

Kakao Alkalizasyon Prosesinin Optimizasyonu ve Model Gıda Olarak Sütli Çikolatada
Kullanılması

Sultan Demirci

YÜKSEK LİSANS

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Ekim 2023

Optimization of Cocoa Alkalization Process and Its Use in Chocolate as a Model Food

Sultan Demirci

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Food Engineering

Ekim 2023

Kakao Alkalizasyon Prosesinin Optimizasyonu ve Model Gıda Olarak Sütli
Çikolatada Kullanılması

Sultan Demirci

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Nevzat Konar

Ekim 2023

ONAY

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Sultan DEMİRCİ**'nin YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Kakao Alkalizasyonunun Çikolata Kalite ve Prosesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi ” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Nevzat KONAR

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Nevzat KONAR

Üye: Doç. Dr. İlyas ATALAR

Üye: Doç. Dr. Ömer Said TOKER

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

Prof. Dr.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Nevzat KONAR danışmanlığında hazırlamış olduğum “Kakao Alkalizasyonunun Çikolata Kalite ve Prosesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 13/10/2023

Öğrenci Adı Soyadı

İmza

ÖZET

Bu çalışmada farklı alkali türlerinin ve proses koşullarının az yağlı kakao tozu alkalizasyonu üzerindeki etkileri incelenmiş, ayrıca farklı alkalizasyon koşullarında elde edilen kakao tozlarının sütlü çikolata bileşiminde kullanımının son ürün kalite özelliklerine etkisi tespit edilmiştir. Çalışmanın birinci aşamasında bağımsız değişkenler olarak alkali ajan türleri (NaOH, KOH ve K₂CO₃) seçilmiştir. Bu alkali tuzlarının farklı oranlarda kullanıldığı birinci aşamada Karışım Dizayn yöntemi ile hazırlanan deneme planlarının uygulanması ile alkalize kakao tozları hazırlanmıştır. Tüm örneklerde başlıca alkalizasyon indikatörleri (a*/b*, pH, ve TrMP/TMP) yanıt olarak kabul edilerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Farklı alkali türlerinin alkalizasyon üzerindeki etkisinin incelendiği ilk aşamada pH, a*/b*, TrMP/TMP, renk özellikleri (L*, a*, b*), Sauter mean (D_{3:2}), gevşek yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değişkenleri için anlamlı modeller belirlenmiştir (P<0.05). Bu sonuçlar dikkate alındığında optimum alkali çeşidi NaOH olarak bulunmuştur.

Farklı proses koşullarının alkalizasyon üzerindeki etkilerinin incelendiği ikinci aşamada ise, Yanıt Yüzey Metodu ile belirlenen deneme tasarımına uygun olarak hazırlanan az yağlı kakao örneklerinde alkali olarak ilk aşamadaki optimum ajan olan NaOH kullanılarak kakao tozu örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan kakao tozu örneklerinde bağımsız değişkenler olan alkali konsantrasyonu, süre ve sıcaklığın, bağımlı değişkenlerden pH, renk özellikleri (L*, a*, b*), antioksidan kapasite (DPPH ve ABTS), toplam fenolik madde (TPC), partikül büyüklüğü (D₉₀) ve ıslanabilirlik özellikleri için anlamlı modeller belirlenmiştir (P<0.05).

Birinci ve ikinci aşamada belirlenen optimum noktadaki alkalizasyon koşulları uygulanarak elde edilen alkalize kakao tozları model gıda olarak sütlü çikolatada kullanılmıştır. Kakao tozu alkalizasyon koşullarının, sütlü çikolata fizikokimyasal, reolojik ve duyuşal özellikleri (viskozite, renk, TrMP/TMP oranı, genel beğeni) üzerinde önemli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Anahtar Kelimeler: Alkalizasyon, alkali türleri, kakao tozu, proses koşulları, sütlü çikolata

SUMMARY

In this study, the effects of different alkali types and different process conditions on cocoa alkalization were examined. In the first stage of the study, NaOH, KOH and K₂CO₃ were selected as alkaline agents and in the second stage of study temperature, time and alkali concentration selected as process conditions in different combinations. In all samples, the important alkalization indicators (a*/b*, pH, and TrMP/TMP) were considered as responses and optimization was carried out. In the first phase of the study, where the effect of different alkali types on alkalization was examined, significant models have been determined for pH, a*/b*, TrMP/TMP, color properties (L*, a*, b*), Sauter mean (D_{3:2}), bulk density and tapped density (P<0.05).

In the second stage of alkalization study, where the effects of different process conditions on alkalization are examined significant models have been obtained for pH, color properties (L*, a*, b*), antioxidant capacity (DPPH and ABTS), total phenolic content (TPC), particle size (D90) and wettability properties (P<0.05).

Alkalized cocoa powders which are obtained from in the first and the second stage of alkalization study were used in milk chocolate as a model food. The effects of the alkalized cocoa powders used on the physicochemical, rheological and sensory properties of the prepared milk chocolate were examined. It has been determined that the a*/b* and TrMP/TMP values determined as alkalization indicators vary depending on the use of different alkali salts and process conditions in the prepared milk chocolates, and different alkalization processes can be designed depending on the desired cocoa powder properties.

Key Words: Alkalization, cacao powder, alkali agents, proses conditions, milk chocolate

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın araştırma konusunun belirlenmesinde, uygulanmasında ve tezimin hazırlık aşamasında yardımlarını esirgemeyen, değerli fikirleri ile her zaman yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Nevzat KONAR'a

Deneysel çalışmalarım boyunca katkılarından dolayı başta Doç. Dr. İlyas ATALAR olmak üzere Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üye ve elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmamda ihtiyaç duyduğum her türlü yardım ve desteği sağlayan, kıymetli görüşleri ile yol gösterip her alanda deneyim kazanmamı sağlayan Eti Gıda Ar-Ge Direktörü Serdar MARAŞLI'ya, Eti Gıda Yönetim Kurulu Üyesi Dr. Ahmet GÖRGÜLÜ'ye ve Gıda Araştırma ve Ürün Geliştirme Başkanı Aysun Mirza'ya

Çalışma süresince laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr. Gizem ÜNAY, Emre ÇINAR, Vadet VATANSEVER, Yusuf DEMİR ve başta Dr. Ceren ELMACI olmak üzere Eti Gıda Araştırma ve Analizleri Laboratuvarları Yöneticiliği birimine teşekkürlerimi borç bilirim.

Tüm tez çalışmam boyunca maddi manevi destekleri, sevgileri ve sabırları ile yanımda olan sevgili eşim Metin DEMİRCİ, biricik kızlarım Çağla Nil DEMİRCİ ve Alin Dora DEMİRCİ ve değerli ağabeyim Dr. Doğan SUBAŞIOĞLU'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	4
2.1. Kakao.....	4
2.1.1. Kakaonun botanik ve coğrafik özellikleri	5
2.1.2. Kakao varyeteleri.....	8
2.1.3. Kakao çekirdeğinin bileşimi.....	9
2.1.3.1. Polifenoller.....	14
2.1.4. Kakao çekirdeği işleme süreci.....	16
2.1.5. Kakao Ürünleri.....	20
2.1.5.1. Kakao nibi.....	20
2.1.5.2. Kakao kitlesi.....	21
2.1.5.3. Kakao yağı.....	22
2.1.5.4. Kakao tozu.....	24
2.2. Alkalizasyon.....	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1. Materyal.....	33
3.2. Araştırma Tasarımı.....	34
3.3.1. Alkalizasyon Optimizasyonu.....	34
3.3.2. Çikolata Örneklerinin Hazırlanması.....	38
3.4. Kakao Tozu Analizleri.....	39
3.4.1. Fiziko-Kimyasal Analizler.....	39
3.4.2. Renk Tayini.....	39
3.4.3. Partikül Büyüklük Dağılımı.....	40
3.4.4. Antioksidan Aktivite Kapasitesi Tayinleri.....	40
3.4.4.1. ABTS Yöntemi.....	40
3.4.4.2. DPPH Yöntemi.....	41

İÇİNDEKİLER

3.4.5. Uçucu Bileşen Profili.....	41
3.4.6. Islanabilirlik ve Çözünürlük.....	42
3.4.7. Gevşek ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunlukları.....	43
3.4.8. Akışkanlık (CI) ve Yapışkanlık (HR).....	43
3.4.9. Higroskopite.....	43
3.4.10. Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	43
3.5. Çikolata Analizleri.....	44
3.5.1. Fiziko-Kimyasal Özellikler.....	44
3.5.2. Renk Tayini.....	44
3.5.3. Tekstür Tayini.....	44
3.5.4. Partikül Büyüklüğü Dağılımı.....	45
3.5.5. Erime Profili.....	45
3.5.6. Akış Özellikleri.....	45
3.5.7. Duyusal Analiz.....	45
3.6. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Fiziko-Kimyasal Özellikler.....	50
4.2. Toz Karakteristiği Özellikleri.....	61
4.3. Uçucu Bileşenler, Toplam Fenolik Madde ve Potansiyel Antioksidan Kapasite....	72
4.4. Geliştirilen Alkalize Kakao Tozlarının Sütlü Çikolata Üzerindeki Etkileri.....	83
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	91

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kakao ağacı ve kakao podları.....	5
2.2. Dünyada kakao üretimi ve tüketiminin yoğun olduğu bölgeler ve ülkeler	6
2.3. Kakao podları ve kakao tohumları.....	7
2.4. Kakao varyeteleri.....	9
2.5. Kakao çekirdeğinin iç yapısı	9
2.6. Kakao çekirdeği bileşenleri	10
2.7. Kakao çekirdeği işleme süreç akışı	16
2.8. Kakao çekirdeği fermantasyonu	17
2.9. Güneşte kurutma yöntemleri	18
2.10. Kakao nibi	21
2.11. Kakao likörü	21
2.12. Kakao tozunda pH ve renk ilişkisi.....	26
2.13. Sodyum tuzu türlerinin ve konsantrasyonlarının kakao likörü rengine etkileri	29
2.14. Alkalizasyon prosesi ve kakao tat bileşiklerindeki değişimler.....	31
2.15. Kakao çekirdeğinde bulunan pirazin bileşikleri	32
3.1. Araştırma Tasarımı	34
4.1. Alkalizasyonun 1. aşamasında farklı alkali ajanı kombinasyonlarının kakao tozlarının fiziko-kimyasal özellikler, TrMP/TMP, potansiyel antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde üzerindeki etkisine ait kontur grafiği.....	59
4.2. Alkalizasyonun 2. aşamasında farklı proses koşulu kombinasyonlarının kakao tozlarının fiziko-kimyasal özellikler, TrMP/TMP, potansiyel antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde üzerindeki etkisine ait kontur grafiği.....	60
4.3. Alkalizasyonun 1. aşamasında farklı alkali ajanı kombinasyonlarının toz karakteristik özellikleri ve kakao tozu partikül boyutu üzerindeki etkisine ait kontur grafiği	70
4.4. Alkalizasyonun 2. aşamasında farklı proses koşulu kombinasyonlarının kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri ve kakao tozu partikül boyutu üzerindeki etkisine ait kontur grafiği	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

4.5. Farklı alkali türlerinin etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasına ait desirability optimizasyon kontur grafiği.....	77
4.6. Farklı alkalizasyon koşullarının etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasına ait desirability optimizasyon kontur grafiği	77
4.7. Farklı alkali türlerinin etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasında geliştirilen alkalize kakao tozlarını görselleri.....	78
4.8. Farklı alkalizasyon koşullarının etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasında geliştirilen alkalize kakao tozlarının görselleri	79
4.9. Alkalize kakao tozları ile geliştirilen sütlü çikolata numuneleri.....	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Coğrafik bölgelere göre kakao çekirdeği üretim tonajlar	7
2.2. Farklı coğrafik orijinlere sahip kakao çekirdeklerinin kimyasal bileşimleri.....	11
2.3. Kakao yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	12
2.4. Farklı orijinlere sahip kakao çekirdeklerinde bulunan ve kavurma prosesi ile değişen glukoz, fruktoz ve sakkaroz miktarları (mg/kg).....	13
2.5. Kakao çekirdeğinde bulunan protein miktarlarının fermantasyon ile değişimleri	13
2.6. Farklı coğrafik orijinli kakao tozlarının içerdiği polifenol oranları	15
2.7. Kakao likörü kalite parametreleri	22
2.8. Kakao yağı kalite parametreleri.....	23
2.9. Farklı orijinlere sahip kakao yağlarında bulunan yağ asitleri miktarları.....	23
2.10.Farklı orijinlere sahip kakao yağlarının triaçilgliserol kompozisyonları (%).....	24
2.11.Kakao tozu kalite parametreleri.....	25
2.12.Alkalizasyon prosesini etkileyen parametreler.....	27
2.13. Alkalizasyon prosesinde kullanılan alkali tuzu türleri	28
2.14.Renk gelişiminde etkili olan polifenol değişimleri.....	30
2.15.Alkalize kakao tozunun kullanım alanları	32
3.1. Alkali kombinasyonu optimizasyonu karışım dizayn deneme planı	35
3.2. Alkalizasyon prosesi ikinci aşamasında proses parametreleri optimizasyonu için geliştirilen deneme desenleri	37
3.3. Sütü çikolata örneklerinin bileşimleri (g/100g).....	38
4.1. Alkalizasyon alkali tuz kombinasyonu optimizasyonunda bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki korelasyon katsayıları (r).....	48
4.2. Farklı alkalizasyon koşullarında bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki korelasyon katsayıları (r).....	49
4.3. Kakao tozu alkalizasyonunda alkali tuz kombinasyonlarının fiziko-kimyasal özellikler üzerindeki etkileri.....	56
4.4. Kakao tozu alkalizasyonunda alkalizasyon koşullarının fiziko-kimyasal özellikler üzerindeki etkileri.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

4.5. Farklı alkali tuz kombinasyonlarının kullanılmasıyla elde edilen kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri	67
4.6. Farklı alkalizasyon koşullarının uygulanmasıyla elde edilen kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri.....	68
4.7. Farklı alkali tuzlarının kullanımının kakao tozlarının antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve TrMP/TMP değerleri üzerindeki etkileri	80
4.8. Farklı alkalizasyon proses koşullarının kakao tozlarının antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve TrMP/TMP değerleri üzerindeki etkileri.....	81
4.9. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin fiziko-kimyasal ve reolojik özellikleri.....	85
4.10. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin fiziko-kimyasal, tekstür ve erime profili özellikleri	86
4.11. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin duyuşal özellikleri.....	87
4.12. Optimum alkalizasyon koşullarında hazırlanan kakao tozu ve ticari alkalize kakao tozu içeren sütlü çikolata örneklerinin duyuşal özellikleri.....	87

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°	Derece
°C	Santigrad Derece
a*	Kırmızılık/Yeşillik Değeri
b*	Mavilik/Sarılık Değeri
L*	Parlaklık/Beyazlık Değeri
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
α	Alfa
γ	Gamma
β	Beta

Kısaltmalar

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AC	Alkali Konsantrasyonu
ABTS	2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
atm	Atmosfer (Basınç)
BD	Gevşek Yığın Yoğunluğu
CI	Carr İndeks
cm	Santimetre
D ₁₀	Kümülatif boyut dağılımı eğrisinde %10'daki parçacık boyutu
D ₅₀	Kümülatif boyut dağılımı eğrisinde %50'daki parçacık boyutu
D ₉₀	Kümülatif boyut dağılımı eğrisinde %90'daki parçacık boyutu
D _{4:3}	De Broucker Mean
D _{3:2}	Sauter Mean
dk	Dakika
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EC	Efektör Konsantrasyon
eV	Elektron Volt
g	Gram
GCMS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrumu
HR	Hausner Ratio
HS-SPME	Headspace Solid Phase Microextraction
IC	İnhibisyon Konsantrasyonu
ICCO	Uluslararası Kakao Organizasyonu
IOCCC	Uluslararası Kakao, Çikolata ve Şekerleme Ofisi
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
KOH	Potasyum Hidroksit
KHCO ₃	Potasyum Bikarbonat
K ₂ CO ₃	Potasyum Karbonat
kg	Kilogram
kg.s ⁻¹	Kilogram/Saniye
kob/g	Koloni Oluşturan Birim/Gram
m	Metre
mbar	Milibar
mg	Miligram
MgCO ₃	Magnezyum Karbonat
MgO	Magnezyum Oksit
mm	Milimetre
mM	Milimol
mL	Mililitre
m/m	Kütlece Yüzde
MSD	Kütle Seçici Dedektör
m/v	Kütle Hacim Yüzdesi
m/z	Kütle-Yük Oranı
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Na_2CO_3	Sodyum Karbonat
NH_4HCO_3	Amonyum Bikarbonat
$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	Amonyum Karbonat
NH_4OH	Amonyum Hidroksit
nm	Nanometre
pH	Potansiyel Hidrojen
PGPR	Poligliserol Polirisinolat
r	Korelasyon Katsayısı
R^2	Belirleme Katsayısı
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SFC	Katı Yağ İçeriği
SSA	Spesifik Yüzey Alanı
TAG	Triaçilgliserol
T_{endset}	Erime Bitiş Sıcaklığı (DSC)
TMP	Tetrametilpirazin
T_{onset}	Erime Başlangıç Sıcaklığı (DSC)
T_{peak}	En Fazla Kütleinin Eridiği Sıcaklık (DSC)
TP	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu
TPC	Toplam Fenolik Madde
TrMP	Trimetilpirazin
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
USD	Birleşik Devletler Doları
UV	Ultra Viole
vd	Ve Diğerleri
ΔE	Delta E (Renk Farkı)
ΔH_{melt}	Erime Entalpisi
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
ρT	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu
ρL	Gevşek Yığın Yoğunluğu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kakao, özgün aroma, lezzet ve görünüm özellikleri yanı sıra bileşiminde yer alan başta fenolik maddeler ve alkaloidler nedeni ile sağlık üzerindeki potansiyel etkilerinden dolayı önemli bir bitkisel üründür. Ancak hasat sonrası işlemler ve proses sırasında bu karakteristik özellikler önemli değişimler geçirmektedir. Bu değişimler arasındaki ilişki, kakao ürünlerinin tüketimi için motivasyon unsuru olan karakteristik özellikler arasında da kompleks etkileşimlere dayanmaktadır. Kakao fermantasyonu, kavurma, alkalizasyon ise bu etkileşimlerin gerçekleştiği başlıca proses basamaklarıdır (Palabiyik vd., 2023; Hinneh vd., 2019; Sioriki vd., 2019). Kakao, farklı gıda teknolojilerinde kakao yağı, kakao likörü (naturel ve alkalize) ve kakao tozu (naturel ve alkalize) olarak kullanılır. Bu kakao ürünleri arasında ise kakao tozu en yaygın kullanıma sahip olan üründür. Ancak kakao tozu, çikolata teknolojisi dışındaki alanlarda yaygın olarak kullanılabilmesi, gerçekleştirilen alkalizasyon işleminin bir sonucudur. Bu işlem ile burukluk ve bitter lezzet özellikleri yanı sıra renk gibi kalite özellikleri değişikliğe uğradığı gibi, çözünürlük, yapışkanlık ve akışkanlık gibi teknolojik bazı özelliklerinde de kullanım amacına göre modifikasyonlar söz konusudur.

Kakao ürünlerinin üretimi sürecinde kakaonun kendine has tat, koku ve aroma bileşiklerinin oluşumunun yanı sıra renk özellikleri de belirlenmektedir. Kakao çekirdeğine ve hasat koşullarına bağlı faktörlere ilave olarak kimyasal, enzimatik ve fiziksel dönüşümlerin yaşandığı fermantasyon, kavurma, kurutma ve alkalizasyon prosesleri kakao çekirdeğinin kendine özgü renk, aroma ve tat profillerinin oluşumunda etkilidir (Garcia, 2020). Alkalizasyon prosesi, farklı kakao ürünlerine uygulanabilen, kullanılan alkali türü ve konsantrasyonunun yanı sıra proses sırasında uygulanan sıcaklık, süre ve basınç kombinasyonlarına göre kakaonun renk, tat, koku ve aroma bileşikleri üzerinde değişiklikler oluşturan kimyasal bir prosestir (Sioriki vd., 2021). İlk olarak Hollandalı kimyager Coenraad Van Houten tarafından 1828'de kakao tozunun çözünürlüğünü arttırmak için geliştirdiği alkalizasyon prosesi (Dutching) temel olarak kakao çekirdeğinde bulunan polifenoller, proteinler ve/veya indirgen şekerlerin katıldıkları reaksiyonlar ile ilişkilidir (Moser, 2015; Palabiyik vd., 2023). Kakao çekirdeğinde bulunan protein-polifenol kompleksleri hücre duvarıyla birleşmekte ve suda çözünmeyen yapılar oluşturmaktadır. Alkalizasyon prosesi ile

hücre duvarları hidrolizasyona uğrayıp ester bağları parçalanmakta, sonuç olarak kakao tozunun çözünürlüğü arttırılmaktadır. Dutching prosesinin polifenoller üzerindeki etkileri nedeniyle kakao çekirdeği işleme endüstrisinde kakao türevlerinde açık kahverengi renkten, kırmızı ve koyu siyaha kadar farklı renk tonlarının geliştirilmesi ve naturel kakao türevlerinde bulunan kekremsi buruk, asidik ve bitter aromanın uzaklaştırılması amacıyla kullanılmaktadır (Dyer, 2003).

Uygulanan alkalizasyon proses koşullarına bağlı olarak kakaonun pH'sı değişmekte ve renk, tat ve koku özellikleri modifiye edilmektedir. Genel olarak uygulanan alkalizasyonun derecesi arttıkça renk koyulaşmakta ve prosese koşullarına bağlı olarak koyu kahverengi ve siyah renkler elde edilmektedir (Garcia, 2020). Dolayısıyla kullanılan alkali türünün ve konsantrasyonun büyük önemi bulunmaktadır. Alkalizasyonda sıcaklık uygulaması nedeniyle gerçekleşen Maillard ve karamelizasyon reaksiyonlarının yanı sıra renk, tat ve aroma gelişimlerinden sorumlu olan ana bileşen polifenol bileşikler olup, bu bileşiklerin özellikle oksidasyon reaksiyonlarına katılması ile istenen renk tonları, aroma ve lezzet bileşenleri oluşmaktadır (Li vd., 2012). Bu reaksiyonlar ile yine aynı özellikler üzerinde etkili olan polifenollerin enzimatik oksidasyonu için pH değeri önemlidir. Farklı pH değerlerine sahip kakao tozları ile sonuçlanan alkalizasyon bu nedenle geniş aralıkta değişim gösteren kimyasal ve fiziko-kimyasal özellikler ile karşılaşmamıza neden olur. Ayrıca duyu özelliklerde de değişimler söz konusudur. Kakao çekirdeğinde bulunan veya fermantasyon prosesiyle oluşan bazı bileşikler naturel kakao tadı olarak tanımlanan asidik, bitter, kekremsi ve buruk tatlardan sorumludur. Alkalizasyon prosesinde meydana gelen kimyasal reaksiyonlar ile naturel kakao tadını oluşturan bileşiklerin miktarları azalmakta ve kimyasal dönüşümler gerçekleşmektedir (Aprotosoie vd., 2016).

Alkalizasyon çalışmalarında genel olarak dikkate alınan başlıca proses indikatörleri; pH, a*/b* değeri ve trimetilpirazin/tetrametilpirazin oranıdır (TrMP/TMP) (Palabiyik vd., 2023; Li et al. 2012; Garcia vd., 2020). Ancak diğer karakteristik özellikler de kullanım alanları göz önünde tutularak incelenmektedir. Farklı alkali tuzlarının, bu alkalizasyon indikatörlerine etkilerinin incelendiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda yaygın olarak kullanılan alkaliler (NaOH, KOH ve K₂CO₃) araştırma kapsamına alınmaktadır (Moser, 2015). Elde edilmek istenen son ürün özelliklerine bağlı olarak tercih edilen alkali tuzları değişkenlik göstermektedir. Potasyum tuzları tek başına kullanıldığında

kırmızı, sodyum tuzları tek başına kullanıldığında ise kahverengi ve amonyum tuzları tek başına kullanıldığında siyah tonlarda renk elde edilir. En sık kullanılan potasyum tuzu K_2CO_3 , sodyum tuzu ise NaOH'dir (Garcia vd., 2020). Alkalizasyon prosesinde alkali tuzlarının tek başına kullanımından ziyade kombinasyon şeklinde kullanımları daha yaygın olup, en sık kullanılan kombinasyon KOH ve NaOH tuzlarının birlikte kullanımındır (Rodriguez vd., 2009). Ancak ikiden fazla alkalinin kullanımı ve bu alkalilerin interaksiyonlarının incelendiği çalışma sayısı ise oldukça sınırlıdır. Ayrıca çalışmalar kullanılan alkalinin başlıca alkalizasyon indikatörleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Toz karakterizasyonu da kakao alkalizasyonunda sınırlı çalışılan konulardandır.

Bu çalışmanın amacı, kakao alkalizasyonunda yaygın kullanılan alkali ajanların (NaOH, KOH ve K_2CO_3) ve proses koşullarının (sıcaklık, süre ve alkali konsantrasyonu) başlıca alkalizasyon indikatörleri (a^*/b^* , pH ve TrMP/TMP) yanı sıra fonksiyonel (antioksidan aktivite potansiyelleri ve toplam fenolik madde miktarları), teknolojik (çözünürlük, akışkanlık, yapışkanlık, higroskopite, ıslanabilirlik) ve fiziko-kimyasal özellikler (renk, nem miktarı, su aktivitesi, kül miktarı) yanı sıra partikül büyüklük dağılımı üzerindeki etkilerinin yanıt yüzey metodolojisi ile belirlenmesi ve bu etkilere ait modeller oluşturulmasıdır. Alkalizasyon çalışmalarında geliştirilen bazı alkalize kakao tozları model gıda olarak seçilen sütlü çikolataların hazırlanmasında kullanılmıştır. Kullanılan alkalize kakao tozları kullanılarak geliştirilen sütlü çikolata örneklerinin fiziko-kimyasal, tekstürel, reolojik, erime profili ve duyuşsal özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Theobroma cinsinin bir türü olan kakao (*Theobroma cocoa* L.) kendine özgü aroma ve tat bileşenlerinin yanı sıra ihtiva ettiği kakao yağının karakteristik özellikleri ile dünya genelinde şekerleme ve çikolata endüstrisinin en önemli hammaddelerinden biridir (Kamphuis, 2009). Kakaonun kimyasal kompozisyonu, kakao çekirdeğine uygulanan proses yöntem ve koşulları, coğrafik ve botanik orijin, hasat dönemi ve hasat şekli, iklim koşulları gibi birden fazla parametreye göre değişkenlik göstermektedir (Afoakwa, 2016). Kakao işleme sürecinin farklı aşamalarında üretilen kakao likörü, kakao yağı ve kakao tozu gibi kakao ürünlerinin ticari değeri çok yüksek olup, karakteristik renk, aroma ve tat özellikleri sayesinde çikolata, unlu mamuller, süt ürünleri ve gazlı içecekler gibi farklı hızlı tüketim ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Beckett, 2008).

Kakaonun doğal içeriğinde bulunan asidik, kekremsi ve burukluğa neden olan tat ve aroma bileşenleri ile açık kahverengi pigmentler, kakao çekirdeği işleme sürecinde maruz kaldıkları bir dizi işlem sırasında değişmekte ve farklı aromatik özelliklere ve renk tonuna sahip kakao ürünleri elde edilmektedir (Minifie, 1999). Kakaonun renk, aroma ve tat özelliklerine en fazla etki eden işlem adımlarından biri olan alkalizasyonda (dutching) kakao ürünlerinin alkali ürünlerle muamele edilmesi sonucunda asidik kakao pH'sı yükselmekte ve birçok kimyasal reaksiyon gerçekleşmektedir (Moser, 2015). Bu reaksiyonlar sonucunda kakao çekirdeğinden gelen kekremsi, buruk aroma ve tat uzaklaştırılmaktadır. Daha koyu renk özellikleri oluşmakta, ayrıca kakao katı maddelerinin çözünürlüğü de artmaktadır. Alkalizasyon işlemi ile karakteristik özellikleri ve çözünürlüğü geliştirilen kakao ürünlerinin kullanım alanları her geçen gün artış göstermektedir (Dyer, 2003).

2.1. Kakao

Dünya genelinde şekerleme ve çikolata endüstrisinde yüksek ihracat hacmine sahip olan kakao (*Theobroma cocoa* L.), Güney Amerika'da And Dağları'nın doğusunda ortaya çıkmış ve dönemin seçkin tabakası tarafından tüketildiği için Yunanca "Tanrıların İçeceği" olarak adlandırılmıştır (De Souza vd., 2018). Güney Ekvador'da bulunan son arkeolojik kanıtlar, kakao çekirdeklerinin yerli halk tarafından 5300 yıldan daha uzun süredir

yetiştirildiğini göstermektedir. Şekil 2.1.'de görülen *Theobroma cocoa* tohumları Mayalar, İnkalar ve Aztekler de dahil olmak üzere birçok eski uygarlık tarafından hem gıda bileşeni hem de ticarete para birimi olarak kullanılmıştır (Nair, 2021). Günümüzde ise kakao ve ürünlerinin ekonomik değeri her geçen gün artış göstermekte olup özellikle Batı Afrika, Güney Amerika ve Güney Doğu Asya'da gelişmekte olan ülkeler için önemli bir geçim kaynağı haline gelmiştir. Söz konusu olan bu ülkelerde kakao yetiştiriciliği çok büyük bir ekonomik öneme sahiptir. Kakao pazarının değeri 8.1 milyar USD/yıl'ın üzerindedir (Afoakwa, 2016).



Şekil 2.1. Kakao ağacı ve kakao podları

2.1.1. Kakaonun botanik ve coğrafik özellikleri

Kakao ağacı (*Theobroma cacao* L.), taksonomik açıdan *Sterculiaceae* ailesine ait olup yirmi iki türe ayrılan *Theobroma* cinsinin bir üyesidir ve ticari değeri en yüksek olan türdür (Kongor vd., 2016). *T. cacao* diğer *Theobroma* türleri ile en az bir ortak yağ asidi içeriğine sahip olmakla birlikte yağ asitlerinde bulunan palmitik asit içeriği açısından diğer yirmi bir *Theobroma* türünden ayrılmaktadır (Afoakwa, 2016).

T. cacao L. ilk kez Orta ve Güney Amerika'da ortaya çıkıp Şekil 2.2.'de görüldüğü üzere günümüzde ekvatorun 20° kuzey ve güneyinde bulunan, rakım değeri 294 metreden az ve tropikal iklim özellikleri gösteren ülkelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Bertazzo vd., 2013). Kakao ağacı yıl genelinde 18-30°C sıcaklıkta seyreden, düzenli yağış rejime

sahip ve 1250-3000 mm civarında yağış alan bölgelerde azot, potasyum ve iz elementlerce zengin topraklarda yetiştirilebilmektedir (Badrie vd., 2015).



Şekil 2.2. Dünya genelinde kakao üretim ve tüketiminin yoğun olduğu bölgeler ve ülkeler (ICCO, 2007)

Kakao ağacının yetiştiği bölgeler arasında Gana, Fil Dişi Sahilleri, Nijerya gibi ülkelerden oluşan Batı Afrika, en yüksek kakao üretimine sahip olan bölgedir. Çizelge 2.1. 'de ülke bazında üretimler incelendiğinde ise Gana, Fil Dişi Sahilleri, Brezilya, Ekvador, Malezya, Kamerun, Endonezya ve Nijerya yüksek üretim tonajları ile dünya genelinde kakao üretiminde başta gelen ülkeler olup toplam üretimin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. (Marty-Terrade ve Marangoni, 2012; Jahurul vd., 2013).

Çizelge 2.1. Coğrafik bölgelere göre kakao çekirdeği üretim tonajları (ICCO, 2021)

Bölge	2019/20		2020/21 Tahminleri		2021/22 Tahminleri	
Afrika	3549	74.9%	4056	77.3%	3655	74.7%
Kamerun	280		290		290	
Fil Dişi Sahilleri	2105		2248		2200	
Gana	771		1047		689	
Nijerya	250		290		280	
Diğerleri	143		180		197	
Amerika	909	19.2%	935	17.8%	969	19.8%
Brezilya	201		200		220	
Ekvator	342		365		375	
Diğerleri	366		370		374	
Asya	283	6.0%	253	4.8%	266	5.4%
Endonezya	200		170		180	
Papua Yeni Gine	41		42		42	
Diğerleri	42		41		44	
Dünya	4741	100.0%	5244	100.0%	4890	100.0%

Kakao ağacı, 4 ila 8 m yüksekliğe sahip çok yıllık bir ağaç olup geniş yapraklı ağaçların oluşturduğu gölgelik alanlarda 10 m yüksekliğe ulaşabilmektedir (Korkubilmez, 2005). Şekil 2.3.'de görüldüğü üzere kakao ağacı podları oval bir şekle sahiptir. Uzunluğu 10 ile 30 cm arasında değişiklik göstermekte ve içerisinde 30-40 adet tohum bulundurmaktadır (Lima vd., 2011). Kakao tohumları 2-3 cm uzunluğunda elipsoid veya oval şekilli olup, taze meyve ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturan ve "pulp" olarak adlandırılan asidik şekerli bir tabakanın içinde gömülü olarak bulunmaktadır (de Souza vd., 2018).



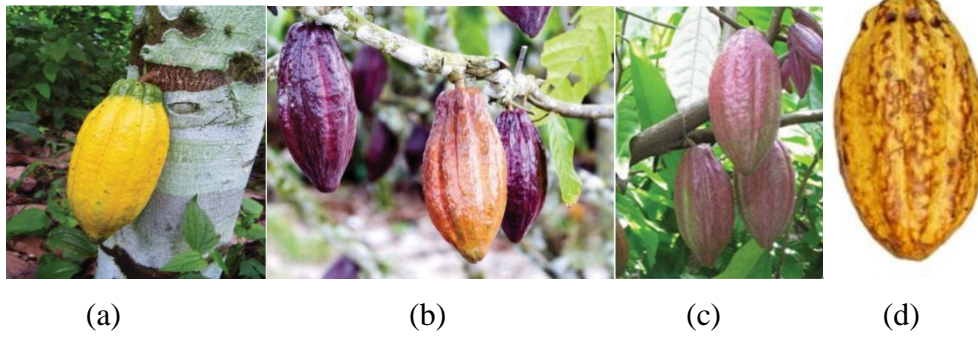
Şekil 2.3. Kakao podları ve kakao tohumları

2.1.2. Kakao varyeteleri

Kakao bitkisel ve coğrafik orijini, bileşim, verimlilik ve son ürün özellikleri üzerinde etkili olan faktörlerdir. Doğal çevre koşulları ve insanların yaptığı tarımsal uygulamalar sonucu farklı varyetelerin hibritlenmesiyle yeni kakao çeşitleri ortaya çıkmıştır. Bu sebeple birbirinden farklı kakao çekirdeklerinin geldikleri ülkeler ayırt edilebilmektedir. Varyeteler; podların morfolojisi, büyüklüğü, çekirdeklerin rengi ve aroması gibi genetik orijinlerine dayanarak tanımlanmaktadır. Şekil 2.4.'de yer alan Forastero, Criollo ve Trinitario dünya genelinde en çok yetiştirilen kakao varyeteleri olup, aromatik özellikler bakımından farklılık göstermektedir (Owusu, 2010).

Forastero bu varyeteler arasında en sık yetiştirilen ve dolayısıyla da kullanılan varyetedir. Brezilya ve Batı Afrika topraklarında yaygın olarak yetiştirilmektedir. Bu varyete, kuraklığa, hastalıklara ve zararlılara karşı direnç gösterebildiği için yüksek verimlilik özelliğine sahip olmasına rağmen kalite nitelikleri ve aroma bileşenleri bakımından fakir olarak değerlendirilmektedir (Diomande vd., 2015). Yıllık global kakao çekirdeği üretiminin yaklaşık %85'ini bu varyete oluşturmaktadır (Elwers vd., 2009).

Criollo ağırlıklı olarak Venezuela'da yetiştirilir. Orta Amerika, Madagaskar ve Sri Lanka bu varyete için tercih edilen diğer bölgelerdir (Fowler, 1999). Yüksek kalite özellikleri ve zengin aroma içeriğine sahip olmasına rağmen verimliliği düşük olduğu için dünya genelinde diğer varyetelere kıyasla daha az yetiştirilmektedir. Dünya genelindeki üretim miktarı toplam kakao üretiminin yaklaşık %5'idir (Thompson vd., 2007). Üçüncü varyete olan Trinitario ise, Forastero ve Criollo'nun melezlenmesi ile elde edilen, yani hibrit bir varyetedir. Hem kalite hem de verimlilik açısından istenilen nitelikleri sergilemekte ve toplam kakao üretiminin %10-%15'ini oluşturmaktadır (Bartley, 2005). Trinitario yetiştiriciliğine sıklıkla Venezuela, Kamerun, Ekvator, Sri Lanka ve Papua Yeni Gine'de karşılaşılmaktadır (Jahur vd., 2013). Nacional veya Arriba isimleri ile adlandırılan varyete ise, Ekvador'a özgüdür. Oldukça aromatik ve Criollo türünden daha tanenli ve koyu renklidir. Ancak saf Nacional türlerinin çok fazla genetik değişime uğradığı bilinmektedir (Korkubilmez, 2005; Sukha vd., 2008; Pohlan ve Pérez, 2010; Owusu, 2010).



Şekil 2.4. Kakao varyeteleri a) Forastero, b) Criollo, c) Trinitario, d) National

2.1.3. Kakao çekirdeğinin bileşimi

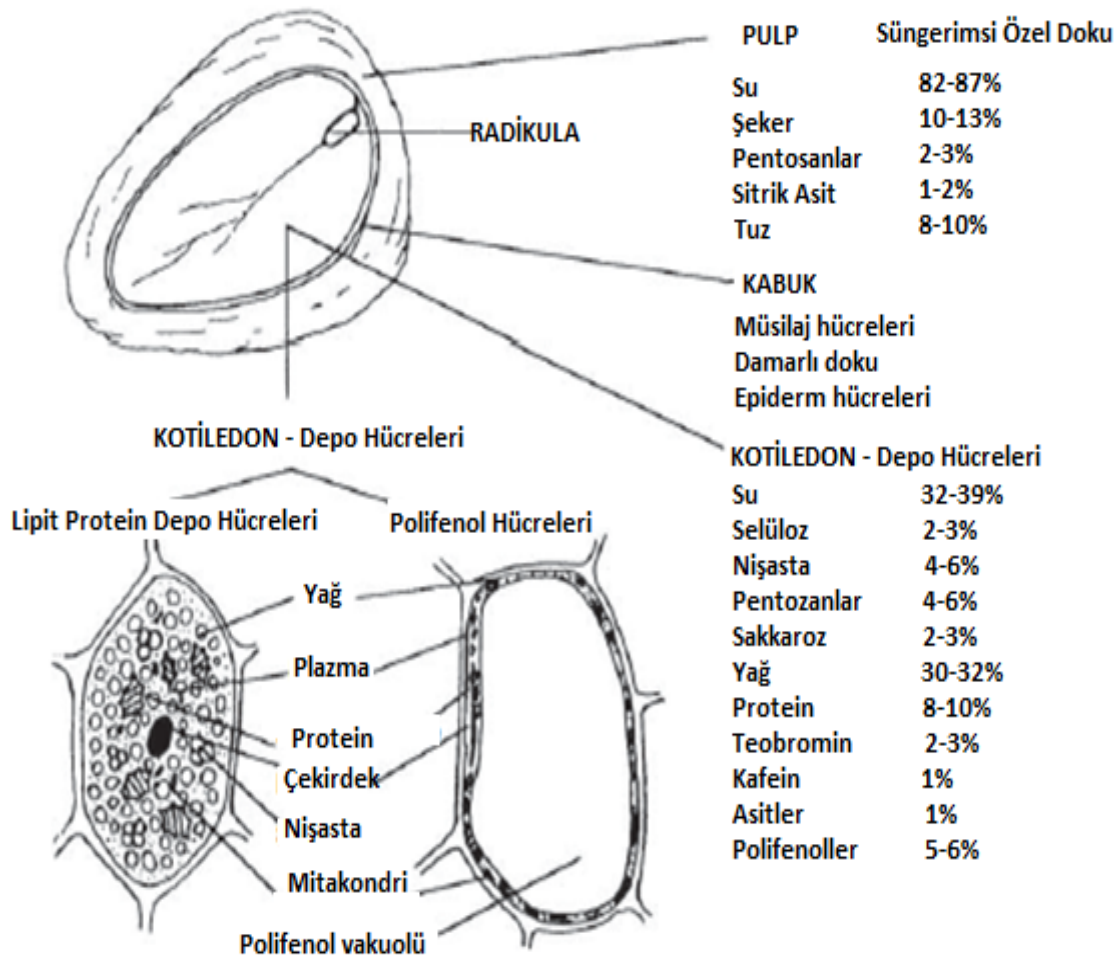
Kakao meyvesinde tohum sayısı varyeteye bağlı olarak değişiklik gösterir. Criollo için 20-30 adet, Forastero ve Trinitario için ise yaklaşık 30-40 adet 15-30 mm uzunluğunda ve 1.0-1.3 g ağırlığında tohumlar bulunur. Bu tohumlar fermentasyon, kurutma gibi işlemlerden geçirildikten sonra kakao çekirdeği olarak adlandırılır. Tohumların kabuğu esmer veya kestane renklidir ve tatlı bir özle kaplıdır (Korkubilmez, 2005). Tohumların kaplandığı öz, yapısında %9-%13 oranında şeker, başta sitrik asit olmak üzere birçok organik asit ve %0.4-%0.6 oranında protein içermektedir (Schwan ve Wheals 2004).

Kakao çekirdeği yaklaşık %85 oranında kotiledon ve %15 oranında ise kabuktan oluşur (Afoakwa, 2010). Şekil 2.5.'de her tohumda iki kotiledon (nib) ve kabuk içerisine tamamen saklanmış küçük bir embriyo bölgesi gösterilmektedir. Kotiledonlar, gelişmekte olan bitki için besinleri depolamaktadırlar. Kotiledonlar lipid, protein ve nişasta içeren beyaz hücreler ve polifenol içeren mor hücreler gibi iki tip depo hücresinden oluşmaktadır (Lima vd., 2011).



Şekil 2.5. Kakao çekirdeğinin iç yapısı (Munoz vd., 2020)

Kakao çekirdeğinin ana bileşeni kakao yağı olup, bileşen kompozisyonu coğrafik orijinlere göre değişkenlik göstermektedir (Nair, 2021). Kakao çekirdeğinde başta theobromin ve kafein olmak üzere %1.5 (m/m) oranında metilksantin türevleri ve %12-20 (m/m) oranında buruk ve kekremesi tada neden olan polifenoller bulunur (Lima vd., 2021). Şekil 2.6.'da görüldüğü üzere kakao çekirdeğinin ana bileşeni olan kakao yağı genellikle triaçilgliserol yapısında olup kuru çekirdek ağırlığının yaklaşık %50-55'ini oluşturmaktadır (Nair, 2021).



Şekil 2.6. Kakao çekirdeği bileşenleri (Afoakwa, 2010)

Kakao toplam protein içeriği yaklaşık %11'dir. Bunlar arasında albumin ve globulinler öne çıkmakta, glutelin ve prolaminler ise daha düşük oranlarda yer almaktadır. Çizelge 2.2.'de belirtildiği gibi nişasta hücreleri ve selülozik maddeler ise karbonhidrat içeriğinin büyük bir kısmını oluşturur (Bertazzo vd., 2013).

Çizelge 2.2. Farklı coğrafik orijinlere sahip kakao çekirdeklerinin kimyasal bileşimleri (Arlorio, 2004)

Bileşenler (g/ 100 g kurumaddede)	Coğrafik Orijin			
	Trinidad	Giava	Arriba	Caracas
Nem	6.34	5.12	5.90	6.63
Lipitler	43.66	45.50	43.31	36.81
Selüloz	13.01	13.85	14.07	16.35
Pigmentler	8.31	8.90	9.00	12.72
Albümin	11.90	9.25	10.14	11.09
Nişasta	4.98	5.17	6.37	3.81
Glukoz	1.38	1.23	0.42	2.76
Sakaroz	0.32	0.51	1.58	1.56
Teobromin	0.85	1.16	0.86	1.13
Kül	3.60	3.31	8.73	4.36

Kakao yağı çikolata, şekerleme, eczacılık ve kozmetik sanayinde kullanılan önemli ve pahalı bir hammaddedir (Kaya ve Şekeroğlu, 2012). Benzersiz bileşimi nedeniyle, kakao yağının kristal oluşumu sayesinde imal edilen ürüne ağızda erime, parlaklık, tat, kırılabilirlik gibi istenen fiziksel özellikler kazandırmaktadır. Kakao yağı, çikolata içeriğinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmakta ve son ürün kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Uygun, 2007). Preslenmiş saf kakao yağı %1.75'den fazla serbest yağ asitleri içermemelidir. Kakao nibinden presleme işlemi ile elde edilen kakao yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.3'de yer almaktadır (Beckett, 2009).

Çizelge 2.3. Kakao yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri (Beckett, 2009)

Özellik	Değer
D40	0.906-0.909
nD40	1.456-1.458
Erime noktası (°C)	31- 35
İyot indisi	33-42
Sabunlaşma sayısı	192-200
Serbest yağ asit değeri	<% 1.75

Kakao çekirdeği belirli oranlarda mono-, oligo- ve poli-sakkaritleri içerir. Toplam monosakkarit miktarı kuru maddede %0.39-3.48 g/100 g iken; polisakkarit grubunun majör bileşeni olan nişasta için bu değer %3.00-7.00 g/100 g'dır. Bitki hücre duvarının ana bileşenleri olan ve karbonhidrat sınıfında değerlendirilen selüloz, hemiselüloz ve pektik maddeler de kakao çekirdeğinde bulunan karbonhidrat grubuna dahildir (De Brito vd., 2001).

Fruktoz, glukoz ve sakkaroz kakao çekirdeğinin içerdiği mono-sakkarit ve di-sakkaritlerin başında gelmektedir. Bunları düşük miktarlarda rafinoz, stakioz ve verbaskoz gibi diğer mono-sakkaritler izlemektedir (Çizelge 2.4). Fruktoz ve sakaroz diğer şeker bileşenlerine kıyasla daha yüksek oranda bulunmakta ve glukozla birlikte kakao çekirdeği işleme prosesi işlem basamaklarından olan fermantasyon ve kavurma adımlarında önem arz etmektedir (Bertazzo vd., 2013). Özellikle sakaroz fermantasyon için şeker kaynağı, kavurma prosesi içinse indirgen şeker elde etme kaynağı olarak kullanılmaktadır. Tipik kakao aromasının gelişimi fermantasyon basamağında başlamakta olup bu proses ısı işlem sonucunda kakao çekirdeğinde bulunan indirgen şekerlerin Maillard reaksiyonuna katıldığı ve aromatik bileşenlerin ortaya çıktığı kavurma basamağıyla tamamlanmaktadır. Sakaroz, fruktoz ve glukoz bu basamaklar için kritik önem taşımaktadır ve Çizelge 2.4.'de görüldüğü üzere kavurma esnasında bu bileşenlerin miktarında değişimler yaşanmaktadır (Redgwell vd., 2002).

Çizelge 2.4. Farklı orijinlere sahip kakao çekirdeklerinde bulunan ve kavurma prosesi ile değişen glukoz, fruktoz ve sakaroz miktarları (mg/kg)

Coğrafik Orijini	Nitelik	Şeker (mg/kg)		
		Glukoz	Fruktoz	Sakkaroz
Brezilya*	Kavrulmamış	89.6	188.7	184.2
	Kavrulmuş	27.4	49.7	42.7
Malezya**	Kavrulmamış	145.0	138.0	244.0
	Kavrulmuş	142.0	137.0	215.0
Fil Sahilleri***	Dişi Kavrulmamış	79.5	280.0	155.0
	Kavrulmuş	5.0	43.0	202.5
Ekvator***	Kavrulmamış	84.0	172.0	483.0
	Kavrulmuş	10.5	60.5	624.0

* De Brito vd., 2001; **Mohamed vd., 2019; *** Regwell vd., 2002

Kakao fermantasyon prosesi açısından bir diğer önemli bileşen grubu da proteinlerdir. Bu proteinlerin miktarı fermantasyon prosesi ile değişkenlik göstermektedir. Fermantasyon öncesinde albümin birinci, globülin ikinci sırada yer almakta onları sırasıyla glutelin ve prolamin takip etmektedir (Çizelge 2.5). Fermantasyona bağlı protein miktarlarında değişim Çizelge 2.5.'de yer almaktadır (Bertazzo vd, 2013).

Çizelge 2.5. Kakao çekirdeğinde bulunan protein miktarlarının fermantasyon ile değişimleri (Voigt vd., 1993)

Çekirdek Protein Fraksiyonu (%)	Fermente Edilmemiş Çekirdek (%)	Fermente Çekirdek (%)
Albümin	52.0±3.30	79.0±10.1
Globülin	43.0±3.10	8.30±3.70
Prolamin	<1.00	<1.00
Glutelin	5.00±1.00	12.8±3.70

Kakao çekirdeğinin protein profili fermantasyon ve kavurmanın yanı sıra, toprak ve iklim özellikleri ile hasat koşulları gibi yetiştirilme ve hasat sonrası uygulanan koşullardan da etkilenmektedir (Hashim vd., 1998). Fermantasyon aşamasında proteinler, mikrobiyal ve enzimatik yollarla oligopeptitlere ve serbest aminoasitlere parçalanmakta, açığa çıkan bu

aminoasitler kakao çekirdeğinde bulunan indirgen şekerlerle birlikte kavurma ve kurutma aşamalarında Maillard reaksiyonlarına ve Strecker degradasyonuna katılarak tipik kakao aromasının gelişimine katkıda bulunmaktadır. Kavurma prosesinde uygulanan ısı işlem albümin proteinlerinin bozunmasında da önemli rol oynamaktadır (Amin vd.,1997). Ayrıca kakao çekirdeğinde bulunan serbest aminoasit miktarları ve kompozisyonlarını da değiştirmektedir. Fermente edilmeyen kakao çekirdekleri serbest aminoasitler açısından fakir olup var olan aminoasitler çoğunlukla asidik aminoasit grubuna dahildir. Fermantasyon koşulları (pH, sıcaklık, süre, hava) özellikle depo proteinlerine etki eden aspartik endoproteaz ve karboksipeptidaz enzimlerinin enzim aktivitesini etkilemekte, bu enzimler sonucunda fermente edilen kakao çekirdeğinde hem toplam serbest aminoasit miktarı hem de aminoasit kompozisyonundaki hidrofobik karakter artış göstermektedir (Rohsius vd., 2005). Kakao çekirdeğindeki serbest aminoasit miktarları ve kompozisyonları yalnızca fermantasyona değil aynı zamanda coğrafik orijinlere göre de önemli farklılıklar taşımaktadır. (Adeyeye vd., 2010).

Fermente olmayan kakao çekirdeklerinde hidrofobik aminoasit/asidik aminoasit oranı 1'e yakınken fermantasyon sonrasında bu oran ortalama 3'e çıkmaktadır. Fermantasyonla birlikte özellikle lösin, alanin ve fenilalanin gibi hidrofobik aminoasit miktarları artmaktadır (Marseglia vd., 2014).

2.1.3.1. Polifenoller

Fenolik bileşenler, kakao çekirdeğinin kotiledon tabasında bulunan kakao çekirdeğine kırmızı-mor renk veren ve antioksidan aktiviteye sahip ikincil metabolitlerdir. Kakao çekirdeğinde ortalama %15-20 oranında bulunan bu metabolitlerin miktarı ve kompozisyonu coğrafik orijine ve varyeteye göre değişkenlik göstermektedir (Cambrai vd., 2017). Kakao çekirdeğinde bulunan polifenoller flavonoidler ve flavonoid olmayan polifenoller olarak iki ana gruba ayrılmaktadır (Oracz vd., 2015). Flavan-3-oller (Kateşin, (-)-epikateşin, (+)-kateşin, (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşin), antosiyanin ve proantosiyaninler (dimerik, trimerik, tetramerik) kakao çekirdeğinde baskın olarak bulunan fenolik bileşikler olup bu bileşikler yalnızca antioksidan özellik göstermemekte, ayrıca kardiyovasküler, karaciğer ve otoimmün hastalıklarına karşı önleyici etkilere de sahiptir (Bertoldi vd., 2016). Bu etkilerin yanı sıra, içinde barındırdığı fitokimyasallar, fenolik

bileşenler ve flavonoidler sayesinde antikanserojen, antiaterojen ve antiinflamatuvar özellikler de sergilemektedir. Kakao yağının ihtiva ettiği fenolik bileşenlerden özellikle kateşin, epikateşin, gallokateşin, epigallokateşin, prosiyanin, antosiyanin, flavon ve flavanol glikozitler yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Jahurul vd., 2013).

Çizelge 2.6.'da görüldüğü üzere coğrafik orijinler kakao çekirdeğinin polifenol içerikleri üzerinde önemli etkilere sahip olup, aynı varyete farklı orijinlerde yetiştirildiğinde elde edilen kakao çekirdeklerinin polifenolik bileşikleri, çekirdek boyutları, kimyasal kompozisyonları ve organoleptik özellikleri de değişkenlik göstermektedir (Jalil ve Ismail 2008). Bunun nedeni olarak coğrafik bölge koşullarının varyete üzerinde genetik varyasyonlara neden olduğu düşünülmektedir. Ekvator bölgesinde yetiştirilen Trinidad varyetesine ait kakao çekirdeği meyvemsi alt notalara sahipken, aynı varyete Brezilya ve Fil Dişi Sahillerinden hasat edildiğinde hafif bitter özellikler taşımakta, Malezya'da ise yüksek asidik ve kekremsi karakter göstermektedir. Bu farklılıkların nedeni aynı varyetenin farklı bölgelerde değişen fenolik bileşen kompozisyonlarına ve miktarlarına sahip olmasıdır (Oracz vd., 2015).

Çizelge 2.6. Farklı coğrafik orijinli kakao tozlarının içerdiği polifenol oranları (Ali vd., 2013; Natsume vd., 2000)

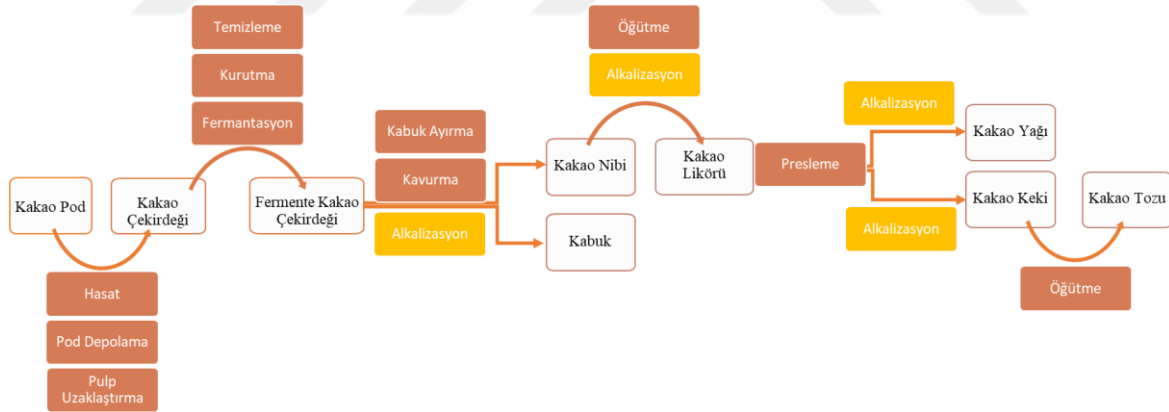
Kakao Bileşeni (g/100 g, kuru maddede)	Coğrafik Orijin			
	Ekvador	Fil Dişi Sahilleri	Brezilya	Malezya
Toplam Polifenol	3.02	4.54	4.73	9.50
Kateşin	0.092	0.137	0.078	0.132
Epikateşin	0.063	0.123	0.132	0.139
Gal-EC-EC	0.002	0.005	0.007	0.084

Olgunlaşma süreci ve kakao çekirdeği işleme prosesleri (fermantasyon, kurutma, alkalizasyon ve kavurma) kakao çekirdeğinde bulunan fenolik bileşenler üzerinde önemli etkiler göstermektedir (Spizzirri vd., 2019). Farklı olgunluk düzeyine sahip kakao çekirdekleri, aynı varyete ve aynı coğrafik orijine ait olsa bile fenolik bileşen miktarlarında

farklılık göstermektedir. Genel olarak kakao işleme süreçlerinde polifenol miktarı azalmakta, çekirdeğe renk veren antosiyanin miktarları ise artış göstermektedir (Oracz vd., 2015).

2.1.4. Kakao çekirdeği işleme süreci

Kakao çekirdeğinin maruz kaldığı bir dizi işlemler (fermantasyon, kurutma, kavurma, alkalizasyon vb.) sonucunda ticari değeri yüksek olan kakao kitlesi (likörü), kakao yağı ve kakao tozu gibi elde edilen kakao ürünleri Şekil 2.7.'de gösterilmiştir (Beg vd. 2017). Bu kakao ürünlerinin sahip olduğu besin öğeleri (karbonhidrat, protein, yağ, polifenol, vitamin, mineraller) ve teknolojik özelliklerini belirleyen bileşenler (trigliserit miktarı, yağ asidi kompozisyonu, yağ asidi yerleşimleri, yağ asitlerini doymuş yağ içeriği değeri vb.) hem kullanılan kakao çekirdeğinin botanik ve coğrafik özelliklerine hem de kakao çekirdeği işleme proses parametrelerine göre değişkenlik göstermektedir (Nair, 2021).



Şekil 2.7. Kakao çekirdeği işleme süreç akışı

Kakao çekirdeği işleme prosesi son 150 yıldır benzer şekilde yapılmasına karşın kullanılan ekipmanlar ve proses parametreleri işleme bölgelerine göre değişkenlik göstermektedir (Caligiani, 2016). Kakao çekirdekleri yılda iki veya üç defa özel ve bölgesel aletler yardımıyla hasat edilmektedir. Hasat zamanı ve uygulanan hasat yöntemi öncül aroma maddelerinin oluşması, renk maddelerinin optimum şartlarda gelişmesi ve istenmeyen

maddelerin uzaklaşmasını sağlamak için önem arz etmektedir (Owusu, 2010). Hasat sonrasında kakao podları manuel olarak açılarak pulp ile çevrili yaş kakao çekirdekleri çıkarılmaktadır. Bu işlem hemen hasat sonrası yapılabileceği gibi depolama sonrasında da gerçekleştirilebilir. Bazı kakao çekirdeği türlerinde podların depolama sürecinde sakaroz, glukoz, fruktoz, etanol, asetik asit ve nem miktarı azalmakta, buna bağlı olarak da pH değişimi yaşanmaktadır (Korkubilmez, 2005; Şit, 2008; Owusu, 2010). Kakao çekirdeğinde renk ve aromanın gelişmesi için kakao çekirdeğiyle birlikte çekirdeği çevreleyen pulp da fermantasyon işlemine maruz bırakılmaktadır (Guehi 2010, Fahrurrozi 2015).

Kakao fermantasyonu, kendiliğinden oluşan mikrobiyolojik bir süreçtir. Zarar görmemiş, sağlıklı bir pod steril veya gram başına birkaç yüz mikroorganizma içermektedir (Nielsen, 2006). Şekil 2.8.'de görüldüğü üzere pulpla çevrili yaş kakao çekirdekleri nem geçişi sağlayan ahşap kutuların içerisine yerleştirilmekte ve muz yapraklarıyla örtülmektedir. Rutubet kontrolü yapılarak fermantasyon 4 ile 7 gün arasında devam etmektedir (Edoh Adabe ve Ngo-Samnick, 2014). Kakao çekirdeğinin türü, kakao pod olgunluğu, hasat sonrası podların depolanması, çekirdek ve posa miktarı, uygulanan fermantasyon yöntemi, yığın büyüklüğü, fermantasyon süresi, mevsimsel değişiklikler, hava şartları gibi birçok faktör fermantasyonu etkilemektedir (Guehi, 2010; Fahrurrozi, 2015).

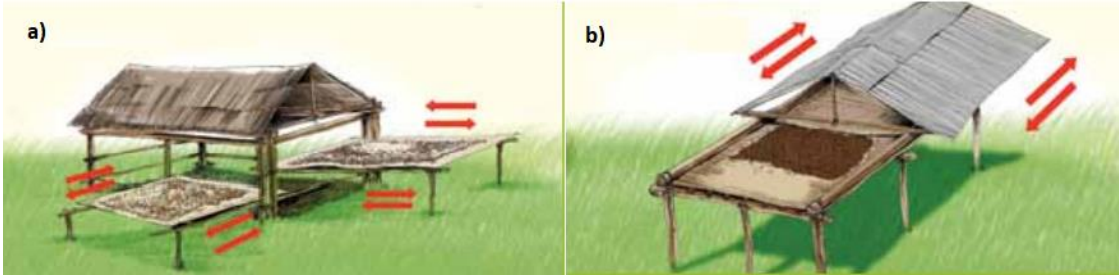


Şekil 2.8. Kakao çekirdeği fermantasyonu

Fermantasyon işlemi ile birlikte kakao çekirdeğinde lezzet bileşenlerinin oluşumundan sorumlu bir dizi biyokimyasal reaksiyon meydana gelmekte ve kakao çekirdeğinde bulunan aroma ve renk bileşenleri, polifenol, alkaloid, şeker ve yağ içeriğinde önemli değişiklikler oluşmaktadır. Fermantasyondan önce, çiğ kakao çekirdeklerin buruk ve acı tadı söz konusu biyokimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar sonucunda değişmekte ve karakteristik kakao tadı ve aromasının oluşması sağlanmaktadır (Gourieva ve Tserevitinov,

1979). Fermantasyon süresi ulaşılmak istenen çekirdek rengi, duyu özellikleri ve kalitesine göre belirlenmektedir (Nielsen, 2006; Nielsen vd., 2007; Fahrurrozi, 2015).

Kurutma işlemiyle birlikte hem fermantasyon durdurulmakta hem de küf gelişimini engellemek için çekirdeğin başlangıçtaki nem içeriği %40.0-60.0 g/100 g'dan %5.00–7.00 g/100 g'a düşürülmektedir. Ayrıca kurutma sırasında kakao çekirdeklerinin lezzet ve renk gelişimi için önemli biyokimyasal süreçler meydana gelmektedir (Nganhou vd., 2003). Küf oluşumunu önlemek açısından hızlı kurutma yöntemleri tercih edilmesine rağmen, optimum lezzet gelişimi için Şekil 2.9.'da yer alan farklı kurutma yöntemleri de kullanılabilir (Saltini vd., 2013; Ajala vd., 2014). Güneşte kurutma veya mekanik kurutma gibi direkt ısıtma yöntemlerinin yanı sıra ısı değiştiricilerin kullanılması gibi dolaylı ısıtma yöntemlerinden de yararlanılır (Afoakwa, 2010).



Şekil 2.9. Güneşte kurutma yöntemleri (a) raylı levhalar, (b) hareketli çatı (Edoh Adabe & Ngo-Samnack, 2014)

Kakao çekirdeklerine uygulanan hasat, fermantasyon ve kurutma işlemleri sırasında taş, toprak, metal parçaları, çubuk ve dal parçaları gibi diğer yabancı maddeler kakao materyaline bulaşmaktadır. Temizleme işlemi ile birlikte bu bulaşlar kakao çekirdeğinden uzaklaştırılarak ürün güvenliği sağlanmakta ve organik kirleticilerin kavurma işlemi sırasında yanıp kakao tadını olumsuz yönde etkilemesi engellenmektedir. Böylece yapılan temizleme işlemi son ürün kalitesini de arttırmaktadır (Korkubilmez, 2005; Beckett, 2008).

Temizlenen kakao çekirdeğinde çikolata lezzet bileşenlerinin gelişmesi için kakao çekirdeklerinin kuru ısı ile kavurma işlemine tabi tutulması gerekmektedir. Kavurma işlemiyle birlikte hem kabuk gevşeyip pulp parçalanarak kotiledonlar daha kırılabilir hale gelmekte ve kotiledon rengi koyulaşmakta hem de proses esnasında kakao çekirdeklerine

bulaşan olası patojen bakteriler elimine edilmektedir (Beckett, 2008). Kavurma işlemi sonucunda ulaşılmak istenen kakao çekirdeği nem içeriğine bağlı olarak uygulanacak kavurma derecesine karar verilmektedir (Şit, 2008). Ulaşılmak istenen nem içeriği yaklaşık %2.00 g/100 g olup çekirdeğin cinsine, kavrulmuş çekirdeğin çikolata veya kakao üretiminin hangisinde kullanılacağına göre kavurma derecesi değişkenlik göstermektedir (Beckett, 2008; Afoakwa, 2010).

Kavurma işlemi sırasında kakaonun sahip olduğu serbest aminoasitlerin degradasyonu ile proteinler denatüre olmakta indirgen şekerlerin de katıldığı reaksiyonlar sonucu tipik kakao aroması oluşmaktadır (Beckett, 2008). Uygulanan ısıl işleme bağlı olarak kakao çekirdeğinde doğal olarak bulunan aldehitler, ketonlar, pirazinler, alkoller ve esterler gibi uçucu bileşenler kayba uğramaktadır. Başlangıçtaki lezzet bileşikleri kompleks bileşiklere dönüşerek kakao çekirdeğinin asitliği artmakta ve bu bileşikler kakaonun kendine has tadına katkı sağlamaktadır (Afoakwa, 2010).

Kakao işleme endüstrisinde kavurma işlemi farklı hammaddelere çeşitli yöntemlerle uygulanmakta ve elde edilen ürün özellikleri değişkenlik göstermektedir. Kakao çekirdeğine uygulanan kavurma işlemi, kabuk uzaklaştırmayı kolaylaştırmakta ve geleneksel kakao likörünün elde edilmesini sağlamaktadır. Kabukları uzaklaştırılmış nib kavurulduğunda yüzeyi ısınmakta ancak merkez soğuk kaldığı için tat ve aroma değişimi sağlayan kimyasal reaksiyonların oluşması kısıtlanmaktadır. Kakao likörüne uygulanan kavurma işleminde ise kakao likörünün nem içeriğini azaltacak ve kavurmayı kolaylaştıracak bazı ön öğütme ve temizleme işlem basamaklarına ihtiyaç duyulmaktadır (Minifie, 1999).

Kavurulmuş kakao çekirdeklerinden kabuk uzaklaştırılmasıyla kakao nibi (kotiledon) elde edilmektedir. Kakao tozu veya kakao likörü gibi nihai kakao ürünlerinde farklı renk tonlarının elde edilmesi, kakaoya özgü buruk kekremsi tat ve aromanın uzaklaştırılması için kakao nibine alkalizasyon (dutching) işlemi uygulanmaktadır (Kostic, 1997). Bu işlem basamağında farklı sıcaklık ve süre kombinasyonlarında kakao materyali farklı alkali çözeltilerle muamele edilmekte ve başlangıçta 5.0-5.6 olan pH değeri 7.0-8.0'e kadar yükseltilebilmektedir (Afoakwa, 2010). pH'daki bu değişime bağlı olarak kakaonun doğal asidik yapısı nötralize edilmektedir. Alkalizasyon işlemi kakao nibine uygulanabileceği gibi

kakao likörü ve kakao tozuna da uygulanabilir. Uygulanan her yöntemin kendine özgü avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (Dyer 2003).

Bir sonraki işlem basamağında kakao likörü eldesi için kakao nibi öğütülür (Beckett, 1999). Kakao likörünün içerisinde bulunan yağın yaklaşık %55-60'ı hücresel yapı içerisinde bulunmakta ve kakao yağının serbest kalması için kakao hücresinin yağ olmayan kısımlarının kırılarak öğütülmesi gerekmektedir. Öğütme basamağında çok aşamalı işlemler kullanılmakta ve bu işlemler sırasında ortaya çıkan ısı nib içerisindeki kakao yağının erimesine yol açmaktadır. İlk olarak macun kıvamında olan bu sıvı, silindirlerdeki sürtünme sıcaklığının etkisiyle akışkan, koyu çikolata renkli eriyik bir kitleye dönüşmektedir. Bu aşamada tanelerin eriyik kitlesi, kakao likörü veya kakao kitlesi olarak adlandırılmaktadır. Öğütme sonrasında elde edilen parçacık büyüklüğü 15.0-50.0 µm arasında değişmektedir. Rafine kakao likörünün olgunlaştırılması ve mikrobiyal yükünün azaltılması için yaklaşık 90-100°C sıcaklıktaki depolama tanklarında ısıtılmaktadır (Kuster, 1980). Kakao yağının kakao liköründe bulunan yağsız kakao katı maddelerinden ayrılması için presleme, süper kritik akışkan ekstraksiyonu veya solvent ekstraksiyonu gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Özgen, 2010). En yaygın olarak kullanılan yöntem presleme olup yatay presler ile kakao yağı eldesi sağlanmaktadır. Elde edilen kakao yağı, nihai kullanımdan önce filtre edilmekte ve deodorizasyon işlemlerinden geçmektedir (Özocak, 2004; Beckett, 2008). Presleme işlemiyle birlikte kakao liköründen kakao yağı uzaklaştırıldıktan sonra kalan kısım kakao keki olarak adlandırılmaktadır. Uygulanan presleme yöntemine bağlı olarak kakao kekinde bulunan kakao yağı %10.0-24.0 g/100 g arasında değişkenlik göstermektedir. Kakao kekinin toz hale getirilmesi için farklı öğütücüler kullanılmakta ve nihai ürün olarak kakao tozu elde edilmektedir. Kakao tozu pin veya çekiçli değirmenler kullanılarak üretilebilmekte ve üretim şekline göre farklı son ürün özelliklerine sahip olabilmektedir (Joel vd., 2013)

2.1.5. Kakao Ürünleri

2.1.5.1. Kakao nibi

Şekil 2.10'da gösterilen kakao nibi, kavrulmuş veya kavrulmamış kakao çekirdeğinin kırılarak kabuğunun ayrılması ile elde edilen, kakao yağı ve yağsız kakao kuru maddesinden

oluşan kakao ürünüdür (TSE, 1990). Genel olarak kakao nibi %54 yağ, %31 karbonhidrat, %11 protein, %3 polifenoller ve %1'den az mineral madde içermektedir. Kavrulmuş kakao çekirdeği kotiledonlarının kütesinin yaklaşık %50-55'ini kakao yağı oluşturmaktadır (Rucker, 2009, Fahrurrozi, 2015).



Şekil 2.10. Kakao nibi

2.1.5.2. Kakao kitlesi

Kabuklarından ayıklanmış kakao çekirdeklerinin yağ içeriğinde herhangi bir değişikliğe yol açmadan öğütülmesi ile elde edilen, çekirdekten ayrılmayan kabuk miktarı kuru madde üzerinden en fazla %5 (m/m), yağ miktarı ise kuru madde üzerinden en az %48 olan kakao ürünü Şekil 2.11'de yer almaktadır (TSE, 1990).



Şekil 2.11. Kakao likörü

Kakao nibinin öğütülmesi ile üretilen kakao likörünün parçacık büyüklüğü kakao likörünün kullanım alanına göre belirlenmektedir (Beckett, 2008). Kakao likörü tüm kakao ürünlerinin temelini oluşturmakta ve kalitesi kullanılan çekirdeklere bağlı olduğu için üreticiler paçal yaparak farklı çekirdek türlerini kullanmaktadırlar (Beckett, 1999; Afoakwa, 2010; Reed, 2010). Kakao likörüne ait kalite parametreleri Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

Çizelge 2.7. Kakao likörü kalite parametreleri (Cargill Cocoa, 2007)

Parametre	Değer	Metod
Yağ Miktarı	En az %53	IOCCC 37, 1990
Nem Miktarı	En çok %2.0	IOCCC 26, 1988
Toplam Hücre Sayısı	En çok 5000 kob/g	IOCCC 39, 1990
Toplam Küf Sayısı	En çok 50 kob/g	IOCCC 39, 1990
Toplam Maya Sayısı	En çok 50 kob/g	IOCCC 39, 1990
<i>Enterobacteriaceae</i>	1 g'da bulunmayacak	IOCCC 39, 1990
<i>Escherichia coli</i>	1 g'da bulunmayacak	IOCCC 39, 1990
<i>Salmonella spp.</i>	750 g'da bulunmayacak	IOCCC 39, 1990

2.1.5.3. Kakao yağı

Fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeni ile çikolatanın ana bileşenlerinden olan kakao yağı, kendine özgü erime ve kristalizasyon davranışı özellikleri göstermektedir. Oda sıcaklığında katı formda olup vücut sıcaklığında eriyen kakao yağı α , γ , β' ve β olmak üzere farklı kristal yapılar sergilemekte ve erime sıcaklığı kakao yağının polimorfik yapısından, trigliserit ve yağ asidi bileşiminden etkilenmektedir. Kakao yağının kristal yapısı ve erime noktaları çikolatanın kırılabilirlik, ağızdaki erime profili, akış özellikleri gibi kalitesel özellikleri üzerinde önemli etkilere sahiptir. Kakao yağının karakteristik özelliklerini belirleyen parametreler, kakao yağında bulunan triaçilgliseroller, fosfolipidler, diaçilgliseroller ve serbest yağ asitleri gibi bileşenlerin varlığı ve bu bileşenlerin miktarları, triaçilgliserol kompozisyonları, SFC değeri, iyot değeri, sabunlaşma değeri, asit değeri ve dumanlanma noktası Çizelge 2.8.'de belirtilmiştir (Jahurul vd., 2013).

Çizelge 2.8. Kakao yağı kalite parametreleri (Cargill Cocoa, 2007)

Parametre	Değer	Metod
Serbest Yağ Asidi	1.75%	IUPAC 2201, 1987
İyot Sayısı	33-42	IUPAC 2205, 1987
Kırılma İndisi	1.456-1.459	IUPAC 2102, 1987
Nem Miktarı	En çok 0.1%	IOCCC 26, 1988
Sabunlaşmayan Madde Miktarı	En çok 0.35%	IOCCC 23, 1988

Kakao çekirdeğinde ortalama %55 oranında bulunan kakao yağı, doymuş yağ asitlerinden palmitik asit (C_{16:0}) (%25.0-33.7) ve stearik asit (C_{18:0}) (%33.7-40.2), doymamış yağ asitlerinden ise oleik asit (C_{18:1}) (%26.3-35.0) bakımından zengindir (Foubert, 2003). Farklı orijinlerle sahip kakao yağlarında bulunan baskın yağ asitleri Çizelge 2.9'da yer almaktadır.

Çizelge 2.9. Farklı orijinlere sahip kakao yağlarında bulunan baskın yağ asitleri miktarları (Jahurul vd., 2013)

Coğrafi Orijin	Yağ Asitleri (%)			
	Stearik Asit	Oleik Asit	Palmitik Asit	Linoleik Asit
Fil Dişi Sahilleri	36.9	32.9-33.0	25.8-26.6	2.6-2.8
Brezilya	33.3-33.8	34.5-36.5	25.1-27.9	3.5-3.6
Ekvator	34.6-36.0	34.6-34.9	25.2-25.6	2.6-3.0
Malezya	36.0-37.4	33.5-34.0	24.9-26.0	2.6-3.0

Kakao yağında bulunan bu baskın üç yağ asidi POSt (gliserol-1-palmitat-2-oleat-3-stearat), StOSt (gliserol-1,3-distearat-2-oleat) %27,8-33,0 ve POP (gliserol-1,3-dipalmitat-2-oleat) triaçilgliserollerini (TAGs) oluşturmakta ve Çizelge 2.10'da görüldüğü üzere yüksek oranda doymuş yağ asidi içeren bu TAGs, toplam yağ kompozisyonunun %92-%96'sına karşılık gelmektedir. Mono- ve di-açilgliserollerin yanısıra glikolipid ve fosfolipid gibi polar lipidler, steroller ve serbest yağ asitleri de kakao yağında bulunan diğer bileşiklerdir. Kakao yağının bu kompozisyondan dolayı, oda sıcaklığında yüksek SFC değerine sahip olan kakao yağı kırılğan ve sert bir yapıya sahip olup, sıcaklık 37°C'ye

yükseldiğinde ise keskin erime profili sonucunda SFC değeri sıfırlanmaktadır (Marty-Terrade ve Marangoni, 2012).

Çizelge 2.10. Farklı orijinlere sahip kakao yağlarının triaçilgliserol kompozisyonları (%) (Shukla, 1995)

Coğrafik Orijin	PSS	POP	POS	SOS	SOA	POO	SOO	PLP	PLS	SLS	PLO
Gana	0.40	15.3	40.1	27.5	1.10	2.10	3.80	2.50	3.60	2.00	0.60
Hindistan	0.50	15.2	39.4	29.3	1.30	1.90	3.30	2.00	3.10	1.70	0.50
Brezilya	0.00	13.6	33.7	23.8	0.80	6.20	9.50	2.80	3.80	1.80	1.50
Fil Dişi Sahilleri	0.30	15.2	39.0	27.1	1.30	2.70	4.10	2.70	3.60	1.90	0.80
Malezya	0.50	15.1	40.4	31.0	1.00	1.50	2.70	1.80	3.00	1.40	0.30
Sri Lanka	1.90	14.8	40.2	31.2	1.00	2.30	3.90	2.50	1.40	0.00	0.80
Nijerya	0.50	15.5	40.5	28.8	1.00	1.70	3.00	2.20	3.50	1.80	0.40

S: Stearik asit, P: Palmitik Asit, O: Oleik Asit, L: Linoleik Asit

Kakao yağının içerdiği serbest yağ asitleri, TAGs ve fosfolipid bileşenlerinin miktarları ve kompozisyonları kakao yağının çekirdeklenme ve kristalizasyon mekanizmasına etki etmekte ve bu bileşenler kakao yağı orijinine göre değişmektedir. Kakao yağında ikili doymamış TAG'lar, diaçilgliseroller, serbest yağ asitleri yüksek miktarda bulunursa, bu bileşenler ya indüksiyon süresini arttırarak ya da kristalizasyon hızını azaltarak kristalizasyon mekanizmasını etkilemektedir. Fosfolipid çeşitleri ise orijine bağlı olarak değişmekte ve kakao yağı nükleasyon hızını etkilemektedir (Marty-Terrade ve Marangoni, 2009).

2.1.5.4. Kakao tozu

Horizontal pres kullanımı ile kakao liköründen kakao yağı uzaklaştırıldıktan sonra kalan ürün kakao keki olarak adlandırılmakta ve kullanılan yöntem ve basınca bağlı olarak %10-24 arasında kakao yağı içermektedir. Çekiçli veya dişli öğütücüler kullanılarak kakao keki öğütülmekte ve istenilen parçacık büyüklüğüne sahip kakao tozu elde edilmektedir. Öğütme öncesinde kakao keki soğutulmuş öğütme esnasında oluşan ısı artışının renk pigmentleri üzerindeki olumsuz etkisi azaltılmaktadır. Öğütme sonrasında kakao tozuna

uygulanan temperleme işlemi ile yapısında bulunan kakao yağının stabil kristal formları oluşturması sağlanmaktadır (Kamphuis, 2009). Kakao tozuna ait başlıca kalite parametreleri Çizelge 2.11 'de özetlenmiştir.

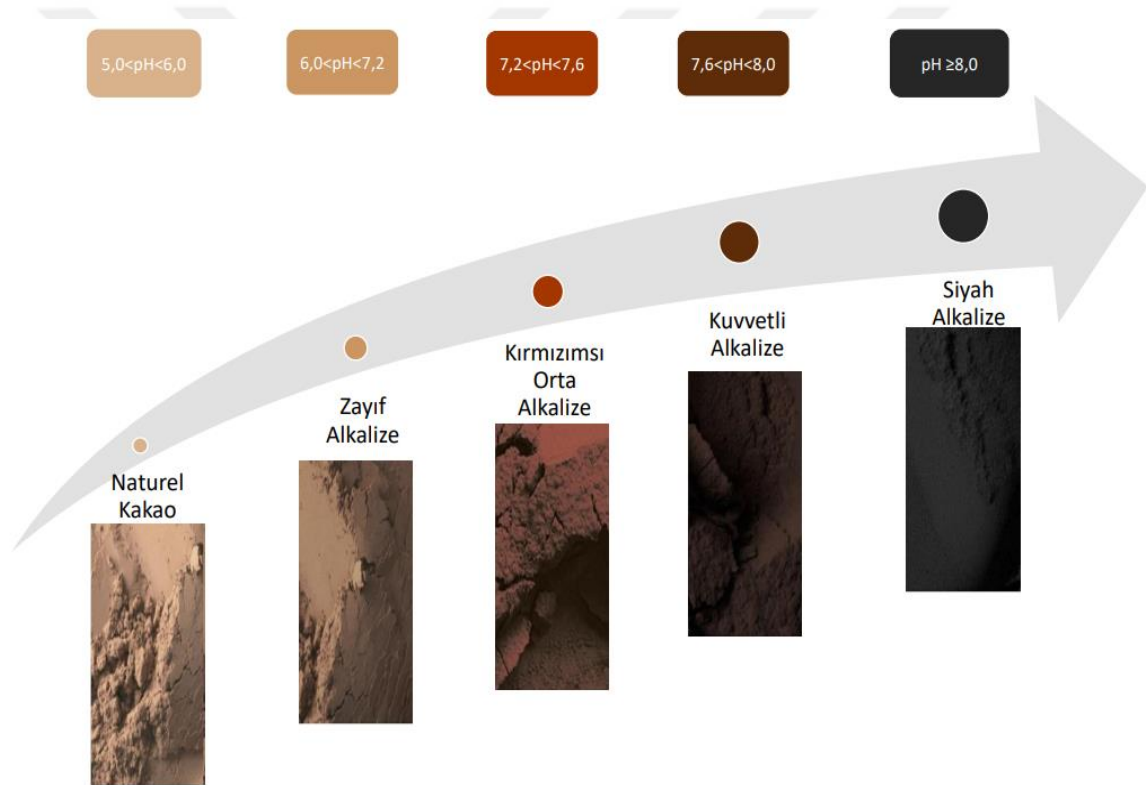
Çizelge 2.11. Kakao tozu kalite parametreleri (Cargill Cocoa, 2007)

Parametre	Değer	Metod
Yağ Miktarı	% 10-24	IOCCC 37, 1990
pH	5.0-8.2	IOCCC 15, 1972
Nem Miktarı	En çok %4.50	IOCCC 26, 1988
Tanecik Boyutu	En az %99.8, elekten geçen	IOCCC 11,1970
Renk	Standarda Uygunluk	
Aroma	Standarda Uygunluk	
Toplam Hücre Sayısı	En çok 5000 kob/g	IOCCC 39, 1990
Küf	En çok 50 kob/g	IOCCC 39, 1990
Maya	En çok 10 kob/g	IOCCC 39, 1990
<i>Enterobacteriaceae</i>	1 g'da bulunmayacak	IOCCC 39, 1990
<i>Escherihia coli</i>	1 g'da bulunmayacak	IOCCC 39, 1990
<i>Salmonella spp.</i>	750 g'da bulunmayacak	
Kontaminantlar	Avrupa Standartlarına Uygunluk	

2.2. Alkalizasyon

Kakao ürünlerinin eldesi sürecinde kakaonun kendine has tat, koku ve aroma bileşiklerinin oluşumunun yanı sıra renk özellikleri de belirlenmektedir. Kakao çekirdeğine ve hasat koşullarına bağlı faktörlere ilave olarak kimyasal, enzimatik ve fiziksel dönüşümlerin yaşandığı fermantasyon, kavurma, kurutma ve alkalizasyon prosesleri kakao çekirdeğinin kendine özgü renk, aroma ve tat profillerinin oluşumunda etkilidir (Garcia, 2020). Bunlardan alkalizasyon prosesi, farklı kakao ürünlerine uygulanabilen, kullanılan alkali türü ve konsantrasyonunun yanı sıra sıcaklık, süre ve basınç kombinasyonlarına göre kakaonun renk, tat, koku ve aroma bileşikleri üzerinde değişiklikler oluşturan kimyasal bir prosestir (Afoakwa, 2000). İlk olarak Hollandalı kimyager Coenraad Van Houten tarafından 1828'de kakao tozunun çözünürlüğünü arttırmak için geliştirdiği alkalizasyon prosesi (Dutching)

temel olarak kakao çekirdeğinde bulunan polifenoller, proteinler ve/veya indirgen şekerlerin katıldıkları reaksiyonlar ile ilişkilidir (Moser, 2015). Kakao çekirdeğinde bulunan protein – polifenol kompleksleri hücre duvarıyla birleşerek suda çözünmeyen yapılar oluşturmaktadır. Alkalizasyon prosesi ile hücre duvarları hidroliz edilip ester bağları parçalanması neticesinde kakao tozunun çözünürlüğü arttırılmaktadır. Alkalizasyon prosesi, polifenoller üzerindeki etkileri nedeniyle kakao çekirdeği işleme endüstrisinde kakao türevlerinde açık kahverengi renkten, kırmızı ve koyu siyaha kadar farklı renk tonlarının geliştirilmesi ve naturel kakao türevlerinde bulunan kekremsi buruk, asidik ve bitter aromanın uzaklaştırılması amacıyla kullanılmaktadır (Dyer, 2003). Alkalizasyon prosesi sayesinde elde edilen farklı renk tonları Şekil 2.12.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.12. Kakao tozunda pH ve renk ilişkisi (Garcia, 2020)

Uygulanan alkalizasyon prosesine bağlı olarak kakao materyalinin pH'sı değişmekte ve renk, tat ve koku özellikleri modifiye edilmektedir. Genel olarak uygulanan alkalizasyonun derecesi arttıkça renk koyulaşmakta, koyu kahverengi ve siyah renkler elde edilmektedir (Garcia, 2020). Alkalizasyon prosesini etkileyen başlıca parametreler Çizelge 2.12'de yer almaktadır.

Çizelge 2.12. Alkalizasyon prosesini etkileyen parametreler (Moser, 2015)

Parametre	Açıklama
Alkalizasyon yöntemi	Nib alkalizasyonu, likör alkalizasyonu, kakao tozu alkalizasyonu
Alkali türü	Potasyum tuzları, sodyum tuzları, amonyum tuzları
Alkali konsantrasyonu	% 1-% 6
Basınç	Basınçlı reaktör (1-12 atm) / Basınçsız tank
Hava beslemesi	0 bar/dk - 5 bar/dk
Süre	5 dk.-180 dk.
Sıcaklık	60°C -150°C
İlave su miktarı	% 10-% 50

Alkalizasyon prosesi elde edilmek istenen son ürün özelliklerine göre kakao materyalinin farklı formlarına (nib, likör, kakao tozu) uygulanabilmektedir. Her yöntemin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Kakao nibi, fermente kakao çekirdeğinin temizlendikten sonra mekanik olarak kırılmasıyla elde edilmekte ve yapısında yüksek miktarda kakao yağı (%52-%54) içermektedir. Kakao yağı henüz hücrelerden ayrıştırılmadığı için daha yüksek oranlarda su ilavesi yapılabilmekte, böylece maksimum renk ve aroma gelişimi sağlanabilmektedir. İlave edilen suyun kakao yağı kalitesi ve reolojik özelliklerini olumsuz etkilememesi için mutlaka deodorizasyon işlemi uygulanmaktadır. Bu durum maliyet artışına neden olur. Kakao likörü hücrelerden uzaklaştırılmış yüksek miktarda kakao yağı içerdiği için ilave edilecek su miktarının kakao yağı üzerindeki olumsuz etkileri daha yüksektir. Bu nedenle daha az miktarda su ilavesi yapılmakta, buna bağlı olarak orta seviyede aroma ve renk gelişimi elde edilebilmektedir. Ayrıca ilave edilen su etkili şekilde uzaklaştırılmazsa kakao yağında sabunlaşma reaksiyonlarının gerçekleşme riski bulunmaktadır. Kakao tozu alkalizasyonunda ilave edilecek su miktarını kısıtlayan faktör kakao yağı içeriği değildir. Kakao tozu diğer kakao türevlerinin aksine daha az miktarda (%0-%24) kakao yağı içerdiği için ilave edilen suyun deodorizasyonla uzaklaştırılma zorunluluğu bulunmamaktadır. Kakao kekinin öğütülmesi ile elde edilen kakao tozunda yüksek miktarda nişasta ve protein bulunmakta, ayrıca uygulanan öğütme işlemi ile dokuların yüzey alanları arttırılmaktadır. Su ilavesi ve yüksek sıcaklık uygulamaları sonucunda kakao tozunda bulunan nişastada tersinmez jelleşme reaksiyonları, proteinlerde ise denatürasyon gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar ise kakao tozunun hem tekstürünü hem

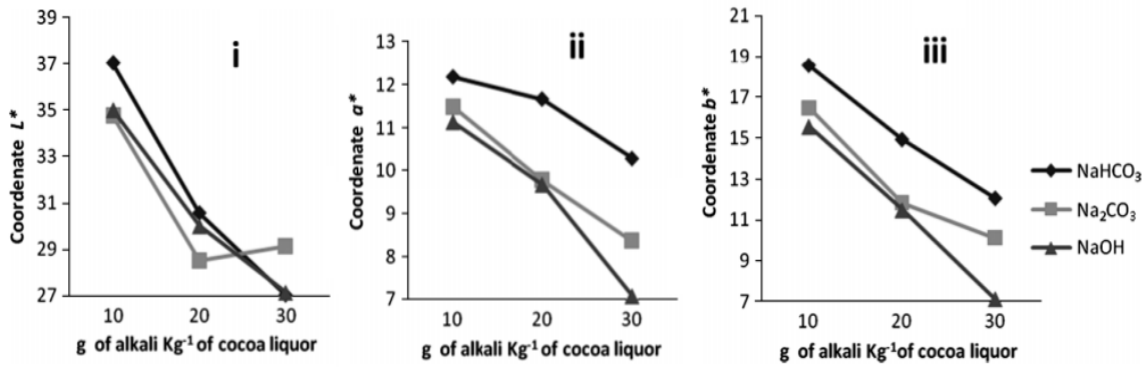
de öğütülme performansını olumsuz etkilemekte, endüstriyel partikül büyüklüğü standardına (partiküllerin %99.5'nden fazlasının ortalama boyutunun 74 μm 'nin altında olması) ulaşmakta zorluk yaşanmaktadır (Dyer, 2003).

Elde edilmek istenen son ürün özelliklerine bağlı olarak tercih edilen alkali tuzları Çizelge 2.13.'de yer almaktadır. Potasyum tuzları tek başına kullanıldığında kırmızı, sodyum tuzları tek başına kullanıldığında kahverengi ve amonyum tuzları tek başına kullanıldığında siyah tonlarda renk elde edilir. En sık kullanılan potasyum tuzu K_2CO_3 , sodyum tuzu NaOH ve amonyum tuzu ise NH_4HCO_3 'tır (Moser, 2015). Alkalizasyon prosesinde alkali tuzlarının tek başına kullanımından ziyade kombinasyon şeklinde kullanımları daha yaygın olup, en sık kullanılan kombinasyon KOH ve NaOH tuzlarının birlikte kullanımındır (Rodriguez vd., 2009).

Çizelge 2.13. Alkalizasyon prosesinde kullanılan alkali tuzu türleri (Moser, 2015)

Tuz/Alkali	Potasyum	Sodyum	Amonyum	Magnezyum
Karbonat	K_2CO_3	Na_2CO_3	$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	MgCO_3
Bikarbonat	KHCO_3	NaHCO_3	NH_4HCO_3	
Hidroksit	KOH	NaOH	NH_4OH	
Oksit				MgO

Alkali konsantrasyonu genellikle elde edilmek istenen ürün özelliklerine göre ve kullanılacak kakao ürününe göre değişkenlik arz etmektedir. Endüstriyel uygulamalarda tercih edilen oranlar 1.00-6.00 g/100 mL arasında değişkenlik arz etmekte ve renk üzerindeki etkileri L^* , a^* ve b^* değerlerinin ölçümleri ile takip edilmektedir (Rodriguez vd., 2009). Sodyum tuzu türlerinin ve konsantrasyonlarının kakao likörü rengine etkileri Şekil 2.13'de yer almaktadır.



Şekil 2.13. Sodyum tuzu türlerinin ve konsantrasyonlarının kakao likörü rengine etkileri (Rodriquez vd., 2009)

Alkalizasyon prosesinde basınç uygulanarak daha kısa sürede aynı L*, a* ve b* değerlerine sahip kakao ürünlerinin eldesi ise bir başka yaklaşımdır. İhtiyaç duyulan basınç miktarı, kullanılan alkali türü, konsantrasyonu, sıcaklık ve süre ile birlikte değerlendirilmelidir. Ellis (1990), yapmış olduğu bir çalışmada basınçsız bir tankta 77°C’de 45 dakika boyunca kakao tozunu K₂CO₃ (%3.2) ile muamele etmiş ve parlak açık kırmızı renk elde etmiştir. Kopp vd. (2010) ise aynı renk tonlarına ulaşmak için kakao nibine K₂CO₃ tuzu (%3.2) kullandıkları alkalizasyon prosesinde kademeli sıcaklık (124°C’de 10 dk. & 85°C’de 60dk.) ve 1.5-2.0 atm basınç uygulamasını tercih etmişlerdir.

Alkalizasyon prosesindeki renk gelişimi temel olarak bazik ortamda gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarıdır. Ortama hava beslenmesi oksijen ilavesi anlamına gelmekte ve reaksiyonları hızlandırmaktadır. Ortamdaki O₂ konsantrasyonu arttıkça kakao ürünündeki a* ve a*/b* değerlerinde artış gözlemlenmektedir. Alkali çözeltisine genellikle %10 ile %50 arasında değişen miktarda su ilavesi yapılmaktadır. Bunun nedeni, alkali ajanlarının homojen şekilde çözelti içinde dağılıp okside olarak renk dönüşümü sağlayacak renk öncüllerine ulaşmasını sağlamaktır. Ancak su ilavesi ek kurutma veya deodorizasyon gibi proses ihtiyaçları doğurmaktadır (Garcia, 2020). Alkalizasyon prosesinde elde edilmek istenen renk tonları ve aroma maddelerine bağlı olarak tercih edilen sıcaklık-süre kombinasyonları değişmektedir. Genel olarak diğer parametreler sabit tutularak aynı L*, a* ve b* değerlerine ulaşabilmek için sıcaklık arttırıldığında ihtiyaç duyulan süre azalmaktadır. 60-100°C sıcaklık uygulamasında açık kırmızı, 100-150°C sıcaklıklarda ise koyu kahverengi siyah renk tonlarına ulaşılmaktadır. Sıcaklık sabit tutulduğunda kısa süreli (5-60 dk)

alkalizasyonda açık kırmızı, uzun süreli (60-180 dk) alkalizasyonda ise koyu renkler elde edilmektedir (Garcia, 2020). Genel anlamda sıcaklık yükseldikçe L* değerinde azalma ve renk tonunda koyulaşma gerçekleşmektedir (Dyer, 2015).

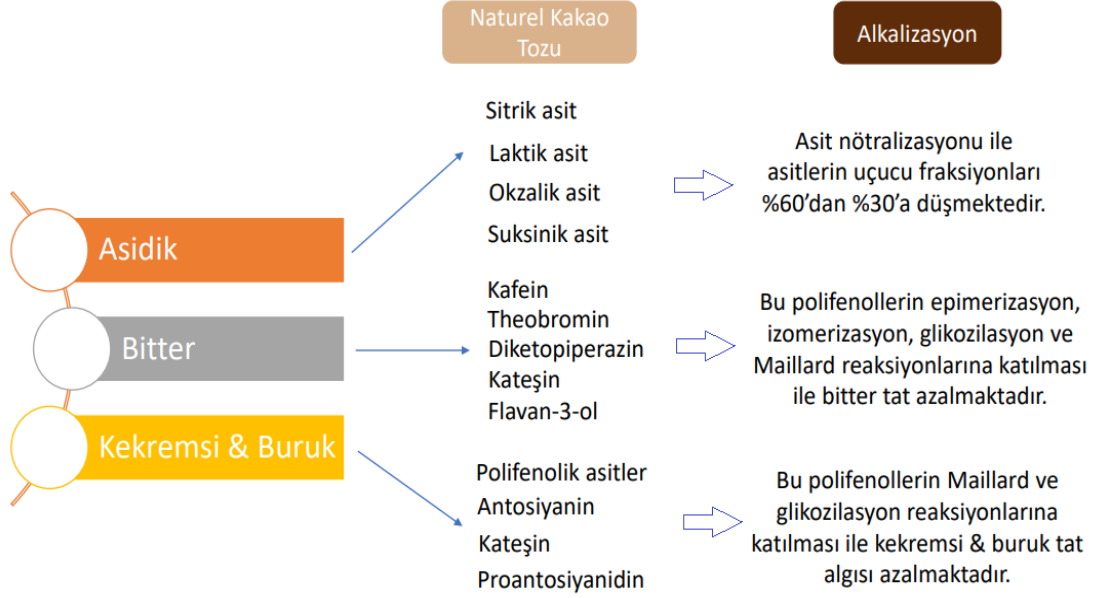
Alkalizasyon prosesinde sıcaklık uygulaması nedeniyle gerçekleşen Maillard ve karamelizasyon reaksiyonlarının yanı sıra renk, tat ve aroma gelişimlerinden sorumlu olan ana bileşen polifenol bileşikler olup, bu bileşiklerin özellikle oksidasyon reaksiyonlarına katılması ile istenen renk tonları, aroma ve lezzet bileşenleri oluşmaktadır (Li vd., 2014). Polifenollerin katıldıkları ve renk gelişimi üzerinde etkili olan kimyasal reaksiyonlar ve değişimler Çizelge 2.14’de yer almaktadır.

Çizelge 2.14. Renk gelişiminde etkili olan polifenol değişimleri (Garcia, 2020, Tas ve Gokmen, 2016)

Değişimler	Mekanizma
Toplam polifenol ve flavanol miktarının azalması	Polifenol oksidaz enzim aktivitesine bağlı olarak polifenol oksidasyonu ile “Melanoid” oluşumu Polifenol ve flavanol bileşiklerinin aminoasitler, peptitler ve proteinlerle etkileşimi ve Maillard reaksiyonlarına katılması sonucunda “o-kinon” bileşiklerinin oluşması Şeker ve proteinler ile glikolizasyonu
Polifenol bileşiklerinin (özellikle flavanoller) kimyasal modifikasyonu	Polifenol epimerizasyonu (örn., renksiz (+) Kateşin -> kırmızısmsı kahverengi (-) Kateşin) Polifenol izomerizasyonu (örn., renksiz (-)Epikateşin -> kırmızısmsı kahverengi (-) Kateşin) Polifenol polimerizasyonu (örn., renksiz (+) Kateşin -> kırmızı 5,6-Ksantenokateşin)
Monomer antosiyanin miktarının azalması ve koyu renkli antosiyanin polimerinin artması	Antosiyaninlerin Maillard reaksiyonlarına katılması Antosiyaninlerin şekerler ve proteinler ile glikolizasyonu

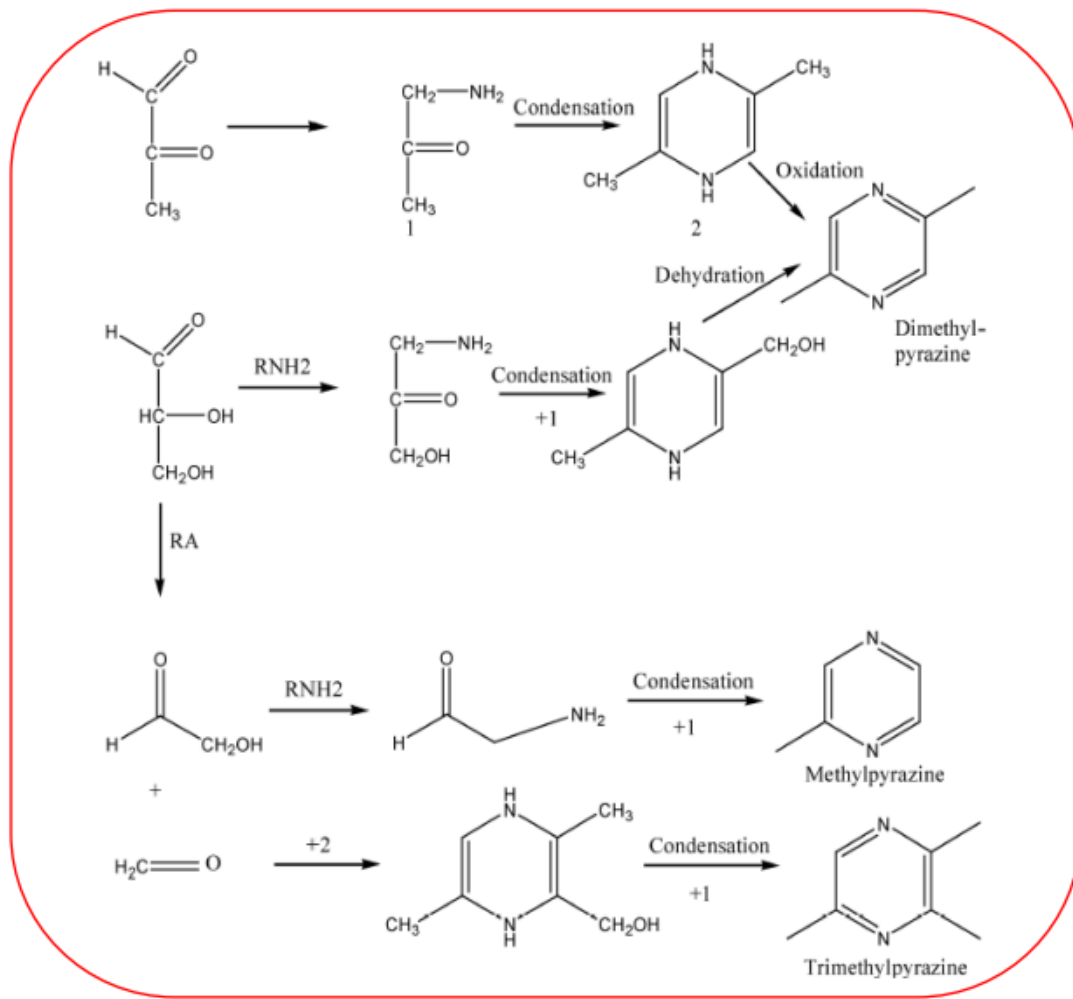
Kakao çekirdeğinde bulunan veya fermantasyon prosesiyle oluşan bazı bileşikler natürel kakao tadı olarak tanımlanan asidik, bitter, kekremsi ve buruk tatlardan sorumludur. Alkalizasyon prosesinde meydana gelen kimyasal reaksiyonlar ile natürel kakao tadını oluşturan bileşiklerin miktarları azalmakta ve kimyasal dönüşümler gerçekleşmektedir

(Aprotosoie vd., 2016). Alkalizasyon prosesinde tat gelişiminden sorumlu olan bileşikler ve kimyasal reaksiyonlar Şekil 2.14’de özetlenmiştir.



Şekil 2.14. Alkalizasyon prosesi ve kakao tat bileşiklerindeki değişimler (Aprotosoie vd., 2016)

Kakao aromasının oluşmasında hem uçucu hem de uçucu olmayan birçok bileşik sorumlu olup, en spesifik kakao aroması sağlayan bileşikler pirazin türevleri Şekil 2.15’de yer almaktadır. Pirazinler, kakao çekirdeğinde farklı pirazin bileşikleri formunda bulunabilmekte ve ortam pH’sına bağlı olarak değişkenlik göstermektedirler. Karakterize kakao aromasından sorumlu olan pirazin türevi, trimetilpirazin olup ortam bazikleştikçe tetrametilpirazin miktarı azalmakta, trimetilpirazin miktarı artmaktadır. Alkalizasyonda aroma indikatörü olarak (TrMP/TMP) takip edilmektedir (Li vd., 2012). Atıştırmalık sektöründe en sık kullanılan kakao ürünü alkalize kakao tozu olup, kullanım alanları Çizelge 2.15.’de özetlenmiştir.



Şekil 2.15. Kakao çekirdeğinde bulunan pirazin bileşikleri (Li vd., 2012)

Çizelge 2.15. Alkalize kakao tozunun kullanım alanları (Dyer, 2015)

Kakao Tozu Tipi	Tipik Aroma	Kullanım Alanları
Naturel	Sütlü, Kakao	Çikolata, Kaplama, Şurup, Unlu Mamuller, Şekerleme, Sos
Zayıf Alkalize	Sütlü -> Zayıf Alkalize	Çikolata, Süt Ürünleri, İçecek, Krema, Şurup, Şekerleme, Sos
Orta Kırmızımsı Alkalize	Orta Alkali ->Kuvvetli Alkalize	Unlu Mamuller, Süt Ürünleri, İçecek, Krema, Şekerleme
Kuvvetli Alkalize	Sütlü ->Kuvvetli Alkalize	Fırıncılık, Şekerleme
Siyah	Çok Yoğun Alkalize	Bisküvi, Renk Maddesi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

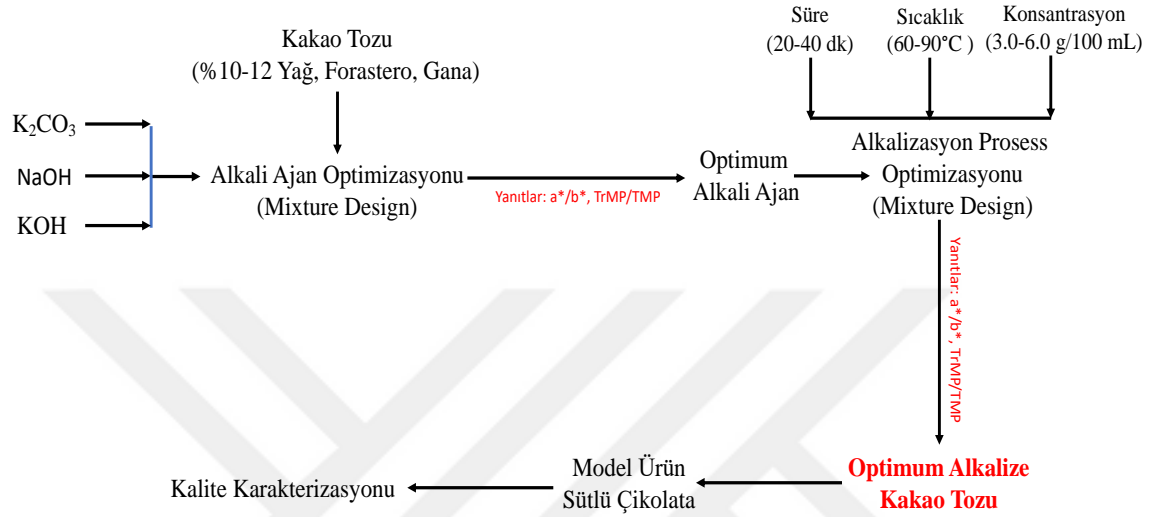
Alkalizasyon prosesi başta renk, çözünürlük ve aroma olmak üzere kakao içeren ürünlerin bir çok özelliği üzerinde önemli etkilere sahip olup bu etkilerden yukarıda detaylıca bahsedilmiştir. Şimdiye kadar alkalizasyonla ilgili yapılan çalışmalarda kullanılacak alkali ajan optimizasyonu ve alkalizasyon koşulları parametre optimizasyonu aynı çalışmada ele alınmamıştır. Bu çalışmayla birlikte kakao tozu alkalizasyonunda hem farklı alkali tuzlarının kullanımının hem de farklı alkalizasyon koşullarının belirlenen alkalizasyon indikatörleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan alkalizasyon çalışmalarında geliştirilen optimum alkalize kakao tozları model gıda olarak sütlü çikolatada kullanılmış, geliştirilen alkalize kakao tozlarının sütlü çikolatanın fiziko-kimyasal, reolojik ve duyuşsal özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

3.1. Materyal

Alkalizasyon çalışmalarında Gana orijinli, Forastero varyetesinden düşük yağlı (%10-12, m/m) natürel kakao tozu (Altınmarka, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Alkali ajan olarak ise gıdada kullanılabilir niteliğe sahip saflık düzeyi $<99.9\%$ olan NaOH, KOH ve K_2CO_3 'den (Unid Co., Ulsan, Güney Kore) yararlanılmıştır. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta olmak üzere Sigma Aldrich'den (St. Louis, MO, USA) temin edilmiştir. Çalışmada model çikolata örneklerinin hazırlanması için kullanılan şeker, tam yağlı ve yağsız süt tozu, lesitin, etil vanilin Eti Gıda A.Ş. (Eskişehir, Türkiye)'den ve kakao yağı ise Altınmarka'dan (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir (İstanbul, Türkiye).

3.2. Araştırma Tasarımı

Çalışmanın araştırma tasarımı Şekil 3.1’de yer almaktadır.



Şekil 3.1 Araştırma Tasarımı

3.3.1. Alkalizasyon Optimizasyonu

Naturel ve düşük yağlı kakao tozu örneklerinde alkalizasyon koşullarının optimizasyonu için iki aşamalı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada farklı alkali kombinasyonlarının elde edilen kakao tozu örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkileri incelenerek toz materyal karakterizasyonu yürütülmüştür. Konvansiyonel alkalizasyonda proses kontrolü için kullanılan başlıca parametreler arasında yer alan a*/b* renk değeri ile kakaolarda aromatik özelliklerin değişiminin gösterge değeri olarak kabul edilen trimetilpirazin/tetrametilpirazin (TrMP/TMP) oranı, her iki aşamada yanıt olarak kabul edilmiş, bu değerlerin sırasıyla maksimum ve minimum seviyeleri optimum koşullar için esas alınmıştır. İlk aşamada en yaygın kullanılan üç farklı alkalinin (NaOH, KOH, K₂CO₃) kullanım oranları bağımsız değişken olarak kabul edilerek karışım dizayn yöntemi ile 12 deneme noktasına sahip bir plan oluşturulmuş ve uygulanmıştır. Diğer tüm proses değişkenleri sabit tutulmuştur. Bu aşamanın sonunda belirlenen optimum alkali

kombinasyonu için validasyon gerçekleştirilmiştir. NaOH, KOH ve K₂CO₃ birlikte veya tek başına kullanıldığı denemelerde laboratuvar koşullarında saf su ile hazırlanan %3.00 (m/v) alkali konsantrasyona sahip 120 mL çözelti 120 gram kakao tozuna ilave edilerek 75°C sıcaklıkta 30 dakika süre ile alkalizasyon gerçekleştirilmiştir. Alkalizasyon prosesinin etkinliğinin artırılması için her 5 dakikada bir karıştırma işlemi yapılmıştır. Alkalizasyon reaksiyonu sonrasında buz parçaları kullanılarak kakao tozu kitlesinin soğutulması sağlanmıştır. Kakao tozu numunelerinin kurutulması için liyofilizatör (Epsilon 1.4 LSC-plus, Christ, Osterode, Almanya) kullanılarak 0.04 mbar'da yaklaşık bir hafta boyunca kurutma işlemi yapılmıştır. Alkali ajanı kullanım oranları deneme desenleri Çizelge 3.1.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Alkali kombinasyonu optimizasyonu karışım dizayn deneme planı

Örnek	X ₁	X ₂	X ₃
1	%66.6	%16.7	%16.7
2	%50	%50	0
3	%100	0	0
4	0	%100	0
5	%16.7	%66.6	%16.7
6	%16.7	%16.7	%66.6
7	%50	0	%50
8	0	%100	0
9	%33.3	%33.3	%33.3
10	0	%50	%50
11	%100	0	0
12	0	0	%100

X₁ (NaOH), X₂ (KOH), X₃ (K₂CO₃)

İkinci aşamada ise, ilk aşamada belirlenen optimum alkali kombinasyonu kullanılarak başlıca proses koşulları arasında yer alan alkali konsantrasyonu, sıcaklık ve süre parametrelerinin bağımsız değişkenler olduğu bir deneme planı hazırlanmış, bu planda ilgili

bağımsız değişkenler için aralıklar endüstriyel alkalizasyon uygulamaları dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu aşamanın sonunda belirlenen optimum alkalizasyon koşulları için optimizasyon validasyonu gerçekleştirilmiştir. Alkali konsantrasyonu, sıcaklık ve süre bağımsız değişkenlere ait çalışma aralıkları sırasıyla 3.00-6.00 g/100 mL, 60-90°C ve 20-40 dk olarak belirlenmiştir. Yanıt Yüzey-Merkezi Kompozit Dizayn kullanılarak hazırlanan ve 20 adet deneme noktası içeren plana uygun olarak örneklerin hazırlanmasında 120 mL NaOH özeltisi 120 g kakao tozuna ilave edilerek belirtilen şartlarda alkalizasyon yapılmıştır. Alkalizasyon prosesinin etkinliğinin artırılması için her 5 dakikada bir karıştırma işlemi uygulanmıştır. Alkalizasyon reaksiyonu sonrasında buz parçaları kullanılarak kakao tozu kitlesinin soğutulması sağlanmıştır. Kakao tozu numunelerinin kurutulması için liyofilizatör (Epsilon 1.4 LSC-plus, Christ, Osterode, Almanya) kullanılarak 0.04 mbar'da yaklaşık bir hafta boyunca kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Alkalizasyon koşulları için geliştirilen deneme desenleri Çizelge 3.2.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.2. Alkalizasyon prosesi ikinci aşamasında proses parametreleri optimizasyonu için geliştirilen deneme desenleri

Deneme Deseni	X ₁ (g/100 mL)	X ₂ (°C)	X ₃ (dk.)
1	5.4	66	24
2	4.5	75	40
3	5.4	66	36
4	4.5	90	30
5	4.5	75	30
6	6.0	75	30
7	4.5	75	20
8	4.5	75	30
9	4.5	75	30
10	4.5	75	30
11	4.5	75	30
12	3.6	84	24
13	3.6	66	24
14	4.5	60	30
15	5.4	84	36
16	3.0	75	30
17	3.6	84	36
18	3.6	66	36
19	5.4	84	24
20	4.5	75	30

X₁: NaOH konsantrasyonu, X₂: sıcaklık, X₃: süre

Optimizasyon çalışması sonrasında elde edilen renk özellikleri (a*/b*) ve TrMP/TMP oranı göz önünde bulundurularak elde edilen alkali kakao tozlarından beş farklı örnek ile sütlü çikolata örnekleri hazırlanmıştır. Bu örneklerde başlıca çikolata kalite parametreleri yanı sıra uçucu bileşen profili incelenmiştir.

3.3.2. Çikolata rneklerinin Hazırlanması

Sütlü ikolata örneklerinin hazırlanması için ilk aşama sonuçlarına göre gerçekleştirilen optimizasyon sonucu elde edilen renk özellikleri (a^*/b^*) ve TrMP/TMP oranı göz önünde bulundurularak dikkate alınarak seçilen beş farklı alkali kakao tozu kullanılmıştır. Çikolata rnekleri izelge 3.3'de yer alan bileşimler kullanılarak 5 kg'lık partiler halinde Eti Gıda Ar-Ge Merkezi'nde hazırlanmıştır. Bu amaçla, şeker (sakaroz), kakao yağı, tam yağlı süttozu, yağsız süttozu, alkalize kakao kitlesi, naturel kakao kitlesi, lesitin, PGPR (poligliserol polirisinolat) kullanılmıştır. Çikolata numunelerinin hazırlanması için laboratuvar tipi ball mill kullanılmıştır. Proses başlangıcında tüm hammaddeler birlikte 5 kg kapasiteye sahip olan ekipmana (Duyvis Wiener, Koog ann de Zaan, Hollanda) beslenmiştir. Homojenizasyon 45°C'de 40 dakika boyunca devam etmiş ve çikolata kitlesi bilyalar arasına geri besleme pompası yardımıyla 10 kg.s⁻¹ hızda beslenmiştir. Çikolata üretiminden sonra temperleme işlemi (33–35, 24–25 ve 25–26°C) pilot temperleme cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Temperlemenin ardından örnekler kalıplara aktararak (60 x 32 x 6mm) kalıplanmıştır. Kalıplar, ardından 5°C'de 20 dakika süre ile bekletilerek soğutmaya alınmıştır. Soğutma süresi sonunda alüminyum folyo ile sarılarak oda sıcaklığında (18°C) muhafaza edilip, proje çalışması kapsamındaki analiz faaliyetleri yürütülmüştür (Konar vd., 2018).

Çizelge 3.3. Sütlü ikolata örneklerinin bileşimleri (g/100g)

Bileşen	Miktar (g/100 g)
Sakaroz	42.44
Kakao Yağı	18.50
Alkalize Kakao Kitlesi	-
Naturel Kakao Kitlesi	15.58
Alkalize Kakao Tozu	5.00
Tam Yağlı Süttozu	13.00
Yağsız Süttozu	5.00
Lesitin	0.30
PGPR	0.15
Etil Vanilin	0.03

3.4. Kakao Tozu Analizleri

3.4.1. Fiziko-Kimyasal Analizler

Alkalize kakao tozu örneklerinin su aktivitesi 20°C’de su aktivitesi tayin cihazı (Aqualab 4TE, München, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Nem miktarı tayini ise infrared ısıtıcılı nem ölçüm cihazı (HB43-S, Mettler Toledo, Ohio, ABD) ile ‘‘Cacao powder’’ metodu (yaklaşık 2.00 g örnek, 100-102°C) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. pH analizleri magnetik karıştırıcı yardımı ile hazırlanan 9 mL deiyonize suda çözülmüş 1.0 g kakao tozu içeren örneklerde pH-metre (Testo 206, Titisee-Neustadt, Almanya) kullanılarak yürütülmüştür. pH-metre kalibrasyonu için standart tampon çözeltileri kullanılarak 3 nokta kalibrasyonu (pH 4, 7 ve 10) yapılmıştır.

Kül analizi için öncelikle porselen krezeler 150°C’deki etüvde 2 saat bekletilerek nemleri uzaklaştırılmış, daha sonra bu krezeler oda sıcaklığında sabit tartıma gelmesi için en az 1 saat desikatörde bekletilmiştir. Numaralandırılan krezelerin sabit tartımda darası (M₁) alındıktan sonra homojen numunelerden yaklaşık 3 g örnek krezelere eklenmiştir (m₁). 550°C’ye ayarlanan kül fırınında (CLMF-210, CLS Scientific, Ankara, Türkiye) örnekler 6 saat yakılmıştır. Kül fırını 300°C sıcaklığın altına indikten sonra örnekler desikatöre alınıp oda sıcaklığına gelmeleri beklenmiştir. Oda sıcaklığına gelen krezelerin tartımı analitik terazide yapılarak kütleleri (M₂) belirlenmiş ve Eşitlik 3.1. ve 3.2. kullanılarak toplam kül miktarları tespit edilmiştir.

$$\% \text{ Kül miktarı} = [(M_2 - M_1) / m_1] \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Kuru maddede kül miktarı} = (\% \text{ Kül miktarı} / \% \text{ Kuru madde}) \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.2. Renk Tayini

Kakao örneklerinin renk tayinleri, Hunter-Lab ilkesi ile çalışan kolorimetrede ölçüm çapı 19 mm olan prob kullanılarak (Colorflex Ez, Hunterlab, Virginia, ABD) yapılmıştır. L*, a* ve b* renk ölçüm modeliyle, L * değeri [(0) siyah-(100) beyaz], a* değeri [(+) kırmızı-

(-) yeşil] ve b^* değeri [(+) sarı- (-) mavi] olarak belirlenmiştir ve her değer en az beş tekerrürlü olarak tespit edilmiştir.

3.4.3. Partikül Büyüklük Dağılımı

Kakao örneklerinin partikül büyüklük dağılımı özellikleri, lazer kırınımlı partikül dağılım analiz cihazı (Mastersizer 3000, Malvern, Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 2.00 g kakao tozu numunesi refraktif indeks değeri 1,45 olan distile bitkisel yağda 20 °C'de dispers hale getirilmiş ve örnek haznesine yerleştirilerek okumalar gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucu kakao tozu örneklerinin medyan ($D_{3/2}$, μm), ortalama partikül büyüklüğü ($D_{4/3}$, μm) yanı sıra D_{90} (μm) ve D_{50} (μm) değerleri ile spesifik yüzey alanları belirlenmiştir.

Alkalizasyonun ikinci aşamasında partiküller agregasyona uğrayıp partikül dağılım cihazı tarafından analiz edilemediği için mikrometre kullanılarak partikül boyutu ölçülmüştür. Her numune için beş tekrar yapılmış ve ortalama değer D_{90} olarak kabul edilmiştir (Toker vd., 2016).

3.4.4. Antioksidan Aktivite Kapasitesi Tayinleri

3.4.4.1. ABTS Yöntemi

Arnao vd., (2001) tarafından geliştirilen ABTS yönteminde değişiklikler yapılarak alkalize kakao tozu numunelerinin antioksidan aktivite kapasiteleri incelenmiştir. Yöntemde stok çözeltileri olarak 7.4 mM ABTS+ ve 2.6 mM potasyum persülfat içeren çözeltiler hazırlanmış ve bu iki çözelti eşit oranda birbirine karıştırılarak karanlık ortamda 12-16 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Spektrofotometre (UV 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılarak 734 nm dalga boyunda 0.70 ± 0.02 birim absorbans elde edilmesi için hazırlanan stok çözelti metanol kullanılarak seyreltilmiştir. %80'lik metanol çözeltisinden 10 mL alınarak 1 g numuneye eklenmiş ve 5 dk vortekslenmiştir. 15 dk süre ile 25°C'de 3000 g hızla santrifüjlenen örnek ekstraktlarının süpernatant kısmından 150 μL kakao tozu ekstraktı 2850 μL ABTS+ çözeltisi ile karanlık ortamda 10 dk reaksiyona girdikten sonra

734 nm dalga boyunca absorbans ölçümü yapılmıştır. Hazırlanan kalibrasyon eğrisi 25 ve 600 mM Trolox arasında doğrusallığa sahiptir. Kuru maddede μM Trolox eşdeğerlik (TE) hesaplandıktan sonra, ABTS+ inhibisyon grafiğinde en az %50 inhibisyonu sağlayacak konsantrasyonu (IC_{50}) olarak belirlenmektedir. IC_{50} değeri kullanılarak sonuçlar %50 efektör konsantrasyon (EC_{50}) üzerinden verilmiştir (Eşitlik 3.3 ve 3.4).

$$\text{Antiradikal aktivite } I (\%) = [(Ac - At) / Ac] \times 100 \quad (3.3)$$

Burada Ac; kontrol absorbans değeri, At; örnek absorbans değeridir.

$$\text{EC}_{50} = \text{IC}_{50} / \mu\text{g ABTS+} \quad (3.4)$$

3.4.4.2. DPPH Yöntemi

Brand-Williams vd. (1995) tarafından geliştirilen DPPH radikalinin inhibisyonu esaslı antioksidan aktivite kapasitesi tayin yöntemi bazı değişiklikler ile alkalize kakao tozu örneklerinde uygulanmıştır. Stok çözeltisi 1 mM DPPH çözeltisi ile metanol kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltisinden 10 mL alınarak 90 mL metanol ile karıştırılmıştır. %80'lik metanol çözeltisinden 10 mL alınarak 1 g numuneye eklenmiş ve 5 dk vortekslenmiştir. 15 dk süre ile 25°C'de 3000 g hızla santrifüjlenen örnek ekstraktlarının süpernatant kısmından 100 μL kakao tozu ekstraktı 3900 μL DPPH çözeltisi ile karanlık ortamda 1 saat reaksiyona girdikten sonra 517 nm dalga boyunca absorbans ölçümü (UV 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) yapılmıştır. Hazırlanan kalibrasyon eğrisi 25 ve 800 mM Trolox arasında doğrusallığa sahiptir. Kuru maddede μM Trolox eşdeğerlik (TE) hesaplandıktan sonra, DPPH inhibisyon grafiğinde en az %50 inhibisyonu sağlayacak konsantrasyon inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50}) olarak belirlenmiştir. IC_{50} değeri kullanılarak sonuçlar %50 efektör konsantrasyon (EC_{50}) üzerinden verilmiştir (Eşitlik 3.5 ve 3.6).

$$\text{Antiradikal aktivite } I (\%) = [(Ac - At) / Ac] \times 100 \quad (3.5)$$

Burada Ac; kontrol absorbans değeri, At; örnek absorbans değeridir.

$$\text{EC}_{50} = \text{IC}_{50} / \mu\text{g DPPH} \quad (3.6)$$

3.4.5. Uçucu Bileşen Profili

Alkalize kakao örneklerinin uçucu bileşen profili GC-MS (GC 8890, Agilent, ABD) ve tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (HS-SPME) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyon koşulları ve fiber seçimi için Oba vd. (2021) tarafından kullanılan yöntem esas alınmıştır. GC sisteminde Agilent DB WAX Ultra Inert kolon (60 m, 0.25 mm iç çap, 0.25 µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum (0.7 mL/dk.) kullanılmıştır. GC fırın sıcaklığı 60°C’de 10 dakika sabit tutulduktan sonra 4°C/dk hız ile 220°C’ye ulaşılmış ve bu sıcaklıkta 10 dakika sabit tutulmuştur. Programlanan 240°C sıcaklığa ulaşmak için 4°C/dk hızda ısı artışı gerçekleştirilmiş, toplam 80 dakika sıcaklık uygulaması yapılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 240°C olup elektron enerjisi 70 eV de alınmış ve 35 -550 m/z kütle aralığında tarama yapılmıştır. Kütle spektroskopisi için Agilent 8890 GC 5977B Mass Selective Dedector (MSD) sistemi kullanılmıştır. İyon kaynağı sıcaklığı 230°C’ye ayarlanmıştır. Elde edilen verilerin tanımlanmasında Nist 11-Wiley 9 Mass Spectral veritabanı kullanılmıştır.

3.4.6. İslanabilirlik ve Çözünürlük

Tozların ıslanabilme özelliklerinin belirlenmesi için 5 g toz tartılıp kalibre huni içerisinden (50 mm ölçüm genişliği olan) 100 mL distile su içerisinde tamamen batması için gerekli olan süre olarak hesaplanmıştır (Barkouti vd., 2013).

Çözünürlük analizi için 0.1 g kakao tozu 24.9 g distile su içerisinde dağıtılmış ve su banyosunda 25°C’de karıştırılmıştır. Karışım 4500 rpm’de 20 dakika santrifüj edildikten sonra 10 g süpernatant 105°C’de fırın içerisinde sabit tartıma gelinceye kadar tartılmıştır.

Çözünbilme aşağıdaki gibi hesaplanmıştır: (Li vd, 2014)

$$\text{Çözünbilme}(\%) = \frac{m \times 2.5}{w} \times 100 \quad (3.7)$$

burada m kurutma işlemi sonundaki kuru madde miktarı (g), w ise başlangıç örnek miktarıdır (g).

3.4.7. Gevşek ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunlukları

Gevşek yığın yoğunluğu birim hacim başına düşen kütle miktarı olarak bilinmektedir. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ise belirli miktardaki tozun belirli sayıda sallama işlemi sonunda kapladığı hacmin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Ölçümler için 10 mL’lik mezürler kullanılmıştır. Gevşek yığın yoğunluğu (ρ_L) tozun mezüre koyulduktan sonra kütesinin okunan hacmine bölünmesi ile ölçülmüştür. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (ρ_T) ise 125 kere manuel sallama hareketi yapıldıktan sonra kütleinin son okunan hacme bölünmesi ile belirlenmiştir.

3.4.8. Akışkanlık (CI) ve Yapışkanlık (HR)

Gevşek (ρ_L) ve sıkıştırılmış (ρ_T) yığın yoğunlukları sonuçları ve aşağıdaki eşitlikler kullanılarak akışkanlık (Carr indeks, CI) ve kohezyon değerleri (Hausner oranı, HR) hesaplanmıştır (Eşitlik 3.8 ve 3.9).

$$CI = \frac{\rho_T - \rho_L \times 100}{\rho_L} \quad (3.8)$$

$$HR = \frac{\rho_T}{\rho_L} \quad (3.9)$$

3.4.9. Higroskopite

Alkalize kakao tozlarının higroskopite özelliklerinin belirlenmesi için Fritzen-Freire vd., (2012) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. 1 g örnek doymuş tuz çözeltisi ile birlikte 25°C’de hava geçirmez kaplara konularak 1 hafta süre sonunda adsorbe ettikleri nem miktarı belirlenmiştir. Higroskopite 100 g kuru maddenin nem adsorpsiyon miktarı (g) olarak belirlenmiştir.

3.4.10. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Metanol ile seyreltilen 40 μ L alkalize kakao tozu örneği spektrofotometre küvetine (makro) konularak üzerine 3.16 mL saf su ve 200 μ L Folin- Coicalteau ayırıcı çözeltisi

(Merck, Darmstadt, Germany) ilave edilmiş, 1-2 dk beklendikten sonra 600 µL %20 Sodyum Karbonat (Merck, Almanya) çözeltisi eklenmesini takiben karışım, oda sıcaklığında 2 saatlik beklemenin ardından spektrofotometrede (UV 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) 765 nm dalga boyunda, şahite (blank) karşı absorbans değerleri okunmuştur. Hesaplama gallik asit kalibrasyon grafiği yardımıyla yapılmıştır (Cao vd., 2011).

3.5. Çikolata Analizleri

3.5.1. Fiziko-Kimyasal Özellikler

Çikolata örneklerinin nem miktarı ve su aktivitesi değerleri, Konar (2013) tarafından uygulanan yöntem ile belirlenmiştir.

3.5.2. Renk Tayini

Kakao örneklerinin renk tayinleri, Hunter-Lab ilkesi ile çalışan kolorimetrede ölçüm çapı 19 mm olan prob kullanılarak (Colorflex Ez, Hunterlab, Virginia, ABD) yapılmıştır. L*,a* ve b* renk ölçüm modeliyle, L * değeri [(0) siyah-(100) beyaz], a* değeri [(+) kırmızı- (-) yeşil] ve b* değeri [(+) sarı- (-) mavi] olarak belirlenmiştir ve her değer en az beş tekerrürlü olarak tespit edilmiştir.

3.5.3. Tekstür Tayini

Çikolata örneklerinin penetrasyon tekniği ile sertlik (hardness) değerleri tekstür analiz cihazı (TA-XT, Stable, Godalming, İngiltere) HDP/90 çalışma platformu ile HDP/3PB Kırma bükme donanımı kullanılarak belirlenmiştir. Aynı ölçülere sahip olan örnekler 5 kg yük hücresi kullanılarak, ön test hızı: 2,00 mm/sn, test hızı: 0,5 mm/sn, test sonrası hızı: 10mm/sn, tetikleme gücü: 5g, gerginlik: % 75 olacak şekilde 2 mm'lik silindirik prob kullanılarak tespit edilmiştir (Konar 2013).

3.5.4. Partikül Büyüklük Dağılımı

Çikolata örneklerinde partikül büyüklük dağılımı lazer kırınım tekniği (Mastersizer 3000, Malvern, Cambridge, İngiltere) kullanılarak incelenmiş olup, bu tekniğin kullanımı ile D_{10} , D_{90} , D_{50} , $D_{3/2}$, $D_{4/3}$, spesifik yüzey alanı (SSA) parametreleri belirlenmiştir (Konar 2013).

3.5.5. Erime Profili

Çikolata örneklerinin T_{onset} , T_{peak} , T_{end} , ΔH_{melt} parametreleri termo-gravimetrik bir yöntemi esas alan diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC25) kullanımı ile tespit edilmiştir. Çikolata örnekleri 8 mg numune hava geçirmez şekilde hermetik kapak kullanılarak kapatılan alüminyum pana tartılmıştır. DSC analizi 10 °C sıcaklıkta azot atmosferi altında başlatılmıştır. 4°C/dk sıcaklık artış hızı ile 50 °C' ye kadar ısıtılarak ölçüm alınmıştır. Analizler 5 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.6. Akış Özellikleri

Örneklerin reolojik analizleri; Haake Viscotester 550 cihazı ile SV DIN 53019/ISO3219 probu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ürün ölçüm haznesine konulduktan sonra 5,000 1/s kayma hızında 300s bekletilerek dengeye ulaşması sağlanmıştır. 0,000 1/s kayma hızından 100,0 1/s kayma hızına arttırımlı giderek 180s boyunca 200 ölçüm alınmıştır. 100,0 1/s kayma hızında ürün 60s bekletilmiş ve bu bekleme süresince de 10 ölçüm alınmıştır. 100,0 1/s kayma hızından 0,000 1/s kayma hızına düşerken 180s boyunca 200 ölçüm alınmıştır.Yapılan ölçümler sonrasında elde edilen verilerden akış eğrisi ve viskozite eğrisi çizilerek, örneğin reolojik davranışı modellenmiştir. Veriler Casson modeline uyarlanarak ilgili parametreler hesaplanmıştır. Ölçümler 5 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.7. Duyusal Analiz

Duyusal analizler çikolata örneklerinin yüzey parlaklığı, renk, ağızda bıraktığı son tad, sertlik, tatlılık, asitlik, acılık, metalik tad, genel kabul özellikleri belirlenmek üzere Eti

Gıda Ar-Ge Merkezi'nde görevli, çikolata teknolojisi konusunda deneyim sahibi, eğitimli panelistler (8 kişi, 24-50 yaş aralığı, 4 erkek, 4 kadın) ile 7'lik skala (1: Hiç Beğenmedim, 7: Çok beğendim) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Konar vd., 2018).

3.6. İstatistiksel Analiz

Deneylerde elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0.1 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) kullanılarak yrtlmştir. Optimizasyon sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi Design Expert 13.0 paket programı ve model doğrulanması için optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark olup olmadığı tek rnek T-testi uygulanarak belirlenmiştir. Çikolata örneklerinde, incelenen parametrelerin örnek grupları arasındaki farklılığın önemi, $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde Tukey oklu karşılaştırma testi yapılarak tespit edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda iki aşamada alkalizasyon yapılmış olup, birinci aşamada bağımsız değişken olarak farklı alkali türlerinin, ikinci aşamada ise birinci aşamada optimize edilen alkali çeşidi için farklı proses koşullarının kakao tozu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler analiz edilmiş, bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler incelenerek korelasyon katsayıları (r) belirlenmiştir (Çizelge 4.1., Çizelge 4.2.).



Çizelge 4.1. Alkalizasyon alkali tuz kombinasyonu optimizasyonunda bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki korelasyon katsayıları (r)

	Nem Miktarı	Su Aktivitesi	pH	a*/b*	L*	a*	b*	BD	TD	D _{3:2}	D _{4:3}	Kül Miktarı	TrMP/TMP	ABTS	DPPH	HR	CR	Islanabilirlik	Çözünürlük	Higroskopite	TPC
Nem Miktarı	1.00	0.81	-0.14	0.32	-0.49	-0.14	-0.46	0.29	0.28	0.75	-0.02	-0.38	-0.08	-0.08	0.25	-0.17	-0.19	-0.71	0.33	-0.26	-0.42
Su Aktivitesi	0.81	1.00	-0.24	0.03	-0.27	-0.41	-0.31	0.33	0.32	0.44	-0.38	-0.03	0.05	-0.28	0.25	-0.31	-0.33	-0.57	0.34	-0.53	-0.25
pH	-0.14	-0.24	1.00	0.65	-0.61	0.49	-0.46	0.42	0.39	-0.19	0.44	-0.14	0.26	-0.36	-0.12	-0.06	-0.06	0.23	0.37	0.32	-0.36
a*/b*	0.32	0.03	0.65	1.00	-0.96	0.51	-0.82	0.31	0.45	0.13	0.07	-0.42	-0.02	-0.36	-0.05	0.29	0.27	-0.17	0.28	0.47	-0.24
L*	-0.49	-0.27	-0.61	-0.96	1.00	-0.41	0.84	-0.48	-0.57	-0.29	-0.05	0.37	-0.07	0.39	-0.14	-0.09	-0.07	0.23	-0.34	-0.30	0.27
a*	-0.14	-0.41	0.49	0.51	-0.41	1.00	0.06	0.51	0.60	-0.15	0.28	-0.47	0.32	0.05	-0.04	-0.01	-0.01	0.14	0.11	0.71	0.02
b*	-0.46	-0.31	-0.46	-0.82	0.84	0.06	1.00	-0.03	-0.12	-0.24	0.08	0.17	0.20	0.45	0.05	-0.33	-0.31	0.28	-0.27	-0.06	0.33
BD	0.29	0.33	0.42	0.31	-0.48	0.51	-0.03	1.00	0.89	0.20	0.07	-0.05	0.56	-0.09	0.49	-0.64	-0.65	0.08	0.24	-0.01	-0.10
TD	0.28	0.32	0.39	0.45	-0.57	0.60	-0.12	0.89	1.00	0.04	-0.05	-0.17	0.44	-0.31	0.42	-0.36	-0.36	-0.02	0.39	0.20	0.06
D _{3:2}	0.75	0.44	-0.19	0.13	-0.29	-0.15	-0.24	0.20	0.04	1.00	0.33	-0.40	-0.20	0.29	0.52	-0.31	-0.32	-0.42	-0.14	-0.09	0.16
D _{4:3}	-0.02	-0.38	0.44	0.07	-0.05	0.28	0.08	0.07	-0.05	0.33	1.00	-0.34	0.03	0.23	0.10	-0.16	-0.15	0.02	0.14	0.26	-0.30
Kül Miktarı	-0.38	-0.03	-0.14	-0.42	0.37	-0.47	0.17	-0.05	-0.17	-0.40	-0.34	1.00	0.33	0.00	0.16	-0.14	-0.14	0.46	-0.05	-0.68	0.14
TrMP/TMP	-0.08	0.05	0.26	-0.02	-0.07	0.32	0.20	0.56	0.44	-0.20	0.03	0.33	1.00	0.11	0.01	-0.38	-0.39	0.10	0.33	-0.26	-0.21
ABTS	-0.08	-0.28	-0.36	-0.36	0.39	0.05	0.45	-0.09	-0.31	0.29	0.23	0.00	0.11	1.00	-0.07	-0.21	-0.20	0.17	-0.29	-0.11	-0.09
DPPH	0.25	0.25	-0.12	-0.05	-0.14	-0.04	0.05	0.49	0.42	0.52	0.10	0.16	0.01	-0.07	1.00	-0.50	-0.50	0.14	-0.25	-0.10	0.41
HR	-0.17	-0.31	-0.06	0.29	-0.09	-0.01	-0.33	-0.64	-0.36	-0.31	-0.16	-0.14	-0.38	-0.21	-0.50	1.00	0.99	-0.35	-0.12	0.40	0.25
CR	-0.19	-0.33	-0.06	0.27	-0.07	-0.01	-0.31	-0.65	-0.36	-0.32	-0.15	-0.14	-0.39	-0.20	-0.50	0.99	1.00	-0.33	-0.11	0.42	0.27
Islanabilirlik	-0.71	-0.57	0.23	-0.17	0.23	0.14	0.28	0.08	-0.02	-0.42	0.02	0.46	0.10	0.17	0.14	-0.35	-0.33	1.00	0.15	0.01	0.17
Çözünürlük	0.33	0.34	0.37	0.28	-0.34	0.11	-0.27	0.24	0.39	-0.14	0.14	-0.05	0.33	-0.29	-0.25	-0.12	-0.11	0.15	1.00	-0.24	-0.64
Higroskopite	-0.26	-0.53	0.32	0.47	-0.30	0.71	-0.06	-0.01	0.20	-0.09	0.26	-0.68	-0.26	-0.11	-0.10	0.40	0.42	0.01	-0.24	1.00	0.37
TPC	-0.42	-0.25	-0.36	-0.24	0.27	0.02	0.33	-0.10	0.06	0.16	-0.30	0.14	-0.21	-0.09	0.41	0.25	0.27	0.17	-0.64	0.37	1.00

AC: Alkali Konsantrasyonu, BD: Gevşek yığın yoğunluğu, TD: Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, HR: Hausner Ratio, CI: Carr İndeks, TPC: Toplam Fenolik Madde, ABTS ve DPPH Antioksidan Aktivitesi, TrMP: Trimetilpirazin, TMP: Tetrametilpirazin

r>0,58 güçlü ilişki (SD 10'a göre p<0.05)

Çizelge 4.2. Farklı alkalizasyon koşullarında bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki korelasyon katsayıları (r)

	Nem Miktarı	Su Aktivitesi	pH	Kül Miktarı	L*	a*	b*	a*/b*	TrMP/TMP	Partikül Boyutu	BD	TD	Hausner Ratio	Carr İndeks	Higroskopite	Çözünürlük	İslanabilirlik	TPC	ABTS	DPPH
Nem Miktarı	1,00	0,78	0,03	0,09	0,03	0,37	0,25	-0,08	-0,78	0,28	-0,19	-0,08	0,08	0,09	-0,58	0,35	-0,09	0,01	0,17	-0,06
Su Aktivitesi	0,78	1,00	0,03	0,00	0,00	0,19	0,08	0,07	-0,65	0,21	-0,05	-0,03	-0,02	0,01	-0,50	0,43	-0,12	-0,02	0,19	-0,05
pH	0,03	-0,03	1,00	0,77	-0,44	-0,60	-0,53	0,29	-0,04	-0,02	0,10	0,45	0,21	0,21	0,23	0,26	-0,12	-0,24	-0,26	-0,20
Kül Miktarı	0,09	0,00	0,77	1,00	-0,56	0,44	-0,59	0,53	-0,03	-0,11	0,06	0,24	0,11	0,11	0,27	0,20	0,09	0,58	0,03	-0,52
L*	0,03	0,00	-0,44	-0,56	1,00	0,36	0,58	-0,62	-0,08	0,11	-0,09	-0,06	-0,33	-0,32	-0,52	-0,34	0,09	0,77	-0,18	0,78
a*	0,37	0,19	-0,60	-0,44	0,36	1,00	0,88	-0,54	-0,19	0,03	0,32	-0,19	0,14	0,13	-0,25	0,06	0,31	0,33	-0,07	0,22
b*	0,25	0,08	-0,53	-0,59	0,58	0,88	1,00	-0,87	-0,23	0,14	-0,31	-0,32	0,04	0,03	-0,37	0,10	0,30	0,69	-0,31	0,60
a*/b*	-0,08	0,07	0,29	0,53	0,62	-0,54	-0,87	1,00	0,25	-0,24	0,24	0,38	0,96	0,06	0,38	-0,17	-0,23	-0,86	0,51	-0,81
TrMP/TMP	-0,78	-0,65	-0,04	-0,03	-0,08	-0,19	-0,23	0,25	1,00	-0,37	0,13	0,18	0,04	0,01	0,56	-0,56	0,08	-0,17	-0,10	-0,12
P. Boyutu	0,28	0,21	-0,02	-0,11	0,11	0,03	0,14	-0,24	-0,37	1,00	0,07	-0,21	-0,17	-0,19	-0,25	0,03	0,00	0,24	0,09	0,20
BD	-0,19	0,05	0,10	0,06	-0,09	-0,32	-0,31	0,24	0,13	0,07	1,00	0,00	-0,78	-0,78	0,30	0,39	0,11	0,16	0,15	-0,07
TD	-0,08	-0,03	0,45	0,24	-0,60	-0,19	-0,32	-0,38	0,18	-0,21	0,00	1,00	0,63	0,63	0,58	0,25	-0,23	-0,49	0,03	-0,49
Hausner Ratio	0,08	-0,02	0,21	0,11	-0,33	0,14	0,04	0,06	0,04	-0,17	-0,77	0,63	1,00	1,00	0,16	0,43	-0,22	-0,19	-0,09	-0,27
Carr İndeks	0,09	0,01	0,21	0,11	-0,32	0,13	0,03	0,06	0,01	-0,19	-0,78	0,63	1,00	1,00	0,14	0,47	-0,22	-0,18	-0,10	-0,26
Higroskopite	-0,58	-0,50	0,23	0,27	-0,52	-0,25	-0,37	0,38	0,56	-0,25	0,30	0,58	0,16	0,14	1,00	-0,06	0,06	0,54	0,08	-0,52
Çözünürlük	0,35	0,43	0,26	0,20	-0,34	0,06	0,10	-0,17	-0,56	0,03	-0,39	0,25	0,43	0,47	-0,06	1,00	0,05	-0,07	-0,15	-0,12
İslanabilirlik	-0,10	-0,12	-0,12	0,09	0,08	0,31	0,30	-0,23	0,08	0,00	0,11	-0,23	-0,22	-0,22	0,06	0,05	1,00	0,13	0,11	0,13
TPC	0,01	-0,02	-0,24	-0,58	0,77	0,33	0,69	-0,86	-0,17	0,24	-0,16	-0,49	-0,19	-0,18	-0,54	-0,08	0,13	1,00	-0,41	0,98
ABTS	0,17	0,19	-0,26	0,03	-0,18	-0,07	-0,31	0,51	-0,10	0,09	0,15	0,03	-0,09	-0,09	0,08	-0,15	0,11	-0,41	1,00	-0,38
DPPH	-0,06	-0,05	-0,20	-0,52	0,78	0,22	0,60	-0,81	-0,12	0,20	-0,07	-0,49	-0,27	-0,26	-0,52	-0,12	0,13	0,98	-0,38	1,00

AC: Alkali Konsantrasyonu, BD: Gevşek yığın yoğunluğu, TD: Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, TPC: Toplam Fenolik Madde, ABTS ve DPPH Antioksidan Aktivitesi, TrMP: Trimetilpirazin, TMP: Tetrametilpirazin

$r > 0,44$ güçlü ilişki (SD 18'a göre $p < 0,05$)

Çalışmamız kapsamında alkalizasyon çalışması ile elde edilen kakao tozlarının fiziko-kimyasal özellikleri, toz karakteristiği, uçucu bileşen, fenolik madde ve potansiyel antioksidan kapasiteleri incelenmiştir.

4.1. Fiziko-Kimyasal Özellikler

Genel olarak, konvansiyonel kurutma yöntemi ile elde edilen kakao tozları için belirlenen nem miktarı üst limit değeri 9.00 g/100 g'dır (Beckett vd., 2017). Çalışmamız kapsamında yapılan her iki alkalizasyon aşamasında da elde ettiğimiz kakao tozu örneklerimizin nem miktarları ise 4.28-6.32 g/100 g arasında tespit edilmiştir. Dar bir aralıkta değişim gösteren nem miktarları tüm örnekler için limit değerden düşük bulunmuştur. Bu nedenle diğer parametreler üzerindeki etkileri ihmal edilebilir olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, bağımsız değişkenlerin nem miktarı üzerine etkileri için de anlamlı bir model belirlenmemiştir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4). Alkalizasyonun ikinci aşamasında elde edilen kakao tozlarının nem miktarı ile su aktivite arasında güçlü bir korelasyon olduğu ve nem miktarı arttıkça su aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir. Ancak nem miktarı arttıkça kakao tozlarının higroskopite ve TrMP/TMP değerleri azalmaktadır (Çizelge 4.2.).

Alkalizasyon prosesi için yaygın olarak kullanılan bir gösterge pH değerinde meydana gelen değişimdir. Naturel kakao tozunun pH değeri 5.2-5.6'dır (Afoakwa, 2014). Proses sonrası kakao tozlarının pH değerlerinin genel olarak 6.8-7.5 düzeyine yükselmesi hedeflenir. Ancak bu özellik ile renk arasındaki ilişki dikkate alınarak, daha koyu renkler için daha yüksek pH değerlerine ulaşmak hedeflenebilir. Ayrıca alkalize kakao tozları bu pH değerlerine göre hafif (6.0-7.2), orta (7.2-7.6) ve güçlü (>7.6) olarak sınıflandırılır (Garcia vd., 2020). Dolayısıyla bu özellik kritik öneme sahiptir. Yapılan alkalizasyon çalışmasının hem ilk hem de ikinci aşama çalışmalarında elde edilen tüm örnekler "kuvvetli alkalize" olarak tanımlanabilir. Çünkü pH değerleri 8.03-9.50 aralığında belirlenmiştir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4.). Kullanılan alkali konsantrasyonu, sıcaklık ve proses süresinin, alkalizasyon derecesi için önemli olması nedeni (Palabiyik vd., 2023) ile bu sabit proses koşullarının da etkisi sonucu kuvvetli alkalize kakao tozları elde edilmiştir. Alkalizasyonun birinci aşamasında kullanılan alkali ajana bağlı olarak pH değerlerinin değişimi için anlamlı bir model belirlenmiştir ($p < 0.05$). Bu model, alkalizasyon sırasında proses kontrolü yanı sıra farklı özelliklere sahip kakao tozu elde edilmesi için önem taşımaktadır. Çünkü kakao

alkalizasyonunda önem taşıyan ve son ürün özelliklerinde belirleyici olan reaksiyonlar arasında polifenol oksidazların katalizledikleri bulunmaktadır. Bu enzimler için ise genel olarak optimum pH değeri 8.0'dır (Garcia vd., 2020). Dolayısıyla polifenol oksidaz'ın aktivitesinde modifikasyon gerçekleştirmek amacıyla belirlenen modelden yararlanılabilir.

Önceki çalışmalarda kuvvetli alkalize kakao üretimi için NaOH kullanımı önerilmektedir (Siroki vd., 2021; Stanley vd., 2005). Kullanılan alkali ajanların alkalinitelerini (NaOH>KOH>K₂CO₃) dikkate aldığımızda da benzer sonuçlar öngörebiliriz. Bu çalışmada alkalizasyonun ilk aşamasında NaOH kullanımı daha yüksek pH değerine sahip olan alkalize kakao tozları elde edilmesi ile sonuçlanmıştır. Ancak, Şekil 4.1.'de de görüldüğü gibi NaOH ile KOH birlikte kullanımının da pH değerini arttırabildiği belirlenmiştir. Ayrıca yalnızca K₂CO₃'ün alkali olarak kullanılması sonucunda da pH değeri 8.0'den fazla olan örnekler elde edilmesi, bir diğer dikkat çekici sonuçtur. Alkalizasyonun ikinci aşamasında ise alkali ajan olarak NaOH belirlenerek alkali konsantrasyonu, sıcaklık ve proses süresinin pH üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu aşamada bağımsız değişkenlerden biri olan alkali konsantrasyonun pH üzerinde en etkili değişken olduğu ve alkali miktarı arttıkça pH değerinin de arttırılabildiği belirlenmiştir (Şekil 4.2.). Alkalizasyonun bu aşamasında yüksek proses sıcaklığı ve yüksek alkali konsantrasyonu uygulandığında daha yüksek pH değerine sahip alkalize kakao tozları elde edilmiştir. Proses koşullarına bağlı olarak pH değerinin değişimi için anlamlı bir model belirlenmiştir (p<0.05). Bağımlı ve bağımsız değişkenlerin kakao tozu pH değeri ile olan etkileşimleri incelendiğinde en güçlü etkiye alkali konsantrasyonun sahip olduğu tespit edilmiştir. Kakao tozlarının pH değeri arttıkça a* ve b* değerlerinde azalma gerçekleşmektedir (Çizelge 4.2.).

Su aktivitesi, kakao alkalizasyon çalışmalarında fazla incelenmeyen bir parametredir. Ancak, serbest suyun varlığı, alkalizasyon sırasında beklenen çeşitli reaksiyonlar için önem taşımaktadır. Bunlar arasında enzimatik aktivite üzerinde su aktivitesinin önemi belirtilebilir. Ayrıca, Maillard reaksiyonları, karamelizasyon, protein oksidasyon ve modifikasyonları (Li vd., 2014) için de su aktivitesi dikkate alınmalıdır. Her iki alkalizasyon aşamasında da elde edilen alkalize kakao örneklerinin su aktivitelerinin düşük oldukları (0.203-0.353) belirlenmiştir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4.). Bu durum elde edilen tozun depolama stabilitesi açısından bir avantajdır. Alkalizasyonun birinci aşamasında NaOH kullanımı ile birlikte daha düşük su aktivitesine sahip örnekler elde edilmiştir (Şekil 4.1.).

NaOH yüksek hidrofilik özelliğe sahip bir alkali olması (Petermann vd., 2010), bu sonucun olası nedenleri arasında yer alabilir. Alkalizasyonun ikinci aşamasında ise daha yüksek alkali konsantrasyonu ve daha düşük proses sıcaklığında elde edilen alkalize kakao tozlarının su aktivitesinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca proses süresi ve alkali konsantrasyonu arttıkça daha düşük su aktivitesine sahip alkalize kakao tozları elde edilmiştir (Şekil 4.2.) Ancak bağımsız değişkenlerin su aktivitesi üzerindeki etkileri için her iki alkalizasyon çalışması aşamasında da anlamlı bir model belirlenememiştir ($P<0.05$). Alkalizasyon koşullarının bağımsız değişkenler olduğu aşamada elde edilen kakao tozlarının su aktivitesi değerinin nem miktarı, TrMP/TMP ve higroskopite değerleri ile etkileşimde olduğu tespit edilmiştir. Su aktivite değeri, nem miktarı arttıkça artış gösterirken TrMP/TMP ve higroskopite değerleri arttıkça azalmaktadır (Çizelge 4.2.).

Kakao alkalizasyonu sonucunda en önemli değişimlerden birisi ise renk özelliklerinde meydana gelen değişimdir. Bu değişim, algılanan kakao lezzet ve aroması üzerinde de etkiye sahiptir (Shankar vd., 2009). Alkalizasyon prosesi sonucu olarak L^* ve b^* değerlerinde düşüş, a^* değerinde ise artış gerçekleşir (Sioriki vd., 2021; Palabiyik vd., 2023; Garcia vd., 2020). Bu değişimin başlıca nedenleri bazik ortamda gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarıdır. Bunlar enzimatik ve kimyasal oksidasyon reaksiyonları olup, dolayısıyla kompleks bir süreçtir. Bu reaksiyonların gerçekleşmesi yanı sıra reaksiyon ürünleri için renk değişimleri gösterge olarak kullanılabilir. Çalışmamızın her iki aşamasında da tüm renk parametreleri (L^* , a^* ve b^*) için anlamlı modeller belirlenmesi bu nedenle önemlidir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4.) ($P<0.05$). Dolayısıyla ilk aşamada kullanılan alkali ve alkali karışımlarının ikinci aşamada ise alkali konsantrasyonu, sıcaklık ve proses süresinin renk değişimi ile sonuçlanan reaksiyonlar üzerinde etkili olduğu, bu etkinin nedenleri arasında kakao tozunun pH'sında meydana gelen değişimler bulunduğunu belirtebilir. Ayrıca bu renk değerleri arasındaki ilişki ve etkileşim için (a^*/b^*) anlamlı bir model oluşturulması önem taşımaktadır ($P<0.05$).

Bazı çalışmalarda ΔE değeri esas alınarak alkalizasyon sonuçları izlenmiş ve tartışılmıştır (Palabiyik vd., 2023). ΔE değerinin 3.0 üzerinde olması, insan gözüyle algılanabilir düzeyde bir renk değişimi olarak kabul edilir (Konar vd., 2023). Ancak bu değerdeki değişimin yalnızca bir parametredeki (örneğin L^*) artış veya düşüş kaynaklı olması mümkündür. Ancak alkalize kakaoda özellikle oksidasyon ve Maillard reaksiyonları

sonucu açığa çıkan bileşenlerin neden olduğu renk değişimleri için a^* ve b^* değerlerinin ve aralarındaki ilişkinin incelenmesi gerekir. a^*/b^* değerindeki artış, kakao alkalizasyonun şiddetinde de artış olarak kabul edilebilir. Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de de görülebileceği gibi, L^* değerindeki düşüş ile a^*/b^* değerindeki artış arasında benzerlikler bulunmaktadır. Her ikisi üzerinde de çalışmanın ilk aşamasında NaOH kullanımının diğer alkali ajanlara göre daha fazla etkili olduğu gözlenmiştir. pH düzeyinde KOH ve NaOH'un birlikte kullanıldığı örneklerde yalnızca NaOH kullanılanlara benzer sonuçlar belirlenmiş olmakla birlikte, yalnızca NaOH kullanıldığında daha yüksek a^*/b^* yanı sıra daha düşük L^* değerine sahip kakao örnekleri elde edilmiştir. Dolayısıyla pH'a bağlı olarak gelişen reaksiyonlar dışındaki faktörlerin de renk değişimine neden olduğu ifade edilebilir. Rodriguez vd., (2009), NaOH ve NaHCO_3 'un kullanıldığı alkalizasyonlarda daha düşük L^* değerine sahip kakao likörleri elde etmişlerdir. Dolayısıyla bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular, literatürde yer alan çalışmalar ile uyumludur. Bu çalışmanın birinci aşamasında da kakao tozu örneklerinin L^* değerleri (38.5-31.7) NaOH kullanımı ile daha fazla düşmüştür. Proses çevresel koşulları yanı sıra hedeflenen son ürün renk düzeyine bağlı olarak alkali seçilmektedir. Örneğin daha koyu renkler için NaOH, kırmızı renk için K_2CO_3 kullanılabilir (Dyer vd., 2003). Bunun için ise a^* değerinin pozitif bölgede artışı yanı sıra L^* değerindeki değişim önemlidir. Bu çalışmanın ilk basamağında da a^* değerinin (10.5-11.7) artışı üzerinde alkali ajanlarının etkisi $\text{NaOH} > \text{K}_2\text{CO}_3 > \text{KOH}$ olarak belirlenmiştir. b^* değerlerinin (15.6-19.3) düşüşü için de benzer bir sıralama tespit edilmiştir. Ancak a^*/b^* değerleri (0.599-0.735) için NaOH en etkili alkali ajan iken, diğer alkalilerin etkisinin ihmal edilebilir olduğu belirlenmiştir. Alkalizasyon proses koşullarının bağımsız değişkenler olduğu aşamada ise alkali konsantrasyonu ve proses sıcaklığının L^* değerindeki düşüş üzerinde daha etkili olduğu ve söz konusu iki değişkenin değerleri arttıkça daha düşük L^* değerine ulaşıldığı belirlenmiştir. Bir diğer önemli parametre olan a^*/b^* değeri incelendiğinde ise alkali konsantrasyonu arttıkça daha yüksek a^*/b^* değerine sahip alkalize kakao tozları elde edildiği belirlenmiştir. Çalışmamızın bu aşamasında düşük proses sıcaklığı ve daha uzun proses süresi uygulandığında alkali konsantrasyonu artarken a^*/b^* değeri de artış göstermektedir. Alkalizasyon prosesinde düşüş beklenen bir diğer parametre olan b^* değerlerinde (9.06-15.78) ise proses koşullarının etkisi $\text{alkali konsantrasyonu} > \text{proses sıcaklığı} > \text{proses süresi}$ olarak belirlenmiştir. Bu çalışma aşamasında renk değerlerinin diğer bağımlı ve bağımsız değişkenlerle olan etkileşimi incelendiğinde, L^* değerinin alkali konsantrasyonu arttıkça azaldığı belirlenmiştir. Kakao tozlarının L^* değeri artarken b^* , a^*/b^* , TPC ve DPPH

değerleri de artmakta, higroskopite ve kül miktarı azalmaktadır. Bir diğer renk ölçüsü olan a^* değeri incelendiğinde yüksek a^* değerine sahip kakao tozlarının b^* değerinin de arttığı ancak pH ve a^*/b^* değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Yüksek b^* değerine sahip kakao tozları yüksek L^* , a^* , TPC ve DPPH yöntemiyle belirlenen IC50 değerine sahipken pH, kül miktarı ve a^*/b^* değerleri azalmaktadır. Alkali konsantrasyonu arttıkça a^*/b^* değeri artan kakao tozlarının kül miktarı ve ABTS yöntemi ile belirlenen IC50 değeri de artmakta ancak L^* , a^* , b^* , TPC ve DPPH yöntemiyle belirlenen IC50 değerleri azalmaktadır (Çizelge 4.2.).

Alkalizasyon ile birlikte kakao ürünlerindeki toplam kül miktarı artışı, bu prosesin en önemli problemlerindendir. Günümüzde kül miktarını azaltma çalışmaları önem kazanmıştır. Bu amaçla farklı, yenilikçi ve inovatif yöntemlerin geliştirilmesine öncelik verilmektedir (Palabiyik vd., 2023). Çalışmamızın her iki aşamasında da alkali kakao tozlarının toplam kül miktarları 8.29-10.81 g/100 g aralığında değişim göstermiştir (Çizelge 4.3., Çizelge 4.4.) Bu miktarlar daha önceki çalışmalarda alkalize kakao tozları için belirlenen toplam kül miktarından düşük (Adeyeye vd., 2016), ancak kakao likörlerine ait olanlardan yüksektir (Rodriguez vd., 2009). Fakat, kullanılan kakaonun botanik ve coğrafik orijinin kakao ürünlerindeki toplam kül miktarlarında farklı sonuçlar ile karşılaşılmasına neden olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Alkalizasyonun birinci aşamasında bağımsız değişkenlerin toplam kül miktarı üzerine etkileri için anlamlı bir model belirlenememişken proses koşullarının bağımsız değişken olduğu ikinci aşamada ise kül miktarı için anlamlı bir model belirlenmiştir ($P < 0.05$). Farklı alkali ajanlarının bağımsız değişken olduğu birinci aşamada en düşük kül miktarı NaOH kullanımı ile elde edilen toz örneklerine ait olmuştur. (Şekil 4.1.) Daha önce farklı alkali ajanlarının kullanıldığı bir çalışma sonucunda ise NaOH'un kakao likörlerinde en yüksek toplam kül miktarı artışına neden olan alkali ajan olduğu belirtilmiştir (Rodriguez vd., 2009). Bu farklılık, alkali seçiminde hammaddenin (nib, likör veya toz) dikkate alınması gerekliliğinden kaynaklanabilir. Gıda güvenliği ve çevreye yönelik kaygılara ek olarak toplam kül miktarı alkalize kakao tozu kullanılan gıda maddelerinde teknolojik sorunlara neden olabilir. Örneğin fırıncılık ürünlerinde kül miktarının artışı kabartma ajanlarını olumsuz etkileyebilir. Alkalize kakao tozlarının yaygın kullanıldıkları ürünler arasında süt bazlı içecekler bulunmaktadır. Kül miktarındaki artışın bu ürünlerde süt proteinlerinin stabilitesini olumsuz etkilemesi riski bulunur (Palabiyik vd., 2023). Dolayısıyla toplam kül miktarında daha düşük artışa neden olabilecek alkali seçimi avantajlar sağlayacaktır. Gerçekleştirilen optimizasyon ve oluşturulan modeller yanı sıra,

NaOH'in kakao tozları için belirlenen bu avantajı ve diğer alkalizasyon göstergeleri olan a^*/b^* değeri artışına, L^* değeri düşüşüne neden olması ile birlikte polifenol oksidaz için optimum çalışma pH değeri olan 8.0'e ulaşılmasını sağlaması dikkate alınarak çalışmamızda fiziko-kimyasal özellikler için önerilen alkali ajan olarak belirlenmesinin başlıca nedenleridir. Alkali ajanı olarak NaOH'in kullanıldığı ve alkalizasyon proses koşullarının etkilerinin incelendiği çalışma aşamasında ise kül miktarı üzerindeki en etkili bağımsız değişkenin alkali konsantrasyonu olduğu ve beklendiği üzere alkali konsantrasyonu arttıkça kül miktarının da arttığı belirlenmiştir. Çizelge 4.2. incelendiğinde yüksek kül miktarına sahip kakao tozlarının pH ve a^*/b^* değerlerinin de yüksek, L^* , b^* , TPC ve DPPH değerlerinin ise düşük olduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.3. Kakao tozu alkalizasyonunda alkali tuz kombinasyonlarının fiziko-kimyasal özellikler üzerindeki etkileri

Örnek	pH	Nem Miktarı (g/100 g)	Su Aktivitesi	Kül Miktarı (g/100 g)	L*	a*	b*	a*/b*
1	8.33±0.01	6.07±0.02	0.280±0.002	8.99±0.03	38.7±0.85	11.1±0.04	17.3±0.21	0.640
2	8.07±0.02	5.44±0.05	0.232±0.003	8.78±0.10	41.7±0.42	11.7±0.06	19.3±0.44	0.606
3	8.36±0.02	6.09±0.10	0.299±0.001	8.66±0.03	39.0±0.65	11.6±0.45	18.1±1.05	0.639
4	8.14±0.02	5.89±0.13	0.275±0.028	9.03±0.12	39.7±0.25	10.9±0.15	17.5±0.30	0.621
5	8.36±0.01	5.48±0.07	0.261±0.002	9.06±0.05	40.5±0.25	10.7±0.03	16.9±0.35	0.630
6	8.05±0.02	6.23±0.09	0.295±0.002	8.71±0.07	40.8±0.50	10.5±0.26	17.6±0.50	0.599
7	8.43±0.01	6.22±0.06	0.274±0.003	8.61±0.35	35.1±0.22	11.5±0.35	15.6±0.62	0.735
8	8.31±0.02	5.33±0.08	0.237±0.003	8.77±0.38	40.4±0.76	11.0±0.29	17.5±0.57	0.632
9	8.59±0.02	5.59±0.02	0.221±0.004	8.69±0.18	39.7±0.32	11.6±0.19	17.9±0.45	0.645
10	8.67±0.03	5.58±0.40	0.291±0.002	9.04±0.06	38.5±0.08	11.1±0.08	16.6±0.08	0.670
11	8.07±0.01	5.53±0.15	0.224±0.001	9.16±0.13	40.6±0.56	11.0±0.13	17.3±0.39	0.633
12	8.03±0.01	5.95±0.02	0.248±0.003	8.72±0.13	41.3±0.35	11.1±0.30	17.8±0.69	0.625
Model	Quadratic	Special Cubic	Special Cubic	Quadratic	Quadratic	Linear	Linear	Quadratic
p değeri	0.0264*	0.049*	0.3572**	0.0701**	0.0016*	0.0143*	0.0487	0.0003*
R ²	0.8297	0.8560	0.6310	0.7565	0.9360	0.6107	0.4892	0.9658
Düzeltilmiş- R ²	0.6879	0.6832	0.1883	0.5535	0.8826	0.5242	0.3757	0.9373
Öngörülen- R ²	-1.6393	-0.8493	-3.7856	0.2241	0.6470	0.2146	-0.0878	0.8070
Yeterli hassasiyet	5.5207	6.6906	3.6214	5.6096	11.8419	6.6233	5.7424	16.0218

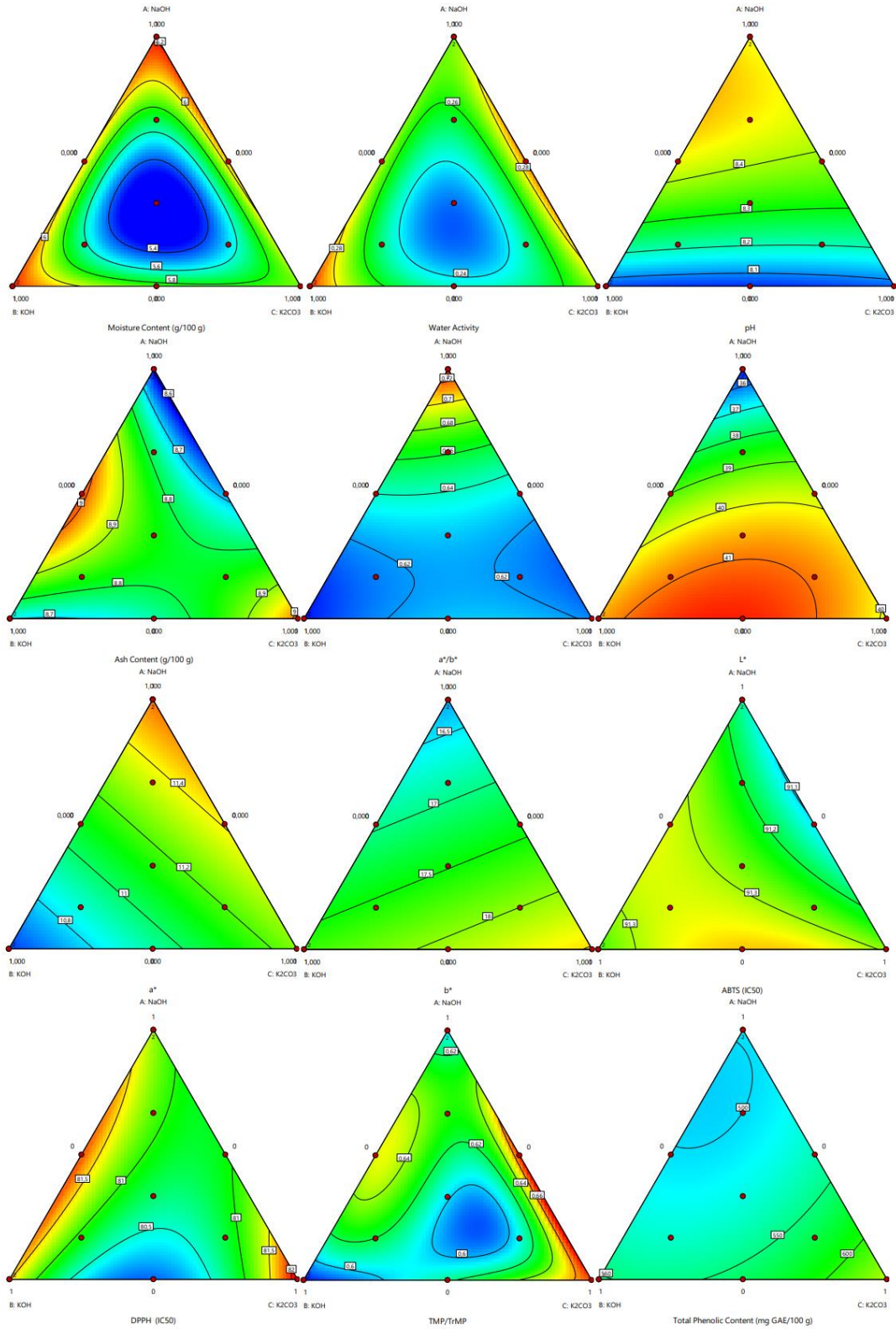
nd: Tespit edilmedi. *, Önemli **; Önemsiz, P<0.05, Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır.

Çizelge 4.4. Kakao tozu alkalizasyonunda alkalizasyon koşullarının fiziko-kimyasal özellikler üzerindeki etkileri

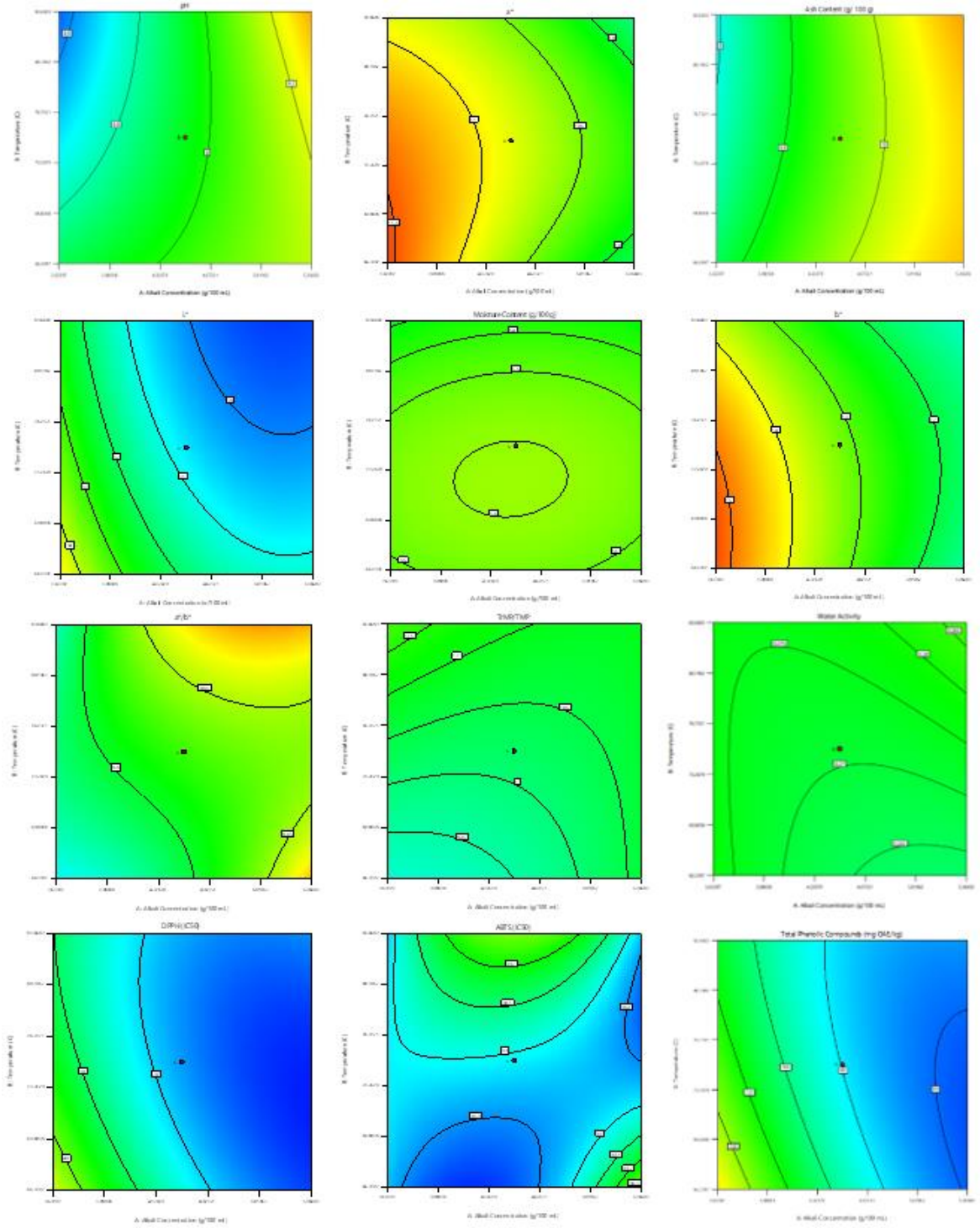
Örnek	pH	Nem Miktarı (g/100 g)	Su Aktivitesi	Kül Miktarı (g/100 g)	L*	a*	b*	a*/b*
1	8.87±0.03	5.58±0.14	0.263±0.11	9.91±0.05	31.84±0.01	10.31±0.01	11.97±0.01	0.862
2	9.15±0.03	5.73±0.25	0.255±0.03	10.12±0.10	30.00±0.00	10.76±0.00	13.77±0.00	0.781
3	9.40±0.01	5.16±0.19	0.264±0.04	10.14±0.47	31.07±0.00	8.830±0.01	10.03±0.01	0.881
4	8.86±0.01	5.49±0.21	0.314±0.07	9.77±0.04	30.16±0.01	9.860±0.01	13.03±0.10	0.930
5	8.93±0.02	4.52±0.07	0.203±0.01	9.72±0.14	30.66±0.91	10.58±0.08	11.49±0.02	0.812
6	9.46±0.01	5.37±0.09	0.276±0.02	10.81±0.04	31.14±0.00	9.760±0.01	12.42±0.02	0.849
7	8.97±0.00	5.01±0.05	0.263±0.00	9.59±0.01	31.82±0.00	10.09±0.00	13.43±0.01	0.812
8	8.85±0.01	5.20±0.04	0.257±0.00	9.62±0.24	29.04±0.01	10.95±0.01	13.32±0.01	0.815
9	8.92±0.05	6.32±0.34	0.353±0.10	9.71±0.15	29.11±0.00	10.91±0.02	14.09±0.00	0.819
10	9.19±0.00	5.79±0.13	0.259±0.40	9.76±0.13	30.53±0.00	11.36±0.01	12.96±0.01	0.806
11	9.04±0.00	6.28±0.14	0.305±0.60	10.55±0.39	33.22±0.01	10.69±0.01	14.46±0.01	0.825
12	8.48±0.02	4.61±0.04	0.244±0.20	9.52±0.27	31.65±0.00	11.72±0.00	15.35±0.00	0.811
13	8.95±0.02	5.31±0.13	0.257±0.30	9.64±0.26	34.77±0.00	11.14±0.01	12.77±0.01	0.725
14	9.24±0.02	5.20±0.06	0.254±0.10	10.60±0.28	32.61±0.00	10.12±0.01	9.06±0.00	0.792
15	9.29±0.02	4.28±0.11	0.236±0.10	10.28±0.52	29.54±0.00	8.430±0.01	15.78±0.01	0.930
16	8.45±0.02	5.83±0.03	0.314±0.00	8.29±0.22	36.27±0.00	11.78±0.00	13.85±0.01	0.747
17	8.86±0.01	4.91±0.05	0.245±0.00	8.64±0.38	33.73±0.00	9.570±0.00	15.52±0.01	0.691
18	8.88±0.02	5.10±0.08	0.269±0.50	8.80±0.11	35.21±0.00	11.51±0.00	15.78±0.01	0.742

19	9.50±0.00	5.68±0.11	0.306±0.30	10.43±0.06	29.38±0.00	10.46±0.00	12.90±0.01	0.811
20	8.77±0.02	5.51±0.21	0.248±0.90	9.40±0.23	31.70±0.01	10.64±0.00	12.30±0.01	0.865
Model	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Cubic	Quadratic	Cubic
p değeri	0.0224*	0.9411**	0.9699**	0.0224*	0.0110*	0.0021*	0.0034*	0.0034*
R ²	0.7787	0.2333	0.1944	0.7786	0.8122	0.9673	0.8562	0.9615
Düzeltilmiş- R ²	0.5796	-0.4567	-0.5307	0.5794	0.6432	0.8965	0.7269	0.8780
Öngörülen- R ²	-0.3581	-2.2207	-1.3788	-0.1009	0.5204	-0.1122	0.0828	-0.5151
Yeterli hassasiyet	6.8737	1.7031	2.2257	7.2423	8.0575	13.7458	10.2471	13.3123

nd: Tespit edilmedi. *; Önemli **; Önemsiz. P<0.05. Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 4.1. Farklı alkali ajanı kombinasyonlarının kakao tozlarının fiziko-kimyasal özellikler, TrMP/TMP, potansiyel antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde üzerindeki etkisine ait kontur grafiği



Şekil 4.2. Alkalizasyon koşullarının kakao tozlarının fiziko-kimyasal özellikler, TrMP/TMP, antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde üzerindeki etkisine ait kontur grafiği

4.2. Toz Karakteristiği Özellikleri

Alkalize kakao tozu, farklı gıdaların üretiminde kullanılabilir. Bunlar arasında su-bazlı olanların yanı sıra yağ-bazlı gıdalar da bulunur. Ayrıca bu gıdalar reolojik açıdan da farklı formlarda bulunmaktadır: akışkan (örneğin çikolata süt), yarı-katı (örneğin puding) ve katı (örneğin çikolata). Dolayısıyla, geniş kullanım alanına sahip olmaları, alkalizasyon sırasında dikkate alınmalıdır. Bu nedenle de toz karakterizasyonu, teknolojik uygulamalar için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada farklı alkaliler kullanılarak hazırlanan örneklerin toz karakterizasyonu için partikül büyüklük dağılımları, ıslanabilirlik, suda çözünürlük, higroskopite, gevşek yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Hausner Ratio ve Carr İndeks değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.5., Çizelge 4.6.). Alkalizasyon sürecinde farklı alkalilerin kullanımı sonucu bu bağımlı değişkenlerde $D_{3:2}$, gevşek yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu için; alkalizasyon sırasında farklı proses koşullarının kullanımı sonucu bu bağımlı değişkenlerde D_{90} ve ıslanabilirlik için anlamlı modeller tespit edilmiştir. Ancak diğer toz karakteristik özelliklerine ait modeller anlamlı değildir ($P < 0.05$).

Kakao alkalizasyonunun başlıca amaçlarından birisi çözünürlük özelliğinin artırılmasıdır. Bu işlem sırasında belirli koşullar altında alkali çözeltilerin yüzey oksidasyonu ve hidrofilik fonksiyonel gruplar ile etkileşimleri, çözünürlüğün gelişmesine destek olur (Dong vd., 2017). Özellikle kavurma sonrası oluşan kompleks bileşenler, doğal kakao tozlarının düşük çözünürlük özelliğine sahip olmalarına neden olur. Bu durumda ise sedimentasyon eğilimine sahip materyallerin çeşitli gıdalarda kullanımı sorun oluşturur (Palabiyik vd., 2023). Bu nedenle de doğal kakao tozları ile birlikte yüzey aktif maddelerin ve diğer stabilizatörlerin kullanımı gerekliliği ortaya çıkar. Çalışmamızda alkalizasyon sonrası tozların düşük çözünürlük değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.5., Çizelge 4.6.). Yapılan iki aşamalı alkalizasyon çalışmasında %12.08-%17.89 arasında değişim gösteren kakao tozu çözünürlüğünün bağımsız değişkenlere bağlı değişimi için alkalizasyonun iki aşamasında da anlamlı bir model belirlenmemiştir ($P < 0.05$). Ancak çalışmamızın ilk aşamasında NaOH ve K_2CO_3 'ün birlikte kullanımı ile daha yüksek çözünürlüğe sahip olan alkalize kakao tozu elde edilmiştir (Şekil 4.3.) Dolayısıyla bu alkali ajanın, özellikle kavurma aşamasında oluşan protein-polifenol kompleksleri üzerinde daha etkili olduğu belirtilebilir. NaOH'un hücre duvarlarındaki ester bağlarını parçalayarak kakao

tozunun çözünürlüğünü arttırdığı daha önceki çalışmalarda vurgulanmıştır (Garcia vd., 2020). Ancak bu çalışmada yalnızca NaOH kullanımı, diğer alkalilere göre daha yüksek çözünürlüğe sahip alkali kakao tozu elde edilmesini sağlamamıştır. Dolayısı ile NaOH'ın çözünürlük üzerindeki bu etkisinin diğer proses değişkenleri (süre, sıcaklık ve alkali konsantrasyonu) ile olan ilişkisi çalışmanın ikinci aşamasında incelenmiştir. Düşük alkali konsantrasyonu uygulanan alkalizasyon çalışmasında kısa proses sürelerinde çözünürlüğün proses sıcaklığından etkilenmediği, daha uzun proses sürelerinde ise proses sıcaklığı arttıkça kakao tozu çözünürlüğünün azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.4.). Benzer etkileşim yüksek alkali konsantrasyonlarının uygulandığı alkalizasyon çalışmalarında da tespit edilmiştir. Alkalizasyon sırasında, alkali ajanının daha fazla yüzey alanı ile interaksiyonunun sağlanması için proseste eş zamanlı uygulanacak shear etkisinden yararlanılabilir. Bu durumda alkali çözeltisinin penetrasyon etkisi arttırılacaktır (Ji vd., 2019). Ayrıca shear etkisi sayesinde agregasyonların önlenerek partiküller arası boşlukların arttırılması da dikkate alınmalıdır (Palabiyik vd., 2023). Çalışmamızın ikinci aşamasında yüksek çözünürlüğe sahip kakao tozlarının düşük TrMP/TMP değerlerine sahip olması dikkat çekici bir başka sonuçtur (Çizelge 4.2.).

Kakao tozu alkalizasyon çalışmalarında, ürün stabilitesi yanı sıra teknolojik özelliklerini belirlemek için incelenmesi gereken özellikler arasında higroskopite yer almaktadır (Palabiyik vd., 2023). Ancak bu özellik çoğu çalışmada yeterince incelenmemiştir. Farklı alkali çözeltileri kullanımının etkilerinin incelendiği çalışmanın birinci aşamasında %7.34-%9.12 higroskopite değerlerine sahip alkalize kakao tozları elde edilirken farklı proses koşullarının etkilerinin incelendiği ikinci aşamada ise daha düşük higroskopite değerlerine (%2.70-%5.12) ulaşılmıştır. Ancak her iki aşamada da anlamlı bir model oluşturulamamıştır ($P < 0.05$). Toz malzemelerin partikül boyut özellikleri yanı sıra uygulanan kurutma tekniği ile birlikte özellikle yüzey bileşimi, higroskopite üzerinde etkilidir (Suhaj vd., 2016). Proteinler ve hidrofilik monosakkaritlerin varlığına bağlı olarak farklı higroskopite özelliğine sahip tozlar elde edilebilir. Ayrıca yağ miktarı da dikkate alınmalıdır. Çalışmamızda tüm kakao tozu örneklerinin non-higroskopik oldukları tespit edilmiştir. Çünkü bir tozun higroskopik olması için bu değer %10'un üzerinde olması gerekir (Jeantet vd., 2016). Farklı alkali ajanların kullanıldığı alkalizasyonun ilk aşamasında NaOH kullanımının daha yüksek higroskopite ile sonuçlanması dikkat çekicidir (Şekil 4.3.) Farklı proses koşullarının alkalizasyon üzerindeki etkisinin incelendiği ikinci aşamada ise

NaOH konsantrasyonu arttıkça daha yüksek higroskopite değerine sahip alkalize kakao tozu elde edilmiştir (Şekil 4.4.) Bu durum, NaOH kullanımının pH ve su aktivitesi üzerindeki etkileri ile de ilişkilendirilebilir. pH üzerindeki etki, kakao tozu proteinlerinin su bağlama kapasitesinde değişikliklere neden olabilir. Su aktivitesi ise ortam bağıl nemine göre tozun davranışını değiştirebilir. Çünkü higroskopite, materyalin belirli koşullarda ortam bağıl nem değeri ile dengeye ulaşıldığında örneğin nem miktarıdır (Ermis vd., 2020). Alkalizasyon proses koşullarının etkilerinin incelendiği aşamada elde edilen kakao tozlarının higroskopite değerleri arttıkça TrMP/TMP ve gevşek yığın yoğunluğu değerlerinin arttığı, nem miktarı, su aktivitesi, L^* , TPC ve DPPH değerlerinin ise azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Alkalize kakao tozu kullanılan gıda proseslerinde bu malzemenin nasıl bir akış davranışına sahip olduğu hem dozajlama hem de ambalajlama için önemlidir. Tozun akışkanlığının incelenmesi için ise Carr İndeks değerleri yanı sıra gevşek ve sıkıştırılmış yığın yoğunlukları parametreleri de dikkate alınabilir. Bu çalışmanın birinci aşamasında alkalize kakao tozlarının Carr İndeks değerleri (15.60-31.43) üzerinde bağımsız değişkenlerin etkisi için anlamlı bir model belirlenmemiştir (Çizelge 4.5.) ($P < 0.05$). Tozların akışkanlıklarının iyi ve orta akışkanlıkta tozlar oldukları tespit edilmiştir. Çünkü Carr İndeks değerinin 15-20 ve 20-35 arasında olmasına bağlı olarak tozlar sırasıyla iyi ve orta akışkanlıkta olarak tanımlanırlar (Ermis vd., 2020). NaOH, NaOH-KOH ve NaOH- K_2CO_3 kullanımı daha iyi akışkanlıkta olan alkalize kakao tozları ile sonuçlanmıştır. Daha homojen, daha az aglomerasyona uğramış ve daha düşük nem miktarına sahip olan kakao tozlarının daha iyi akış davranışına sahip olmaları beklenebilir. Ancak örneklerimizin nem miktarına bağımsız değişkenlerin etkisi ile Carr İndeks üzerindeki etkisi birlikte incelendiğinde bir çelişki dikkat çekicidir. Nem miktarlarının dar bir aralıkta değişim göstermesi dikkate alınarak, bu faktör akışkanlık için ihmal edilmiştir. Daha düşük $D_{4:3}$ değerine sahip kakao tozları için daha düşük akıcılık, dolayısıyla daha yüksek Carr İndeks değerleri belirlenmiştir. Bu nedenle partiküller arası etkileşim, partikül sayısının artmasına bağlı olarak akışkanlığı azaltabilir. Daha önceki çalışmalarda da partiküller arası sürtünme kuvvetlerindeki artış ile birlikte, bu partiküllerin hareketliliklerinin azaldıkları belirlenmiştir (Santhalakshmy vd., 2015). Alkalizasyon proses koşullarının incelenmesinde ise 15.86-38.46 aralığında Carr İndeks değerlerine ulaşılmış ve alkalizasyonun ilk aşamasından farklı olarak bu aşamada Carr İndeks değeri >35 olan ve kötü akışkanlığa sahip kakao tozları da elde edilmiştir (Çizelge 4.6.). Daha yüksek proses sıcaklığı ve daha yüksek alkali

konsantrasyonu uygulandığında daha iyi akışkanlık özelliğine sahip alkalize kakao tozları elde edilmiştir. Alkalizasyonun ilk aşamasında elde edilen kakao tozlarından farklı olarak ikinci aşamada elde edilen kakao tozlarının Carr İndeks değeri ile partikül büyüklüğü arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Bu aşamada daha düşük Carr İndeks değerine sahip kakao tozlarının sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ve Hausner Ratio değerlerinin de düşük olduğu belirlenmiştir. Carr İndeks değeri arttıkça gevşek yığın yoğunluğu değerinin azalması dikkat çekici bir diğer sonuçtur (Çizelge 4.2.).

Çalışmanın ilk aşamasında bağımsız değişkenlerin alkalize kakao tozlarının gevşek ve sıkıştırılmış yığın yoğunlukları üzerindeki etkilerine ait sırasıyla 0.9925 ve 0.9994 R^2 'ye sahip anlamlı modeller belirlenmiştir (Çizelge 4.5.) ($P < 0.05$). Bu aşamada gevşek ve sıkıştırılmış yığın yoğunlukları, sırasıyla 0.48-0.60 g/mL ve 0.64-0.75 g/mL aralığında olup, bu iki değer arasındaki ilişki esas alınarak belirlenen Hausner Ratio, tozların yapışkanlık davranışı ile ilişkilidir. Hausner Ratio'nun 1.20'den küçük değerlerde olması, düşük yapışkanlıkta toz materyal elde edilmesi olarak yorumlanabilir. Ancak alkalize kakao tozu örnekleri için Hausner Ratio değerinin genel olarak bu seviyenin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Alkalizasyonun ikinci aşamasında ise gevşek ve sıkıştırılmış yığın yoğunlukları sırasıyla 0.48-0.63 g/mL ve 0.63-0.78 g/mL aralığında olup, bu çalışmada bağımsız değişken olarak ele alınan farklı proses koşullarının sıkıştırılmış ve gevşek yığın yoğunluğu üzerindeki etkilerine ait için anlamlı modeller belirlenmemiştir (Çizelge 4.6.) ($P < 0.05$). Daha önceki çalışmalarda partikül büyüklüğü artışı ile daha düşük Hausner Ratio'ya sahip tozlar elde edildiği vurgulanmıştır (Ermis vd., 2020). Ancak çalışmamızın ilk aşamasında bahsedilen etkileşime benzer bir ilişki gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla partiküllerin boyutlarından ziyade, morfolojilerinin çalışmamızda Hausner Ratio'yu etkilediği değerlendirilmiştir. Küresel partiküller ve tekdüze partikül yapısı, tozlarda partikül-partikül etkileşimini azaltarak daha düşük yapışkanlık ve dolayısıyla daha düşük Hausner Ratio değeri ile sonuçlanabilir (Zou and Yu, 1996; Chan and Page, 1997).

Gevşek yığın yoğunluğunun ambalajlama veya taşınım sırasında akış hızı ile ilişkisi vardır. Ayrıca paketlenmenin sıklığı yanı sıra ambalajlama sonrası poroz bölgeler ve boşluklar açısından bu parametre önemlidir. Bu nedenle daha düşük oksidasyon eğilimi ve/veya riski için daha yüksek bulk yoğunluğu hedeflenir (Barbosa-Canovas and Juliano, 2005; Koc vd., 2011). Kakao tozunun bileşiminde bulunan yağın ve bu yağın oksidasyon

eğiliminin, ayrıca daha önce uygulanan prosesler sonrası serbest yağ asidi miktarının artışından kaynaklı oksidasyon risklerinin önlenmesi gerektiği göz önünde tutulduğunda daha yüksek gevşek yığın yoğunluğuna sahip kakao tozu üretimi hedeflenmelidir. Alkalizasyonun ilk aşamasında NaOH'ın KOH veya K_2CO_3 ile birlikte kullanımı ile daha yüksek gevşek yığın yoğunluğuna sahip alkalize kakao tozu elde edileceği belirlenmiştir. Bu sonuç, kullanılan alkali ajanın kakao tozunun partikül morfolojisi ve bu partiküllerin akış davranışları üzerinde etkili olduğunun bir göstergesidir. Ayrıca, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu için ise NaOH ve K_2CO_3 'ın birlikte kullanıldığı alkalizasyonlarda artış belirlenmiştir. Her iki yoğunluk üzerindeki etkiler dikkate alındığında ise NaOH ve K_2CO_3 kullanımı hem gevşek hem de sıkıştırılmış yığın yoğunluğunda artış sağlayacağı tespit edilmiştir. Alkalizasyonun ikinci aşamasında proses koşullarının gevşek yığın yoğunluğu üzerindeki etkisi incelendiğinde, proses süresinden bağımsız olarak proses sıcaklığı ve alkali konsantrasyonu arttıkça gevşek yığın yoğunluğu değerinin arttığı belirlenmiştir. Daha kısa proses sürelerinin uygulandığı alkalizasyon çalışmalarında proses sıcaklığı ve alkali konsantrasyonu arttıkça sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri artarken daha uzun proses süreleri uygulandığında proses sıcaklığı ve alkali konsantrasyonu sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri üzerinde zıt yönlü bir etki göstermiştir. Çalışmanın bu aşamasında elde edilen kakao tozlarının gevşek yığın yoğunluğu değeri artarken, Hausner Ratio ve Carr İndeks değerleri azalmıştır. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri en çok etkileyen bağımsız değişken alkali konsantrasyonu olup, alkali konsantrasyonu arttıkça sıkıştırılmış yığın yoğunluğunda artış görülmüştür. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu arttıkça Hausner Ratio, Carr İndeks ve higroskopite değerleri de artmıştır (Çizelge 4.2.).

Çalışmamızın ilk aşamasında alkalize kakao tozu örneklerinin partikül boyutları dağılımı incelenmiş olup, bunlar arasında farklı prosesler için özellikle dikkate alınan $D_{4:3}$ (De Broucker Mean) ve $D_{3:2}$ (Sauter Mean) parametreleri üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir. $D_{3:2}$ üzerinde bağımsız değişkenlerin etkileri için anlamlı bir model belirlenmiştir ($P < 0.05$). Bu parametre farklı materyallerde reaktivite, biyoyararlanım ve dissolüsyon davranışları için önem taşımaktadır. Ayrıca alkalize kakao tozlarının yaygın kullanıldığı prosesler için de önemlidir. Örneğin çikolata teknolojisinde proses başlangıcında katı maddelerin (örneğin şeker, kakao kütlesi, kakao tozu) partikül boyutları, inceltme ve konçlama proseslerinin etkinlikleri üzerinde önem taşır ve son ürün bazı kalite parametreleri (örneğin tekstür, akış davranışı gibi) ve fat bloom stabilitesi için dikkate

alınmalıdır (Toker vd., 2019; Toker vd., 2023). Kakao katılarının boyutları, çikolata yüzey pürüzlüğünü etkileyerek görsel özellikler üzerinde de belirleyici olur (Zhao vd., 2008). Ayrıca partikül boyutları, kakao yağının katıları kaplamasından dolayı çikolata kitlesi akış davranışını (Dahlenborg vd., 2015), bu katıların iç yapıdaki paketlenme özelliklerindeki etkilerinden dolayı boşluk ve çatlakların varlığı ve dolayısıyla yağ migrasyonu ile fat bloom stabilitesini (Galdamez vd., 2009) etkiler.

Farklı alkali tuz kombinasyonlarının kullanılmasıyla elde edilen alkalize kakao tozlarının $D_{3:2}$ ve $D_{4:3}$ değerleri sırasıyla 19.3-80.8 μm ve 65.6-391.0 μm olarak belirlenmiştir. Dolayısı ile bu parametrelerin geniş aralıklarda değişim gösterdiği tespit edilmiştir. NaOH ve KOH farklı oranlarda bir arada kullanıldığı koşullarda daha yüksek $D_{3:2}$ değerine sahip kakao tozları elde edilmiştir. Dolayısıyla alkalizasyon bu koşullarda daha düşük yüzey alanı ile sonuçlanmıştır. Çünkü yüzey alanının düşüşü ve partikül boyutlarının artışı, alkali ajanların daha az reaksiyona girmeleri ve penetrasyonların düşüş ile sonuçlanabilir. Bu durumda ise hedeflenen renk değişimlerinde sapmalar olabilir. Alkalizasyon proses koşullarının etkilerinin incelenmesinde ise, alkalizasyon esnasında partiküller daha fazla agregasyona uğradığı için partiküllerin boyut dağılım analizi yapılamamış, mikrometre ile yapılan çok tekrarlı ölçümler D_{90} değeri olarak kabul edilmiştir (Toker vd., 2017). Buna göre partikül boyutları ile proses koşulları arasındaki ilişki incelendiğinde proses süresi azaldıkça ve alkali konsantrasyonu arttıkça partikül boyutunun yükseldiği belirlenmiştir. Çalışmamızın ikinci aşamasında kakao tozlarının partikül büyüklüğü arttıkça Hausner Ratio oranlarının azaldığı belirlenmiş ve bu etkileşim daha önce yapılan çalışmalarda (Ermis vd., 2020) vurgulanan partikül boyutu ve Hausner Ratio ilişkisine uyum göstermiştir.

Çizelge 4.5. Farklı alkali tuz kombinasyonlarının kullanılmasıyla elde edilen kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri

Örnek	D _{3:2} (µm)	D _{4:3} (µm)	Islanabilirlik(sn)	Çözünürlük(%)	Higroskopisite (%)	BD (g/mL)	TD (g/mL)	Hausner Oranı	Carr İndeks
1	56.90±0.07	156.00±0.01	843±1.02	12.84	7.34	0.60±0.05	0.71±0.05	1.18	15.60
2	37.10±0.03	120.00±0.01	963±0.97	12.37	8.99	0.54±0.02	0.72±0.05	1.32	24.48
3	38.50±0.05	128.00±0.04	409±0.55	14.34	8.22	0.60±0.02	0.75±0.01	1.24	19.46
4	46.50±0.02	146.00±0.05	628±1.52	13.69	7.67	0.53±0.01	0.71±0.02	1.33	24.82
5	19.30±0.02	75.60±0.09	852±1.63	13.86	7.73	0.48±0.03	0.68±0.05	1.41	28.89
6	60.80±0.04	170.00±0.02	308±0.88	13.14	7.90	0.50±0.07	0.68±0.02	1.35	25.93
7	53.20±0.04	159.00±0.05	768±0.82	14.32	8.63	0.55±0.01	0.72±0.01	1.32	24.31
8	39.60±0.01	135.00±0.01	898±1.13	12.08	8.77	0.49±0.08	0.66±0.06	1.35	25.76
9	46.40±0.05	391.00±0.03	803±1.45	13.75	8.78	0.53±0.04	0.69±0.05	1.30	23.19
10	46.00±0.03	144.00±0.02	200±0.98	12.83	9.12	0.48±0.06	0.70±0.03	1.46	31.43
11	37.40±0.03	132.00±0.04	545±1.01	13.07	7.91	0.53±0.04	0.66±0.09	1.25	19.70
12	44.50±0.08	153.00±0.07	370±0.94	13.15	8.17	0.45±0.01	0.64±0.01	1.44	30.47
Model	Special Cubic	Special Quadratic	Special Cubic	Quadratic	Quadratic	Special Quadratic	Special Quadratic	Special Cubic	Special Cubic
p değeri	0.0156*	0.5380**	0.3768**	0.6205**	0.4357**	0.0042*	0.0001*	0.1638**	0.1331**
R ²	0.9127	0.7377	0.6199	0.3816	0.4847	0.9925	0.9994	0.7522	0.7754
Düzeltilmiş-R ²	0.0383	0.1638	-0.1338	0.0553	0.8080	0.9725	0.9977	0.4548	0.5059
Öngörülen-R ²	-97.2740	-2.5128	-3.1623	-1.6271	-0.3741	-1.8076	0.7694	-0.7321	-0.6253
Yeterli hassasiyet	4.1819	3.1662	2.7905	3.0637	8.8985	23.8747	85.4868	5.3128	5.6865

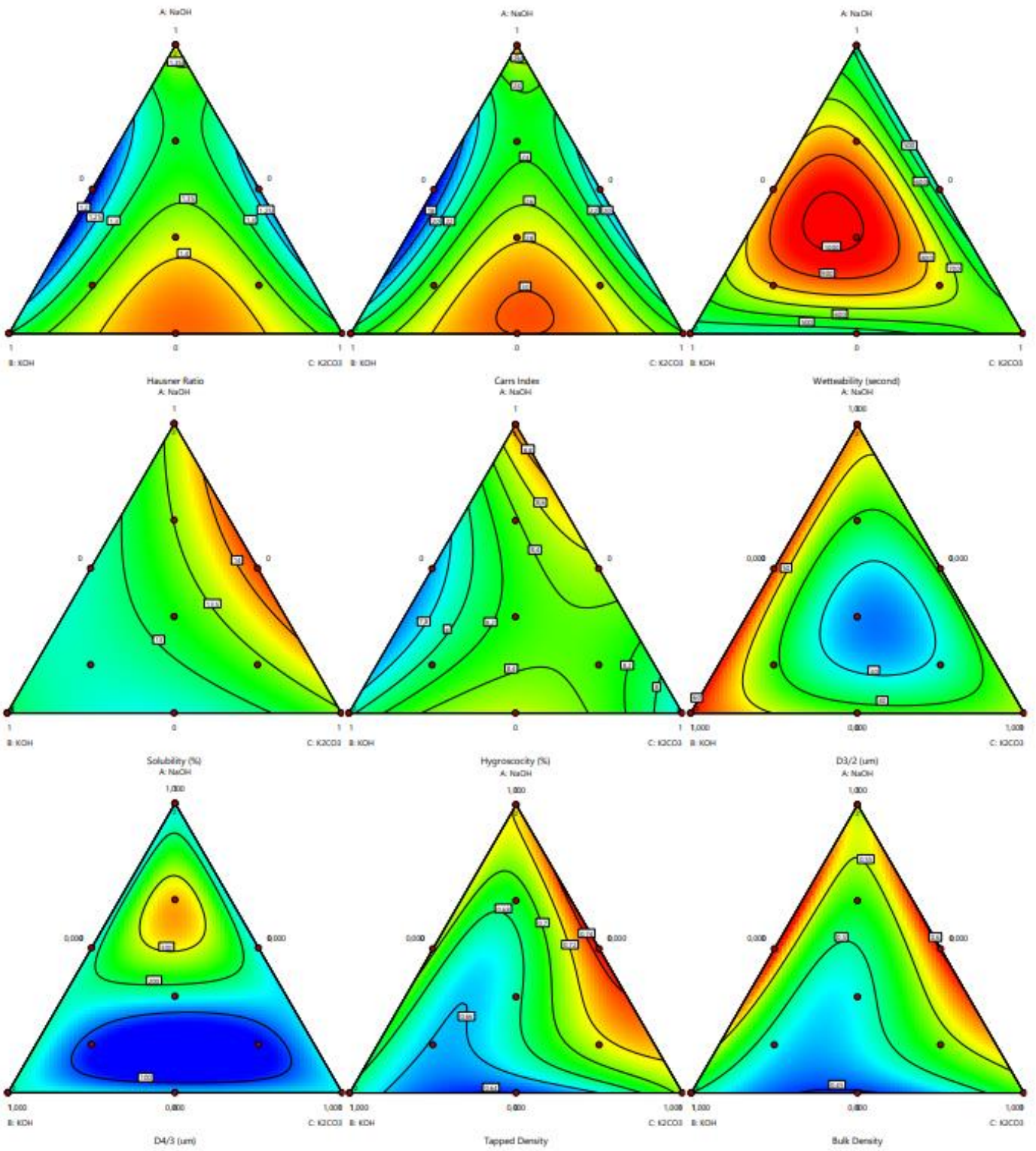
nd: Tespit edilmedi. *: Önemli **: Önemsiz, P<0.05, Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır.

Çizelge 4.6. Farklı alkalizasyon koşullarının uygulanmasıyla elde edilen kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri

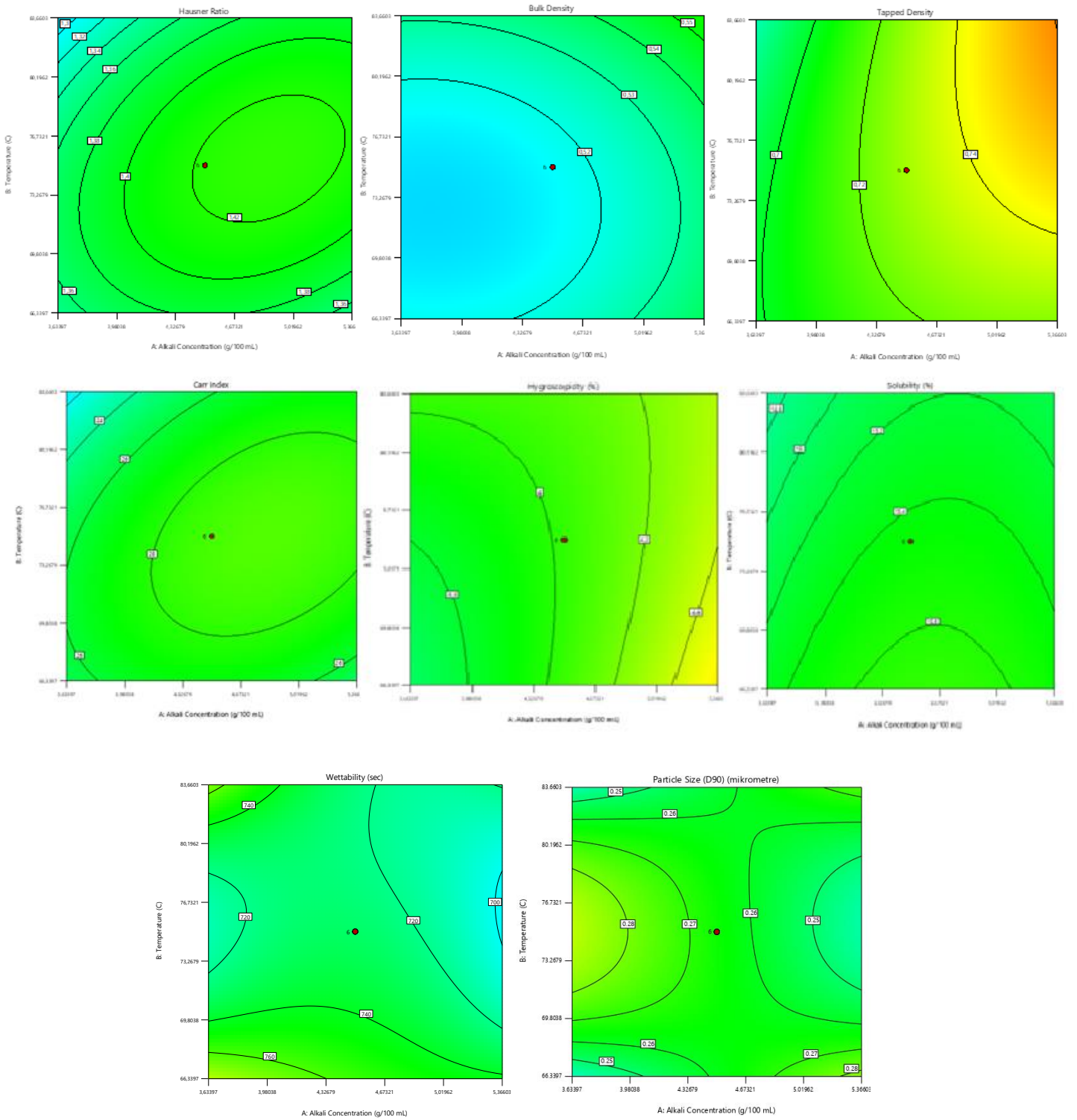
Örnek	D ₉₀ (µm)	Islanabilirlik (sn)	Çözünürlük (%)	Higroskopite (%)	BD (g/mL)	TD (g/mL)	Hausner Ratio	Carr İndeks
1	331±0.01	721.5±0.71	14.83±0.02	4.73±0.92	0.595±0.04	0.720±0.00	1.210	17.36
2	220±0.00	697.5±0.71	16.40±0.02	4.44±0.07	0.540±0.00	0.745±0.01	1.380	27.52
3	231±0.02	751.5±2.12	15.54±0.00	4.64±0.08	0.575±0.03	0.750±0.00	1.304	23.33
4	227±0.00	735.5±0.71	15.29±0.00	3.96±0.32	0.520±0.01	0.745±0.01	1.433	30.20
5	301±0.01	741.0±0.00	14.71±0.01	4.61±0.03	0.480±0.00	0.760±0.00	1.583	36.84
6	239±0.00	651.5±2.12	15.50±0.01	4.81±0.03	0.500±0.00	0.770±0.00	1.540	35.06
7	268±0.01	751.5±3.54	16.26±0.00	4.20±0.14	0.545±0.01	0.730±0.01	1.339	25.34
8	244±0.00	740.5±2.12	16.81±0.01	4.32±0.10	0.490±0.00	0.705±0.01	1.439	30.50
9	288±0.00	716.0±4.24	17.89±0.00	3.99±0.02	0.530±0.03	0.775±0.02	1.462	31.61
10	256±0.01	723.5±2.12	15.42±0.01	4.33±0.15	0.480±0.00	0.780±0.02	1.625	38.46
11	262±0.01	727.0±1.41	14.92±0.02	2.70±1.28	0.510±0.01	0.630±0.01	1.235	19.05
12	199±0.00	819.5±2.12	14.30±0.00	5.12±1.37	0.580±0.00	0.690±0.01	1.190	15.94
13	277±0.01	839.5±2.12	15.02±0.00	3.92±0.07	0.540±0.00	0.690±0.01	1.278	21.74
14	259±0.01	793.0±2.83	16.28±0.03	4.14±0.00	0.530±0.01	0.670±0.01	1.264	20.90
15	234±0.00	656.5±3.54	14.10±0.00	4.80±0.05	0.605±0.02	0.740±0.00	1.223	18.24
16	320±0.01	676.5±0.71	14.58±0.00	3.40±0.00	0.515±0.02	0.640±0.03	1.243	19.53
17	300±0.01	702.5±0.71	15.02±0.01	3.75±0.07	0.555±0.01	0.670±0.00	1.207	17.16
18	196±0.00	711.0±0.00	15.41±0.00	3.98±0.02	0.540±0.00	0.760±0.02	1.407	28.95
19	332±0.00	744.0±2.83	15.55±0.02	4.32±0.08	0.625±0.01	0.750±0.01	1.200	16.67
20	241±0.01	713.5±0.71	13.01±0.01	4.21±0.07	0.610±0.00	0.725±0.01	1.188	15.86

Model	Reduced Cubic	Quadratic (Aliased)	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic
p değeri	0.0061*	0.0015*	0.9776**	0.6508**	0.9776**	0.9776**	0.9254**	0.9407**
R ²	0.8357	0.9842	0.1797	0.4079	0.1797	0.4079	0.2494	0.2337
Düzeltilmiş- R ²	0.6878	0.9399	-0.5586	-0.1249	-0.5586	-0.1249	-0.4262	-0.4560
Öngörülen- R ²	0.2523	nd	-1.0577	-1.0689	-1.0577	-1.0689	-2.0448	-2.2838
Yeterli hassasiyet	8.9105	18.4299	1.7043	3.2295	1.7043	3.2295	1.5643	1.5169

nd: Tespit edilmedi. *, Önemli **, Önemsiz. P<0.05. Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 4.3. Farklı alkali ajanı kombinasyonlarının toz karakteristik özellikleri ve kakao tozu partikül boyutu üzerindeki etkisine ait kontur grafikleri



Şekil 4.4. Farklı alkalizasyon proses koşullarının kakao tozlarının toz karakteristik özellikleri ve kakao tozu partikül boyutu üzerindeki etkisine ait kontur grafikleri

4.3. Uçucu Bileşenler, Toplam Fenolik Madde ve Potansiyel Antioksidan Kapasite

Kakao (nib, likör ve toz) alkalizasyonunun başlıca amaçları arasında, aromatik bileşen profilinin modifikasyonu da yer almaktadır. Ancak diğer biyolojik materyallerde olduğu gibi, kakao aroma profili de çok sayıda bileşenden oluşup kompleks bir özelliktir. Kakaoda 600'den fazla uçucu bileşen tanımlanmıştır (Toker vd., 2020). Bunlar arasında sahip olduğu notlar nedeni ile pirazinler marker aroma bileşenleri olarak kabul edilirler. Bu bileşenlerin miktarları yanı sıra kompozisyonları, kakao ve çikolata teknolojisinde bir kontrol parametresidir (Hinne vd., 2019). Bu parametreler yalnızca alkalizasyon değil, aroma ve uçucu bileşen profilini etkileyen kavurma, konçlama gibi diğer proses basamaklarında da dikkate alınır (Sioriki vd., 2019). Örneğin normal bir kakao kavurma işlemi için trimetilpirazin/tetrametilpirazin (TrMP/TMP) oranı 0.400-0.667 olmalıdır (Beckett vd., 2017). Bu değer, alkalizasyon işlemi için de aroma indikatörü olarak kullanılır (Li vd., 2012). Çünkü, alkalizasyon sırasında ortamın bazikleşmesi ile TMP azalırken, TrMP miktarının da artışı beklenir. Dolayısı ile TrMP/TMP oranının artışı, daha bazik bir kakao tozu elde edildiğinin göstergesidir. Çalışmamızda TrMP/TMP değerlerinin farklı alkali ajanların kullanıldığı ilk aşamasında 0.582-0.667 aralığında; farklı proses koşullarının etkisinin incelendiği ikinci aşamasında ise 0.318-1.528 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.7., Çizelge 4.8.). Alasti vd., (2020), NaOH ve K₂CO₃ kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada, alkali türünün kakao tozu TrMP/TMP oranı üzerinde etkili olduğunu, NaOH kullanımının toplam alkilpirazin miktarında düşüş ve bu oranda artış ile sonuçlandığını belirlemişlerdir. Ancak çalışmamızın ilk aşamasında K₂CO₃ daha yüksek TrMP/TMP oranı ile sonuçlanmıştır. Alkalizasyon prosesi öncesi kakaoya uygulanan post-harvest işlemler yanı sıra orijin ve varyeteden kaynaklı bazı bileşim faktörlerine (örneğin serbest amino asit miktar ve kompozisyonu, indirgen şekerlerin miktarı) bağlı olarak (Li vd., 2012; Toker vd., 2020) farklı uçucu bileşen profiline sahip kakao tozları elde edilmesi mümkündür.

Farklı alkali türlerinin kullanıldığı aşamada, bağımsız değişkenlerin TrMP/TMP üzerindeki etkilerine ait yüksek R² değerine (0.9983) sahip anlamlı bir model belirlenmiştir (P<0.05). K₂CO₃ kullanımının daha yüksek TrMP/TMP oranı ile sonuçlanması ve bu alkalinin özellikle KOH ile birlikte kullanımı ile de daha düşük TrMP/TMP oranlarına ulaşılması dikkat çekici bir sonuçtur. Çünkü, alkalizasyon için önemli indikatörler ile bu

indikatör üzerinde alkalilerin farklılık gösteren etkileri belirlenmiştir. Örneğin a*/b* oranının artışı üzerinde K₂CO₃ daha az etkili iken, K₂CO₃ kullanımı TrMP/TMP oranının artmasını sağlamaktadır. Bu ise, kakao alkalizasyonunda farklı kullanım amaçlarına yönelik olarak alkali karışımlarından yararlanılmasını destekleyici sonuçlar arasındadır. Kakao alkalizasyonunda renk özellikleri ve pH sınıflandırmada özellikle dikkate alınan faktörlerdir. Ancak bu ürünlerin tüketimi için motivasyon unsurları arasında başta özgün aromatik özellikler olmak üzere diğer duyuşsal özellikler de bulunmaktadır (Sioriki vd., 2021). Dolayısıyla daha bütüncül yaklaşımla alkalizasyon işlemleri koşullarının belirlenmesi gerekir. pH 7 bölgesi, Maillard reaksiyonlarının birinci aşamasını hızlandırarak ikinci aşamada alkilpirazinlerin oluşumunu teşvik eder (Martins vd., 2000). Artan pH yalnızca polifenollerin polisakkaritler, proteinler, diğer fenoller, Maillard ürünleri, pirazinler ve onların ön maddeleri ile olan etkileşimlerini ve oksidasyonu değil, aynı zamanda polifenol oksidaz aktivitesini de arttırır (Garcia vd., 2020). Bu durumda ise polifenollerin miktarında azalma, dolayısıyla bu reaksiyon ve interaksiyonlara katılacak reaktif miktarlarında düşüş gerçekleşecektir. Dolayısıyla, farklı alkalilerin potansiyel etkilerinden yararlanarak optimum veya belirli (hedeflenmiş) özelliklere sahip alkalize kakao tozları elde edilmelidir. Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular da bunu desteklemektedir. Çalışmamızın ikinci basamağında ise farklı proses koşullarının TrMP/TMP üzerindeki etkilerine ait anlamlı bir model belirlenememiştir (P<0.05). Proses koşullarının birbiri ile olan etkileşimine bakıldığında kısa proses sürelerinde alkali konsantrasyonu arttıkça TrMP/TMP değerinin azaldığı, proses süresi ve alkali konsantrasyonu arttıkça TrMP/TMP değerinin de arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2.). Alkalizasyonun ikinci aşamasında elde edilen kakao tozlarının TrMP/TMP değeri ile diğer bağımlı değişkenlerin ilişkisi incelendiğinde, TrMP/TMP değeri arttıkça higroskopite değerinin arttığı, nem miktarı, su aktivitesi ve çözünürlük değerlerinin de azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Kakao ürünlerinin tüketiminde bir diğer motivasyon unsuru ise polifenol içerikleri ve kompozisyonu olup, bu özellik antioksidan aktivite üzerinde de etkilidir. Bu polifenollerin başlıcaları ise proantosiyandinler, flavan-3-oller ve antosiyaninlerdir (Börsig vd., 2023). Kakao ve çikolata prosesinin çeşitli aşamalarında toplam polifenol miktarı üzerinde önemli düşüşler gerçekleşir. Bu aşamalar arasında alkalizasyon da bulunmaktadır (Asefi vd., 2023). Bu nedenle, farklı alkalizasyon koşullarının toplam fenolik madde miktarı (TPC) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi önemlidir. Bu çalışmada, alkali çözeltisinin

kompozisyonunun TPC üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında bağımsız değişkenlerin TPC üzerindeki etkisi için anlamlı bir model belirlenememişken, ikinci aşamasında R^2 değeri 0.7916 olup bağımsız değişkenlerin TPC üzerindeki etkisi için anlamlı bir model belirlenmiştir (Çizelge 4.7., Çizelge 4.8.) ($P < 0.05$). Alkalizasyonun ikinci aşamasında elde edilen kakao tozlarının TPC değeri arttıkça DPPH, higroskopite, b^* , L^* ve kül miktarının arttığı, a^*/b^* değerinin ise azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Bağımlı değişkenler arasındaki bu ilişki göz önüne alındığında TPC'nin, alkalizasyon ile teşvik edilmek istenen diğer değişimlerin önemli bölümü ile ilişkisi bulunduğu söylenebilir. Buna örnek olarak renk değişimleri verilebilir.

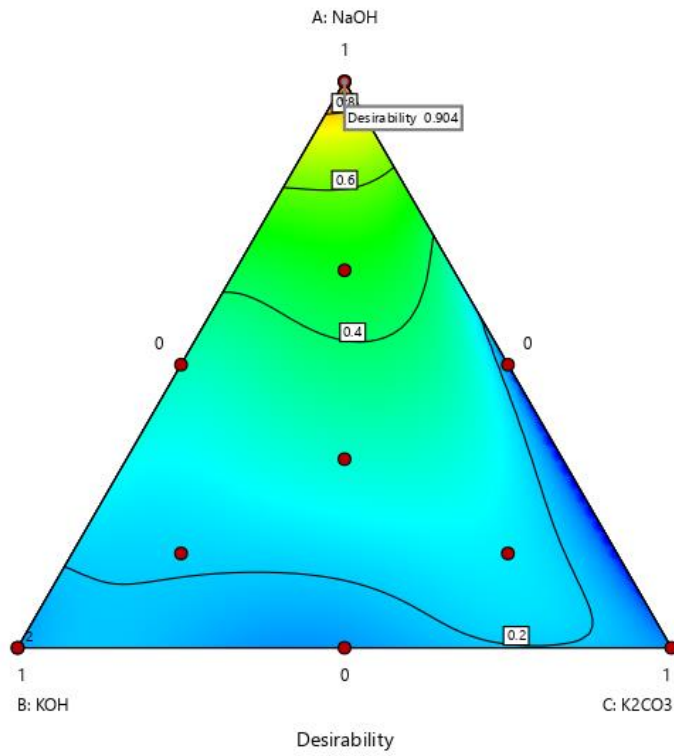
Literatürde bu konuda gerçekleştirilen çalışmalarda TPC'nin ve flavanol miktarının alkalizasyon sonrasında azaldığı belirlenmiştir (Garcia vd., 2020). Bu azalmanın olası nedenleri arasında, pH artışı ile birlikte polifenol oksidaz etkinliğinin artması ile birlikte protein-polifenol komplekslerinin oluşması bulunabilir. Çünkü çalışmamızın birinci aşamasında daha yüksek pH artışı ile sonuçlanan alkali kullanımlarının daha düşük TPC değerine sahip kakao tozlarına neden olduğu; çalışmamızın ilk aşamasına göre daha yüksek pH değerlerine ulaşılan ikinci aşamada ise elde edilen kakao tozlarının TPC değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Araştırmanın ilk aşamasında NaOH kullanımı genel olarak daha düşük TPC ile sonuçlanmış iken, bu parametre için K_2CO_3 ve KOH daha avantajlı alkaliler oldukları görülmüştür (Şekil 4.1.) Alkali türü olarak NaOH kullanılan ikinci aşamada ise elde edilen kakao tozlarının TPC değeri üzerinde en etkili olan bağımsız değişkenin alkali konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir. Alkali konsantrasyonu arttıkça TPC değerinde düşüş gözlemlenmektedir (Şekil 4.2.). Alkalizasyon çalışmasında TPC değerinin azalmasında diğer bir olası neden, kullanılan alkalinin daha fazla protein-polifenol interaksiyonunu teşvik etmesidir (Dalabasmaz vd., 2023). Çünkü bu interaksiyonlar fenoller ve proteinlerin yapıları yanı sıra pH, sıcaklık gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Kakao çekirdeğinin %12-18'i proteinlerden oluşur (Börsig vd., 2023). Dolayısıyla alkalizasyon koşulları bu proteinler ile polifenoller arasında kovalent ve kovalent olmayan bağlanmaları teşvik edicidir. Bağlanmalar ise aralarında çözünemeyenlerin de bulunduğu kompleks bileşiklerin oluşumu ile sonuçlanabilir. Bu kompleks yapılar nedeni ile mevcut ve yaygın kullanılan analiz yöntemlerinin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kısıtları olabilir. Gerek çalışmamızda, gerekse de önceki çalışmalarda TPC sonuçlarının incelenmesinde bu kompleks yapıların varlıkları ve analiz yönteminin yeterliliği dikkate

alınmalıdır. TPC'nin alkalizasyona bağlı değişiminin ayrıca polifenol biyoerişilebilirliği açısından da incelenmesi gerekmektedir. Bu amaçla ise polifenol profilinin belirlenmesi ve alkali ajan türü dahil olmak üzere alkalizasyon koşullarının bu profil üzerindeki etkilerinin incelenmesi yararlı olacaktır. Çünkü alkalizasyon sırasında gelişen reaksiyon ve interaksiyonlar, polifenollerin intestinal bölgede salımları ve absorpsiyonlarında düşüşe neden olabilir (Bandyopadhyay et al. 2012). Özellikle protein-prosiyanidin komplekslerinin ince bağırsakta emilim sorunları bulunmaktadır. Bu durumda kolona taşınan bu yüksek molekül ağırlıklı kompleksler, kısmen kolonik fermantasyona uğrayabilmekte ve düşük molekül ağırlığına sahip olan fenolikler serbest kalmaktadır (Paz-Yépez et al. 2019; Barišić et al. 2021). Alkalizasyon koşullarının, kakao fenoliklerinin kolonik fermantasyona maruz kalmaları ve dolayısıyla sindirim sisteminde bulunan mikrobiyotayı etkilemesi mümkündür. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bu yaklaşımla da ele alınabilir.

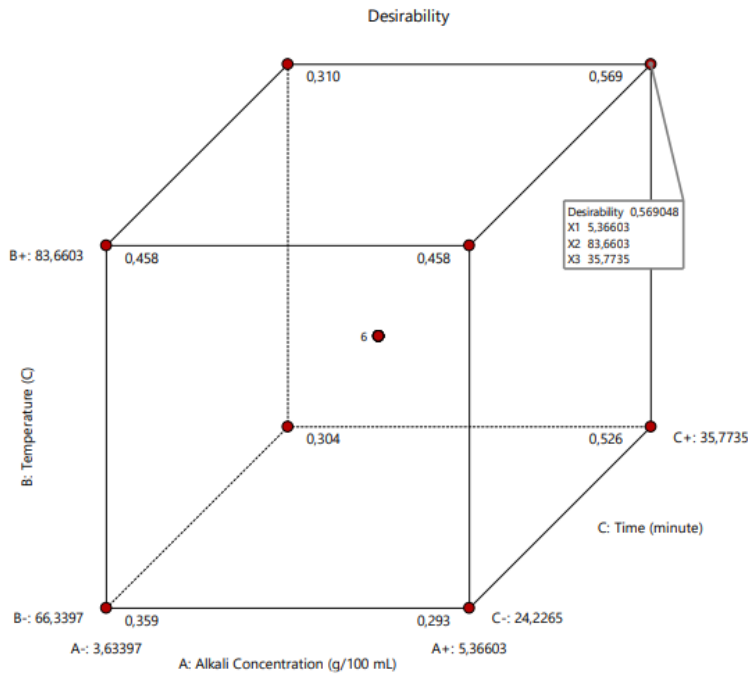
Alkalize kakao örneklerinin antioksidan aktivite potansiyelleri ise iki farklı yöntemle (DPPH ve ABTS) incelenmiştir (Çizelge 4.7., Çizelge 4.8.). Çalışmamızın birinci aşamasında DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen IC50 değerleri sırasıyla 79.90-82.00 ve 91.00-91.45 olup Çizelge 4.7.'de de görülebileceği dar bir aralıkta değişim gösteren bu özellikler için bağımsız değişkenlerin etkisi için anlamlı modeller belirlenmemiştir ($P < 0.05$). Farklı proses koşullarının etkilerinin incelenmesinde ise DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen IC50 değerleri sırasıyla 8.99-60.47 ve 98.73-99.64 olup bu özellikler için bağımsız değişkenlerin etkisi için anlamlı modeller belirlenmiştir ($p < 0.05$). Bilindiği gibi, düşük IC50 değerleri, daha yüksek antioksidan aktivite potansiyeli olarak yorumlanır. Daha önceki çeşitli çalışmalarda, kakao alkalizasyonu için fenolik bileşenlerdeki değişimle yüksek korelasyona sahip antioksidan aktivite potansiyeli düşüşü vurgulanmıştır (Garcia vd., 2020). Çalışmamızın birinci aşamasında kullanılan alkali ajana bağlı olarak TPC sonuçları dikkate alındığında, ilgili değerler arasındaki farklı trendler dikkat çekicidir. Örneğin K_2CO_3 ile sadece alkalizasyon uygulandığında daha yüksek TPC değerine ulaşılması nedeni ile daha fazla antioksidan aktivite potansiyeli beklenebilir. Ancak elde edilen sonuçlar farklıdır. Bu nedenle, yüksek fenolik içeriğine sahip alkalizasyon koşulları sağlayan ajan ile yüksek antioksidan aktivite potansiyeli elde edilemeyebileceği, diğer proses koşulları yanı sıra alkali ajan türünün de antioksidan aktivite için dikkate alınması gerektiği belirlenmiştir. Bu sonucun olası nedenleri; (i) alkali türüne bağlı olarak kakao proteinlerinden farklı biyoaktif peptitlerin oluşması (Sarmadi vd., 2012), (ii)

kullanılan alkali türünden farklı fenolik maddelerin etkilenmesi (iii) alkalizasyon sırasında alkali türüne bağlı olarak değişiklik gösterebilen Maillard ürünleri yanı sıra diğer bazı reaksiyon ürünleri ile etkileşimlerin antioksidan aktivite potansiyelini etkilemesidir (Misnawi vd., 2003; Rodriguez vd., 2009). Farklı proses koşullarının antioksidan aktivite potansiyelleri üzerindeki etkileri incelendiğinde alkali konsantrasyonunun DPPH yöntemiyle belirlenen IC50 değeri üzerinde en etkili bağımsız değişken olduğu ve alkali konsantrasyonu arttıkça bu değer azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.1.). Alkali konsantrasyonu arttıkça DPPH yöntemiyle belirlenen IC50 değerinin azalma nedeni, ortamda kakao proteinleri ile daha fazla etkileşime girebilecek ve daha fazla Maillard ürünlerinin oluşmasını sağlayabilecek alkali miktarının artması olabilir. Çalışmanın ikinci aşamasında elde edilen kakao tozlarının DPPH yöntemiyle belirlenen IC50 değeri arttıkça L*, b* ve TPC değerleri artmış, kül miktarı, a*/b* ve higroskopite değerleri ise azalmıştır (Çizelge 4.2.).

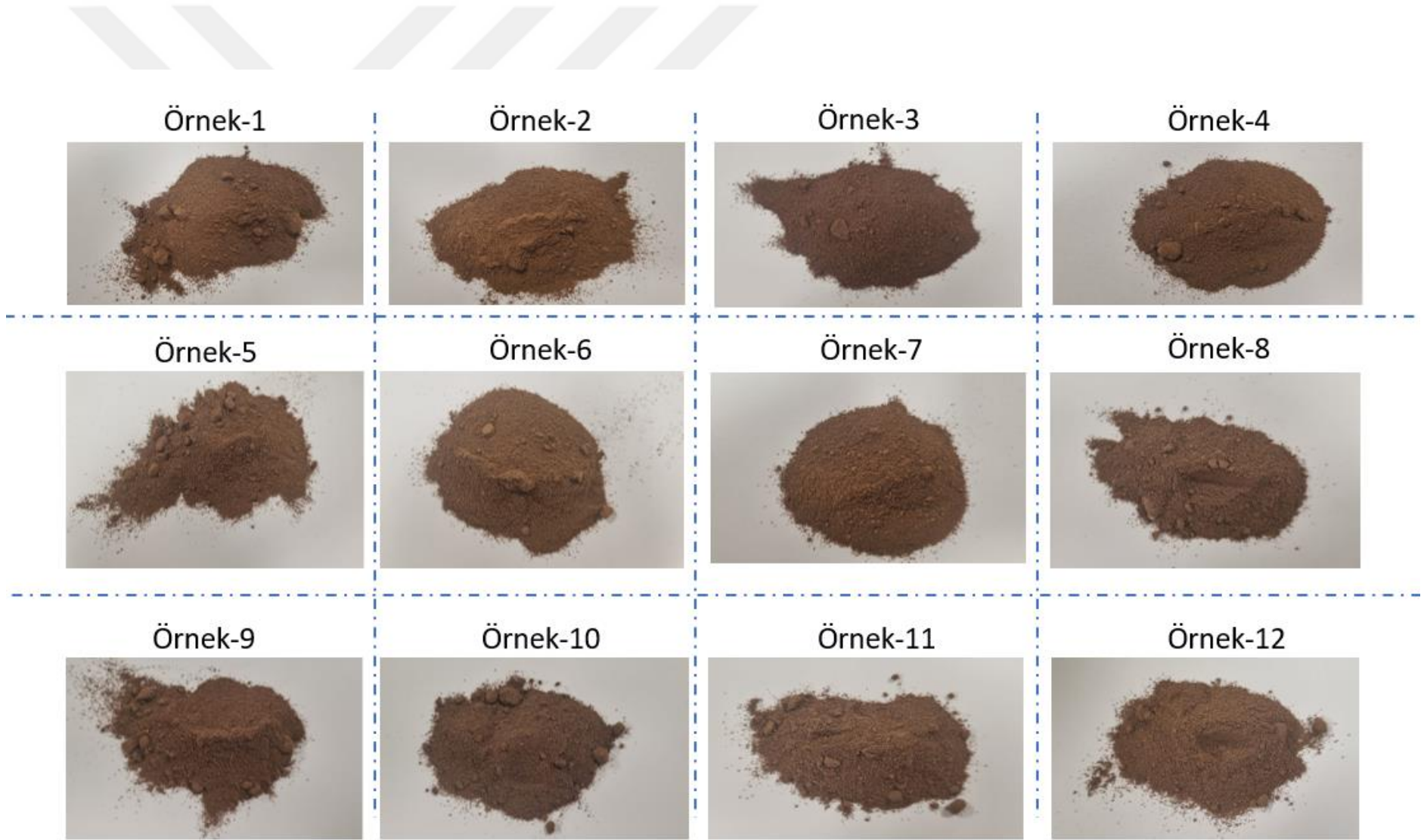
Farklı alkali türlerinin etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasında uygulanan deneme desenleri sonucunda elde edilen analiz sonuçları karışım dizayn yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi alkali indikatörü olarak belirlenen TrMP/TMP ve a*/b* değerlerinin maksimum değere ulaşması hedeflenen optimizasyon çalışmasında en yüksek desirability değerine (0.904) sahip koşulların NaOH'in tek başına kullanıldığı durumda elde edildiği belirlenmiştir. Optimum alkali ajanı olarak NaOH belirlendikten sonra yapılan ikinci alkalizasyon çalışmasında kakao tozu farklı proses sıcaklıkları ve sürelerde farklı konsantrasyonlarda NaOH çözeltisi ile muamele edildikten sonra elde edilen analiz sonuçları yüzey yanıt merkezi kompozit yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. İlk optimizasyon çalışmasına benzer şekilde ikinci optimizasyon çalışmasında da TrMP/TMP ve a*/b* oranları alkali indikatörü olarak belirlenmiştir. Bu alkali indikatörlerinin maksimum değerlere ulaşabildiği en yüksek desirability değerine (0.57) sahip alkalizasyon koşulları Şekil 4.6.'da yer aldığı gibi %5.4 NaOH konsantrasyonu, 84°C proses sıcaklığı ve 36 dakika proses süresi olarak belirlenmiştir. Şekil 4.7.'de farklı alkali ajanları kullanılarak elde edilen kakao tozlarının görselleri, Şekil 4.8.'de ise farklı alkalizasyon koşulları kullanılarak elde edilen kakao tozlarının görselleri yer almaktadır.



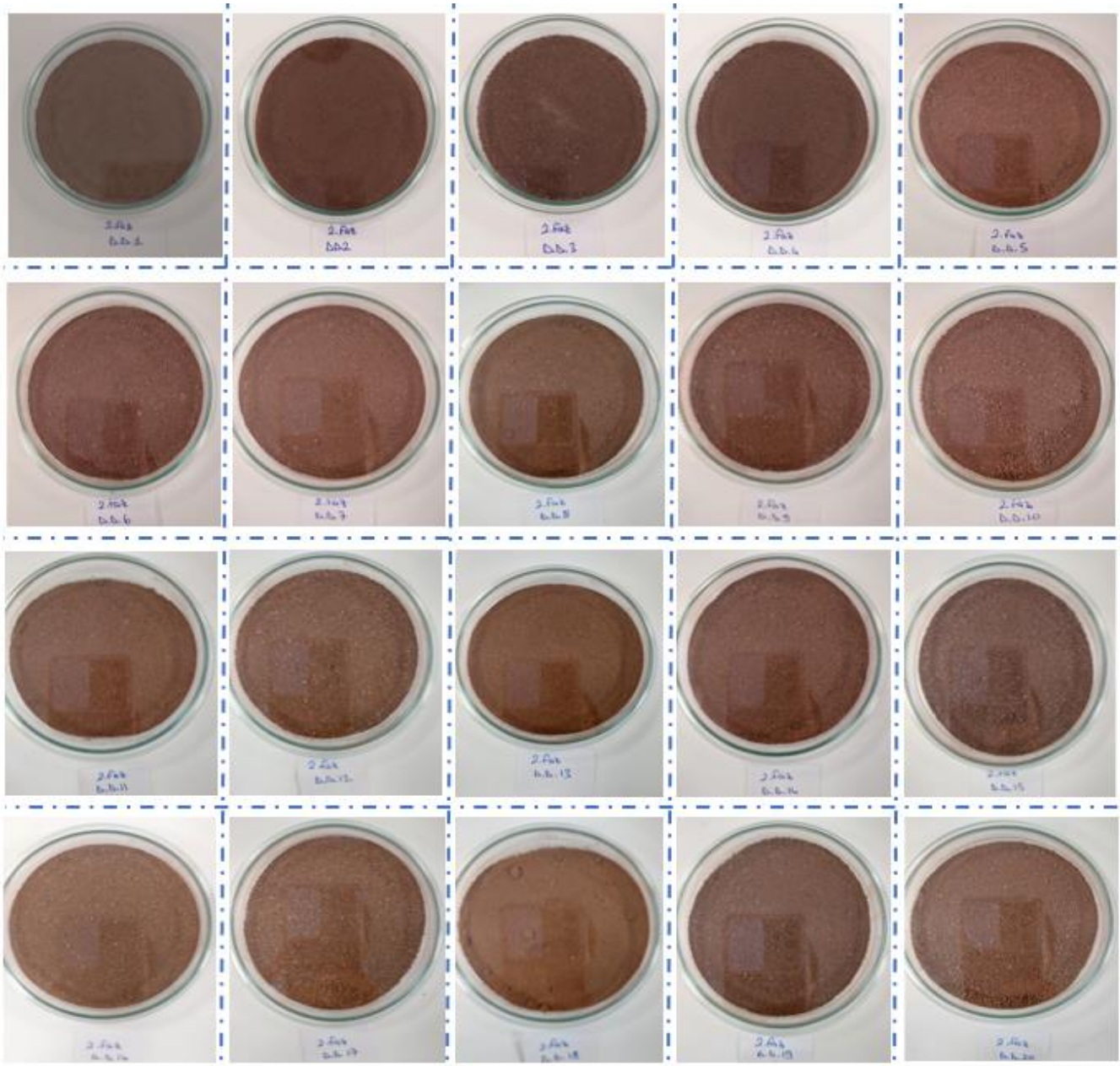
Şekil 4.5. Farklı alkali türlerinin etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışması desirability optimizasyon kontur grafiği



Şekil 4.6. Farklı alkalizasyon koşullarının etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışması desirability optimizasyon kontur grafiği



Şekil 4.7. Farklı alkali türlerinin etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasında geliştirilen alkalize kakao tozlarının görselleri (Örnek 3: NaOH'in tek başına kullanıldığı ve desirability değeri en yüksek olan deneme deseni ile elde edilen alkalize kakao tozu)



Şekil 4.8. Farklı alkalizasyon koşullarının etkisinin incelendiği alkalizasyon çalışmasında geliştirilen alkalize kakao tozlarının görselleri (Örnek 15: %5,4 NaOH konsantrasyonu, 84°C proses sıcaklığı ve 36 dakika proses süresi kullanılan ve en yüksek desirability değerine sahip alkalizasyon çalışmasında elde edilen alkalize kakao tozu)

Çizelge 4.7. Farklı alkali tuzlarının kullanımının kakao tozlarının antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve TrMP/TMP değerleri üzerindeki etkileri

Örnek	ABTS(IC50)	DPPH(IC50)	Toplam Fenolik Madde (Gallik Asite eşdeğer ppm)	TrMP/TMP
1	91.40±0.28	81.90±0.85	460.9	0.628
2	91.35±0.64	81.75±1.35	453.2	0.649
3	91.15±0.50	80.70±1.70	431.5	0.604
4	91.25±0.63	81.90±1.27	537.2	0.582
5	91.00±1.84	80.40±1.28	627.2	0.618
6	91.40±0.92	81.15±1.34	743.3	0.606
7	91.25±0.50	81.05±0.92	459.2	0.673
8	91.30±0.56	80.75±1.34	561.3	0.582
9	91.30±0.55	81.10±1.70	522.7	0.604
10	91.00±0.01	81.50±1.27	440.1	0.618
11	91.10±0.14	82.00±1.41	612.8	0.603
12	91.45±0.35	79.90±1.98	614.5	0.667
Model	Quadratic	Quadratic	Quadratic	Quadratic
p değeri	0.8019**	0.1581**	0.9086**	0.0004*
R ²	0.2719	0.6668	0.1887	0.9983
Düzeltilmiş- R ²	-0.3348	0.3892	-0.4874	0.9939
Öngörülen- R ²	-2.9248	-2.7743	-5.3664	0.3994
Yeterli hassasiyet	2.0771	5.6240	1.7547	44.9756

nd: Tespit edilmedi. *; Önemli **; Önemsiz, P<0.05, Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır.

Çizelge 4.8. Farklı alkalizasyon proses koşullarının kakao tozlarının antioksidan kapasite, toplam fenolik madde ve TrMP/TMP değerleri üzerindeki etkileri

Örnek	ABTS (IC50)	DPPH (IC50)	Toplam Fenolik Madde (Gallik Asite eşdeğer ppm)	TrMP/TMP
1	99.61±0.29	8.99±0.37	44.970	0.891
2	98.96±0.12	23.79±0.09	89.878	0.780
3	99.02±0.03	17.24±0.19	65.655	0.318
4	99.64±0.34	14.22±0.23	59.363	0.973
5	98.93±0.19	23.31±0.59	92.653	1.528
6	98.78±0.39	12.85±0.44	57.240	1.096
7	98.83±0.23	14.66±1.15	65.913	0.894
8	99.01±0.23	11.60±0.27	73.728	0.930
9	99.00±0.24	9.58±0.81	56.720	0.595
10	98.96±0.12	16.12±1.22	90.345	1.146
11	98.97±0.20	27.64±3.19	99.198	0.857
12	99.02±0.16	15.44±0.61	64.945	1.647
13	99.02±0.13	48.68±2.69	158.540	0.907
14	98.87±0.24	35.13±2.03	125.600	0.816
15	98.94±0.17	14.70±0.59	51.748	1.460
16	98.94±0.16	48.59±1.59	175.020	0.851
17	98.84±0.24	60.47±0.91	193.303	1.057
18	98.81±0.29	49.78±3.59	161.973	1.140

19	98.88±0.19	28.58±1.16	105.235	0.906
20	99.06±0.14	12.81±1.71	64.335	1.061
Model	Quadratic	Quadratic (Aliased)	Quadratic	Quadratic
p değeri	0.0249*	0.0006*	0.0173*	0.8236**
R ²	0.7731	0.9889	0.7916	0.3227
Düzeltilmiş- R ²	0.5688	0.9577	0.6040	-0.2868
Öngörülen- R ²	-0.5169	nd	-0.4919	-2.0380
Yeterli hassasiyet	6.4285	21.2920	7.1279	2.9195

nd: Tespit edilmedi. *; Önemli **; Önemsiz. P<0.05. Ortalama ± Standart sapma. Tüm analizler en az 3 kez tekrarlanmıştır

4.4. Geliştirilen Alkalize Kakao Tozlarının Sütlü Çikolata Üzerindeki Etkileri

Bu çalışmada alkalizasyonun her iki aşamasında da geliştirilen alkalize kakao tozlarının bazıları model gıda olarak sütlü çikolatada kullanılmış, kullanılan alkalize kakao tozlarının çikolata kalitesi ve fizikokimyasal, duyuusal ve reolojik özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Üç farklı alkali ajanın (NaOH, KOH veya K_2CO_3) kullanılması ile elde edilen alkalize kakao tozları yanı sıra farklı alkalizasyon koşullarının etkilerinin incelendiği aşamada belirlenen optimum şartlarda (%5.4 NaOH konsantrasyonu & 84°C & 36 dk) hazırlanan alkalize kakao tozları kullanılarak sütlü çikolata geliştirilmiştir. Sütlü çikolataların duyuusal testlerinde referans ürün olarak kullanılmak üzere geliştirilen sütlü çikolatada ticari alkalize kakao tozu kullanılmıştır. Geliştirilen sütlü çikolata görselleri Şekil 4.9.'da yer almaktadır.



Şekil 4.9. Alkalize kakao tozları ile geliştirilen sütlü çikolata numuneleri (a) %3.0 NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata; b) %3.0 KOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata; c) %3.0 K_2CO_3 kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata d; %5.4 NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata e; ticari alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata)

Alkalize kakao tozlarından üretilen sütlü çikolata numunelerinin fiziko-kimyasal özellikleri incelendiğinde N1 kodlu numunenin nem miktarı ve su aktivitesinin diğer numunelere kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Çikolataların partikül büyüklüğü dağılımı incelendiğinde ($D_{3:2}$) nem miktarı ve su aktivitesi ile partikül boyutu arasında bir paralellik olduğu ve genel olarak partikül boyutu arttıkça çikolataların nem miktarı ve su aktivitesinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer etki çikolataların önemli reolojik özelliklerinden biri olan viskozite için de geçerlidir. Viskozite değeri en yüksek olan N1 örneği, en yüksek $D_{3:2}$ (Sauter Mean) değerine sahip numune iken, partikül boyutu en küçük olan N3 örneğinin viskozite değeri de en düşük olan örnek olarak belirlenmiştir.

Sütlü çikolata örneklerinin renk değerlerini incelediğimizde en yüksek L^* değerine sahip ürünün ticari alkalize kakao tozu ile elde edilen numune olduğu, çalışmamızda geliştirilen tüm alkalize kakao tozlarının ticari alkalize kakao tozuna göre daha düşük L^* değerine sahip çikolata örneklerin elde edilmesiyle sonuçlandığı belirlenmiştir. Farklı alkali tuzlarının kullanımı ile hazırlanan alkalize kakao tozları ile hazırlanan örnekler kıyaslandığında, KOH ile hazırlanan alkalize kakao tozunun kullanıldığı sütlü çikolatanın en düşük L^* ve b^* , en yüksek a^* ve a^*/b^* değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Optimum alkalizasyon koşullarında (%5.4 NaOH) hazırlanan kakao tozunun kullanımının ise beklendiği üzere en düşük L^* ve b^* değeri aynı zamanda en yüksek a^*/b^* değerlerine sahip örnek ile sonuçlandığı görülmüştür (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin fiziko-kimyasal ve reolojik özellikleri

Örnek	Nem Miktarı (g/100 g)	Su Aktivitesi	Viskozite (cP)*	L*	a*	b*	a*/b*
N1	0.37±0.02 ^a	0.29±0.00 ^c	25400±0.01 ^a	28.32±0.43 ^b	9.11±0.02 ^b	10.1±0.07 ^b	0.90±0.01 ^c
N2	0.19±0.02 ^{bc}	0.31±0.00 ^b	14800±0.03 ^c	27.36±0.29 ^c	8.75±0.13 ^c	9.47±0.18 ^c	0.92±0.00 ^b
N3	0.20±0.01 ^b	0.28±0.01 ^d	12480±0.09 ^e	29.03±0.10 ^a	9.35±0.05 ^a	10.8±0.10 ^a	0.87±0.00 ^d
N4	0.16±0.01 ^c	0.34±0.01 ^a	13280±0.04 ^d	25.36±0.44 ^d	7.82±0.07 ^e	6.81±0.10 ^e	1.15±0.02 ^a
N5	0.21±0.00 ^b	0.28±0.00 ^d	21800±0.07 ^b	29.60±0.26 ^a	8.51±0.10 ^d	9.18±0.12 ^d	0.93±0.01 ^b

*Viskozite ölçümleri 10 rpm'de yapılmıştır.

N1: Alkalizasyonun birinci aşaması 3. Deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N2: Alkalizasyonun birinci aşaması 8. Deneme deseninde KOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N3: Alkalizasyonun birinci aşaması 12. Deneme deseninde K₂CO₃ kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N4: Alkalizasyonun ikinci aşaması 15. Deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N5: Ticari alkalize kakao ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

Çizelge 4.10. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin fiziko-kimyasal, tekstür ve erime profili özellikleri

Örnek	D _{4:3} (µm)	D _{3:2} (µm)	Hardness (g)	TrMP/TMP	T _{onset} (°C)	T _{endset} (°C)	T _{peak} (°C)	ΔHmelt (J/g)
N1	8.29±0.03 ^e	31.9±0.14 ^a	941.47±104.9 ^a	0.67±0.00 ^d	26.40±0.01 ^a	32.91±0.02 ^{ab}	30.92±0.04 ^a	29.47±1.35 ^c
N2	9.04±0.03 ^c	23.7±0.25 ^b	1126.73±272.27 ^a	0.90±0.00 ^b	25.89±0.01 ^b	33.17±0.12 ^a	30.95±0.04 ^a	39.69±0.21 ^a
N3	8.61±0.01 ^d	14.8±0.19 ^e	1357.71±303.81 ^a	1.13±0.01 ^a	25.88±0.11 ^b	33.08±0.05 ^{ab}	30.88±0.01 ^a	37.12±1.73 ^{ab}
N4	9.31±0.01 ^b	15.8±0.21 ^d	958.57±219.39 ^a	0.79±0.00 ^c	25.64±0.12 ^b	32.70±0.15 ^b	30.59±0.05 ^b	34.48±2.94 ^b
N5	10.4±0.02 ^a	19.5±0.07 ^c	949.01±70.96 ^a	0.76±0.01 ^c	25.83±0.35 ^b	32.70±0.09 ^b	30.62±0.01 ^b	33.79±1.04 ^{bc}

N1: Alkalizasyonun birinci aşaması 3. deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N2: Alkalizasyonun birinci aşaması 8. deneme deseninde KOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N3: Alkalizasyonun birinci aşaması 12. deneme deseninde K₂CO₃ kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N4: Alkalizasyonun ikinci aşaması 15. deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N5: Ticari alkalize kakao ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

Sütlü çikolata numuneleri laboratuvar koşullarında temperlendiği ve kalıplandığı için tekstür analizi sonucu belirlenen sertlik değerlerinde yüksek sapmalar ile karşılaşılmıştır. Örnekler önemli alkalizasyon indikatörlerinden biri olan TrMP/TMP açısından değerlendirildiğinde ise yüksek TrMP/TMP değerine sahip alkalize kakao tozlarının kullanıldığı N2 ve N3 numaralı numunelerin en yüksek TrMP/TMP değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Alkali türü olarak NaOH'in kullanıldığı N1 ve N4 numaralı sütlü çikolata numunelerinin TrMP/TMP değerlerinin ise daha düşük oldukları görülmüştür (Çizelge 4.10.).

Sütlü çikolata numunelerinin erime özellikleri incelendiğinde, optimum alkalizasyon koşulları kullanılarak hazırlanan alkalize kakao tozu (N4) ile üretilen sütlü çikolata daha düşük T_{onset} (°C), T_{endset} (°C) ve T_{peak} (°C) değerine sahip oldukları belirlenmiştir. Üretilen sütlü çikolata numunelerinde en yüksek T_{onset} (°C) ve T_{peak} (°C) değerine sahip örnek N1 kodlu alkalize kakao tozlarını içerenler olup, aynı zamanda en düşük erime entalpisi (ΔH_{melt} (J/g)) değerine de sahip olan örnek olmuştur (Çizelge 4.11.).

Geliştirilen sütlü çikolataların duyuşal analizleri, eğitimli panelistler tarafından iki oturumda gerçekleştirilmiştir. İlk oturumda farklı alkali tuzlarının kullanılması ile elde edilen örnekleri içeren sütlü çikolatalar (N1, N2 ve N3) ile ticari alkalize kakao tozunun kullanıldığı sütlü çikolata (N5) değerlendirilmiştir. Yüzey parlaklığı açısından en yüksek skora sahip N3 numunesinin L^* değeri N1 ve N2 çikolatalarının L^* değerinden yüksek olup ticari alkalize kakao tozu ile geliştirilen N5 numunesinin L^* değerinden düşüktür. Numuneler renk özelliği açısından incelendiğinde skor sıralaması $N3 > N2 > N1 > N5$ şeklindedir. Sütlü çikolata örnekleri duyuşal analizlerdeki ısırma sertliği açısından incelendiğinde skor sıralaması $N3 > N2 > N1 > N5$ şeklinde olup N3 ve N2 numuneleri benzer şekilde tekstür analizinde de (hardness) en yüksek değerlere sahiptir. Acılık ve metalik tat açısından sütlü çikolataların skorlarına göre sıralaması $N3 > N5 > N2 > N1$ şeklinde olup tatlılık ve ağızda kalan tat bakımından ise $N3 > N2 > N1 > N5$ şeklinde sıralanmıştır. Sütlü çikolata numuneleri genel beğeni açısından sıralandığında ise en yüksek skora N3 örneği en düşük skora N1 örneği sahip olup sıralama $N3 > N2 > N5 > N1$ şeklindedir. Sütlü çikolataların TrMP/TMP indikatörü bakımından sıralaması da genel beğeni sıralamasıyla paralellik taşımıştır. Bu nedenle sütlü çikolataların genel beğenisi üzerinde TrMP/TMP değerinin önem taşıdığı belirtilebilir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Alkalizasyon çalışmasında geliştirilen kakao tozları ile hazırlanan sütlü çikolata örneklerinin duyu özellikleri

Örnek	Yüzey Parlaklığı	Renk	Isırma Sertliği	Tatlılık	Asitlik	Acılık	Metalik Tat	Ağızda Kalan Tat	Genel Kabul
N1	4.00±1.66 ^a	4.88±1.54 ^a	4.88±1.27 ^a	4.13±1.69 ^a	3.75±1.56 ^a	3.88±1.36 ^a	3.38±1.58 ^a	2.88±1.69 ^a	3.25±1.48 ^a
N2	4.63±1.65 ^a	5.00±1.87 ^a	5.50±0.87 ^a	5.00±0.71 ^a	4.63±1.22 ^a	4.00±1.32 ^a	3.75±1.56 ^a	3.88±1.54 ^a	4.13±1.27 ^a
N3	4.75±1.64 ^a	5.75±0.66 ^a	5.63±0.86 ^a	5.13±0.93 ^a	5.38±1.11 ^a	4.50±1.22 ^a	4.38±1.58 ^a	4.63±1.58 ^a	5.00±1.41 ^a
N5	3.75±1.64 ^a	4.50±1.50 ^a	4.00±1.66 ^a	3.75±1.20 ^a	4.13±1.05 ^a	4.13±1.45 ^a	4.00±1.73 ^a	2.75±1.09 ^a	3.38±0.99 ^a

N1: Alkalizasyonun birinci aşaması 3. deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N2: Alkalizasyonun birinci aşaması 8. deneme deseninde KOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N3: Alkalizasyonun birinci aşaması 12. deneme deseninde K₂CO₃ kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N5: Ticari alkalize kakao ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

Çizelge 4.12. Optimum alkalizasyon koşullarında hazırlanan kakao tozu ve ticari alkalize kakao tozu içeren sütlü çikolata örneklerinin duyu özellikleri

Örnek	Yüzey Parlaklığı	Renk	Isırma Sertliği	Tatlılık	Asitlik	Acılık	Metalik Tat	Ağızda Kalan Tat	Genel Kabul
N4	4.25±1.17 ^a	4.50±0.87 ^a	4.00±1.41 ^a	4.25±1.48 ^a	3.88±1.57 ^a	3.63±1.93 ^a	3.50±1.94 ^a	3.38±1.58 ^a	3.50±1.32 ^a
N5	4.50±1.41 ^a	4.75±1.39 ^a	4.25±1.09 ^a	4.50±0.71 ^a	4.38±1.11 ^a	3.88±1.17 ^a	4.50±1.41 ^a	4.13±0.93 ^a	3.63±0.86 ^a

N4: Alkalizasyonun ikinci aşaması 15. deneme deseninde NaOH kullanılarak geliştirilen alkalize kakao tozu ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

N5: Ticari alkalize kakao ile hazırlanan sütlü çikolata örneği

Duyusal analiz çalışmalarının ikinci oturumunda, belirlenen optimum alkalizasyon koşullarında hazırlanan alkalize kakao tozunun kullanıldığı sütlü çikolata (N4) ile ticari alkalize kakao tozunun kullanıldığı sütlü çikolata (N5) değerlendirilmiştir. Yüzey parlaklığı açısından daha yüksek skora sahip N5 numunesinin L^* değeri N4 numunesinin L^* değerinden daha yüksektir. Örnekler renk özelliği açısından incelendiğinde skor sıralaması $N5 > N4$ şeklinde olup bu çikolatalar a^* değeri ve b^* değeri açısından da aynı sıralamaya sahip olmuşlardır. Sütlü çikolata örnekleri duyuusal analizlerdeki ısırma sertliği açısından incelendiğinde skor sıralaması $N5 > N4$ şeklinde olmasına rağmen sertlik analizinde N4 numunesi N5 numunesine kıyasla daha yüksek aletsel sertlik değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Tatlılık, acılık, metalik tat, asitlik, ağızda kalan tat ve genel beğeni açısından sütlü çikolataların skor sıralaması $N5 > N4$ şeklindedir. TrMP/TMP açısından değerlendirildiğinde ise bu çalışmada geliştirilen alkalize kakao tozlarının kullanıldığı sütlü çikolatanın (N4) TrMP/TMP değerinin ticari kakao tozunun kullanıldığı sütlü çikolatanın (N5) TrMP/TMP değerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada iki aşamalı alkalizasyon optimizasyonu çalışması gerçekleştirilmiş olup, birinci aşamada farklı alkali türlerinin ikinci aşamada ise farklı proses koşullarının alkalizasyon üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmanın her iki aşamasında da başlıca kakao alkalizasyon indikatörleri olan pH, a^*/b^* ve TrMP/TMP değerleri için anlamlı modeller belirlenmiştir. Bu modellerden yararlanılarak hem farklı alkali ajanlarından hem de farklı proses koşullarının kullanılmasıyla son ürün özelliklerinin modifikasyonları gerçekleştirilebilir. Alkali ajanların alkalizasyon sırasında meydana gelen reaksiyonlar için çevresel koşullar üzerindeki etkileri sonucu farklı kakao tozları elde edilebilmektedir. Bunlar, özellikle polifenol-protein, protein/peptit-sakkarit ve polifenol-alkilpirazinler arasındaki etkileşimler ile enzimatik ve kimyasal oksidasyon reaksiyonlarına yönelik etkilerdir. Ancak bu koşullara bağlı olarak kakao tozunun teknolojik özellikleri yanı sıra depolama stabilitesi ile ilişkilendirilebilecek çeşitli özelliklerinde de değişimler meydana gelmektedir. Bu nedenle yalnızca bir alkali ajan kullanımı yerine farklı alkali ajanların karışımlarının kullanılması yararlıdır. Diğer bir yaklaşım ise diğer proses koşullarının (proses sıcaklığı, süre, alkali konsantrasyonu), hedeflenen ürün özelliklerine göre düzenlenmesidir. Elde edilen alkalize kakao tozunun fiziko-kimyasal özellikleri, toz karakteristiği ve toplam fenolik madde içeriği bakımından en çok etkileyen proses koşulu alkali konsantrasyonu olup, daha düşük sıcaklık uygulaması ve daha kısa sürede alkalizasyon prosesi için farklı alkali karışımlarının kullanılması avantajlar sağlayabilir. Bu çalışmada kuvvetli alkalize kakao tozu için yaygın olarak kullanılan NaOH yerine farklı alkali karışımlarının kullanımı sonucu fenolik madde kayıplarının aromatik özelliklerde daha az değişim gerçekleştirilerek alkalizasyon işleminin gerçekleştirilebileceğine dair bulgular elde edilmiştir. Alkalizasyon işleminin antioksidan kapasite ve polifenol profili üzerindeki olumsuz etkileri yaygın olarak bilinmektedir. Bu çalışmada da toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite (DPPH yöntemi ile belirlenen) arasında güçlü korelasyon ($r=0,98$) belirlenmiştir. Bu olumsuz etkilerin azaltılmasına yönelik alkali ajan ve proses koşulları optimizasyonu çalışmaları önemlidir. Bu amaçla ise özellikle protein-polifenol komplekslerinin oluşumu ve bu maddeler arasındaki etkileşimlere yönelik alkalizasyon çalışmaları yürütülebilir. Çünkü polifenollerin katıldıkları diğer reaksiyonlar genel olarak

son üründe meydana gelmesi hedeflenen değişimler (renk, flavor, taste) ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca alkalizasyon ve bu işlem sırasında kullanılan alkali türünün, sindirilemeyen kakao tozu bileşenlerinin kolonik ortamdaki etkilerine ilişkin çalışmalar gerçekleştirilmesi kritiktir. Model gıda olarak kullanılan ve yaygın tüketime sahip sütlü çikolata bileşiminde, alkalize kakao tozu varlığının etkilerinin, bu tozun hazırlanma koşullarından etkilendiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla tüketici beğeni ve istekleri yanı sıra, son ürün stabilite ve başlıca kalite özelliklerine yönelik, alkalizasyon koşullarının değişiminin gerektiği çalışmamız ile belirlenmiştir. İleri çalışmalar ile kakao polifenollerinin biyoerişilebilirliği üzerinde alkalizasyon etkilerinin incelenmesinde yarar vardır. Ayrıca diğer gıdalarda bu prosesin etkilerin belirlenmesi önem taşımaktadır.



6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adeyeye, E. I. (2016). *Proximate, mineral and antinutrient compositions of natural cocoa cake cocoa liquor and alkalized cocoa powders sourced in Nigeria*. *Journal of Advance Pharmaceutical Science and Technology*, 1, 12-28. <https://doi.org/10.14302/issn.2328-0182.japst-15-855>
- Adeyeye, E. I., Akinyeye, R. O., Ogunlade, I., Olaofe, O., & Boluwade, J. O. (2010). *Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans*. *Food chemistry*, 118(2), 357-363. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.127>
- Afoakwa, E. O. (2000). *Chocolate and cocoa, flavor and quality*. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 1-19. <https://doi.org/10.1002/0471238961.chocafoa.a01>
- Afoakwa, E. O. (2016). *Chocolate science and technology*. John Wiley & Sons. DOI:10.1002/9781118913758
- Ajala, A. S., & Ojewande, K. O. (2014). *Study On Drying Of Fermentated Cocoa Beans (Theobroma cacao)*. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9 (2), 931. <https://www.issr-journals.org/xplore/ijias/0009/002/IJIAS-14-249-01.pdf>
- Alasti, F. M., Asefi, N., Maleki, R., & SeiedlouHeris, S. S. (2020). *The influence of three different types and dosage of alkaline on the inherent properties in cocoa powder*. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 2561-2571. DOI: 10.1007/s13197-020-04293-w
- Ali, F., Ranneh, Y., Ismail, A., & Esa, N. M. (2015). *Identification of phenolic compounds in polyphenols-rich extract of Malaysian cocoa powder using the HPLC-UV-ESI—MS/MS and probing their antioxidant properties*. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2103-2111. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1187-4>
- Amin, I., Jinap, S., & Jamilah, B. (1997). *Vicilin-class globulins and their degradation during cocoa fermentation*. *Food Chemistry*, 59(1), 1-5. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00188-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00188-3)
- Aprotosoie, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). *Flavor chemistry of cocoa and cocoa products: An overview*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Arlorio, M. (2004). *Alimenti nervini: cacao, caffè, tè. Capitolo 13. In Chimica degli alimenti* (pp. 291-354). Edizioni Piccin.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). *The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity*. *Food Chemistry*, 73, 239–244. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Asefi, N., Ebrahimzadegan, S., Maleki, R., & Seiedlou-Heris, S. S. (2023). *Effects of roasting on alkylpyrazin compounds and properties of cocoa powder*. *Journal of Food Science and 701 Technology*, 60(2), 572-580. DOI: 10.1007/s13197-022-05640-9

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Badrie, N., Bekele, F., Sikora, E., & Sikora, M. (2015). *Cocoa agronomy, quality, nutritional, and health aspects*. *Critical reviews in Food Science and nutrition*, 55(5), 620-659. DOI: 10.1080/10408398.2012.669428
- Bandyopadhyay, P., Ghosh, A.K., and Ghosh, C. (2012). *Recent developments on polyphenol-protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system*. *Food & Function*, 3(6), 592–605. DOI: 10.1039/c2fo00006g
- Barbosa-Canovas, G., & Juliano, P. (2005). *Physical and chemical properties of food powders*. In *Encapsulated and powdered foods* (pp. 51-86). CRC Press.
- Barišić, V., Jozinović, A., Flanjak, I., Šubarić, D., Babić, J., Miličević, B., Jokić, S., Grgić, I., 708 and Ačkar, D. (2021). *Effect of addition of fibres and polyphenols on properties of chocolate – A review*. *Food Reviews International* 37(3), 225-243. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1701008>
- Barkouti A., Turchiuli C., Carcel, J. A. and Dumoulin, E. (2013). *Milk powder agglomerate growth and properties in fluidized bed agglomeration*. *Dairy Science and Technology*, 93(4-5), 523-535. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0132-7>
- Bartley, B. G. D. (2005). *The genetic diversity of cacao and its utilization*. UK: CABI Publ, Wallingford.
- Beckett, S.T. (2009). *Industrial Chocolate Manufacture and Use, 4nd Edition*. Blackwell Publishing. DOI:10.1002/9781444301588
- Beckett, S.T. (2008). *The Science of Chocolate 2nd Edition*. RSC Publishing; Cambridge.
- Beg, M. S., Ahmad, S., Jan, K., & Bashir, K. (2017). *Status, supply chain and processing of cocoa-A review*. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.007>
- Bertazzo, A., Comai, S., Mangiarini, F., & Chen, S. (2013). *Composition of cacao beans*. In *Chocolate in health and nutrition* (pp. 105-117). Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0_8
- Bertoldi, D., Barbero, A., Camin, F., Caligiani, A., & Larcher, R. (2016). *Multielemental fingerprinting and geographic traceability of Theobroma cacao beans and cocoa products*. *Food Control*, 65, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.013>
- Börsig, A., Konar, N., and Dalabasmaz, S. (2023). *A model study on the site-specificity of (-)-epicatechin-induced reactions in β -lactoglobulin by high-resolution mass spectrometry in combination with bioinformatics*. *Food Chemistry* 408, 135242. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.135242
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity*. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Caligiani, A., Marseglia, A., & Palla, G. (2016). *Cocoa: production, chemistry, and use*. Encyclopedia of Food and Health, 185-190. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X>
- Caliskan, G., & Dirim, S. N. (2013). *The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract*. Food and Bioproducts Processing, 91(4), 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.06.004>
- Cambrai, A., Marchioni, E., Julien-David, D., & Marcic, C. (2017). *Discrimination of cocoa bean origin by chocolate polyphenol chromatographic analysis and chemometrics*. Food Analytical Methods, 10(6), 1991-2000. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0744-7>
- Cargill Cocoa Information (2007). Cargill BV, Cargill Cocoa, The Netherlands.
- Chan, L. C. Y., & Page, N. W. (1997). *Particle fractal and load effects on internal friction in powders*. Powder Technology, 90(3), 259–266. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(96\)03228-7](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(96)03228-7)
- Dahlenborg, H., Millqvist-Fureby, A., & Bergenståhl, B. (2015). *Effect of shell microstructure on oil migration and fat bloom development in model pralines*. Food Structure, 5, 51-65. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2015.06.002>
- Dalabasmaz, S., Toker, Ö. S., Palabiyik, I., & Konar, N. (2023). *Cocoa polyphenols and milk proteins: covalent and non-covalent interactions, chocolate process and effects on potential polyphenol bioaccessibility*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-13. DOI: 10.1080/10408398.2023.2207661
- De Brito, E. S., García, N. H. P., Gallão, M. I., Cortelazzo, A. L., Fevereiro, P. S., & Braga, M. R. (2001). *Structural and chemical changes in cocoa (Theobroma cacao L) during fermentation, drying and roasting*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81(2), 281-288. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B)
- De Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmiento, D. H., & da Costa, F. B. (2018). *Cacao—Theobroma cacao*. In *Exotic fruits* (pp. 69-76). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1>
- Diomande, D., Antheaume, I., Leroux, M., Lalande, J., Balayssac, S., Remaud, G. S., & Tea, I. (2015). *Multi-element, multi-compound isotope profiling as a means to distinguish the geographical and varietal origin of fermented cocoa (Theobroma cacao L.) beans*. Food chemistry, 188, 576-582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.040>
- Dong, S., Gao, A., Xu, H., & Chen, Y. (2017). *Effects of dielectric barrier discharges (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and structural properties of zein powders*. Food and Bioprocess Technology, 10, 434-444. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1814-y>
- Dyer, B. (2003). *Alkalized cocoa powders*. Manufacturing Confectioner, 83(6), 47-54.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Edoh Adabe, K., & Ngo-Samnick, L. (2014). *Cocoa: Production and processing*. CTA.
- Ellis, L. D. (1990). *Process for making dark cocoa*. US5114730A.
- Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., & Lieberei, R. (2009). *Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (Theobroma cacao L.)*. *European Food Research and Technology*, 229(6), 937-948. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1132-y>
- Ermiş, E. (2020). *Food powders properties and characterization*. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-48908-3>
- Fahrurrozi, M. (2015). *Microbiological and Biochemical Investigations of Cocoa Bean Fermentation*. [Doctoral dissertation, University of Hamburg]. <https://ediss.sub.uni-hamburg.de/bitstream/ediss/6364/1/Dissertation.pdf>
- Foubert, I. (2003). *Modelling Isothermal Cocoa Butter Crystallization: Influence of Temperature and Chemical Composition*. [Doctoral dissertation, Gent University]. <https://core.ac.uk/download/pdf/55853233.pdf>
- Fowler, M. S. (1999). *Cocoa beans: From tree to factory*. In S. T. Beckett (Ed.), *Industrial chocolate manufacture and use (3rd ed.)* (pp. 8–35). Oxford: Blackwell Science. DOI:10.1002/9781118923597
- Fritzen-Freire, C.B., Prudencio, E.S., Amboni, R.D., Pinto, S.S., Negrao-Murakami, A.N., Murakami, F.S. (2012). *Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics*. *Food Research International*, 45 (1), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.020>
- Galdámez, J. R., Szlachetka, K., Duda, J. L., & Ziegler, G. R. (2009). *Oil migration in chocolate: A case of non-Fickian diffusion*. *Journal of Food Engineering*, 92(3), 261-268. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.11.003>
- Gourieva, K. B., & Tserevitinov, O. B. (1979). *Method of evaluating the degree of fermentation of cocoa beans*. USSR Patent, 646.
- Guehi, T. S., Dadie, A. T., Koffi, K. P., Dabonne, S., Ban-Koffi, L., Kedjebo, K. D., & Nemlin, G. J. (2010). *Performance of different fermentation methods and the effect of their duration on the quality of raw cocoa beans*. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(12), 2508-2514. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02424.x>
- Hashim, P., Selamat, J., Syed Muhammad, S. K., & Ali, A. (1998). *Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(4), 535-542. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<535::AID-JSFA151>3.0.CO;2-6)
- Hinne, M., Abotsi, E. E., Van de Walle, D., Tzompa-Sosa, D. A., De Winne, A., Simonis, J., ... & Dewettinck, K. (2019). *Pod storage with roasting: A tool to diversifying the flavor profiles of dark chocolates produced from 'bulk' cocoa beans? (part I: Aroma*

KAYNAKLAR DİZİNİ

- profiling of chocolates*). Food Research International, 119, 84-98. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109116
- Holkar, C. R., Jadhav, A. J., & Pinjari, D. V. (2019). *A critical review on the possible remediation of sediment in cocoa/coffee flavored milk*. Trends in Food Science & Technology, 86, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.035>
- ICCO, *Quartely Bulletin of Cocoa Statistics, Vol XLVIII, No.3, Cocoa year 2021/22*, 2021.
- ICCO, *Cocoa Production and Consumption Areas*, 2007.
- Ishwarya, S. P., Anandharamakrishnan, C., & Stapley, A. G. (2015). *Spray-freeze-drying: A novel process for the drying of foods and bioproducts*. Trends in Food Science and Technology, 41(2), 161–181. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.10.008>
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., ... & Omar, A. M. (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. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.09.024>
- Jalil, A. M. M., & Ismail, A. (2008). *Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health?*. Molecules, 13(9), 2190-2219. doi: 10.3390/molecules13092190
- Jeanette, R., Croguennec, T., Schuck, P., & Brule, G. (Eds.). (2016). *Handbook of food science and technology 3: Food biochemistry and technology (Vol. 3)*. John Wiley & Sons. DOI:10.1002/9781119296225
- Ji, H., Han, F., Peng, S., Yu, J., Li, L., Liu, Y., ... & Chen, Y. (2019). *Behavioral solubilization of peanut protein isolate by atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment*. Food and bioprocess technology, 12, 2018-2027. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02357-0>
- Jinapong N, Suphantharika M and Jamnong P. (2008). *Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration*. Journal of Food Engineering, 84(2), 194-205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032>
- Joel, N., Pius, B., Deborah, A., & Chris, U. (2013). *Production and quality evaluation of cocoa products (plain cocoa powder and chocolate)*. American Journal of Food and Nutrition, 3(1), 31-38. doi:10.5251/ajfn.2013.3.1.31.38
- Kamphuis, H. J. (2009). *Production and quality standards of cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder*. In S. T. Beckett and B. Sc. D.Phill (Eds.) *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 121-140). <https://doi.org/10.1002/9781444301588.ch6>
- Kaya, A., & Şekeroğlu, G. (2012). *Çikolata*. TSE Standard Ekonomik ve Teknik Dergi, 604(23), 31-38.
- Koç, B., Sakin-Yılmaz, M., Kaymak-Ertekin, F., & Balkır, P. (2014). *Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying*. Journal of Food Science and Technology, 51(7), 1377–1383. doi: 10.1007/s13197-012-0653-8

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Koç, M., Koç, B., Yilmazer, M. S., Ertekin, F. K., Susyal, G., & Bagdatlioglu, N. (2011). *Physicochemical characterization of whole egg powder microencapsulated by spray drying*. *Drying Technology*, 29(7), 780–788. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.538820>
- Konar, N., Durmaz, Y., Genc Polat, D., & Mert, B. (2022). *Optimization of spray drying for *Chlorella vulgaris* by using RSM methodology and maltodextrin*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e16594. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16594>
- Konar, N., Polat, D. G., Dalabasmaz, S., Erdogan, M., Sener, S., & Sarıkaya, E. K. (2023). *Effects of various milk powders on main quality parameters of cocoa butter substitute-based chocolate*. *International Dairy Journal*, 139, 105571. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105571>
- Kongor, J. E., Hinneh, M., Van de Walle, D., Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). *Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile – A review*. *Food Research International*, 82, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Kopp, G. M., Hennen, J. C., Seyller, M., & Brandstetter, B. (2010). *Process for producing high flavour cocoa*. EP2241190A1.
- Korkubilmez, M. (2005). *Farklı Orjinli Kakao Çekirdeklerinden Elde Edilen Kakao Likörlerinin Çikolatanın Lezzetine Olan Etkisi*. [Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü]. https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/411454/yokAcikBilim_200016.pdf?sequence=-1&isAllowed=y
- Kostic, M. J. (1997). *Cocoa Alkalization*. *The Manufacturing Confectioner*, 128.
- Kuster, W. (1980). *Technological aspects of liquor grinding*. *Proceedings 34th Pennsylvania Manufacturing Confectioners' Association Production Conference*, April 22–24, Lancaster, PA, 78–86.
- Li J, Ye T, Wu X, Chen J, Wang S, Lin L and Li B. (2014). *Preparation and characterization of heterogeneous deacetylated konjac glucomannan*. *Food Hydrocolloids*, 40, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.001>
- Li, Y., Feng, Y., Zhu, S., Luo, C., Ma, J., & Zhong, F. (2012). *The effect of alkalization on the bioactive and flavor related components in commercial cocoa powder*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(1), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.010>
- Li, Y., Zhu, S., Feng, Y., Xu, F., Ma, J., & Zhong, F. (2014). *Influence of alkalization treatment on the color quality and the total phenolic and anthocyanin contents in cocoa powder*. *Food Science and Biotechnology*, 23(1), 59-63. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0008-5>
- Lima, L. J., Almeida, M. H., Nout, M. R., & Zwietering, M. H. (2011). *Theobroma cacao L., “the food of the gods”: quality determinants of commercial cocoa beans, with*

KAYNAKLAR DİZİNİ

- particular reference to the impact of fermentation*. Critical reviews in food science and nutrition, 51(8), 731-761. DOI: 10.1080/10408391003799913
- Marseglia, A., Palla, G., & Caligiani, A. (2014). *Presence and variation of γ -aminobutyric acid and other free amino acids in cocoa beans from different geographical origins*. Food research international, 63, 360-366. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.026>
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). *Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (Theobroma cacao L.) co-products*. Food Research International, 49(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.005>
- Martins, S. I., Jongen, W. M., & Van Boekel, M. A. (2000). *A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling*. Trends in food science & technology, 11(9-10), 364-373.
- Marty, S., & Marangoni, A. G. (2009). *Effects of cocoa butter origin, tempering procedure, and structure on oil migration kinetics*. Crystal growth & design, 9(10), 4415-4423.
- Marty-Terrade, S., & Marangoni, A. G. (2012). *Impact of cocoa butter origin on crystal behavior*. Cocoa Butter and Related Compounds, 245-274.
- Minifie, B. W. (1999). *Chocolate, cocoa, and confectionery: Science and Technology (3rd ed)*. AVI Book Published, Van Nostrand & Reinhold, New York, USA.
- Misnawi, S. J., Jamilah, B., & Nazamid, S. (2003). *Effects of incubation and polyphenol oxidase enrichment on colour, fermentation index, procyanidins and astringency of unfermented and partly fermented cocoa beans*. International Journal of Food Science and Technology, 38(3), 285-295.
- Mohamed, R., Abdullah, A., Yap, K. C., & Mustapha, W. A. W. (2019). *Comparative Study of Flavor Precursors, Volatile Compounds and Sensory between Malaysian and Ghanaian Cocoa Beans*. Sains Malaysiana, 48(3), 589-598.
- Moser, A. (2015). *Alkalizing cocoa and chocolate*. Manufacturing Confectioner, 31.
- Nair, K. P. (2021). *Cocoa (Theobroma cacao L.)*. In *Tree Crops* (pp. 153-213). Springer, Cham.
- Natsume, M., Osakabe, N., Yamagishi, M., Takizawa, T., Nakamura, T., Miyatake, H., ... & Yoshida, T. (2000). *Analyses of polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 64(12), 2581-2587.
- Nganhou, J., Njomo, D., Benet, J. C., Augier, F., & Berthomieu, G. (2003). *Perfecting a method of micro-analysis of water and acetic acid in a cocoa bean in the course of drying: applying to determine transportation coefficients*. Heat and Mass Transfer, 39(8-9), 797-803.
- Nielsen, D. S. (2006). *The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations*. The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark. 10-44.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzapfel, W. H. (2007). *The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods*. International Journal of Food Microbiology, 114(2), 168-186.
- Orazc, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). *The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (Theobroma cacao L.), depending on variety, growing region, and processing operations: A review*. Critical reviews in food science and nutrition, 55(9), 1176-1192.
- Owusu, M. (2010). *Influence of raw material and processing on aroma in chocolate*. [Doctoral dissertation, University of Copenhagen].
- Özgen, Ö. (2010). *Biberiye (Rosmarinus officinalis) ve üzüm çekirdeği (Vitis vinifera) 'nın çikolatanın kristalizasyonuna, reolojik özelliklerine, raf ömrüne ve antioksidan aktivitesine etkileri*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Özocak, A. (2004). *Çikolatalarda Kakao Yağı İkamelerinin Tesbiti*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Palabiyik, I., Kopuk, B., Konar, N., & Toker, O. S. (2023). *Investigation of cold plasma technique as an alternative to conventional alkalization of cocoa powders*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 88, 103440.
- Paz-Yépez, C., Peinado, I., Heredia, A., and Andrés, A. (2019). *Lipids digestibility and polyphenols release under in vitro digestion of dark, milk and white chocolate*. Journal of Functional Foods 52, 196-203.
- Petermann, J.C., Saeed, A., Hammons, M.I. (2010). *Alkali-Activated Geopolymers: A Literature Review*. Air Force Research Laboratory Materials and Manufacturing Directorate Airbase Technologies Division.
- Pohlan, H. A. J., & Pérez, V. D. (2010). *Growth and production of cacao*. In W. H. Verheye (Eds.), *Soils Plant Growth and Crop Production*, in Encyclopedia of Life Support System (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO Eolss Publishers, Oxford, UK.
- Redgwell, R. J., Trovato, V., & Curti, D. (2003). *Cocoa bean carbohydrates: roasting-induced changes and polymer interactions*. Food Chemistry, 80(4), 511-516.
- Reed, S. (2010). *Sensory analysis of chocolate liquor*. Manufacturing Confectioner, 90, 43-52.
- Rodríguez, P., Pérez, E., & Guzmán, R. (2009). *Effect of the types and concentrations of alkali on the color of cocoa liquor*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(7), 1186-1194.
- Rucker, R. (2009). *Appendix 10: Nutritional Properties of Cocoa Chocolate*. In L. E. Grivetti and H. Shapiro (Eds.), *History, Culture, and Heritage* (pp 943-946). John Wiley & Sons, Inc.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Saltini, R., Akkerman, R., & Frosch, S. (2013). *Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality*. *Food control*, 29(1), 167-187.
- Santander Muñoz, M., Rodríguez Cortina, J., Vaillant, F. E., & Escobar Parra, S. (2020). *An overview of the physical and biochemical transformation of cocoa seeds to beans and to chocolate: Flavor formation*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(10), 1593-1613.
- Santhalakshmy, S., Bosco, S. J. D., Francis, S., & Sabeena, M. (2015). *Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder*. *Powder Technology*, 274, 37-43.
- Sarmadi, B., Aminuddin, F., Hamid, M., Saari, N., Abdul-Hamid, A., & Ismail, A. (2012). *Hypoglycemic effects of cocoa (Theobroma cacao L.) autolysates*. *Food Chemistry*, 134(2), 905–911.
- Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). *The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4), 205-221.
- Shankar, M. U., Levitan, C. A., Prescott, J., & Spence, C. (2009). *The influence of color and label information on flavor perception*. *Chemosensory Perception*, 2(2), 53-58.
- Shukla, V. K. S. (1995). *Cocoa butter properties and quality*. *Lipid Technology (United Kingdom)*.
- Spizzirri, U. G., Ieri, F., Campo, M., Paolino, D., Restuccia, D., & Romani, A. (2019). *Biogenic amines, phenolic, and aroma-related compounds of unroasted and roasted cocoa beans with different origin*. *Foods*, 8(8), 306.
- Stanley, T. H., Smithson, A. T., Neilson, A. P., Anantheswaran, R. C., & Lambert, J. D. (2015). *Analysis of cocoa proanthocyanidins using reversed phase high-performance liquid chromatography and electrochemical detection: Application to studies on the effect of alkaline processing*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(25), 5970–5975.
- Suhag, Y., Nayik, G.A., Nanda, V., (2016). *Effect of gum Arabic concentration and inlet temperature during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(2), 350–356.
- Sukha, D. A., Butler, D. R., Umaharan, P., & Boulton, E. (2008). *The use of an optimised organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavour attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans*. *European Food Research and Technology*, 226(3), 405-413.
- Szulc K and Lenart A. (2013). *Surface modification of dairy powders: Effects of fluid-bed agglomeration and coating*. *International Dairy Journal*, 33(1), 55-61.
- Şit, S. (2008). *Gıda Sektöründe Kullanılan Kakaonun Kalitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri*. [Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Taş, N. G., & Gökmen, V. (2016). *Effect of alkalization on the Maillard reaction products formed in cocoa during roasting*. Food Research International, 89, 930-936.
- Thompson, S. S., Miller, K. B., & Lopez, A. S. (2007). *Cocoa and coffee*. In M. P. Doyle & L. R. Beuchat (Eds.), *Food microbiology: fundamentals and frontiers* (pp. 837–850) (3rd ed.). Washington DC: ASM Press.
- Toker, O. S., Sagdic, O., Şener, D., Konar, N., Zorlucan, T., & Dağlıoğlu, O. (2016). *The influence of particle size on some physicochemical, rheological and melting properties and volatile compound profile of compound chocolate and cocolin samples*. European Food Research and Technology, 242, 1253-1266.
- Toker, O. S., Palabiyik, I., & Konar, N. (2019). *Chocolate quality and conching*. Trends in Food Science & Technology, 91, 446-453.
- Toker, O. S., Palabiyik, I., Pirouzian, H. R., Aktar, T., & Konar, N. (2020). *Chocolate aroma: Factors, importance and analysis*. Trends in Food Science & Technology, 99, 580-592.
- Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Palabiyik, I., & Konar, N. (2023). *Chocolate flow behavior: composition and process effects*. Critical reviews in food science and nutrition, 63(19), 3788-3802.
- Uygun, N. F. (2007). *Fındık Yağı Kullanılarak Enzimatik İnteresterifikasyon Yöntemiyle Kakao Yağı İkamesi Üretilmesi*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Valverde García, D., Pérez Esteve, É., & Barat Baviera, J. M. (2020). *Changes in cocoa properties induced by the alkalization process: A review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(4), 2200- 2221.
- Voigt, J., Biehl, B., & Wazir, S. K. S. (1993). *The major seed proteins of Theobroma cacao L*. Food Chemistry, 47(2), 145-151.
- Zhao, H., Young, A. K., & James, B. J. (2018). *Effects of fat polymorphic transformation and nonfat particle size distribution on the surface changes of untempered model chocolate, based on solid cocoa mass*. Journal of food science, 83(4), 998-1004.
- Zou, R. P., & Yu, A. B. (1996). *Evaluation of the packing characteristics of mono-sized non-spherical particles*. Powder Technology, 88(1), 71–79.