ile farklı sıcaklıklarda mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucunda toplam fenolik maddeyi sıcaklık ve süreye bağlı olarak 59.64 mg<sub>GAE</sub> /g ile 105.05 mg<sub>GAE</sub> /g arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Görüldüğü gibi, mevcut çalışma sonuçları Rosa vd. (2019)'un sonuçlarıyla uyumludur. Zeytin yaprağını etanol ve su karışımı ile ekstraksiyonunu inceleyen bir diğer çalışmada, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği 66 mg<sub>GAE</sub> /g olarak bulunmuştur (Ahmad-Qasem, 2013). Mikrodalga, ultrason ve yüksek basınç tekniklerini kullanan Dobrincic vd. (2020), yaprakların toplam fenolik madde içeriğini 61.09 ile 92.49 mg/g arasında belirlemişlerdir. Görüldüğü gibi, Dobrincic vd. (2020)'in sonuçları bu çalışmadan daha yüksektir. Bu durum, ekstraksiyon tekniğinin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi yaprağın bileşimine etki eden faktörlerin farklılığından da kaynaklanabilir. Rahmanian vd. (2015), zeytin

yaprağının kimyasal bileşiminin, zeytin çeşidi, iklim koşulları, ağacın yaşı, lif oranı, tarımsal uygulamalar, genetik, sıcaklık ve ekstraksiyon prosedürleri gibi faktörlerden etkilendiğini, fenolik bileşiklerdeki geniş kantitatif ve kalitatif değişimlerin aynı zamanda zeytin ağacının biyolojik döngüsüne de bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Oliveira vd. (2021), Portekiz zeytin çeşitlerinde yüksek bir polifenol konsantrasyonu elde etmeyi sağlayan ekstraksiyon prosedürünü daha iyi anlamak için ekstraksiyon süresi, etanol yüzdesi ve örnek-çözücü oranları olmak üzere üç bağımsız değişken incelemişlerdir. Yanıt olarak toplam fenolik madde, toplam flavonoidler ve antioksidan aktiviteyi (ABTS ve DPPH) kullanmışlardır. Optimum verimi 6 saat, %50 etanol ve 1:20 örnek:çözücü koşullarında sağlamışlar ve koşullarda 'Negrinha do Freixo' çeşidinin yapraklarında toplam fenolik maddeyi 40.14 mg/g, DPPH serbest radikalini giderme etkisini 82.86 mg/g olarak belirlemişlerdir. Belirlenen değerler, bu tez çalışmasındaki ekstraktların fenolik madde ve antioksidan aktivitesinden daha düşüktür.

#### 4.2. Zeytin yaprağının enkapsülasyonu ve enkapsüle tozların antioksidan özellikleri

Zeytin yaprağı ekstraktı, koyu kahverengi renkte ve acı tattadır. Bu ekstrakt, çok çeşitli sağlık yararları ile doğal tıbbın bir parçası olarak kullanılmaktadır. Kan basıncını düşürme, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemlerini destekleme gibi faydalı özelliklere sahip polifenollerce zengin olan yaprak ekstraktı, geleneksel olarak bitkisel bir takviye olarak kullanılmaktadır (Borjan vd., 2020). Acı tadı nedeniyle tüketimi zor olan ekstraktan önce yağsız süt tozu ile %15 kurumadde içerecek şekilde emülsiyon hazırlanmış, sprey kurutucu ile kurutularak kapsüle zeytin yaprağı tozları elde edilmiş, beyaz çikolatada yağsız süt tozu ile ikame edilerek kullanılabilecek hale gelmiştir.

Kapsüle zeytin yaprağı tozunun çözünürlük değeri, su aktivite değeri ve renk ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) değerleri Tablo 4.4.'de belirtilmiştir.  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla 86.56, 0.48, 11.99 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4. Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı tozunun bazı fiziksel özellikleri

| Parametre                  | Miktar     |
|----------------------------|------------|
| Kuru Madde, %              | 95.80±0.05 |
| Çözünebilirlik Yeteneği, % | 98.60±0.02 |
| $L^*$                      | 86.56±0.14 |
| $a^*$                      | 0.48±0.17  |
| $b^*$                      | 11.99±0.20 |
| Su aktivitesi ( $a_w$ )    | 0.38±0.02  |

Nar ekstraktı tozunu sprey kurutma ile kapsüle edildiği bir çalışmada; nem içeriğinin %3.79 ile %6.02 arasında değiştiği belirlenmiştir (Kaderides vd., 2015). Goula vd. (2004), sprey kurutma ile elde ettikleri domates tozları nem içeriklerinin %4.16-11.27 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı tozu nem içeriği %4.2 su aktivite değeri 0.38 olarak bulunmuştur.

Çoğu gıda katkı maddesi ve ingrediyen toz halinde sunulur ve kullanımdan önce yeniden sulandırılmalıdır. Bu nedenle, suda çözünabilir formda olması birçok gıda formülasyonu için temel özelliklerdir. Neves vd. (2019), sprey kurutma ile zerdeçal ekstraktının süt tozu ile enkapsülasyonu sonucu çözünürlük özelliklerinin % 95.77 ile 95.96 aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı tozu çözünürlüğü %98.6 olarak belirlenmiştir.

### **4.3. Çikolata Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

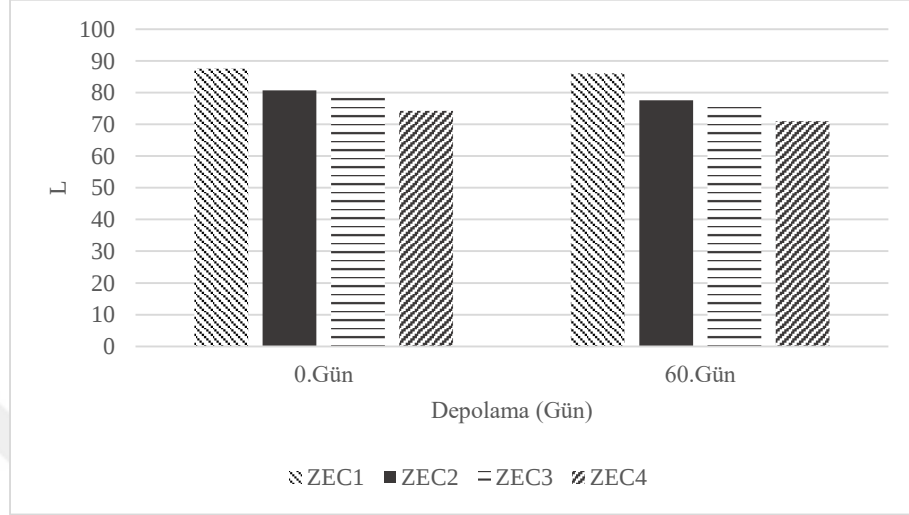
#### **4.3.1. Renk Analizi**

Renk, tüketiciler tarafından ilk olarak fark edilen ve tüketici beğenisini önemli düzeyde etkileyen bir özelliktir. Özellikle beyaz çikolata gibi bir üründe, net bir renk beklentisi, bu çalışmada olduğu gibi yapılan zenginleştirme işleminin, zenginleştirme ajanı olarak katılan bileşenin ürün renginde meydana getireceği değişikliği daha da önemli kılmaktadır.

Günümüze kadar, özellikle beyaz çikolatanın albenisini artırmak için farklı katkılar yapılmıştır. Lončarević vd. (2018), enkapsüle böğürtlen suyunu beyaz çikolata üretiminde kullanarak mor renkte çikolata üretmişlerdir. Biyoaktif bileşenler yanında pigmentlerce de zenginleştirmişlerdir. Lončarević vd. (2019), enkapsüle yeşil çayı beyaz çikolata üretiminde kullanarak yeşil renkte çikolata üretmişlerdir. Bu çalışmada, enkapsüle zeytin yaprağı ekstraktının ilavesi renk parametrelerinde önemli değişmelere yol açmış, bu değişim depolama süresince de devam etmiştir ( $p<0.05$ ). Renge ait sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir.

Renk ölçümü sonuçlarına göre;  $L^*$  değerinde kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstrakt oranı arttıkça belirgin düşüş tespit edilmiştir. En yüksek  $L^*$  değeri 0. Gün 87.55 ile kontrol örneğinde, en düşük  $L^*$  değeri ise 60.Gün 71.05 ile en yüksek kapsüllenmiş yaprak oranına sahip olan ZEC4 örneğinde ölçülmüştür. Kapsüllenmiş yaprak ilavesi ve kapsüllenmiş yaprak oranının artmasına paralel olarak çikolatada  $L^*$

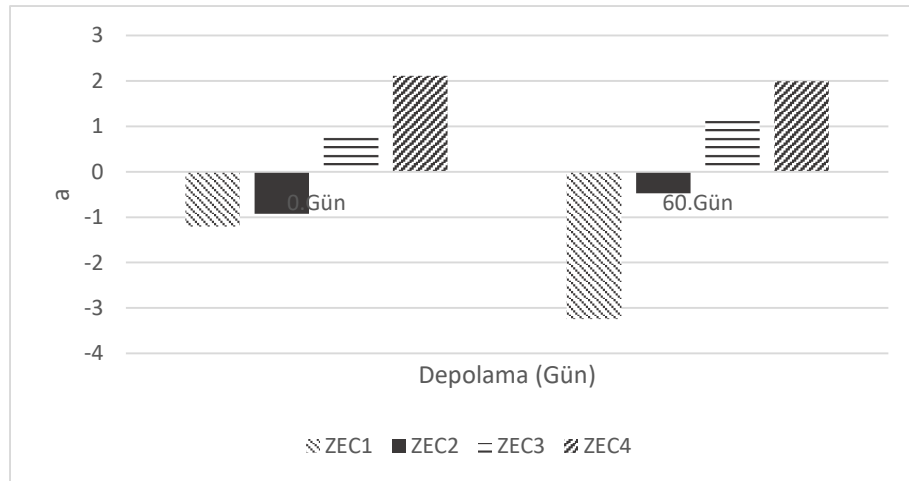
değeri azalmıştır (Şekil 4.1). Bu farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ). Dolayısıyla yaprak ilavesi çikolatada parlaklığın azalmasına ve beyaz çikolatalarda matlaşmaya sebep olmuştur. Ayrıca depolama sonrası tüm çikolata örneklerinin  $L^*$  değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.1.Çikolata örneklerinin depolama süresince  $L^*$  değerindeki değişimleri

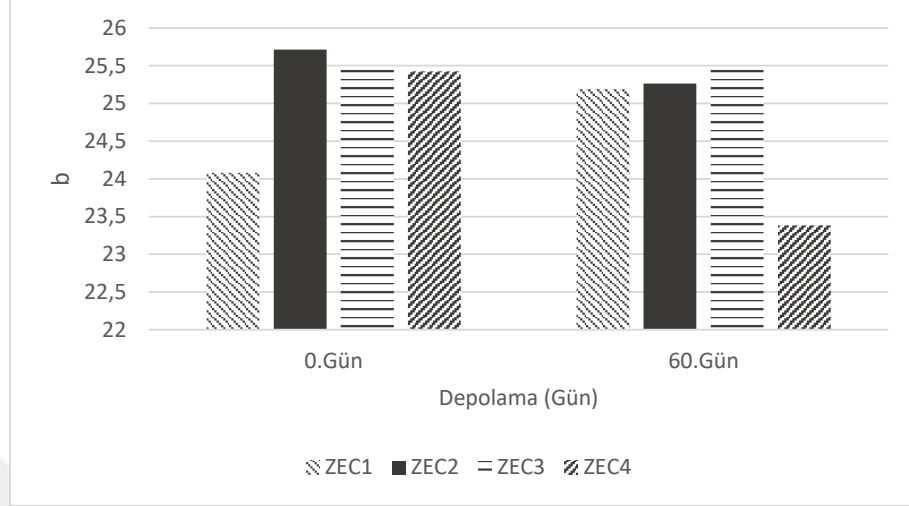
$a^*$  değeri çikolata örneklerinde kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı miktarı arttıkça yükselmiş (Şekil 4.2), ZEC2 ve ZEC3 örnekleri olarak istatistiksel fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.5).



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.2.Çikolata örneklerinin depolama süresince  $a^*$  değerindeki değişimleri

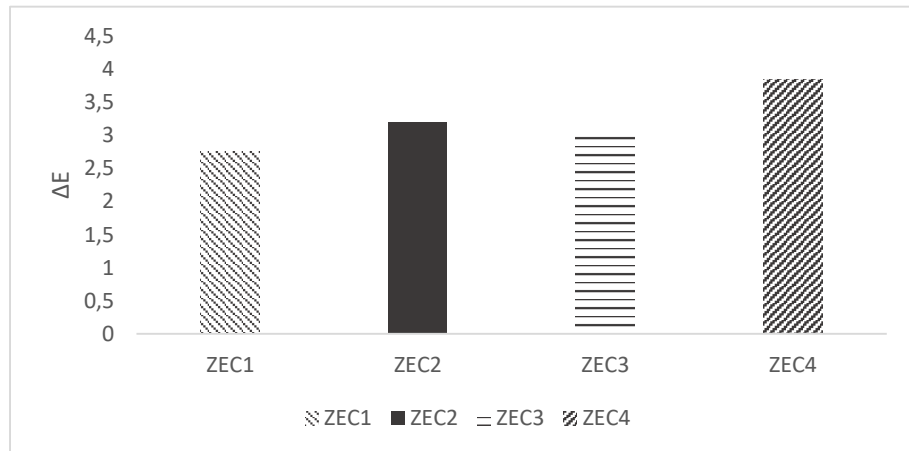
$b^*$  değerlerinde tüm konsantrasyonlarda istatistiksel fark belirlenmemiştir ( $p>0.05$ ). 60 günlük depolama sonunda ise kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı eklenen çikolata örneğinin  $b^*$  değeri diğerlerinden farklı olmuştur (Şekil 4.3).



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.3.Çikolata örneklerinin depolama süresince  $b$  değerindeki değişimleri

Katkısız olan kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda eklenen kapsüle zeytin ekstraktının renkte meydana getirdiği değişim büyüklüğünü belirlemek için  $\Delta E$  değerleri hesaplanmıştır. %3 kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle birlikte toplam renk değişimi  $7.04 \pm 0.07$  olmuştur. % 6 ve 9 ilaveli çikolata örnekleri için ise kontrol grubuna göre sırasıyla  $9.37 \pm 0.53$  ve  $13.73 \pm 0.55$  renkte değişim gözlenmiştir. Depolama ile birlikte ise renkteki değişim Şekil 4.4 'de görüldüğü gibi en fazla ZEC4 örneğinde görülmüştür.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.4.0. Gün ile 60. Gün arasında hesaplanan  $\Delta E$  değeri

Tablo 4.5.Çikolata örneklerinin renk özellikleri

|             | 0. gün                  |                         |            | 60.gün                  |                          |                         |
|-------------|-------------------------|-------------------------|------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | $L^*$                   | $a^*$                   | $b^*$      | $L^*$                   | $a^*$                    | $b^*$                   |
| <b>ZEC1</b> | 87.55±0.99 <sup>a</sup> | -1.21± .22 <sup>b</sup> | 24.08±0.41 | 86.08±0.78 <sup>a</sup> | -3.24±0.14 <sup>d</sup>  | 25.19±0.02 <sup>a</sup> |
| <b>ZEC2</b> | 80.71±0.04 <sup>b</sup> | -0.93±0.01 <sup>c</sup> | 25.71±0.50 | 77.59±0.70 <sup>b</sup> | -0.48± 0.01 <sup>c</sup> | 25.26±0.83 <sup>a</sup> |
| <b>ZEC3</b> | 78.51±0.52 <sup>c</sup> | 0.83± 0.05 <sup>c</sup> | 25.49±0.14 | 75.46±0.17 <sup>c</sup> | 1.12 ±0.24 <sup>b</sup>  | 25.46±0.37 <sup>a</sup> |
| <b>ZEC4</b> | 74.30±0.50 <sup>d</sup> | 2.11± 0.03 <sup>a</sup> | 25.42±0.64 | 71.05±0.69 <sup>d</sup> | 1.99± 0.09 <sup>a</sup>  | 23.38±0.05 <sup>b</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Muhammad vd. (2018), tarçın özü katılan sütlü çikolatanın  $\Delta E$ 'sinin tüm örnekler için 3'ten küçük olduğu, beyaz çikolatanın ise 3'ten büyük olduğu belirlemişlerdir. Bu çalışmada,  $\Delta E$  değeri ZEC1, ZEC2 ve ZEC3 örneklerinde 3'ün üzerindeyken, ZEC1 kontrol örneğinde 3'ün altında bulunmuştur. Sonuç olarak; tüm örnekler değerlendirildiğinde 60 günlük depolama sonunda ilk güne göre renk farkının arttığı görülmüştür. Lončarević vd. (2019), enkapsüle yeşil çay eklenerek üretilen beyaz çikolatalarda, çay oranı arttıkça renkte önemli değişim belirlemişlerdir. Üretim dışında depolama süresince de renkte değişim devam etmiştir. Katkısız kontrol gruplarının  $L$  değeri 6. aya kadar düşüş gösterirken kapsüllenmiş yeşil çay eklenenlerde 6. aya kadar neredeyse sabit kalıp sonra artış göstermiştir. Bu artışın depolama sırasında kakao yağının kristal yapısındaki değişikliklerden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Jovanovic vd. (2022b), beyaz çikolataya enkapsüle böğürtlen suyu ilavesi yapmışlardır. İlaveyle birlikte çikolataların  $L^*$  değerleri düşmüştür. Böğürtlen suyu kapsülü önemli ölçüde yüksek  $a^*$  değerine sahip olduğu için zenginleştirilmiş çikolatalarda eklenen konsantrasyonlara göre kırmızı tonu artırdığını,  $b^*$  değerini ise enkapsüle böğürtlen suyu ilavesiyle önemli ölçüde azalttığını ifade etmişlerdir.

#### 4.3.2. Toplam Fenolik Madde Tayini, DPPH Serbest Radikalini Giderme Etkisi

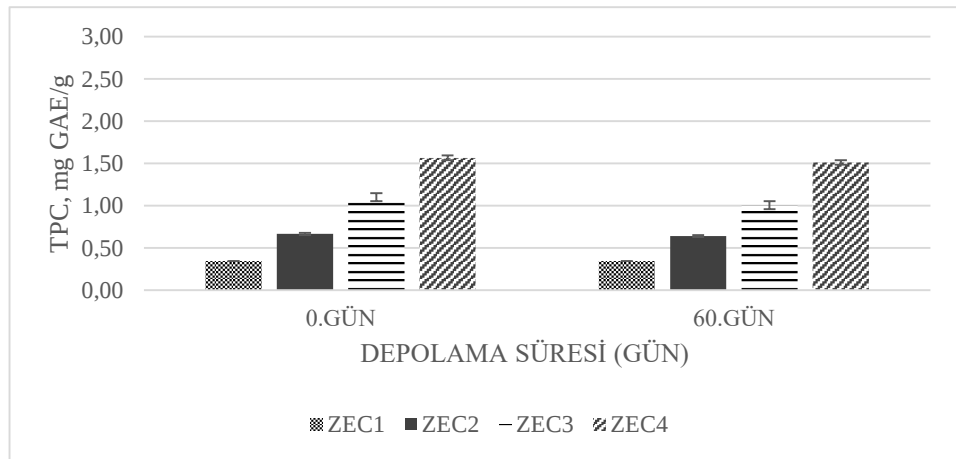
Bu çalışmada, fenolik bileşen içeren zeytin yaprağı ekstraktı süt tozu ile kapsüle edilerek çikolatalara fonksiyonel özellik kazandırılması amacıyla katılmıştır. Beyaz çikolata bileşiminde kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı miktarı arttıkça doğal olarak toplam fenolik miktarı da artmıştır (Tablo 4.6).

Yapılan çalışmada çikolata örneklerindeki fenolik madde miktarları 0.34-1.56 mg GAE/g aralığında değişiklik göstermiştir. En yüksek fenolik madde miktarı 0. Gün ZEC4 örneğinde 1.56 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. En düşük fenolik madde içeriği kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmemiş (kontrol örneğinde) belirlenmiştir. Artan konsantrasyonlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı içeren örneklerin fenolik madde içeriğinin arttığı (Şekil 4.5), bu artışın istatistiksel önemli (Tablo 4.6) olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu ve artan oranlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı içeren örneklerin 0. gün fenolik madde içeriği ile 60. gün fenolik madde içerikleri arasında beklendiği üzere önemli bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ).

Tablo 4.6.Zeytin Yaprığı Ekstraktlı Çikolata Örneklerine Ait Fenolik Madde Miktarı Değerleri (mg GAE/g)

| Örnek | 0.gün                  | 60.gün                 |
|-------|------------------------|------------------------|
| ZEC1  | 0.34±0.21 <sup>d</sup> | 0.34±0.01 <sup>d</sup> |
| ZEC2  | 0.66±0.21 <sup>c</sup> | 0.64±0.01 <sup>c</sup> |
| ZEC3  | 1.10±0.28 <sup>b</sup> | 1.00±0.01 <sup>b</sup> |
| ZEC4  | 1.56±0.21 <sup>a</sup> | 1.51±0.01 <sup>a</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır, ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.5. Çikolata örneklerine ait TPC değerlerinin depolama sürecindeki değişimleri

Muhammad (2021), tarçın nanoparçacıkları ile zenginleştirilmiş çikolatalarda toplam polifenol içeriği 47.6 µg (epikateşin eşdeğeri)'dan 1060.6 µg (epikateşin

eşdeğeri)'a arttığını; Loncaveric vd. (2019a), kapsüllenmiş yeşil çay ekstresinin beyaz çikolatada antioksidan kapasitesini önemli ölçüde arttırdığını tespit etmişlerdir.

Lončarević vd. (2019b), enkapsüle siyah çay ekstraktını polifenol içeriğini arttırmak amacıyla 100g/kg oranında beyaz çikolatada kullanmışlardır. Araştırmacılar zenginleştirilmiş çikolatadaki (250.18 mg GAE/100 g) toplam polifenol içeriğinin beyaz çikolataya (40.75 mg GAE/100 g) göre 6 kattan fazla arttığını, bununla birlikte siyah çay ekstraktı (1687.64 mg GAE/100g) eklenmiş çikolataların tüketicilerden duysal olarak kabul görmediğini ifade etmişlerdir. Loncaveric (2022), kapsüllenmiş üzüm çekirdeği ekstraktının %10 ve %15 miktarlarında eklenmesiyle, kontrol numunesi ile karşılaştırıldığında toplam fenolik içeriğinin 1.5 ve 2 kat daha arttığını; Jovanovic (2022a), kapsüle yaban mersini %10 oranda ekledikleri beyaz çikolataların toplam polifenol içeriğinin 3.7 kat (0.41-1.10 g GAE kg<sup>-1</sup>), antioksidan kapasitesinin ise 5.2 kat (1.22-6.31mmol TE kg<sup>-1</sup>) arttığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada da zeytin yaprağı ekstraktının bileşiminde bulunan, zeytinin spesifik acılık maddesi olan oleuropein nedeniyle antioksidatif açıdan zenginleştirse de çikolata örneklerine artan konsantrasyonda eklenen kapsüle zeytin yaprağı ekstraktının duysal kabul edilebilirliği azalttığı belirlenmiştir. Kontrol grubunun (ZCE1) TPC değeri 0.34 mg GAE/g iken en yüksek konsantrasyonda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı kullanılan çikolatanın (ZCE4) TPC değeri 1.56 mg GAE/g olarak belirlenmiş, eklenen kapsüle ekstrakt miktarı arttıkça TPC değeri yaklaşık 1.94, 3.24 ve 4.6 kat artmıştır.

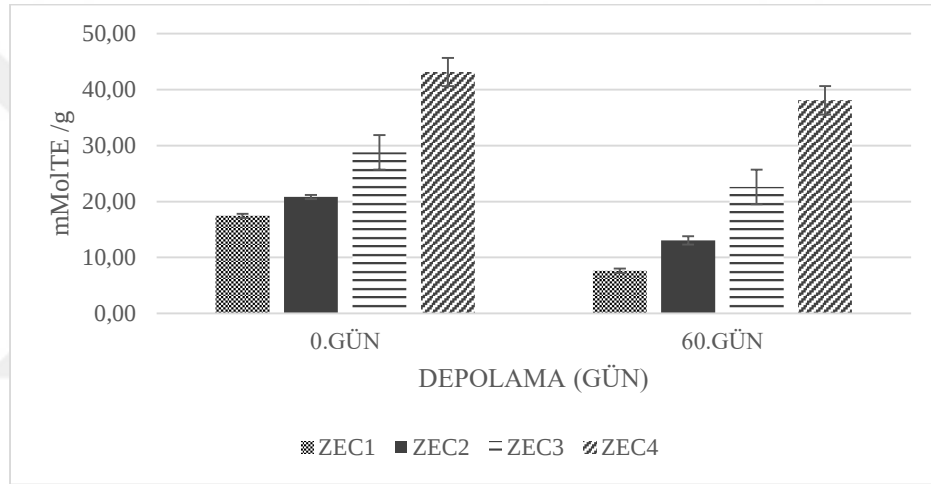
Her bir çikolata örneğinin DPPH metodu kullanılarak trolox cinsinden antioksidan aktivitesi saptanmıştır. Analiz 0. Gün ve 60.gün olmak üzere iki farklı zamanda gerçekleştirilmiştir. Çikolata örneklerine ait DPPH radikalini giderme etkileri Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7.Çikolataların DPPH serbest radikalini giderme etkisi (mmol TE/g )

| Örnek | 0.gün                   | 60.gün                  |
|-------|-------------------------|-------------------------|
| ZEC1  | 17.43±0.38 <sup>d</sup> | 7.60±0.36 <sup>d</sup>  |
| ZEC2  | 20.80±0.40 <sup>c</sup> | 13.03±0.74 <sup>c</sup> |
| ZEC3  | 28.79±0.37 <sup>b</sup> | 22.59±0.74 <sup>b</sup> |
| ZEC4  | 43.13±0.18 <sup>a</sup> | 38.09±0.37 <sup>a</sup> |

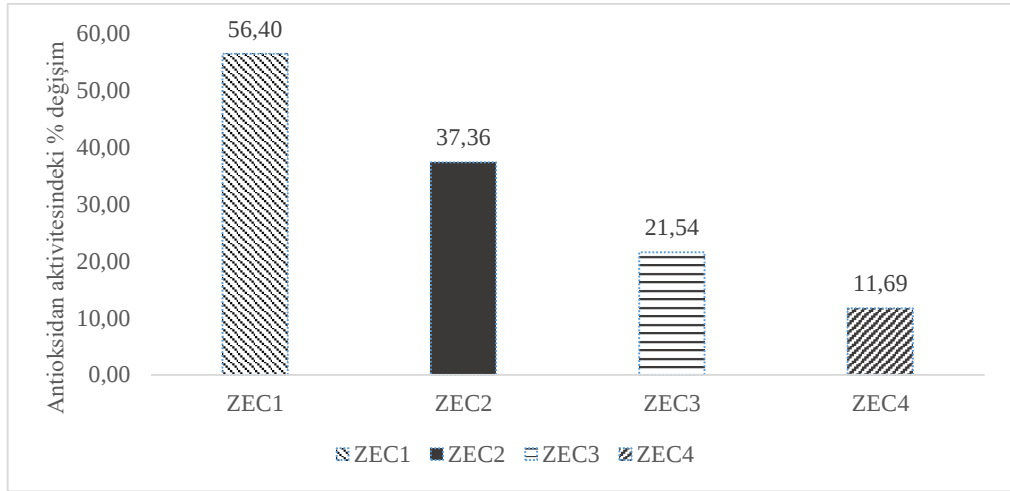
a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır, ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Örneklerin DPPH radikali giderme etkisi değerleri 7.60- 43.13 mmol TE/g arasında bulunmuştur. Ekstrakt ilaveli çikolata örneklerinde en yüksek DPPH değerini 0. Günün ZEC4 örneği alırken, en düşük DPPH değerini 60. günün ZEC1 örneği almıştır. Örnekler baz alındığında, DPPH değerleri arasında önemli istatistiksel farklılıklar görülmüştür ( $p<0.05$ ). Kontrol örneğinde (ZEC1) depolama sürecinde DPPH değerinde önemli bir düşüş olmuştur (Şekil 4.6). Ancak zeytin yaprağı ekstraktı katkılı (ZEC2, ZEC3 ve ZEC4) çikolatalarda artan konsantrasyonla ters orantılı olarak DPPH değerlerinde kontrol örneğine kıyasla daha az kayıp gerçekleşmiştir (Şekil 4.7). Zeytin yaprağı ekstraktının konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, 60 günlük depolamadan sonra antioksidan aktivitesindeki azalma o kadar az olmuştur.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.6.DPPH serbest radikalini giderme etkisi



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.7.60 gün depolamayla DPPH değerlerinde meydana gelen % değişim

Cho vd. (2020), benzer olarak zeytin yaprağı ekstraktı içeren yoğurdun radikal süpürme aktivitesi en düşük kontrol örneğinde olduğunu ekstrakt oranı arttıkça etkinin arttığını tespit etmişlerdir. Polinski vd. (2022), maça çayı ve moringa yaprağının antioksidan özelliklerinden faydalanmak üzere 4 farklı konsantrasyonda (%1-4) beyaz çikolata konçlama veya temperleme aşamalarında ilave etmişlerdir. Beyaz çikolatanın TPC değeri 6.84 mg GA/100 g iken zenginleştirilen beyaz çikolatalarda TPC değeri 11.36 ile 229 mg GA/100 g arasında değişmiştir. DPPH değerleri de beyaz çikolata için 0.21 mmol TE/100 g, diğer konsantrasyonlarda ise 0.42 ile 11.85 mmol TE/100 g arasında belirlenmiştir. Aslında aynı konsantrasyonlarda kullanmalarına rağmen konçlama ve temperleme aşamalarında bu bitkilerin ilavesinin farklı sonuçlar vermesini, zenginleştirmede kullanılan bitkilerin ilave edilme aşamalarının da önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Zeytin bitkisindeki fenolik bileşiklerin çoğunlukla yapraklarda yoğunlaştığı bilinmektedir. Bu çalışmada görüldüğü gibi, kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen çikolata örneklerinin antioksidan özelliklerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tüm çikolata örneklerinde TPC düzeyinde büyük bir değişim gözlenmezken, DPPH değerlerindeki azalış en fazla kontrol grubunda (ZEC1) olurken, kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı kullanım oranı arttıkça DPPH değerlerindeki değişim azalmıştır.

#### 4.3.3. Peroksit Sayısı ve Serbest Asitlik Sayısı Değerleri

Beyaz çikolataya eklenen antioksidan özellikteki kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktının bu etkiyi ne düzeyde gösterdiğini belirleyebilmek için çikolata örnekleri 60 gün depolanmış, peroksit sayısı (Tablo 4.8) ve serbest asitlik (Tablo 4.9) düzeylerine etkisi 0. ve 60.günde belirlenmiştir

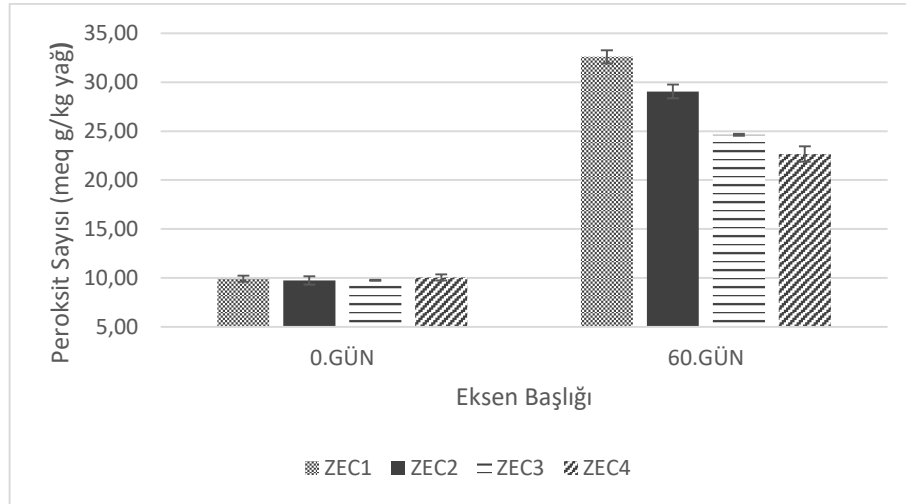
Tablo 4.8.Çikolata örneklerine ait peroksit sayısı (meq g/kg yağ)değişimi

| Örnek | 0.gün                   | 60.gün                  |
|-------|-------------------------|-------------------------|
| ZEC1  | 9.90±0.30 <sup>a</sup>  | 32.60±0.66 <sup>a</sup> |
| ZEC2  | 9.73±0.42 <sup>a</sup>  | 29.06±0.69 <sup>b</sup> |
| ZEC3  | 9.57±0.05 <sup>a</sup>  | 24.61±0.10 <sup>c</sup> |
| ZEC4  | 10.04±0.31 <sup>a</sup> | 22.67±0.78 <sup>d</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır, ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

0. günde kontrol grubunda ve artan oranlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmiş çikolata örneklerinde peroksit sayısı değeri 9.57 ile 10.04 meq g/kg arasında değişmiş, ancak aralarında istatistiksel fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ). 60 günlük depolama sonunda kontrol grubunda ve artan oranlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmiş tüm çikolata örneklerinde peroksit sayısı değeri 22.67 ile 32.60 meq g/kg arasında değişmiştir. Peroksit sayısı değerlerine göre depolama sırasında en büyük değişimin kontrol örneğinde (ZEC1) olduğu belirlenirken en az değişim kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktının en yüksek oranda eklendiği çikolata (ZEC4) örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Çikolata örneklerinin depolama süresince peroksit sayısı değişimleri Şekil 4.8.'de grafiksel olarak belirtilmiştir.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.8.Çikolata örneklerinin depolama süresince peroksit sayısı değişimleri

Bir çok araştırmacı (Boudhrioua vd., 2009; Jemai vd., 2009; Bouaziz vd., 2008; Bayram vd., 2020) zeytin yapraklarının doğal, güvenli ve ucuz bir alternatif antioksidan kaynağı olduğunu, hatta antimikrobiyel etkileri ve lipid oksidasyonunu engellemesi nedeniyle gıdalarda raf ömrünü uzatma özelliğinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da lipid oksidasyonunu önleyici etkisi net olarak görülmüştür.

Tablo 4.9.Çikolata örneklerinin % serbest yağ asitliğindeki değişim

| Örnek | 0.gün                  | 60.gün                 |
|-------|------------------------|------------------------|
| ZEC1  | 1.12±0.08 <sup>b</sup> | 1.57±0.01 <sup>a</sup> |
| ZEC2  | 1.34±0.01 <sup>a</sup> | 1.49±0.08 <sup>a</sup> |
| ZEC3  | 1.32±0.50 <sup>a</sup> | 1.40±0.04 <sup>a</sup> |
| ZEC4  | 1.31±0.01 <sup>a</sup> | 1.43±0.05 <sup>a</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır, ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Tablo 4.9'dan görüldüğü gibi, 60 günlük depolama süresince, peroksit sayısı değerlerinde olduğu gibi serbest yağ asitliği değerleri içerisinde de en fazla artış kontrol grubunda olmuştur. Buna karşın her bir zeytin yaprağı ekstraktı içeren örneklerin 0. güne nazaran 60. gündeki serbest yağ asitliğinde artış olmuştur. Depolamayla birlikte görülen serbest yağ asitliğindeki artış, yağlarda görülen hidroliz reaksiyonlarından kaynaklanabilir. Çikolata, aslında su içeriği çok düşük bir üründür.

Asitlik değeri, belki de normalde süt tozlarında bulunan psikrotrofik mikroorganizmalar tarafından üretilen ısıya dirençli lipazın yavaş aktivitesi nedeniyle zamanla hafif artmasından kaynaklanmaktadır (Vercet, 2003). Ayrıca oksidasyon reaksiyonları sonucunda bazen trigliserid molekülleri parçalanarak serbest yağ asitleri oluşup asit değerini arttırabildiği gibi, doymamış yağ asitlerinin oksijenle yükseltgenmesiyle bazı aldehit, keton, hidroksiasit, alkol ve küçük moleküllü yağ asitleri gibi bileşikler meydana gelebilir. Bu da serbest yağ asitliği artışına neden olacaktır (Targan vd., 2008).

#### 4.3.4. Sertlik Analiz Sonuçları

Sertlik, çikolatanın tekstürel özelliklerden en önemlisi olup temel kalite özelliğidir. Duyusal algı ile güçlü bir şekilde ilişkili olan sertlik, gıda numunesinde belirli bir deformasyona ulaşmak için gereken kuvvet olarak tanımlanır. Sertlik, çikolatanın "çıtlama" derecesini tanımlar (Muhammad vd., 2018).

Bu çalışmada sertlik değerlerini belirlemek için çikolatalarda TPA analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.10.'de verilmiştir.

Tablo 4.10. Çikolatalara ait sertlik değerleri (g)

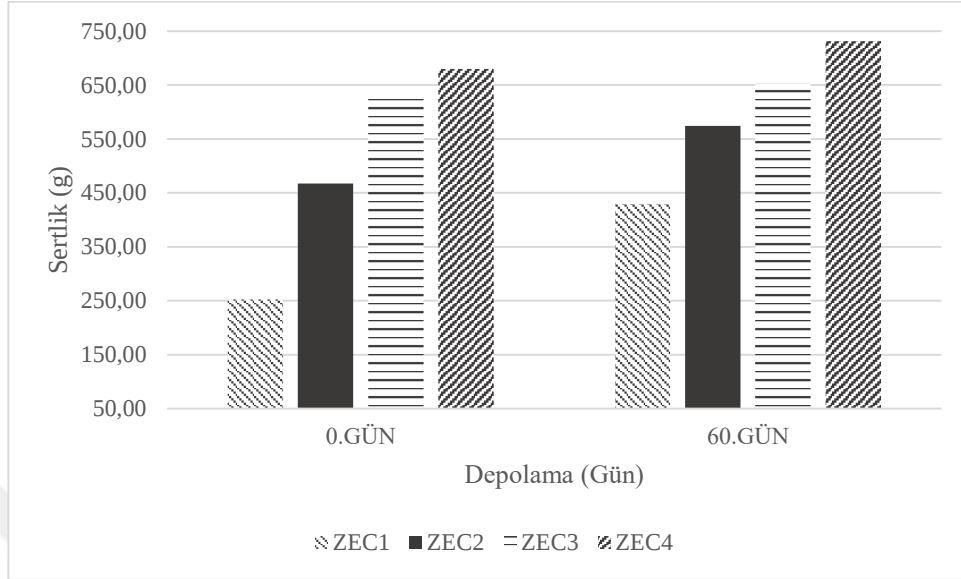
| Örnek | 0.gün                     | 60.gün                    |
|-------|---------------------------|---------------------------|
| ZEC1  | 252.42±2.49 <sup>d</sup>  | 429.27±19.09 <sup>d</sup> |
| ZEC2  | 467.22±16.26 <sup>c</sup> | 574.12±20.42 <sup>c</sup> |
| ZEC3  | 630.98±20.5 <sup>b</sup>  | 652.22±23.71 <sup>b</sup> |
| ZEC4  | 679.62±15.01 <sup>a</sup> | 731.60±25.79 <sup>a</sup> |

a-d: Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler birbirinden farklıdır, ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Sertlik değerleri kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranı arttıkça artmıştır. Aynı zamanda 60 günlük depolama süresi sonunda da sertlik değerleri her örnek için artış göstermiştir. Muhammad vd. (2018), tarçın nanoparçacıkları ile zenginleştirilmiş beyaz ve sütlü çikolatalarda kapsül oranı arttıkça çikolataların daha sert bir yapı kazandığını saptamışlardır ki bu sonuç bizim bulgularımızla uyumludur.

Javanovic (2022), sertlik değerlerini 4.04 kg ile 3.57 kg arasında değiştiğini, %8 kapsüle yaban mersini ilavesinin beyaz çikolatanın sertliğini önemli ölçüde etkilemezken, %10 ilavesinin sertliğini önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) azalttığını

belirlemişlerdir. Çikolata örneklerinin depolama süresince sertlik değeri değişimleri Şekil 4.9.'da grafiksel olarak belirtilmiştir.



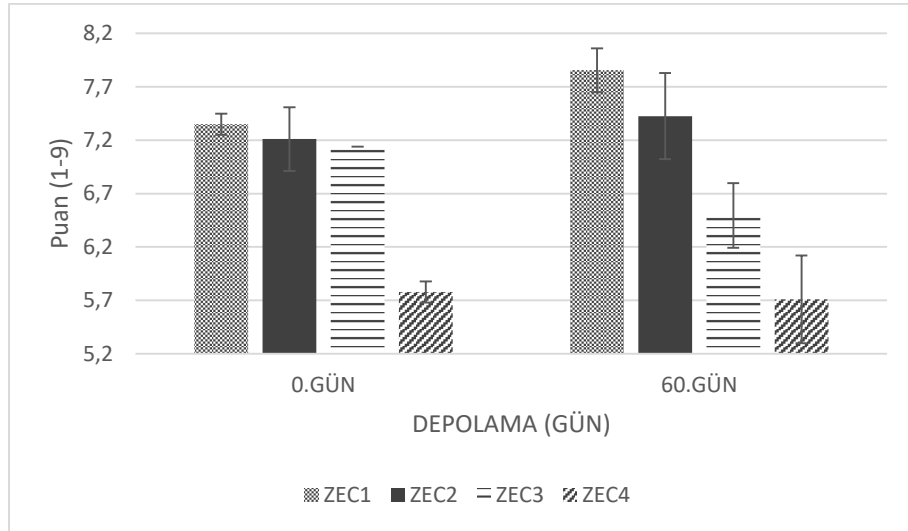
ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.9. Çikolata örneklerinin depolama süresince sertlik değeri değişimleri

#### 4.3.5. Duyusal Analiz Sonuçları

Çikolata insandaki haz merkezlerini harekete geçiren bir besindir. Öncelikle amaçlanan zevk ve bu nedenle, duyuşsal beklenti için kritik bir faktördür. Tüketiciler yeni bir çikolata türü seçerken polifenol bileşiklerin varlığından duyuşsal olarak etkilenecektir (Loncarevic vd., 2018). Çikolata karmaşık çok fazlı bir sistemdir ve bu nedenle inceltme ve konçlama gibi aşamalar, ürünün kıvamını ve parçacık boyutunu şekillendirmek ve belirli bir dokuya, istenilen duyuşsal özelliklere ulaşmadaki önemli adımlardır (Faccineto-Beltrán vd., 2021).

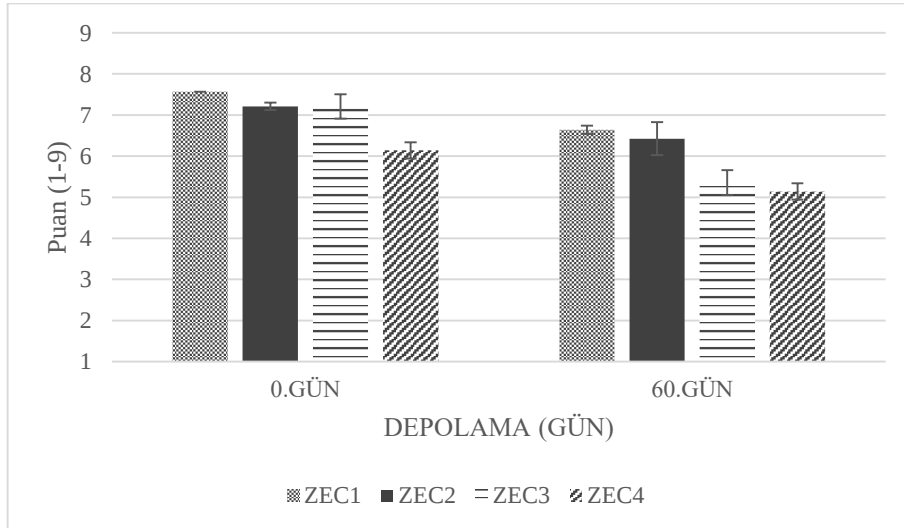
Renk dahil olmak üzere görünüm, ürünün kabul edilebilirliğini etkileyen genel çikolata kalitesini tanımlamada temel parametrelerden biridir (Muhammad vd., 2018). Üretilen çikolatalara ait renk puanları Şekil 4.10'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde; 0. Günde ZEC1, ZEC2 ve ZEC3 örnekleri arasında önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir ( $p>0.05$ ). En az beğeniyi ZEC4, yani en fazla kapsüle zeytin yaprağı katılan çikolata almıştır. Bu örneklerin daha mat olduğu dikkat çekmiştir. Bu durum instrumental renk ölçümüyle de tespit edilmiştir.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.10.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre renk değerlendirilmesi

Görünüm açısından değerlendirildiğinde; çikolata örnekleri için 0. Gün ZEC1, ZEC2 ve ZEC3 örnekleri arasında farkın az olduğu görülmüştür (Şekil 4.11). Depolamayla ZEC1 ve ZEC2 örneklerinin puanlarının birbirine yakın olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, ZEC3 ile ZEC4 örnekleri de 60. Günde yakın puanlar almıştır. En yüksek zeytin yaprağı ekstraktı içeren çikolatalar hem 0. Gün hem de 60. günde en az beğenilen örnek olmuştur.

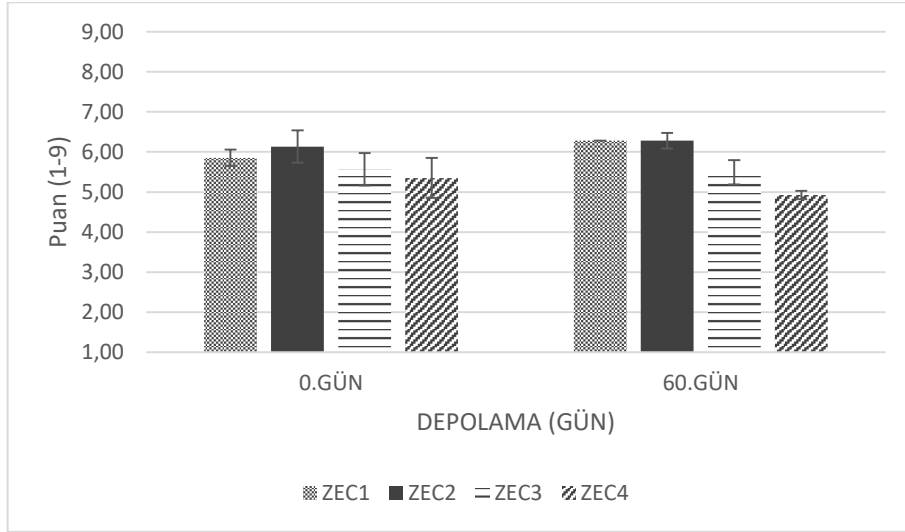


ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.11.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre görünüm değerlendirilmesi

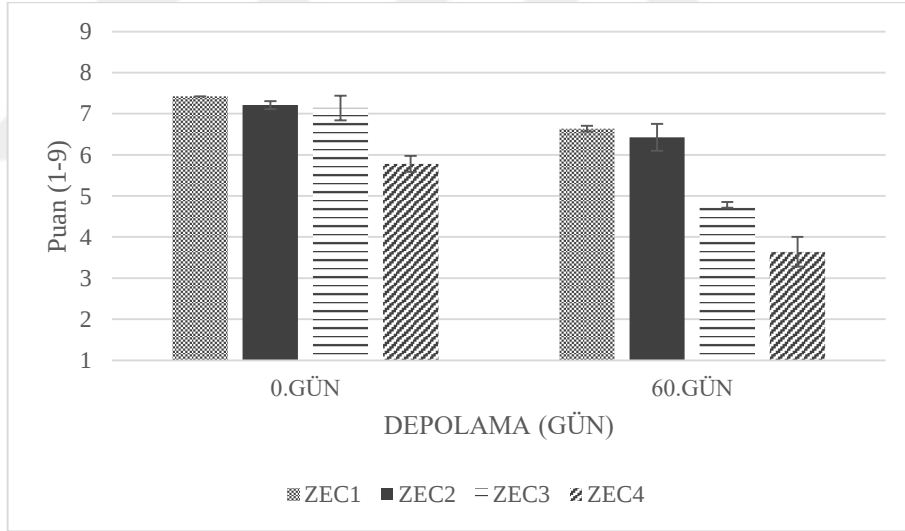
ZEC 1 ve ZEC2 örneklerinde tekstürel açıdan fark az görülse de ZEC3 ve ZEC4 diğer örneklerle göre daha az beğeni almıştır (Şekil 4.12). Instrumental olarak yapılan

tekstür ölçümlerinde zeytin yaprağı oranı arttıkça sertliğin arttığı kaydedilmiştir. Sertlik değerlerindeki artış panelistler üzerine negatif etkili olmuştur.



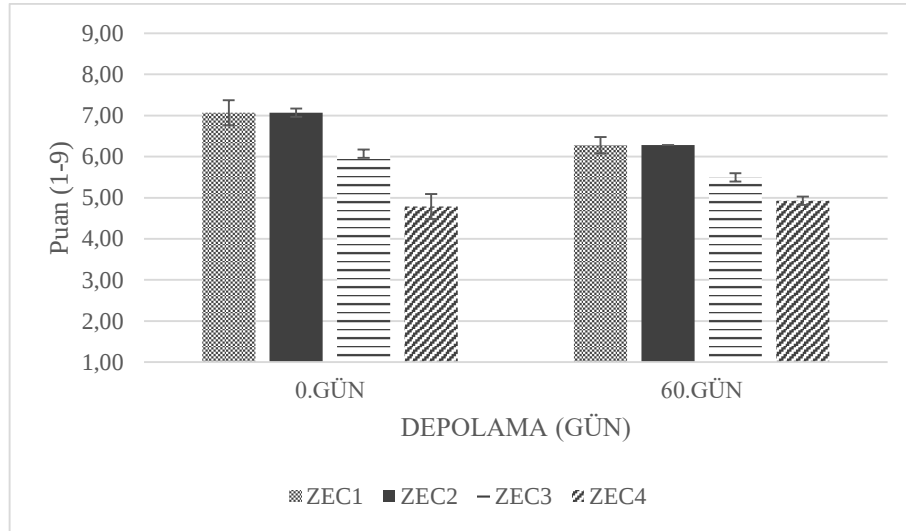
ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.12.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre tekstür değerlendirmesi



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

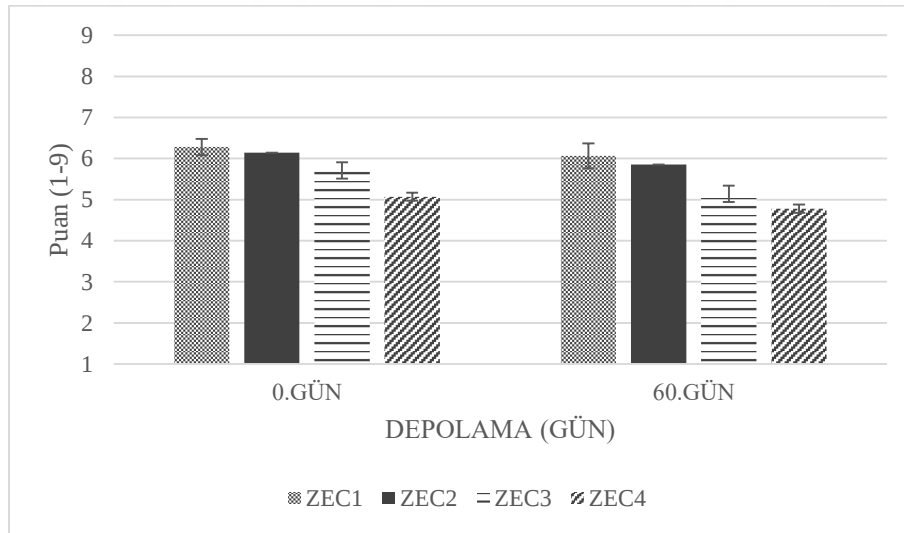
Şekil 4.13.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre tat değerlendirmesi



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.14.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre acılık değerlendirme

Panelistler ZEC1, ZEC2 ve ZEC3 örneklerinde tat beğenisi olarak yakın puanlar vermiş olsalar da ZEC3 ve ZEC4 örneklerinde acılık oranının sırasıyla arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar depolama süresi sonrasında yapılan duyu analizlerde de benzer olarak sonuçlanmıştır (Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15).

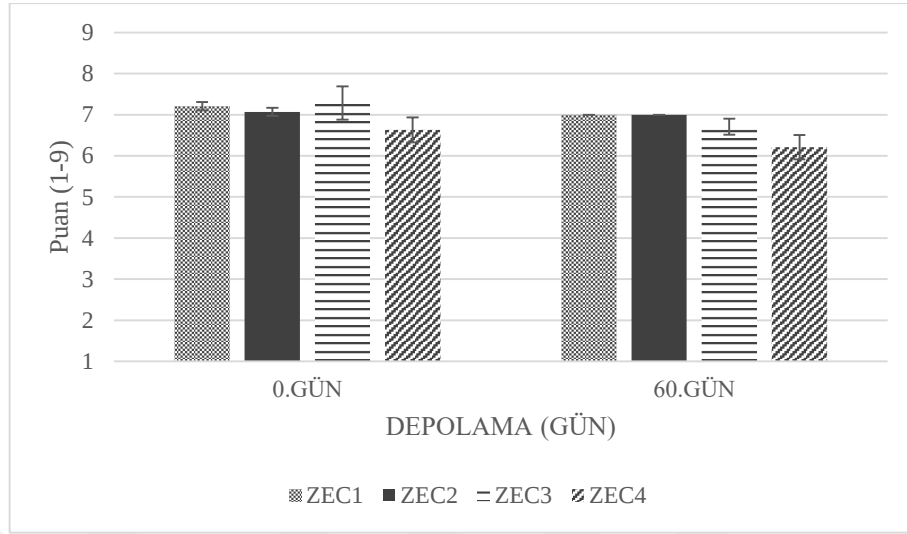


ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.15.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre ağız hissi değerlendirme

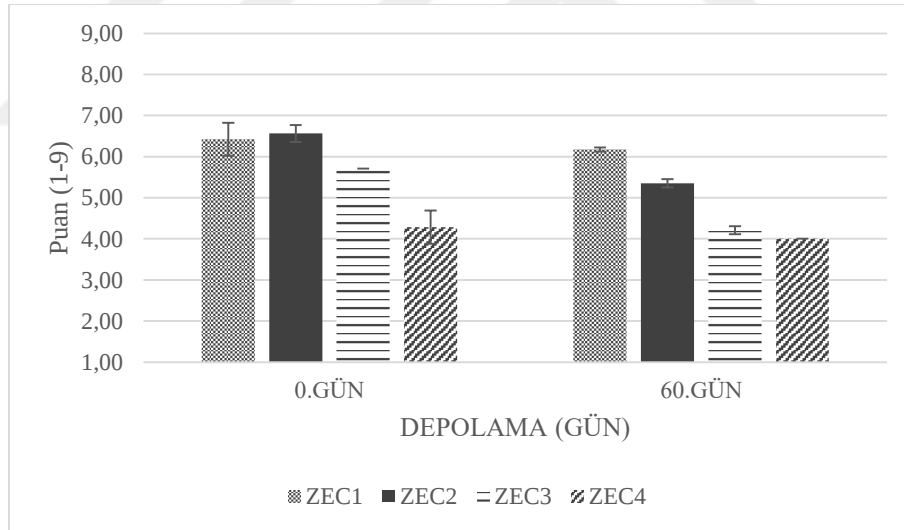
Panelistler tarafından belirlenen çikolata örneklerine ait koku değerlendirme incelendiğinde; 0. Gün ZEC1, ZEC2 ve ZEC3 örnekleri arasında herhangi bir fark

görülme de ZEC4 örneği her iki sürede de dahaz az beğenilen örnek olmuştur. Sonuçlar Şekil 4.16’da görülmektedir.



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

Şekil 4.16.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre koku değerlendirilmesi



ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmeyen örnekler, ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6 oranda ilave edilmiş örnekler, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9 oranda ilave edilmiş örnekler

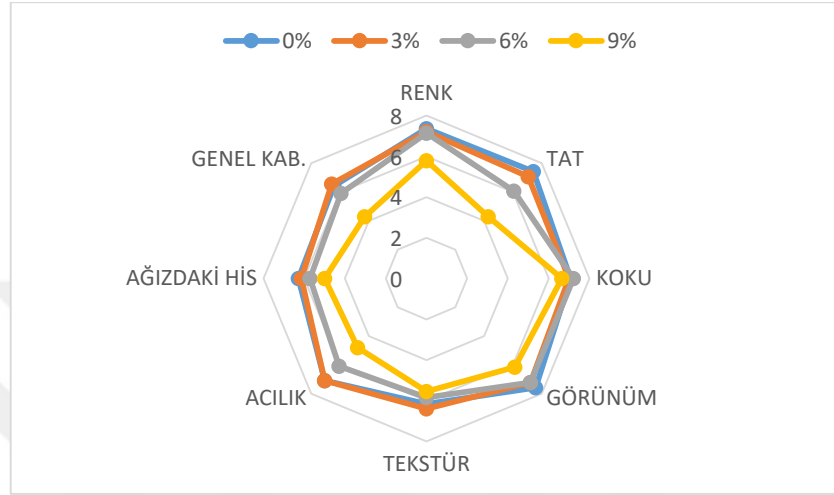
Şekil 4.17.Çikolata örneklerine ait depolamaya göre genel kabul edilebilirlik değerlendirilmesi

Genel kabul edilebilirlik sonuçları incelendiğinde; 0. gün’de kontrol örneği (ZEC1) ile %3 oranda kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı içeren örnek (ZEC2) arasında fark bulunmazken bu fark depolama ile artmıştır (Şekil 4.17).

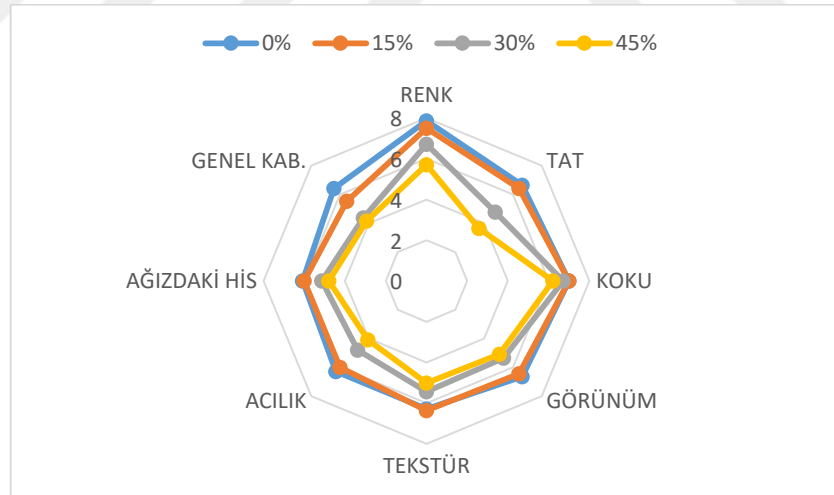
Tüm duyuşsal değerlendirme sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; formülasyonda kullanılan kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı tozu miktarı arttıkça

duyusal olarak genel kabul edilebilirlik azalmıştır (Şekil 4.17). Ancak, kontrol grubuyla %3 kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı tozu kullanılan çikolatada duyusal puanlar arasında pek farklılık görülmemektedir.

Duyusal analiz sonuçlarına ait radar grafikleri Şekil 4.18 (0. Gün) ve 4.19 (60. Gün) belirtilmiştir.



Şekil 4.18.0. Güne ait duyusal analiz radar grafiği



Şekil 4.19.60. Güne ait duyusal analiz radar grafiği

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı katkılı çikolataların üretim parametreleri araştırılmıştır. Zeytin yaprağı süt tozu ile kapsüle edilmiş ve elde edilen tozların özellikleri belirlenerek farklı oranlarda (ZEC1: Zeytin yaprağı ekstraktı %0 (kontrol grubu), ZEC2: Zeytin yaprağı ekstraktı %3, ZEC3: Zeytin yaprağı ekstraktı %6, ZEC4: Zeytin yaprağı ekstraktı %9) yağsız süt tozu ikamesi olarak çikolataya eklenmiştir. Yapılan analizlerle birlikte süt tozuyla kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı ve bu kapsüle edilmiş ekstrakt ile üretilen çikolataların fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri tespit edilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstraktı oranının çikolata örneklerinin renk değerlerine etkisi incelenmiştir. Renk ölçümü sonuçlarına göre;  $L^*$  değerinde kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstrakt oranı arttıkça belirgin düşüş tespit edilmiş,  $a^*$  değeri çikolata örneklerinde kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı miktarı arttıkça yükselmiş ve  $b^*$  değerlerinde ise tüm konsantrasyonlarda istatistiksel fark belirlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

Zeytin yaprağı ekstraktı oranının çikolata örneklerinin fenolik bileşen içeriğine etkisi incelenmiş ve artan konsantrasyonlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı içeren örneklerin fenolik madde içeriğinin arttığı, bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Yapılan çalışmada çikolata örneklerindeki fenolik madde miktarları  $0,34\pm0,01$ - $1,56\pm0,21$  mg GAE/g aralığında değişim göstermiştir. En yüksek fenolik madde miktarı 0. Gün ZEC4 örneğinde  $1,56\pm0,21$  mg GAE/g olarak belirlenmiştir. En düşük fenolik madde içeriği kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmemiş olan kontrol örneğinde belirlenmiştir.

Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranının çikolata örneklerinin DPPH radikalini süpürme yeteneği incelenmiş ve etkisinin  $p<0.05$  düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. Örneklerin DPPH radikali gidertme etkisi değerleri 7.60- 43.13 mmol TE/g arasında bulunmuştur. Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktının beyaz çikolataya eklenmesi ile çikolatadaki antioksidan etkinin (serbest radikal süpürme etkisinin) belirgin bir şekilde arttığı kanıtlanmıştır.

Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranının çikolata örneklerinin peroksit ve serbest asitlik değerlerine etkisi incelenmiş ve artan oranlarda kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmiş tüm çikolata örneklerinde peroksit sayısı değeri  $22.67\pm0.78$  ile  $32.60\pm0.66$  meq g/kg arasında değişmiştir. Peroksit sayısı değerlerine göre depolama sırasında en büyük değişimin kontrol örneğinde olduğu belirlenirken en az değişim

kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktının en yüksek oranda eklendiği çikolata örneğinde olduğu tespit edilmiştir. % Serbest yağ asitliği değerleri 60 günlük depolama süresince, peroksit sayısı değerlerinde olduğu gibi % serbest yağ asitliği değerleri içerisinde de en fazla artış kontrol grubunda olmuştur. Buna karşın her bir zeytin yaprağı ekstraktı içeren örneklerin 0. güne göre 60. gündeki serbest yağ asitliğinde artış olmuştur.

Kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranının ve depolamanın çikolata örneklerinin duyuşal değerlerine etkisi görünüm, tekstür, ağız hissi, koku, tat, acılık, renk ve genel kabul edilebilirlik parametreleriyle değerlendirilmiştir. Yapılan duyuşal analizler sonucunda çikolatadaki kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı oranı arttıkça duyuşal beğeni azalsa da özellikle %3 ve %6 oranlarında kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı eklenen çikolataların tüketici beğenisinden onay aldığı belirlenmiştir. Ayrıca %3 oranda kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı eklenen çikolataların kontrol örneği ile çok benzer duyuşal özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Özellikle zeytin yaprağı ekstraktının bileşiminde yer alan zeytine tipik acı tadı veren oleuropein maddesinin, kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı katkılı çikolata örneklerine taşınmış olması duyuşal beğeniye azaltmış, bu nedenle %9 katkılı olan çikolata örneğinin duyuşal puanı daha düşük olmuştur. Beyaz çikolatanın antioksidan özelliklerini arttırmak, fenoliklerce zengin zeytin yaprağı ekstraktı gibi sağlık açısından kıymetli bir ürünü insanların tüketimine dahil edilebilmesi bu çalışmanın amaçlarından. Ancak duyuşal kabul edilebilirliği iyi olmayan bir ürünü insanların tüketmesi beklenemez. Bitter çikolatanın kendine özgü tadıyla zeytin yaprağı ekstraktının acı tadı daha kolay maskelenebileceği için bitter çikolata formülasyonlarında kapsüle zeytin yaprağı ekstraktı kullanılma imkanları konusunda çalışmalar yapılabilir.

Zeytin yaprağı ve zeytin yaprağı ekstraktına olan talepler gıda maddesi, gıda katkı maddesi ve takviye olarak kullanılmak üzere artmaktadır. Bu sebeple bu çalışma ile zeytin yaprağının fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak, diğer çikolata türlerine göre daha sağlıklı olan beyaz çikolataya katılarak tüketiciye sunulabileceği gösterilmiştir. Uygulanan analizler sonucunda %3 oranında kapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı katılarak hazırlanan çikolataların fonksiyonel özelliklerinin arttığını hem de tüketici beğenisinde onaylandığı belirtilmiştir. Böylece acı tadı sebebiyle günlük tüketimimizde yer almayan zeytin yaprağının, popülaritesi giderek artan çikolata ürünlerine katılarak insanların günlük tüketimine sunulabilme imkanı doğmuştur.

## KAYNAKLAR

- Al-Azzawi, H.F.S. (2004). Biochemical and biological studies on oleuropein and its hypoglycemic effect. Doctoral Dissertation. The Department of Chemistry College of Science of Baghdad University, 232, Baghdad.
- Ackar, D., Lendic, K.V., Valek, M., Šubaric, D., Milićević, B., Babic, J. and Nedic, I. (2013). Cocoa Polyphenols: Can We Consider Cocoa and Chocolate as Potential Functional Food. *Journal of Chemistry*. 7. <https://doi.org/10.1155/2013/289392>
- Aidoo, H., Sakyi-Dawson, E., Tano-Debrah, K. and Saalia, F. K. (2010). Development and characterization of dehydrated peanut–cowpea milk powder for use as a dairy milk substitute in chocolate manufacture. *Food Research International*. 43(1).79-85.
- Afoakwa, E.O., Paterson, A. and Fowler, M. (2007). ‘Factors Influencing Rheological and Textural Qualities in Chocolate-a review’. *Trends in Food Science & Technology*. 18(6).290-298.
- Afoakwa, E.O. (2014). Cocoa Production and Processing Technology. ABD: CRC Press.
- Ahmad-Qasem, M.H., Cánovas, J., Barrajón-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V. (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.
- Anonim (2023a). <https://drmehmetportakal.com/zeytin-yapraginin-8-mucizesi/>
- Anonim (2023b). <https://www.ansiklopedikbilgiler.com/kakao-agaci-nerede-yetisir/>
- Anwar S. H., Weissbrodt J. and Kunz B. (2010). Microencapsulation of Fish Oil by Spray Granulation and Fluid Bed Film Coating. *Journal of Food Science*. 75(6).E359-E371.
- Arai, S. (1996). Studies on Functional Foods in Japan-State of the Art. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 60(1):9-15.
- Araki, R., Fujie, K., Yuine, N., Watabe, Y., Nakata, Y., Suzuki, H., Isoda, H. and Hashimoto, K. (2019). Olive Leaf Tea is Beneficial For Lipid Metabolism in Adults With Prediabetes: An Exploratory Randomized Controlled Trial. *Nutrition Research*. 67.60-66.
- Aroyeun S.O. and Jayeola, C.O. (2011). Potential of Aframomum danielli spice powder in reducing ochratoxin A in cocoa powder. *American Journal of Food and Nutrition*. 1(4).155-165. DOI:10.5251/ajfn.2011.1.4.155.165
- Aroyeun, S. O. and Jayeola, C. O. (2016). Effects of green tea extracts on the caffeine, tannin, total polyphenolic contents and organoleptic properties of milk chocolate. *J.Food Process Technol*. 7(579).2.
- Arvanitoyannis, I.S. and Van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2005). Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current Legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(5).385-404. doi: 10.1080/10408390590967667
- Assi-Clair, B. J., Koné, M. K., Kouamé, K., Lahon, M. C., Berthiot, L., Durand, N. and Guéhi, T. S. (2019). Effect of aroma potential of Saccharomyces cerevisiae fermentation on the volatile profile of raw cocoa and sensory attributes of chocolate produced thereof. *European Food Research And Technology*. 245.1459-1471.
- Barišić, V., Kopjar, M., Jozinovic, A., Flanjak, I., Ackar, D., Milicevic, B., Šubaric, D., Jokic, S. and Babic, J. (2019). ‘The Chemistry Behind Chocolate Production’. *Molecules*. 24(17). 3163.
- Barišić, V., Stokanovic, M. C., Flanjak, I., Doko, K. Jozinovic, A., Babic, J., Šubaric, D., Milicevic, B., Cindric, I. and Ackar, Đ. (2020) Cocoa Shell as a Step Forward to

Functional Chocolates—Bioactive Components in Chocolates with Different Composition. *Molecules*. 25.5470. doi:10.3390/molecules25225470

- Barbaro, B., Toietta, G., Maggio, R., Arciello, M., Tarocchi, M., Galli, A. and Balsano, C. (2014). Effects of The Olive-Derived Polyphenol Oleuropein on Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(10).18508-18524. doi:10.3390/ijms151018508
- Baranauskienė, R., Venskutonis, P.R., KoenDewettinck, K. and Verhe, R. (2006). Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices. *Food Research International*. 39 (4).413-425.
- Bayram, M., Topuz, S. and Kaya, C. (2020). Zeytin Yaprağı Ekstraktı ve Oleuropeinin Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitesi, Gıdalarda Kullanım Olanakları. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 8(2).337-347.
- Bigliardi, B. and Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*. 31(2).118-129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>
- Birtea, A.I., Avrămuș, A., Ivăniș, D.P., Popescu, G.C., Cozma, A. and Velcirov, A.B. (2020). Determination of Proximate Composition for Some Dark Chocolate Types. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 26(4).343-346.
- Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Benković, M., Karlović, S., Hečimović, I., Ježek, D. and Bauman, I. (2012). Innovative Formulations Of Chocolates Enriched With Plant Polyphenols From *Rubus idaeus* L. Leaves And Characterization Of Their Physical, Bioactive And Sensory Properties. *Food Research International*. 48(2).820-830.
- Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Durgo, K., Vojvodić, A. and Bušić, A. (2015). Nettle(*Urtica dioica* L.) extracts as functional ingredients for production of chocolates with improved bioactive composition and sensory properties. *Journal of Food Science and Technology*. 52.7723-7734.
- Borjan, D., Leitgeb, M., Knez, Ž., and Hrnčič, M. K. (2020). Microbiological and antioxidant activity of phenolic compounds in olive leaf extract. *Molecules*. 25(24).5946.
- Boss, A., Bishop, K.S., Marlow, G., Barnett, M.P.G. and Ferguson, L.R. (2016). Evidence to Support the Anti-Cancer Effect of Olive Leaf Extract and Future Directions. *Nutrients*. 8(8).513. doi:10.3390/nu8080513
- Bouaziz, M., Feki, I., Ayadi, M., Jemai, H. and Sayadi, S. (2008). Effect of Storage on Refined and Husk Olive Oils Composition: Stabilization by Addition of Natural Antioxidants from Chemlali Olive Leaves. *Food Chemistry*. 108.253-262.
- Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B. and Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*. 29(2-3).412-419.
- Brahmi, F., Flamini, G., Issaoui, M., Dhibi, M., Dabbou, S., Mastouri, M. and Hammami, M. (2012). Chemical Composition and Biological Activities of Volatile Fractions From Three Tunisian Cultivars of Olive Leaves. *Med. Chem. Res*. 21.2863-2872.
- Carneiro, H.C., Tonon, R.V., Grosso, C.R. and Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*. 115.443–451.
- Chauhan, M.K., Chaudhary, V.S. and Samar, S.K. (2011). Life cycle assessment of sugar industry: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15(7).3445-3453.

- Cho, W.Y., Kim, D.H., Lee, H.J., Yeon, S.J. and Lee, C.H. (2020). Quality characteristic and antioxidant activity of yogurt containing olive leaf hot water extract. *CyTA - Journal of Food* . 18(1). 43-50.
- Choi, M.-J., Soottitantawat, A., Nuchuchua, O., Min, S.-G. and Ruktanonchai, U. (2009). Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion–diffusion method. *Food Research International*. 42(1).148-156.
- Çağındı, Ö. (2009). Ayçiçeği, Keten Tohumu, Yulaf Ve Mürdüm Eriği Kurusu Le Zenginleştirilmiş Sütü, Acı (Bitter) Ve Beyaz Çikolataların Raf Ömrü Boyunca Bazı Fiziksel, Kimyasal Ve Duyusal Özelliklerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, 320, İzmir.
- Desai, K.G.H. and Jin Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*. 23.1361–1394.
- Dean, L.L., Klevorn, C.M., Hess, B.J. (2016). Minimizing the Negative Flavor Attributes and Evaluating Consumer Acceptance of Chocolate Fortified with Peanut Skin Extracts. *Journal of Food Science*. 81 (11): 2824-2830.
- De Leonardis, A., Aretini, A., Alfano, G., Macciola, V. and Ranalli, G. (2008). Isolation of a Hydroxytyrosol-rich Extract From Olive Leaves (*Olea Europaea* L.) and Evaluation of Its Antioxidant Properties and Bioactivity. *Eur. Food Res Technol*. 226.653-659.
- Dobrinčić, A., Repajić, M., Garofulić, I.E., Tuđen, L., Dragović-Uzelac, V. and Levaj, B. (2020). Comparison of Different Extraction Methods for the Recovery of Olive Leaves Polyphenols. *Processes*. 8(9).1008. <https://doi.org/10.3390/pr8091008>
- Doğan, E. (2016). Development Of Heat Resistant Compound Chocolate. M.Sc. Thesis. Istanbul Technical University, Graduate School Of Science Engineering And Technology, 61, Istanbul.
- Efe, R., Soykan, A., Cürebal, İ. ve Sönmez, S. (2013). Dünyada, Türkiye’de, Edremit Körfezi çevresinde zeytin ve zeytinyağı (İkinci Baskı). Edremit Belediyesi Kültür Yayınları, 335, Balıkesir.
- El, S.N. and Karakaya, S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) Leaves: Potential Beneficial Effects on Human Health. *Nutrition Reviews*. 67(11).632–638.
- Erdem, Ö., Gültekin-Özgüven, M., Berktaş, I., Erşan, S., Tuna, H.E., Karadağ, A., Özçelik, B., Güneş, G. and Cutting, S.M. (2014). Development of a novel synbiotic dark chocolate enriched with *Bacillus indicus* HU36, maltodextrin and lemon fiber: Optimization by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*. 56(1).187-193.
- Engeseth, N. J. and Pangan, M. F. A. (2018). Current context on chocolate flavor development- A review. *Current Opinion in Food Science*. 21.84-91.
- Faccineto-Beltrán, P., Gómez-Fernández, A.R., Orozco-Sánchez, N.E., Pérez-Carrillo, E., Marín-Obispo, L.M., Hernández-Brenes, C., Santacruz, A. and Jacobo-Velázquez, D.A. (2021). Physicochemical Properties and Sensory Acceptability of a Next-Generation Functional Chocolate Added with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Probiotics. *Foods*.10(2).333. <https://doi.org/10.3390/foods10020333>
- Farag, R.S., Mahmoud, E.A. and Basuny, A.M. (2007). Use Crude Olive Leaf Juice as Natural Antioxidant for The Stability of Sunflower Oil During Heating. *International Journal of Food Science and Techonology*. 42.107-115.
- Fernandes, V.A., Müller, A.J. and Sandoval, A.J. (2013). Thermal, Structural and Rheological Characteristics of Dark Chocolate with Different Compositions. *Journal of Food Engineering*. 116.97–108.

- Foong, Y. J., Lee, S. T., Ramli, N., Tan, Y. N. and Ayob, M. K. (2013). Incorporation of Potential Probiotic *L. actobacillus plantarum* Isolated from Fermented Cocoa Beans into Dark Chocolate: Bacterial Viability and Physicochemical Properties Analysis. *Journal of Food Quality*. 36(3).164-171.
- Furneri, P.M., Marino, A., Saija, A., Uccella, N. and Bisignano, G. (2002). In vitro antimycoplasmal activity of Oleuropein. *Int. J. Antimicrob. Age*. 20.293-296.
- Gao, X., Björk, L. and Trajkovski, V. M. (2000). Uggla Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (14).2021-2027.
- Ganje, M., Jafari, S.M., Dusti, A., Dehnad, D., Amanjani, M. and Ghanbari, V. (2016) Modeling quality changes in tomato paste containing microencapsulated olive leaf extract by accelerated shelf life testing. *Food Bioprod Process*. 97.12–9. doi: 10.1016/j.fbp.2015.10.002
- Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K.M., Gilani, A.H. and Saari, N. (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 13(3).3291-3340. doi: 10.3390/ijms13033291
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G. and Faria, J.A.F. (2010). Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*. 9.
- Goldsmith, C.D., Vuong, Q.V., Stathopoulos, C.E., Roach, P.D. and Scarlett, C.J. (2014). Optimization of the Aqueous Extraction of Phenolic Compounds from Olive Leaves. *Antioxidants*. 3(4):700-712. <https://doi.org/10.3390/antiox3040700>
- Godóčíková, L., Ivanišová, E. and Kačániová, M. (2017). The influence of fortification of dark chocolate with sea buckthorn and mulberry on the content of biologically active substances. *Advanced Research in Life Sciences*. 1(1).26-31.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*. 15.(7-8).330-347.
- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. and Kazakis, N. A. (2004). Influence of spray drying conditions on tomato powder properties. *Drying technology*. 22(5).1129-1151.
- González, E., Gómez-Caravaca, A.M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Parada, J., Martínez-Férez, A., Segura-Carretero, A. and Robert, P. (2019). Role of maltodextrin and inulin as encapsulating agents on the protection of oleuropein during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*.310.
- Gonzalez-Ortega, R., Faieta, M., Di Mattia, C.D., Valbonetti, L. and Pittia, P. (2020). Microencapsulation of olive leaf extract by freeze-drying: Effect of carrier composition on process efficiency and technological properties of the powders. *Journal of Food Engineering*. 285.110089.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sarıçoban, C. (2012). Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. *Electronic Journal of Food Technologies*. 7(1). 36-50.
- Gunstone, F. D. (2001). *Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents In: Structured and Modified Lipids*. 401. NY: CRC Press.
- Gupta, N., Ravindra, U. and Hanagi, C. (2022). Standardization and Nutrient Analysis of  $\beta$ -Carotene Enhanced Chocolate. *Pharma Innov. J*. 11.41-45.
- Han, J., Talorete, T.P.N., Yamada, P. and 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

- Hasler, C.M. (2000). The Changing Face of Functional Foods. *Journal of the American College of Nutrition*. 19(5).499-506. doi: 10.1080/07315724.2000.10718972
- Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M.N. and Kerry, J.P. (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*. 84.613–620.
- Henry, C.J. (2010). Functional Foods. *European Journal of Clinical Nutrition*. 64.657–659. doi:10.1038/ejcn.2010.101
- Ilmi, A., Praseptianga, D. and Muhammad, D.R.A. (2017). Sensory Attributes and Preliminary Characterization of Milk Chocolate Bar Enriched with Cinnamon Essential Oil. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 193.012031. doi:10.1088/1757-899X/193/1/012031
- Jahurul, M.H.A., Zaidul, I.S.M., Norulain, N.A.N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., Sharif, K.M. and Mohd Omar, A.K. (2013). Cocoa Butter Fats and Possibilities of Substitution in Food Products Concerning Cocoa Varieties, Alternative Sources, Extraction Methods, Composition and Characteristics. *Journal of Food Engineering*. 117(4).467–476.
- Jafari, S. M., He, Y. and Bhandari, B. (2007). Role of powder particle size on the encapsulation efficiency of oils during spray drying. *Drying Technology*. 25(6).1081-1089.
- Jovanović, P., Pajin, B., Lončarić, A., Jozinović, A., Petrović, J., Fišteš, A., Zarić, D., Šaponjac, V.T., Ačkar, Đ. and Lončarević, I. (2022a). Whey as a Carrier Material for Blueberry Bioactive Components: Incorporation in White Chocolate. *Sustainability*. 14(21).14172. <https://doi.org/10.3390/su142114172>
- Jovanović, P., Pajin, B., Lončarić, A., Jozinović, A., Petrović, J., Fišteš, A., Zarić, D., Šaponjac, V.T., Ačkar, Đ. and Lončarević, I. (2022b). Whey as a Carrier Material for Blueberry Bioactive Components: Incorporation in White Chocolate. *Sustainability*. 14(21).14172.
- Jemai, H., El Feki, A. and 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.
- Karrar, E., Mahdi, A. A., Sheth, S., Ahmed, I. A. M., Manzoor, M. F., Wei, W. and Wang, X. (2021). Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gourd seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*. 171.208-216.
- Kaur, S. and Das, M. (2011). Functional Foods: An Overview. *Food Science Biotechnology*. 20(4).861-875. doi:10.1007/s10068-011-0121-7
- Kaderides, K., Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G. (2015). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 31.204–215.
- Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Škrabal, S., Vojvodić, A. and Bušić, A. (2013). The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT-Food science and Technology*. 53(1).360-369.
- König, J. (2016). Functional Foods. *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 10.1002/14356007.d12\_d01.pub2
- Köçkar, F., Aydoğan Türkoğlu, S. ve Aydın, M. (2010). Oleuropein'in Prostat (PC-3), Meme (MCF-7) ve Hepatoma (HEP3B) Kanseri Hücrelerinde Anti-Tümör Etkisinin Belirlenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 3(2).185-190.

- Kiritsakis, K., Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. and Gerasopoulos, D. (2018). Valorization of Olive Leaves: Spray Drying of Olive Leaf Extract. *Waste Biomass Valor.* 9.619-633. doi: 10.1007/s12649-017-0023-x
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal.*13(1).3-13.
- Latimer Jr, W.L. (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th Edition, Washington DC, USA.
- Lee, O.H. and B.Y. Lee. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technolgy.* 101(10).3751-3754.
- Lee-Huang, S., Zhang, L., Huang, P.L., Chang, Y.T. and Huang, P.L. (2003). Anti-HIV Activity of Olive Leaf Extract (OLE) and Modulation of Host Cell Gene Expression by HIV-1Infection and OLE Treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 307(4).1029–1037.
- Leonardis, A., Aretini, A., Alfano, G., Macciola, V. and Ranalli, G. (2008). Isolation of a Hydroxytyrosol-rich Extract From Olive Leaves (*Olea Europaea* L.) and Evaluation of Its Antioxidant Properties and bioactivity. *Eur Food Res Technol.* 226.653–659.
- Liu, Y., McKeever, L.C. and Malik, N.S.A. (2017). Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against Foodborne Bacterial Pathogens. *Frontiers in Microbiology.* 8.113. doi: 10.3389/fmicb.2017.00113
- Lončarević, I., Pajin, B., Fišteš, A., Šaponjac, V.T., Petrović, J., Jovanović, P., Vulić, J. and Zarić, D. (2018). Enrichment of White Chocolate With Blackberry Juice Encapsulate: Impact on Physical Properties, Sensory Characteristics and Polyphenol Content. *LWT - Food Science and Technology.* 92.458–464.
- Loncarevic, I., Pajin, B., Šaponjac, V.T., Petrovic, J., Vulic, J., Fišteš, A. and Jovanovic, P. (2019a). Physical, sensorial and bioactive characteristics of white chocolate with encapsulated green tea extract. *J. Sci. Food Agric.* 99.5834–5841.
- Loncarevic, I., Pajin, B., Petrović, J., Zarić, D., Šaponjac, V.T., Fišteš, A. and Jovanović, P. (2019b). The Physical Properties, Polyphenol Content and Sensory Characteristics Of White Chocolate Enriched With Black Tea Extract. *Food in Health and Disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics.* 8 (2).83-88.
- Lončarević, I., Petrović, J., Teslić, N., Nikolić, I., Maravić, N., Pajin, B. and Pavlić, B. (2022). CocoaSpread with Grape Seed Oil and Encapsulated Grape Seed Extract: Impact on Physical Properties, Sensory Characteristics and Polyphenol Content. *Foods.* 11(18):2730. <https://doi.org/10.3390/foods11182730>
- Madene A., Jacquot M., Scher J. and Desobry S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science & Technology.* 41(1).1-21.
- Mahdavee Khazaei K., Jafari S. M., Ghorbani M. and Hemmati Kakhki, A. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers.* 105.57-62.
- Mahdavi, A.S., Jafari, S.M., Assadpoor, E. and Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules.* 85.379–385.
- Mark-Herbert, C. (2004). Innovation of a New Product Category-Functional Foods. *Technovation.* 24(9).713-719.
- Markin, D., Duek, L. and Berdicevsky, I. (2008). In Vitro Antimicrobial Activity of Olive Leaves. *Mycoses.* 46.132–136.

- Martini, S., Conte, A. and Tagliazucchi, D. (2018). Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. *Food Research International*. 112.1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.020>
- Mcshea, A., Ramiro-Puig, E., Munro, S.B., Casadesus, G., Castell, M. and Smith, M.A. (2008). Clinical Benefit and Preservation of Flavonols in Dark Chocolate Manufacturing. *Nutrition Reviews*. 66(11).630–641.
- Menrad, K. (2003). Market and Marketing of Functional Food in Europe. *Journal of Food Engineering*. 56(2-3).181–188.
- Mirkovic, M., Seratlic, S., Kilcawley, K., Mannion, D., Mirkovic, N. and Radulovic, Z. (2018). The Sensory Quality and Volatile Profile of Dark Chocolate Enriched with Encapsulated Probiotic *Lactobacillus plantarum* Bacteria. *Sensors*. 18.2570.
- Moigradean, D., Poiana, M. A., Gruiescu, R. D., Alda, L. M. and Bordean, D. M. (2022). Developing Of Innovative Value-Added Chocolate Formulas By Rosehip And Carob Powder Incorporation. *International Multidisciplinary Scientific Geoconference: Sgem*. 22(6.2).135-141.
- Monteiro, S., Dias, J., Lourenço, V., Partidário, A., Lageiro, M., Lampreia, C. and Alvarenga, N. (2023). Development of a Functional Dark Chocolate with Baobab Pulp. *Foods*. 12(8).1711.
- Morais-Ferreira, J. M., Azevedo, B. M., Luccas, V. and Bolini, H. M. A. (2017). Sensory profile and consumer acceptability of prebiotic white chocolate with sucrose substitutes and the addition of goji berry (*Lycium barbarum*). *Journal of food science*.82(3).818-824.
- Muhammad, D. R. A., Saputro, A. D., Rottiers, H., Van de Walle, D. and Dewettinck, K. (2018). Physicochemical properties and antioxidant activities of chocolates enriched with engineered cinnamon nanoparticles. *European Food Research and Technology*. 244.1185–1202 <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3035-2>
- Muhammad, D. R. A., Zulfa, F., Purnomo, D., Widiatmoko, C. and Fibri, D.L.N. (2021). Consumer acceptance of chocolate formulated with functional ingredient. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 637.012081. doi:10.1088/1755-1315/637/1/012081
- Muhammad, D. R. A., Tuenter, E., Patria, G.D., Foubert, K., Pieters, L. and Dewettinck, K. (2021). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Cinnamomum burmannii* Blume extracts and their potential application in white chocolate. *Food Chemistry*. 340.127983.
- Munir, M.T., Wilson, David I., Yu, W., Young, B.R. (2018). An Evaluation of Hyperspectral Imaging for Characterising Milk Powders. *Journal of Food Engineering*. 221.1-10.
- Naik, B., Kumar, V. (2014). Cocoa Butter and Its Alternatives: A Reveiw. *Journal Of Bioresource Engineering and Technology*. 1.07-17.
- Neves, M.I.L., Desobry-Banon, S., Perrone, I.T., Desobry, S. and Petit, J. (2019). Encapsulation of curcumin in milk powders by spray-drying: Physicochemistry, rehydration properties, and stability during storage. *Powder Technology*. 345.601–607.
- Oliveira, A. L.S., Gondim, S., Gómez-García, R., Ribeiro, T. and Pintado, M. (2021). Olive leaf phenolic extract from two Portuguese cultivars –bioactivities for potential food and 73 cosmetic application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 9( 5). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106175>.
- Owusu, M. (2010). *Influence of Raw Material and Processing on Aroma in Chocolate*. Ph.D. Thesis. University of Copenhagen, Faculty of Life Science.

- Paiva-Martins, F., Correia, R., Félix, S., Ferreira, P. and Gordon, M. H. (2007). Effects of enrichment of refined olive oil with phenolic compounds from olive leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.55(10).4139-4143.
- Palmeri, R., Monteleone, J., Barbera, A., Maucieri, C., Todaro, A., Giannone, V. and Spagna, G. (2016) Production of functional crackers enriched with olive (*Olea europaea* L.) leaf extract 18th international conference on food processing technology and supplements. GB.
- Pirouzian, H.R., Konar, N., Palabiyik, I., Oba, S. and Toker, O.S. (2020). Pre-crystallization Process in Chocolate: Mechanism, Importance and Novel Aspects. *Food Chemistry*. 321.126718.
- Pereira, A.P., I.C.R.F. Ferreira, F. Marcelino, F. Valentao, P.B. Andrade, R., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A. and Pereira, J.A. (2007). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*. 12(5).1153-1162.
- Poliński, S., Topka, P., Tańska M., Kowalska S., Czaplicki, S. and Szydłowska-Czerniak, A. (2022). Impact of Bioactive Compounds of Plant Leaf Powders in White Chocolate Production: Changes in Antioxidant Properties during the Technological Processes. *Antioxidants*. 11(752).1-21. <https://doi.org/10.3390/antiox11040752>
- Raghuveer, C. and Tandon, R. V. (2009). Consumption of Functional Food and Our Health Concerns. *Pakistan Journal of Physiology*. 5(1).76-81.
- Rahmanian, N., Jafari, S.M. and Wani, T.A. (2015). Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves. *Trends in Food Science & Technology*. 42(2).150-172.
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Jorge Chavez, J. and Carmen Saenz, S. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*.45.1386–1394.
- Rosa, G. S., Vanga, S. K., Garipey, Y. and Raghavan, V. (2019). Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (*Olea europaea* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 58.102234. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102234>
- Saher, M., Arvola, A., Lindeman, M. and Lahteenmaki, L. (2004). Impressions of functional food consumers. *Appetite*. 42(1).79-89. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2003.07.002>
- Salta, F. N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G. and Andrikopoulos, N. K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*. 13(6).413-421.
- Schantz, B. and Rohm, H. (2005). Influence of Lecithin PGPR Blends on the Rheological Properties of Chocolate. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*. 38.41–45.
- Serrelli, G., Incani, A., Atzeri, A., Angioni, A., Campus, M., Cauli, E., Zurru, R. and Deiana, M. (2017). Antioxidant effect of natural table olives phenolic extract against oxidative stress and membrane damage in enterocyte-like cells. *Journal of Food Science*. 82(2). 380-385. doi: 10.1111/1750-3841.13613
- Sifaoui, I., Chammem, N., Abderrabba, M. and Mejri, M. (2016). Optimization of Phenolic compounds Extraction from Olive Leaves using Experimental Design Methodology. *J. Mater. Environ. Sci*. 7(4).1119-1127.
- Silva, S., Gomes, L., Leitão, F., Coelho, A.V. and Vilas Boas, L. (2006). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves. *Food Science and Technology International*. 12(5).385-396.

- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3).144-158.
- Stortz, T.A. Marangoni, A.G. (2011). Heat Resistant Chocolate. *Trends in Food Science & Technology*. 22.201-214.
- Sudjana, A.J, D’Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, T.V. and Hammer, K.A. (2009). Antimicrobial Activity of Commercial *Olea europaea* (olive) Leaf Extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 33(5).461-463.
- Svanberg, L., Ahrné, L., Lorén, N. and Windhab, E. (2013). Impact Of Pre Crystallization Process On Structure And Product Properties in Dark Chocolate. *Journal Of Food Engineering*. 114.90-98.
- Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A. and Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*. 77.92-108.
- Tarchoune, I., Sgherri, C., Eddouzi, J., Zinnai, A., Quartacci, M.F. and Zarrouk, M. (2019). Olive Leaf Addition Increases Olive Oil Nutraceutical Properties. *Molecules*. 24.545. doi:10.3390/molecules24030545
- Targan, Ş., Arısoy, K., Abalı, Y. ve Kaya, E. (2008). Ayçiçek Yağının Raf Ömrünün Uzatılmasında Sitrik Asit Ve Fosforik Asidin Antioksidan Etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 10(1).67-75.
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M. (2005). The Phenolic Compounds of Olive Oil: Structure, Biological Activity and Beneficial Effects on Human Health. *Nutrition Research Reviews*. 18(1).98-112. doi: 10.1079/NRR200495
- Torres-Moreno, M., Torrecasana, E., Salas-Salvadó, J. and Blanch, C. (2015). Nutritional Composition and Fatty Acids Profile in Cocoa Beans and Chocolates with Different Geographical Origin and Processing Conditions. *Food Chemistry*. 166.125–132.
- Toker, O.S., Palabiyik, I. and Konar, N. (2019). Chocolate Quality and Conching. *Trends in Food Science & Technology*. 91.446–453.
- Tuenter, E., Sakavitsi, M.E., Rivera-Mondragon, A., Hermans, N., Foubert, K., Halabalaki, M. and Pieters, L. (2021). Ruby Chocolate: A Study of Its Phytochemical Composition and Quantitative Comparison With Dark, Milk and White Chocolate. *Food Chemistry*. 343.128446.
- Türk Gıda Kodeksi, Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği, Tebliğ No: 2005/18
- Türk Gıda Kodeksi, Kakao Ve Çikolata Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2017/29
- Ünlüel, İ. ve Aydın, Ö. (2016). Bir Zeytin Fenoliği Olan Oleuropeinin Sağlığımız Üzerine Etkileri. *Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 6(2).77-81.
- Vercet, A.(2003). Browning of White Chocolate During Storage. *Food Chemistry*. 81:371–377.
- Yıldız, G. ve Uylaşer, V. (2010). Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*. 25(1).131-142.
- Winkelhausen, E., Pospiech, R. and 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.

Zoidou, E., Melliou, E., Moatsou, G. and Magiatis, P. (2017). Preparation of Functional Yogurt Enriched With Olive-Derived Products. *Yogurt in Health and Disease Prevention*. 203-220.



## ÖZGEÇMİŞ

Begüm Ceren DUYAN, Ordu Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği bölümünden 18.01.2019 tarihinde mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

### İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-9608-5111

### Yayınlar:

1. DUYAN, B. C. ve TEKGÜLER, B., 'Important Component Of Olive: Oleuropein', International Online Conferences On Engineering And Natural Sciences, Turkey, July 5-7 2021, s.363
2. DUYAN, B. C. ve TEKGÜLER, B., 'Functional Chocolate', International Online Conferences On Engineering And Natural Sciences, Turkey, July 5-7 2021, s.365
3. DUYAN, B. C. ve TEKGÜLER, B., 'Oleojellerin Çikolata ve Çikolata Ürünlerinde Kullanımı', 12. UBAK, Turkey, 17-18 Aralık 2021, s.266