

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERİYE (ROSMARINUS OFFICINALIS) VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ
(VITIS VINIFERA)'NİN ÇİKOLATANIN KRİSTALİZASYONUNA, REOLOJİK
ÖZELLİKLERİNE, RAF ÖMRÜNE VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özge ÖZGEN**

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

OCAK 2010

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERİYE (ROSMARINUS OFFICINALIS) VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ
(VITIS VINIFERA)'NİN ÇİKOLATANIN KRİSTALİZASYONUNA, REOLOJİK
ÖZELLİKLERİNE, RAF ÖMRÜNE VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özge ÖZGEN
(506001409)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25 Aralık 2009

Tezin Savunulduğu Tarih : 28 Ocak 2010

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Filiz ALTAY (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Onur DEVRES (İTÜ)
Prof. Dr. F. Seniha GÜNER (İTÜ)**

OCAK 2010

Çok değerli annem, babam ve kardeşime,

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tez çalışmamda yardımını ve desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Filiz ALTAY'a ve çalışmaya destek veren değerli hocamız Sn. Prof. Dr. Onur DEVRES'e, araştırmada gerekli olan bazı laboratuvar malzemelerinin temini konusunda yardımları olan öğretim görevlileri Sn. Dr. Ebru Fıratlıgil DURMUŞ'a ve Sn. Dr. Funda Karbancıoğlu GÜLER'e, çalışma için maddi destek sağlayan İ.T.Ü Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Projeleri Birimi'ne ve İstanbul İhracatçılar Birliği (İİB)'ne, çikolata hammaddelerini temin etmemi sağlayan Altınmarka Gıda San. ve A. Ş.'ne teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, eğitim hayatımda bana gösterdikleri manevi ve maddi desteklerinden dolayı çok değerli annem, babam ve kardeşime çok teşekkür ederim.

Ocak 2010

Özge ÖZGEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xix
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	5
2.1 Çikolata	5
2.1.1 Çikolatanın tanımı ve ekonomik değeri	5
2.1.2 Çikolatanın bileşenleri.....	6
2.1.2.1 Kakao	6
2.1.2.2 Kakao yağı.....	7
2.1.2.3 Şeker.....	8
2.1.2.4 Lesitin.....	8
2.1.3 Çikolata üretimi.....	10
2.2 Çikolatanın Kristalizasyonu	12
2.2.1 Çikolatanın kristalizasyon parametrelerinin DTK ile belirlenmesi.....	13
2.3 Çikolatanın Reolojik Özellikleri	16
2.3.1 Reolojinin tanımı ve reolojik davranışlar.....	16
2.3.2 Çikolata ile ilgili reolojik çalışmalar	21
2.4 Çikolatanın Raf Ömrünün Belirlenmesi.....	23
2.4.1 Raf ömrünün tanımı ve belirlenmesi	23
2.4.1.1 Schaal fırın testi.....	24
2.4.1.2 DTK ile oksidatif indüksiyon sürelerinin belirlenmesi	24
2.4.2 Lipidlerde otoksidasyon	25
2.4.3 Lipid oksidasyonunun belirlenmesi	27
2.4.4 Çikolata ile ilgili raf ömrü çalışmaları	29
2.5 Çikolatanın Antioksidan Aktivitesi.....	29
2.5.1 Çikolataya antioksidan ilavesi	34
2.5.1.1 Antioksidanlar	34
2.5.1.2 Biberiye tozu	38
2.5.1.3 Üzüm çekirdeği tozu	40
3. MATERYAL VE METOT	43
3.1 Materyal	43
3.2 Metot	44
3.2.1 Kristalizasyon parametrelerinin DTK ile belirlenmesi	44
3.2.2 Reolojik ölçümler	44
3.2.3 Raf ömrü analizleri	44
3.2.3.1 Schaal fırın testi.....	44

Peroksit analizleri	45
<i>p</i> -Anisidin analizleri	45
TOTOKS değerinin hesaplanması	45
3.2.3.2 OİS'nin DTK ile belirlenmesi	45
3.2.4. Antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	46
3.2.4.1 Çikolata ekstraktlarının hazırlanması	46
3.2.4.2 Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesi	47
3.2.4.3 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	48
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	49
4.1 Kristalizasyon Parametreleri	49
4.2 Reolojik Ölçümler	51
4.3 Raf Ömrü Analizleri	55
4.3.1 Schaal fırın testi	55
4.3.2 OİS'nin DTK ile belirlenmesi	61
4.4 Antioksidan Aktivitesi.....	65
4.4.1 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	65
4.4.2 Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	67
4.4.3 Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesiyle ilgili literatürle sonuçların kıyaslanması	69
5. SONUÇ	73
KAYNAKLAR.....	81
EKLER.....	91
ÖZGEÇMİŞ.....	127

KISALTMALAR

A	: Antioksidan
a	: Örnek titrasyonunda sarfedilen 0.002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi (ml)
a/a	: Ağırlık başına ağırlık
ABTS⁺	: ABTS radikali katyonu
A_n	: Numunenin absorbansı
A_r	: Referansın absorbansı
a_w	: Su aktivitesi
A₁	: Yağın absorbans değeri
A₂	: Reaksiyon sonrası absorbans değeri
b	: Boş deneme titrasyonunda sarfedilen 0.002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi (ml)
BT	: Biberiye tozu
BT01	: % 0.1 biberiye tozu katkılı çikolata
BT05	: % 0.5 biberiye tozu katkılı çikolata
BT08	: % 0.8 biberiye tozu katkılı çikolata
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksitoluen
BR	: Briggs-Rauscher titreşim reaksiyonu
°C	: Santigrad derece
dak	: Dakika
ΔH_e	: Erime entalpisi
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
E_a	: Aktivasyon enerjisi (kJ/kgmol, kal/mol)
EC	: (-)- epikateşin
ECG	: (-)- epikateşin gallat
EGC	: (-)- epigallokateşin gallat
EGCG	: (-)- epikateşin
FAME	: Yağ asidi metal esteri
g	: gram
GAE	: Gallik asit ekivalenti
K	: Kıvam indeksi
kal	: Kalori
kg	: kilogram
kcal	: Kilokalori
KOD	: Konjuge oksodien değeri
LDL	: Düşük yoğunlukta lipoprotein
l	: Litre
M	: Molar
m	: Yağ numunesinin ağırlığı
mek	: miliekivalent
mg	: miligram
ml	: mililitre

mm	: milimetre
mM	: milimolar
µm	: mikrometre
µg	: mikrogram
µM	: mikromolar
N	: Normal
NÇ	: Normal çikolata
NDGA	: Nordihidroguairatik asit
η_p	: Plastik viskozite/görünen viskozite (Pa.s)
η_∞	: Plastik viskozite (Pa.s)
ON	: Onset noktası
OİS	: Oksidatif indüksiyon süresi
p-AnD	: p-Anisidin değeri
PD	: Peroksit değeri
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun (-) logaritması
Q₁₀	: Sıcaklık katsayısı
R	: Gaz sabiti, 8.314kJ/kgmolK
γ̇	: Kayma hızı (1/s)
τ	: Kayma gerilimi (Pa)
τ₀	: Akma gerilimi (Pa)
SN	: Sıfır noktası
T	: Mutlak sıcaklık, K
TBA	: Tiyobarbutirik asit
TBARS	: Tiyobarbutirik asit
TBHQ	: Tersiyer bütillhidrokinon
TE	: Troloks eşdeğeri
T_e	: Erimenin sonlandığı sıcaklık
T_{indeks}	: Erime indeksi
T_p	: Pik sıcaklığı
T₀	: Erime başlangıç sıcaklığı
TOTOKS	: Totoks değeri
ÜÇT	: Üzüm çekirdeği tozu
ÜÇT01	: % 0.1 üzüm çekirdeği tozu katkılı çikolata
ÜÇT05	: % 0.5 üzüm çekirdeği tozu katkılı çikolata
ÜÇT08	: % 0.8 üzüm çekirdeği tozu katkılı çikolata

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Kakao yağının kristal formlarının erime sıcaklığı aralıkları ve zincir bağ yapısı.....	7
Çizelge 2.2 : Çeşitli gıda ve içeceklerin flavan-3-ol ve antioksidan kapasiteleri.....	31
Çizelge 4.1 : Çikolata numunelerinin kristalizasyon parametreleri.....	49
Çizelge 4.2 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın kristalizasyon parametreleri.....	49
Çizelge 4.3 : Çikolata örneklerinin 40 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerleri ve korelasyon sayıları.....	51
Çizelge 4.4 : Çikolata örneklerinin 50 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerleri ve korelasyon sayıları.....	52
Çizelge 4.5 : Çikolata örneklerinin 60 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerleri ve korelasyon sayıları.....	52
Çizelge 4.6 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 40 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.....	52
Çizelge 4.7 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 50 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.....	53
Çizelge 4.8 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 60 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.....	53
Çizelge 4.9 : Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için çeşitli sıcaklıklardaki η_p ve $\ln\eta_p$ değerleri.....	54
Çizelge 4.10 : Çikolata örneklerinin 30 °C'de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD'leri.....	56
Çizelge 4.11 : Çikolata örneklerinin 40 °C'de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD'leri.....	56
Çizelge 4.12 : Çikolata örneklerinin 50 °C'de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD'leri.....	56

Çizelge 4.13 : Çikolata örneklerinin 30 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.....	58
Çizelge 4.14 : Çikolata örneklerinin 40 °C’deki yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.....	58
Çizelge 4.15 : Çikolata örneklerinin 50 °C’deki yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.....	58
Çizelge 4.16 : Çikolata örneklerinin 30 °C’deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.....	59
Çizelge 4.17 : Çikolata örneklerinin 40 °C’deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.....	60
Çizelge 4.18 : Çikolata örneklerinin 50 °C’deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.....	60
Çizelge 4.19 : Normal çikolata ve BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilen yağların 165 °C’deki ON, OİS ve KF değerleri.....	62
Çizelge 4.20 : Normal çikolatadan ve % 0.8 ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağların 165 °C’deki ON, OİS ve KF değerleri.....	62
Çizelge 4.21 : Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağın ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK ile 155 °C, 165 °C ve 175 °C’de elde edilen ON ve OİS değerleri.....	64
Çizelge 4.22 : Çikolata örneklerinin toplam fenolik madde miktarları.....	66
Çizelge 4.23 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın ortalama toplam fenolik madde miktarları.....	66
Çizelge 4.24 : Çikolata numunelerinin Troloks antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.....	68
Çizelge 4.25 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.....	68
Çizelge 4.26: Fabrika üretimi, el yapımı, biberiye katkılı el yapımı ve kırmızı biber katkılı el yapımı çikolataların toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri.....	69
Çizelge B.1 : BT ve ÜÇT’nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi.....	116
Çizelge B.2 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi.....	121
Çizelge B.3 : BT ve ÜÇT’nin çeşitli dozlarında ilavesinin çikolatanın toplam fenolik madde miktarına etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi.....	123
Çizelge B.4 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın toplam fenolik madde miktarına etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi.....	124

Çizelge B.5 : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında ilavesinin çikolatanın antioksidan aktivitesine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi.....	125
Çizelge B.6 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın antioksidan aktivitesine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi.....	126

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Bitter çikolata üretimi akış şeması.....	10
Şekil 2.2 : Kristalizasyon parametrelerini gösteren DTK grafiği	15
Şekil 2.3 : Reolojik davranış biçimleri.....	17
Şekil 2.4 : Çikolatanın oksidasyonu sonucunda elde edilen DTK grafiği.....	25
Şekil 2.5 : Yağların otoksidasyon mekanizması	26
Şekil 2.6 : Antioksidanların etki mekanizması.....	35
Şekil 4.1 : Normal çikolata için $1/T$ ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafik	54
Şekil 4.2 : % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için $1/T$ ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafik	55
Şekil 4.3 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla PD'leri arasında çizilen grafik.....	57
Şekil 4.4 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla p- AnD arasında çizilen grafik.....	59
Şekil 4.5 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla TOTOKS değerleri arasında çizilen grafik.....	61
Şekil 4.6 : Gallik asit standart eğrisi.....	66
Şekil 4.7 : Troloks standart eğrisi.....	67
Şekil 4.8 : Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında çizilen korelasyon grafiği.....	69
Şekil A.1 : Normal çikolatanın DTK kristalizasyon eğrisi (Birinci paralelin ikinci paralel çalışması).....	93
Şekil A.2 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın ikinci paralel çalışması).....	94
Şekil A.3 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın üçüncü paralel çalışması).....	94
Şekil A.4 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın üçüncü paralel çalışması).....	94
Şekil A.5 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın birinci paralel çalışması).....	95
Şekil A.6 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın birinci paralel çalışması).....	95
Şekil A.7 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın ikinci paralel çalışması).....	96

Şekil A.8 : Çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	96
Şekil A.9 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	97
Şekil A.10 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	97
Şekil A.11 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	98
Şekil A.12 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	98
Şekil A.13 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	99
Şekil A.14 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	99
Şekil A.15 : Çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	100
Şekil A.16 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	100
Şekil A.17 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	101
Şekil A.18 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	101
Şekil A.19 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	102
Şekil A.20 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	102
Şekil A.21 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	103
Şekil A.22 : Çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	103
Şekil A.23 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	104
Şekil A.24 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	104
Şekil A.25 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	105
Şekil A.26 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	105
Şekil A.27 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	106
Şekil A.28 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği.....	106
Şekil A.29 : Normal çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal çikolata).....	107
Şekil A.30 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği.....	107
Şekil A.31 : Normal çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal çikolata).....	108
Şekil A.32 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği.....	108

Şekil A.33 : Normal çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal çikolata).....	109
Şekil A.34 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği).....	109
Şekil A.35 : Kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi.....	110
Şekil A.36 : % 0.8 BT katkılı kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi	110
Şekil A.37 : % 0.8 ÜÇT katkılı kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi.....	111
Şekil A.38 : Çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	111
Şekil A.39 : % 0.1 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	112
Şekil A.40 : % 0.5 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	112
Şekil A.41 : % 0.8 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	113
Şekil A.42 : % 0.1 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	113
Şekil A.43 : % 0.5 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	114
Şekil A.44 : % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	114
Şekil A.45 : % 0.8 BT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi.....	115

BİBERİYE (ROSMARINUS OFFICINALIS) VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ (VITIS VINIFERA)'NİN ÇİKOLATANIN KRİSTALİZASYONUNA, REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE, RAF ÖMRÜNE VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİLERİ

ÖZET

Bu çalışmada, doğal bir antioksidan olan biberiye (*Rosmarinus officinalis*) tozunun (BT) ve üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera*) tozunun (ÜÇT) çikolatanın kristalizasyonuna, reolojik özelliklerine, raf ömrüne ve antioksidan aktivitesine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yapılarındaki antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler nedeniyle, BT ve ÜÇT yüksek antioksidan aktivitesine sahiptir. Çalışmada ilk olarak, çikolataya BT ya da ÜÇT'nin katılmasıyla yüksek antioksidan aktivitesine sahip farklı çeşit çikolataların üretilmesi düşünülmüştür.

İyi kalite özellikleri, yüksek besin değeri ve yüksek antioksidan aktivitesi özelliklerinin yanında, düşük maliyetli bir çikolatanın üretilmesi hem tüketici hem de üretici tarafından tercih edilmektedir. Bu nedenle çalışmada, öncelikle çikolatanın üretiminde, proses tasarımı, enerji sarfıyatı, reçetede değişiklik v.b. gereksinimlerle üretim maliyetini etkileyebilecek olan kristalizasyon ve reolojik özelliklerinin incelenmesi çalışmada birinci başarı ölçütü kabul edilmiştir.

Gıdaların raf ömrünü kısaltan en önemli sebeplerden biri, uygun olmayan sıcaklık, ışık, nem, oksijen ve demir, bakır, v.b. metallere maruz kalınması sonucunda gerçekleşen oksidasyonudur. Gıdalara, oksidasyonun önlenmesi amacıyla antioksidan ilave edilmektedir. Çalışmada doğal antioksidanlar olan BT ve ÜÇT'nin çikolatanın raf ömrüne etkisinin incelenmesi ikinci başarı ölçütü, antioksidan aktivitesine etkisinin incelenmesi ise üçüncü başarı ölçütü olmuştur.

Çikolata laboratuvar ortamında, % 40.00 şeker, % 22.63 kakao tozu, % 36.82 kakao yağı ve % 0.29 oranında lesitin kullanılarak yapılmıştır. Çikolataya katılan BT ve ÜÇT oranları % 0.1, % 0.5 ve % 0.8 olarak belirlenmiştir.

Çikolata örneklerinin kristalizasyonu diferansiyel tarama kalorimetresi (DTK) kullanılarak incelenmiş, çeşitli dozlarda (% 0.1; % 0.5 ve % 0.8) BT ve ÜÇT'nin katıldığı çikolataların kristalizasyon parametreleri (T_o , T_p , T_e , ΔH ve T_e-T_o), tek yollu ANOVA istatistik yöntemiyle incelenmiştir. Normal çikolata, çeşitli dozlarda BT, ÜÇT katkılı çikolataların kristalizasyon parametreleri arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir fark olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur.

Çikolata örneklerinin reolojik davranışları Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modellerine uymuştur. Çikolata numunelerinin sabit sıcaklıkta plastik viskozite ve akma gerilimlerinin değişmediği dolayısıyla BT ya da ÜÇT'nin çikolatanın reolojik özelliklerini etkilemediği görülmüştür. Plastik viskozite değerleri sıcaklıkla azalmıştır. Sıcaklığın çikolatanın plastik viskozitesine etkisi, normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata ile Arrhenius denklemi **(2.8)** kullanılarak incelenmiştir. Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için aktivasyon enerjisi (E_a) değerleri birbirine yakın değerlerde bulunmuştur. E_a arttıkça, plastik viskozite sıcaklıkla genellikle düşmektedir. Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın E_a değerlerinin birbirine yakın olması, plastik viskozitelerinin sıcaklıkla yakın değerlerde değişmesi demektir. Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın sabit sıcaklıktaki plastik viskozite değerleri arasında önemli bir fark yoktur.

Çikolata örneklerinin raf ömürleri 30, 40 ve 50 $^{\circ}\text{C}$ 'de yürütülen Schaal Fırın Testi ve DTK ile belirlenmiştir. Schaal Fırın Testinde, çikolata örneklerinin oksidasyonu belirli aralıklarla yapılan peroksit ve p-Anisidin analizleri ile incelenmiştir.

Schaal Fırın Testinde her bir çikolata örneğinin ortalama peroksit değeri (PD), p-Anisidin değeri (p-AnD) ve TOTOKS değeri sabit sıcaklıkta zamanla; sabit zamanda ise sıcaklıkla artmıştır. Ayrıca, sabit sıcaklık ve zamanda BT ve ÜÇT'nin ve dozunun PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerini etkilemediği görülmüştür. Çikolata numunelerinin PD, p-AnD ve TOTOKS değerleri zamanla ya da sıcaklıkla çok hızlı artmamıştır. Çikolata numunelerinin 30, 40 ve 50 $^{\circ}\text{C}$ 'de 100.gün sonundaki PD'nin, yağların bozulduğunu gösteren PD olan 10 mek peroksit/kg yağ'a ulaşmadığı görülmüştür.

DTK ile oksidasyon çalışmasında, çikolata numunelerinin DTK grafiklerinde herhangi bir pik görülmemiştir. BT ya da ÜÇT'nin kakao yağının raf ömrünü uzattığı bulunmuştur. Bu yüzden, çikolata numunelerinden ekstrakte edilen yağların

oksidasyonu ölçülmüştür. BT ya da ÜÇT'nin artan katkı dozuna bağlı olarak çikolatanın oksidatif indüksiyon süresi (OİS)'ni ve koruma faktörü (KF)'nü arttırdığı ve ÜÇT'nin OİS ve KF üzerine etkisinin BT'ninkinden biraz daha yüksek olduğu görülmüştür.

Sıcaklık arttıkça OİS'nin azaldığı görülmüştür. Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için 155-165 °C ve 165-175 °C'deki ortalama Q_{10} değerleri sırasıyla 1.268 ve 1.589; E_a değerleri ise sırasıyla 17.62 kkal/mol ve 9.05 kkal/mol olarak bulunmuştur. Q_{10} değeri, sıcaklıktaki her 10 °C artışın raf ömrünü azaltıcı etkisini ifade etmektedir. Antioksidanlı yağ, sıcaklıktan daha az etkilenebileceğinden, antioksidanlı yağın düşük Q_{10} değerine sahip olması gerekmektedir. Bu çalışmada, doğal antioksidan (ÜÇT) katkılı çikolatanın Q_{10} ve E_a değerleri normal çikolatadan düşük bulunmuştur.

Toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteau yöntemi, antioksidan aktiviteleri Trolox eşdeğeri (TE) antioksidan aktivitesi yöntemiyle incelenmiştir. Çikolataların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerleri istatistiksel olarak “tek yönlü ANOVA” yöntemiyle incelenmiştir.

İstatistiksel olarak, toplam fenolik madde miktarı için % 0.1 BT, % 0.5 BT, % 0.1 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olmadığı bulunmuş ($p>0.05$), % 0.8 BT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan diğer çalışmada için, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın toplam fenolik madde miktarlarının istatistiksel olarak birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarının, artan BT ve ÜÇT katkı dozuyla artış eğilimi gösterdiği görülmüştür. Antioksidan aktivitesi sonuçları istatistiksel olarak “tek yönlü ANOVA” yöntemiyle değerlendirilmiştir. TE antioksidan aktivitesi değeri için, normal çikolata ile % 0.1 BT katkılı çikolata arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir fark olmadığı ($p>0.05$), % 0.5 BT, % 0.8 BT, % 0.1 ÜÇT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan diğer çalışmada, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın TE antioksidan aktivitesi değerlerinin birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. ÜÇT'nin, BT'den

daha yüksek toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesine neden olduğu görülmüştür.

Antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarı arasında çizilen korelasyon grafiği lineerlik göstermiştir. Antioksidan aktivitesinin toplam fenolik madde miktarıyla artış eğilimi gösterdiği bulunmuştur.

Sonuçta, BT ve ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonunu ve reolojik özelliklerini etkilemediği, artan katkı dozlarında OİS'ni ya da raf ömrünü uzattıkları, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesini arttırdıkları bulunmuştur.

THE EFFECTS OF ROSEMARY (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) AND GRAPE SEED (*VITIS VINIFERA*) ON CRYSTALLIZATION, RHEOLOGICAL PROPERTIES, SHELF LIFE AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF CHOCOLATE

SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) powder (RP) and grape seed powder (GSP) on crystallization, rheological properties, shelf life and antioxidant activity of chocolate.

RP and GSP have high antioxidant activities due to phenolic compounds in their structures. At first in the study, the production of different kinds of chocolates with high antioxidant activities by the addition of RP or GSP to chocolate was thought.

The production of cost efficient chocolate in addition to good quality properties, high nutritional value and antioxidant activity is preferred by both producer and consumer. For this reason in the study first, investigation of crystallization and rheological properties which can affect the cost of production due to requirements such as process design, energy costs, recipe arrangement etc. was accepted as a first success criteria.

One of the most important reasons of decreasing shelf lives of foods is oxidation occurring by being exposed to an inconvenient temperature, light, moisture, oxygen, metals such as iron and copper etc.. Antioxidant was added to foods in order to prevent oxidation. The investigation of RP and GSP on the shelf life of chocolate is second success criteria, the investigation of antioxidant activity is third success criteria.

Chocolate was made in the laboratory using in the ratio of 40.00 % sugar, 22.63 % cocoa powder, 36.82 % cocoa butter and 0.29 % lecithin. RP and GSP ratios added to chocolate were determined as 0.1 %, 0.5 % and 0.8 %.

Crystallization of chocolate samples was investigated using differential scanning calorimeter (DSC), crystallization parameters (T_o , T_p , T_e , ΔH ve T_e-T_o) of RP or GSP added chocolates (in ratios of 0.1 %, 0.5 % and 0.8 %) were investigated with

“one-way ANOVA” statistical method. It was found that there is no statistically significant difference between crystallization parameters of normal chocolate and RP or GSP added chocolate ($p>0.05$).

The rheological behaviours of chocolate samples fitted to Bingham plastic, Herschel-Bulkley ve Casson models. It was seen that plastic viscosities and yield values of chocolate samples at constant temperature did not change so RP or GSP did not affect the rheological properties of chocolate. Plastic viscosity values decreased with temperature. The effect of temperature on the plastic viscosity of chocolate was investigated with normal chocolate and 0.8 % GSP added chocolate using Arrhenius equation. Activation energy (E_a) values for normal chocolate and 0.8 % GSP added chocolate were close to each other. As the E_a increases plastic viscosity generally decreases with temperature. Being close E_a values of normal chocolate and 0.8 % GSP added chocolate means that plastic viscosity values of them change with temperature close to each other. There is no significant difference between plastic viscosity values of normal chocolate and 0.8 % GSP added chocolate at constant temperature.

Shelf lives of chocolate samples were determined by Schaal Oven Test at 30, 40 and 50 °C; and DSC. In Schaal Oven Test, oxidation of chocolate samples was investigated by peroxide and p-Anisidine Tests at several time intervals.

In Schaal Oven Test, average peroxide value (PV), p-Anisidine Value (p-AnV) and TOTOX value of each chocolate sample increased with time at constant temperature and they increased with temperature at constant time. Also, it was seen that RP, GSP, and the dosage of them did not affect the PV, p-AnV and TOTOX value. PV, p-AnV and TOTOX values of chocolate samples did not increased too fast with time or temperature. It was seen that at the end of 100th day for 30, 40 ve 50 °C, PV of chocolate samples did not reach PV of 10 meq peroxide/kg fat which shows deterioration of fats.

In oxidation study with DSC, it was seen no peak on DSC graphics of chocolate samples. It was found that RP or GSP increases shelf life of cocoa butter. Therefore, the oxidation of oils extracted from chocolate samples were measured. It was seen that RP or GSP increased the oxidative induction time (OIT) and prevention factor (PF) and the effect of GSP on the OIT and PF was a bit more than RP.

It was seen that OIT decreased with temperature. For oil extracted from normal chocolate and oil extracted from 0.8 % GSP added chocolate, average Q_{10} values at 155-165 °C and 165-175 °C were found as 1.268 and 1.589; E_a values were found as 17.62 kcal/mol ve 9.05 kcal/mol, respectively. Q_{10} value means the effect of every 10 °C increase on shortening shelf life. Since the oil with antioxidant is likely to be less affected by temperature increases, the lower Q_{10} value for oils with antioxidant is expected. In this study, Q_{10} and E_a values of chocolate with natural antioxidant (GSP) were found less than those of normal chocolate.

Total phenolic contents were investigated using Folin-Ciocalteu method, antioxidant activities were investigated by Trolox equivalent (TE) antioxidant activity method. Total phenolic content and antioxidant activity values of chocolates were investigated statistically using “one way ANOVA” statistical method. Statistically, for total phenolic content, it was found that 0.1 RP %, 0.5 RP %, 0.1 GSP % added chocolates were not significantly different from normal chocolate ($p>0.05$); 0.8 RP %, 0.5 GSP, % 0.8 GSP added chocolates were significantly different from normal chocolate ($p<0.05$).

For another study, it was found that total phenolic contents of normal chocolate and both 0.8 BT % and 0.8 ÜÇT % added chocolate were significantly different from each other ($p<0.05$). It was shown that total phenolic content tends to increase with increasing addition dosage of RP or GSP. Antioxidant activity results were evaluated statistically using “one way ANOVA”. For TE antioxidant activity value, it was found that there is no statistically significant difference between 0.1 RP % added chocolate and normal chocolate ($p>0.05$); 0.5 RP %, 0.8 RP %, 0.1 GSP %, 0.5 GSP % and 0.8 GSP % added chocolates were significantly different from normal chocolate ($p<0.05$). It was seen that GSP caused higher total phenolic content and antioxidant activity than RP.

The correlation plots of antioxidant activity *versus* total phenolic content showed linearity. It was found that antioxidant activity tended to increase with total phenolic content.

In conclusion, it was found that RP and GSP did not affect the crystallization and rheological properties, they increased OIT or shelf life with increasing addition dosage, they increased total phenolic content and antioxidant activity of chocolate.

1. GİRİŞ

Bitter ikolata, toplam katı içeriğinin % 65-75 olduğu, genellikle sıvı haldeki kakao yağındaki kakao tanecikleri ve fosfolipitlerle kaplanmış şekerin süspansiyonu olarak düşünölebilir. Çikolata prosesi sırasında, çikolata hammaddeleri karıştırılır, ezilir ve belirlenmiş son ürün yapısal ve erime özellikleri için istenen reolojik özelliklerini elde etmek amacıyla konçlanır (Afoakwa ve diğ. 2008a; Beckett, 1999). Çikolata kalıplanmadan önce, kararlı bir kristal yapının kazandırılması ve bu kararlı yapının muhafaza edilebilmesi için temperleme işlemine tabi tutulur. Temperleme işlemiyle çikolatada sağlanan kararlı kristalizasyon özelliğı, çikolatanın çabuk erimeyen, parlak bir yapıya sahip olmasını, ieklenmemesini, hem duyuşal hem de depolama özelliklerinin iyileştirilmesine, dolayısıyla raf ömrünün uzatılmasına neden olur (Beckett, 1999).

ikolatanın kalitesini olumlu yönde etkileyen optimum kristalizasyon özelliklerine bir başka deyişle optimum erime özelliklerine ve optimum reolojik özelliklerine sahip olması tüketicinin beklentisi ve bu beklentinin karşılanması üreticinin görevidir.

Ürünün reolojik özellikleri, çikolatanın pompalanma gibi proses tasarımıyla ilgili özelliklerinin yanında kaplama ve duyuşal özellikleri gibi kalite özelliklerini belirler. Reolojik özellikler, çikolatanın üretimi, kalitesi ve maliyeti açısından değerlendirilmesi gereken en önemli özelliklerden biridir. Örnek olarak reolojik parametrelerden olan plastik viskozite ve akma gerilimi değerleri yüksek olan çikolatanın kaplandığı gıdanın üzerinde kolay yayılmaması, eşit kaplamanın gerçekleşmemesi, çikolata içinde hava kabarcığının kalması kalite özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Ayrıca ürünün üzerinde kalan çikolata miktarının fazla olması da maliyeti arttırıcı bir etken olarak görölebilir. Bunun yanında yüksek plastik viskozite ve akma gerilimine sahip çikolataların pompalanması, karıştırılması ve ısıtılması daha fazla enerji gereksinimi dolayısıyla çikolata üretimi için optimum reolojik faktörlerin bulunması amacıyla gerçekleştirilmektedir (Afoakwa ve diğ. 2008a; Beckett, 1999). Son yıllarda kakao ve çikolata, lezzet ve besin değerinin yanında sağlığa faydaları nedeniyle sürekli

araştırma konusu olmuştur. Kalp ve damar hastalıkları (Shrikhande, 2000; Meyer ve diğ. 1997; Kris-Etherton ve Keen, 2002; Heiss ve diğ. 2003), kan basıncı (Taubert ve diğ. 2007a,b), plazma LDL ve HDL kolestrolü (Baba ve diğ. 2007), diyabet (Makoto ve diğ. 2007), trombosit fonksiyonelliği (Rein ve diğ. 2000; Pearson ve diğ. 2002), göğüs kanseri (Ramljak ve diğ. 2005), antioksidan durumu ve oksidatif stres (Heiss ve diğ. 2003) üzerine faydalı etkiler kakao ve çikolatanın yüksek flavanoid içeriğine bağlanmaktadır. Çikolatanın, doğal antioksidan olan yüksek flavanoid içeriği nedeniyle antioksidan etkisine sahip olduğu ve sağlığa faydalı etkiler gösterdiği bilinmektedir (Vinson ve diğ. 2006; Wollgast ve Anklam, 2000). Flavonoidler, sağlık üzerinde olumlu etkiler göstermeleri bakımından önem taşıyan fenolik bileşiklerdir (Hausteen, 2002; Rice-Evans ve Packer, 2003). Kakao ve kakaolu ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesiyle ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Hurst ve diğ. 2008; J-Essien ve diğ. 2008; Kofink ve diğ. 2007; Nelson ve Sharpless, 2003; Bruinsma ve Taren, 1999; Waterhouse ve diğ. 1996; Adamson ve diğ. 1999; Arts ve diğ. 1999; Vinson ve diğ. 1999; Won ve diğ. 2003; Gu ve diğ. 2006; Miller ve diğ. 2006).

Lipid oksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerin organizmada protein ve folik asit absorpsiyonunu engellediği, sindirim sisteminin mukoz membranında patolojik değişimlere yol açabildiği, enzim aktivitesini engellediği kan serumunda kolesterol ve peroksidaz içeriğini arttırarak damar sertliğine neden olduğu, karsinojenik aktivite gösterdiği bilinmektedir. Oksitlenmiş lipidlerin organizma üzerindeki zararlı etkileri düşünüldüğünde gıdalarda lipid oksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerin içeriğinin en aza indirilmesinin ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır (Karpinska ve diğ. 2001). Antioksidanlar, yağ acılaşması, renk, tat ve koku bozukluğuna neden olan oksidasyon reaksiyonlarını önleyerek ya da geciktirerek gıdaların raf ömürlerini uzatan maddelerdir (Altuğ, 2001; Anonim, 1986a; Nielsen, 1998).

Gıdaların işleme ve depolama sırasında bozulmalarının en önemli sebeplerinden biri oksidasyondur. Gıdalardaki kimyasal bozulmalardan biri olan oksidasyon, beslenme fizyolojisi açısından olduğu kadar teknolojik ve ekonomik açıdan da önem taşımaktadır. Özellikle, yağlar ya da yağlı gıda maddeleri uygun olmayan sıcaklık, ışık, nem koşullarında, oksijen ve demir, bakır, v.b. metallerin varlığında depolandığında, doymamış yağ moleküllerinin oksidasyonu sonucunda oluşan eşlenmemiş elektrona sahip serbest radikaller (serbest yağ asitleri, ketonlar ve

aldehitler) nedeniyle gıdanın tadında, kokusunda, renginde, yapısında bozulmalar meydana gelir. Oksidasyonun fiziksel ve teknolojik yöntemlerle önlenemediği durumlarda, gıda maddelerinin raf ömürlerinin uzatılması için uygulanan en önemli metot antioksidan ilavesidir. Gıdaya katılan sentetik ya da doğal antioksidan maddeler, oksidasyon reaksiyonlarıyla meydana gelen serbest radikaller tarafından yükseltgenerek, oksidasyon başlangıç (indüksiyon) süresinin uzamasına sebep olurlar (Altuğ, 2001; Shahidi ve Wanasundara, 1992; Allen ve Hamilton, 1983; Anonim, 1986a; Nielsen, 1998).

Karsinogenik etkilere sahip olduğu düşünülen sentetik antioksidanların gıdalardaki kullanımı son yıllarda tartışılır bir hal aldığından tüketicinin sentetik antioksidan katkılı gıdalara ilgisi azalmıştır. Bu nedenle, sentetik antioksidanlara alternatif olarak yeni doğal antioksidanların tanımlanması konusunda artan bir ilgi vardır. Son yıllarda, asırlardır geleneksel olarak kullandığımız bitki ve baharatların ya da ekstraktlarının, duyuşal özelliklerin geliştirilmesi ve raf ömrünün uzatılması amacıyla gıdalara katılması konusuna odaklanılmıştır. Bitki ve baharatların antioksidan özelliklerinin fenolik bileşik içeriklerine bağlı olduğu ve gıdalarda yağ oksidasyonunu önlediği bilinmektedir (Juntachote ve diğ. 2007; Karpinska ve diğ. 2001).

Lezzet ve besin değeri yanında sağlığa faydaları nedeniyle değerli bir ihracat ürünü olan çikolatanın kristalizasyonunun ve reolojik özelliklerinin iyileştirilmesi, raf ömrünün uzatılması ve antioksidan aktivitesinin artırılması ekonomik açıdan önem taşımaktadır. Bu nedenle bu çalışmada, doğal birer antioksidan olan biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera*)'nin çikolatanın kristalizasyonuna, reolojik özelliklerine, raf ömrüne ve antioksidan aktivitesine etkisi incelenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1 Çikolata

2.1.1 Çikolatanın tanımı ve ekonomik değeri

Çikolata, Türk Standartları Enstitüsü Çikolata Standardı'na göre, kakao ürünleri ile şeker ve/veya tatlandırıcı; gerektiğinde süt yağı dışındaki hayvansal yağlar hariç olmak üzere diğer gıda bileşenleri ile süt ve/veya süt ürünleri ve katılmasına izin verilen katkı ve/veya aroma maddelerinin ilavesi ile tekniğine uygun şekilde hazırlanan mamüldür (Anonim, 2008a).

Çikolata içerdiği maddelerin çeşit ve miktarına göre bitter, sütlü ve beyaz olmak üzere üç çeşide ayrılır. Bunlar da şekillerine, içerdikleri maddelerin tür ve miktarlarına göre çeşitlenebilirler. Örnek olarak, bitter çikolata, bitter, granül veya pul bitter, kuvertur bitter, fındık ezmeli bitter diye sınıflandırılmaktadır (Anonim, 2008a).

Bitter çikolata, bileşiminde en az % 18 kakao yağı ve en az % 14 yağsız kakao kuru maddesi olacak şekilde en az % 35 toplam kakao kuru maddesi içeren çikolatadır (Anonim, 2008a).

Sütlü çikolata, bileşiminde en az % 2.5 yağsız kakao kuru maddesi olacak şekilde en az % 25 toplam kakao kuru maddesi içeren, ayrıca en az % 14 süt kuru maddesi ve en az % 3.5 süt yağından oluşan, kakao yağı ve süt yağı toplam miktarı ise en az % 25 olan çikolatadır (Anonim, 2008a).

Beyaz çikolata ise, bileşiminde en az % 20 kakao yağı ve en az % 14 süt kuru maddesi içeren ve en az % 3.5'i süt yağı olan çikolatadır (Anonim, 2008a).

Çikolata, tüketici kitlesi çok geniş olan bir gıda maddesidir (Cidell ve Alberts, 2006). 2006 yılında yapılan bir araştırmaya göre dünyada üretilen kakaonun % 50'sini Avrupa ülkeleri tüketmekte olup, her ülkede kişi başına düşen ortalama kakao tüketimi 4 kg ile 10 kg arasında değişmektedir. Almanya en başta olmak üzere, sırasıyla Fransa, İngiltere ve İtalya, Avrupa'daki en çok çikolata tüketen ülkelerdir.

2005-2006 yılları arasında bu dört ülkenin yıllık ortalama satış hacmi büyüme hızlarına bakıldığında, rakip batı ülke pazarlarına rağmen çikolata satışlarının arttığı görülmektedir. 2010 yılı için yapılan ortalama satış tahminlerine göre, İngiltere yaklaşık 684.000 ton, İtalya 146.000 ton, Almanya 732.000 ton ve Fransa 248.000 ton'a kadar tüketime sahip olacaktır (Monotti, 2008). Ülkemizde Devlet Planlama Teşkilatının Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planında belirtilen istatistiki bilgilere göre 2000 yılında gerçekleşen çikolata üretimi 118.000 ton'dur (Anonim, 2001; Sökmen, 2005). Çikolata pazarındaki büyümenin devamının sağlanması için, çikolatanın çevre ve insan sağlığına etkileri bakımından nasıl üretildiği önem taşımaktadır (Monotti, 2008).

2.1.2 Çikolatanın bileşenleri

2.1.2.1 Kakao

Çikolatanın temel bileşeni olan kakao, Afrika ve Güney Amerika'da yetişen *Theobroma cacao* adlı, boyları 4-15 m'yi bulan kakao ağacında yetişmektedir. Olgunlaşan kakao meyvesinin boyu 35 cm'yi bulur. Renkleri sarıdan mora doğru değişen, yüzeyi dilimli olan kakao meyvesinin içinde yaklaşık 2.5 cm boyunda 20-40 tane badem şeklinde kakao çekirdekleri bulunmaktadır. Kakao, kakao çekirdeklerinden üretilir. Kakao çekirdeklerinden, tabi tutuldukları farklı işlemlerle farklı çeşit kakaolar elde edilebilir (Minifie, 1989).

Kakao çekirdekleri hasat sonrası, fermentasyon, kurutma, temizleme, kavurma, kırma, kabuk ayırma ve öğütme işlemlerine tabi tutulur. Fermentasyonda renk ve aromanın geliştirilmesi için çekirdekteki etli kısım ve mukusun ayrılması amaçlanır. Fermentasyon işleminde, kakao çekirdekleri genellikle muz yaprakları üzerine yığılıp tekrar muz kabuklarıyla örtülürler. Yığın 48 saatte bir döndürölüp havalandırılır. Sıcaklık 40-45 °C'ye çıkar, kabuk yapısı yumuşar, son pH değeri yaklaşık 5.5 olur. Fermentasyon prosesi 5-7 gün sürer (Beckett, 1999; Cooper ve diğ. 2007). Küf gelişiminin önlenmesi amacıyla yapılan kurutma, güneşte yapılır. İşlenmek üzere fabrikaya gelen kuru kakao çekirdekleri, metal, taş v.b. yabancı maddelerden elek ve metal dedektör yardımıyla temizlenir. Kavurma işlemiyle (95-145 °C) aroma gelişimi, pastörizasyon ve çekirdek kabuğunun yumuşayarak kolay kırılması sağlanır. Öğütme öncesinde çekirdekler kırılır, kabuklar eleme ve üfleme ile uzaklaştırılarak kakao nibi elde edilir. Kakao nibi en fazla % 1.75 kabuk içerebilir.

Kakao nibinin öğütülmesiyle sürtünme ve uygulanan ısı nedeniyle sıcaklık 40 °C ve yukarısına çıkmasıyla kakao nibindeki kakao yağı erir ve ayrılmaya başlar. Oluşan kakao kitlesi 95 °C'den 105 °C'ye ısıtıldıktan sonra tekrar preslenir, kakao yağı ayrılır, geriye kakao tozu kalır. Kakao kitlesi, kakaoda topaklanmanın önlenmesi, daha iyi çözünmesi ya da koyu renkli olması amacıyla potasyum ve sodyum karbonat gibi alkali maddelerle muamele edilebilir. Alkalizasyonda kullanılabilecek maksimum alkali madde miktarı % 2.5-3'tür. Alkaliyle muamele edilmiş kakaonun pH'sı 6-9'dur. Kakao yağının istenmeyen kokusunun giderilmesi için deodorizasyon işlemi gerçekleştirilir. Kakao tozunun nemi % 5 'i geçmemelidir. Depolama sıcaklığı 22 °C, bağıl nemi % 65 'in üzerinde olmamalıdır. Bu koşullarda kakaonun raf ömrü 1 senedir (Beckett, 1999; Gu ve diğ. 2006; Cervellati ve diğ. 2008).

Kakaonun temel bileşeni kakao yağıdır. Kakao yağı dolayısıyla kakaonun yapısında başlıca palmitik ve stearik asit (% 55-57), oleik asit (% 38), linoleik asit (% 2) bulunur. Karbonhidrat olarak % 9-10 nişasta ve % 1.17-1.26 indirgen şeker; organik asit olarak tartarik, sitrik ve asetik asit ve az miktarda A ve D provitaminleri içerir. Kakao ayrıca yapısındaki karakteristik kokunun nedeni olan biasetil ve asetilmetilkarbinol eterik yağları; alkaloid olarak ise teobromin içermektedir (Keskin, 1987).

2.1.2.2 Kakao yağı

Çekirdek kakao ve/veya kakao kütesinden elde edilen çikolata imaline uygun yağıdır (Anonim, 2008a). Kakao yağı altı farklı kristal formuna (I-VI) sahip olması nedeniyle polimorfik bir yapı gösterir (Beckett, 1999). Kakao yağı kristal formların erime noktası aralıkları ve zincir bağ yapısı Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Kakao yağının kristal formlarının erime sıcaklığı aralıkları ve zincir bağ yapısı (Beckett, 1999).

Wille & Lutton (1966)	Larsson (1966)	Erime sıcaklığı aralığı (°C)	Zincir bağ yapısı
Form I	β_2	16-18	İkili
Form II	α	21-22	İkili
Form III	Karışık	25.5	İkili
Form IV	β_1	27-29	İkili
Form V	β_2	34-35	Üçlü
Form VI	β_1	36	Üçlü

Kristal formlar, şekerleme endüstrisinde Wille ve Lutton tarafından Form I – Form VI şeklinde, yağ endüstrisinde ise Yunan harfleriyle (β_2 , α , β_1 , β_2 , β_1) ifade edilmektedir (Beckett, 1999). Kristal formlar, erime noktalarına göre farklı aşamalarda kristalizasyona uğrar. En kararsız kristal form Form I iken, en kararlı formlar, Form V ve Form VI ‘dır. Form I düşük sıcaklıklarda hızlı soğutmayla meydana gelir. Hızlı şekilde Form II’ye dönüşür. Form II de daha yavaş bir hızda Form III ve Form IV’e dönüşür. Form IV, temperlenmemiş ya da zayıf temperlenmiş çikolatanın soğutma tüneline soğutulmasıyla ortaya çıkar. Form IV çok hızlı bir şekilde (soğutma tüneline çıkmadan önce) Form V’e dönüşür. Form V, iyi temperlenmiş çikolatada oluşur ve çok uzun depolama sürelerinde Form VI’ya dönüşür, bu dönüşme sıklıkla yağ çiçeklenmesine neden olur (Beckett, 1999; Briggs ve Wang, 2004; Debaste ve diğ. 2008).

2.1.2.3 Şeker

Saflaştırılmış ve kristallendirilmiş sakkarozdur (Anonim, 2006). Kristal şeker, genellikle %99,9 saflığa sahiptir. Şeker, çikolatanın temel bileşeni olup çikolata üretiminde tatlılık ve lezzet vermek amacıyla kullanılır. Çikolata üretiminde kullanılan şeker miktarı genellikle kütleye % 60’dan küçük olmalıdır (Anonim, 1990). Şeker partikül boyutuna bağlı olarak çikolatanın reolojisini etkilemektedir. Çikolata üretiminde genellikle kullanılan şekerin partikül boyutu 0.5 mm’den küçük olmalıdır (Beckett, 1994; Minifie, 1989). Partikül boyutu ağızda duyuusal kabuledilebilirlik açısından da önemlidir. Düşük partikül boyutlu şeker, yüksek yüzey alanına sahip olacağından yüzeyine daha çok yağ kaplar. Optimum şeker boyutu Amerika’da ortalama 30-35 μm ve maksimum 50 μm , Avrupa’da 20-23 μm ve maksimum 30-40 μm ’dir (Jeffrey, 1993).

Çikolata üretiminde kullanılacak şeker, nemli olmamalıdır. Şeker, çok higroskopik yani su tutan özelliğe sahip olduğundan depolanması nemsiz yerlerde yapılmalıdır. Şeker partiküllerinin yüzeyindeki nem, karışma sırasında partiküller arasındaki sürtünmeyi artırır, artan sürtünmeyle meydana gelen direnç viskozitenin artmasına neden olur (Beckett, 1994; Minifie, 1989).

2.1.2.4 Lesitin

Lesitin, çikolataya emülsifiye edici özelliğinden dolayı katkı maddesi olarak ilave edilir. Gıda katkı maddesi, tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıdanın

karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisi ya da yan ürünleri, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olan maddeleri ifade etmektedir. Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre emülgatörler, bir gıda maddesinde, yağ ve su gibi birbiri ile karışmayan iki veya daha fazla fazın homojen bir karışım oluşturmalarını veya oluşan homojen karışımın sürekliliğini sağlayan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2008b).

Gıda katkı maddelerinin gıdalara katkı dozları, gıdaların türlerine göre değişiklik göstermektedir. Örnek olarak, bir emülgatör olan poligliserol polirisinolatın (E 476) çikolata dahil kakao bazlı şekerlemelere katılmasına izin verilen en yüksek dozu 5 g/kg iken, yine bir emülgatör olan lesitin (E 322) kakao ve kakao ürünlerinde ya da çikolata ve çikolata ürünlerinde kullanılmasına izin verilen en yüksek değeri, istenilen etkinin sağlanabildiği en düşük miktardır. Herhangi bir en yüksek düzeyin belirtilmediği, ancak istenilen etkinin sağlanabildiği en küçük miktar “belirlenmemiş miktar” ya da “quantum satis (QS)” olarak ifade edilir (Anonim, 2008b; Anonim, 2002).

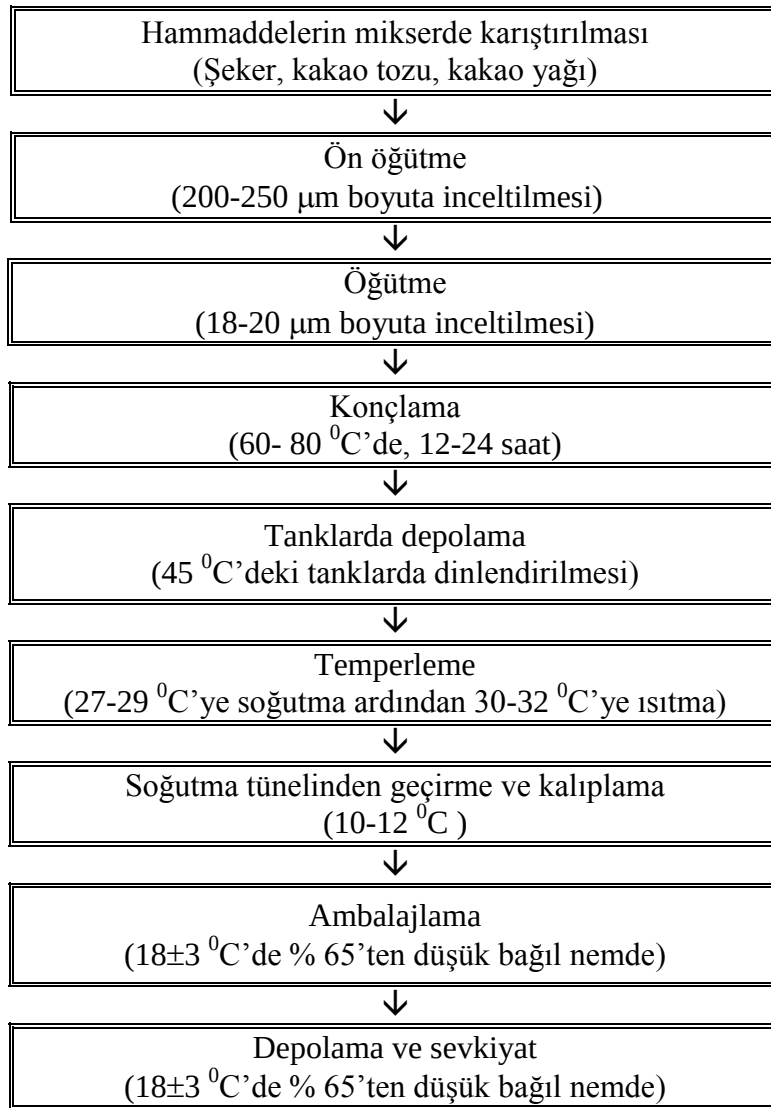
Lesitin, fosfotidilkolin, fosfotidiletanonolamin, fosfotidilinositol ve bazen de fosfotidilserin fosfolipidlerinden oluşan kompleks bir yapıdır. Fosfolipid yapısından dolayı, hem lipofilik hem de hidrofilik yapı göstermektedir. Lesitin, soya fasülyesinden, yağlı tohumlardan, pamuk tohumundan ve kolza tohumundan elde edilmektedir. Kolza tohumundan elde edilen sentetik lesitin ve soya lesitini, çikolata ürünlerinde viskoziteyi düşürmek amacıyla kullanılan emülgatörlerdir. Kakao yağına göre daha ekonomik olduğundan çikolatadaki şeker ve yağın homojen karışımının sağlanmasında kullanılması tercih edilir (Beckett, 1994; Minifie, 1989).

Lesitin, çikolata üretiminin konçlama aşamasında ilave edilmektedir. Konçlamanın başlangıç aşamasında, kütle viskozitesinin düşürülmesiyle güç gereksinimi de azaltılmaktadır. Konçlamanın sonuna doğru kalan lesitin ilavesiyle, istenen viskozite değeri elde edilmektedir. Konçlamanın sonuna doğru eklenen lesitin viskozitenin azaltılmasına etkisi daha fazla olmaktadır. Lesitin şeker kaplama, yağ kristalizasyonu, kristal gelişmesi, polimorfizm ve yağın göçünü etkilemektedir, katı

yağ içeriğine etkisi çok azdır. Lesitin şeker/yağ arayüzeyine gelir, şekeri kaplayarak şekerin sürekli faz içinde dağılımını sağlar (Afoakwa ve diğ. 2008b).

2.1.3 Çikolata üretimi

Çikolata üretimi hammaddelerin karıştırılması, ön öğütme, öğütme, konçlama, depolama, temperleme, soğutma, kalıplama, ambalajlama, depolama aşamalarından oluşmaktadır (Counet ve diğ. 2002; Beckett, 1999; Minifie, 1989). Bitter çikolata üretiminin akış şeması Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1: Bitter çikolata üretimi akış şeması.

Bitter çikolata yapımında, kakao tozu, kakao yağı ve şeker belli oranlarda mikserde karıştırılır. Karıştırma sonrasında oluşan hamur ikili silindirde ön öğütme işlemiyle yaklaşık 200-250 µm inceliğe ezilir. Elde edilen karışım beşli silindirde yaklaşık 18-20 µm’ye inceltir. Silindirler arasındaki sıcaklık, basınç ve hız farkına göre

incelik ayarlanabilir. Bu ikolata hamuru, yüksek bir sıcaklıkta yoğun bir karıştırmanın uygulandığı konçlama prosesine maruz bırakılır. Konçlamanın amacı, çikolata hamurunun viskozitesinin ayarlanması ve fazla nem, kakao çekirdeklerinin fermentasyonu sonucu oluşmuş olan uçucu asitler, aldehitler ve ketonlar gibi acı ve keskin kokulu istenmeyen bileşiklerin buharlaştırılıp, uzaklaştırılmasıdır. Konçlama 24 saate kadar sürebilmekte, konçlama sıcaklığı sütlü çikolatada 60  C, bitter çikolatada 80  C civarında uygulanmaktadır (Counet ve diğ. 2002; Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Konçlamada, kakao yağı ve lesitin konçlamanın başlangıcında ve sonuna doğru olmak üzere belli miktarlarda iki kısımda ilave edilmektedir. Lesitin hamur tanecikleri üzerinde monomoleküler bir tabaka oluşturarak vizkoziteyi düşürmektedir. Bazı el yapımı çikolata üreticileri, bitter ya da pastane usul çikolataları şeker veya doğal aromalar eklemek suretiyle doğrudan kakao likrn konlayarak yapmaktadırlar. Bu durumda, konçlama işlemi, daha fazla süre gerektirmektedir. Konçlama işlemi bitmiş olan homojen yapıdaki sıvı çikolata depolanması için 45  C'deki tanklara sevk edilir (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Çikolata kalıplanmadan önce, kararlı bir kristal yapısına sahip olmasının sağlanması için temperleme işlemi uygulanır. Bitter ikolatada temperleme sıcaklığı sütlü çikolatanın temperleme sıcaklığından 2-3  C fazladır. Temperleme işleminde, depozitrden 32  C'de gelen çikolata, aşama aşama 29  C'ye soğutulmakta ardından 32-34  C'ye ısıtılmaktadır. Temperleme sırasında çikolata kuvvetli bir şekilde karıştırılır. Depozitrden yaklaşık 32-34  C'de gelen temperlenmiş çikolata 27-28  C'ye ısıtılmış kalıplara dökülür. Vibrasyonla ikolatanın kalıplara uygun şekilde yayılması sağlanmaktadır. Kalıptaki ikolatalar belli hız ve sıcaklıkta hava sirkülasyonunun olduğu soğutma tünellerinde katılaştırılır. Katılaşan ikolatalar, ambalajlama makinelerinde paketlenip, depolanır ve tüketicie sunulmak üzere sevkiyatı yapılır (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Ambalajlama, depolama ve sevkiyat koşulları 18±3  C'de % 65'ten düşük bağıl nemde olmalıdır. Ayrıca, güneş işığına maruz bırakılmamalı, keskin aromalı diğer gıda maddeleriyle bir arada depolanmamalı, depolama yeri haşere ve enfeksiyon riskine karşı temiz ve güvenilir olmalıdır (Cervellati ve diğ. 2008; Beckett, 1999; Minifie, 1989).

2.2 ikolatanın Kristalizasyonu

Kakao yağı, şeker ile birlikte çikolatanın ana bileşenidir. ikolatanın kristalizasyon özelliklerini ve davranışını anlamak için kakao yağının yapısını bilmek gerekir (Beckett, 1999; Schenk ve Peschar, 2004). Kakao yağının % 90'ından fazlasını palmitik, oleik ve stearik asit trigliseritleri oluşturmaktadır. Geriye kalan yağ asitleri ise, laurik, miristik, palmitoleik, linoleik, linolenik, arakidik yağ asitleridir. Bu yağ asitleri kakao yağının kendine has erime özelliğine sahip olmasına neden olurlar. Kakao yağı 26 °C'nin altında sert ve kırılğan özellik gösterirken ağızda hızlı bir şekilde tamamen erir (Becket, 1999; Robert, 1987).

Kristalizasyon bir başka deyişle temperleme işlemi, içerdği kakao yağı vasıtasıyla çikolataya kararlı bir kristal yapının kazandırılması ve bu kararlı yapının muhafaza edilebilmesi için yapılmaktadır. ikolatada oluşan kararlı kristalizasyon özelliğiyle çikolatanın çabuk erimemesi, parlak bir yapıya sahip olması, içeklenmemesi, hem duysal hem de depolama özelliklerinin iyileştirilmesi, dolayısıyla raf ömrünün uzatılması sağlanmış olmaktadır (Becket, 1999; Schenk ve Peschar, 2004).

ikolatanın fiziksel yapısı, sertlik, kırılabilme, ısı direnci, erime davranışı (ağızda çabuk erime), lezzet ve koku gibi özelliklerle değerlendirilmektedir. Bu özelliklerle birlikte çikolatanın kalitesini etkileyen en önemli nedenlerden biri de “yağ çiçeklenmesi (fat bloom)”dır. Yağ çiçeklenmesi, üretimde temperleme sıcaklığının düşük olması, çok kısa soğutma zamanı, soğutma bandının çok soğuk olması v.b.; ürün geliştirmede, kimyasal yapısı birbiriyle uyumsuz yağların birlikte kullanılması, çikolatada kullanılan yemişlerin yağ salgılamaları v.b.; yüksek ya da değışken depolama sıcaklığı, uzun süren depolama v.b. nedenle ortaya çıkmaktadır. ikolatanın, uygun sertlikte ve kırılabilme özelliğinde, çabuk erimeyen, parlak bir yapıya sahip olması, içeklenmemesi, duysal ve depolama özelliklerinin iyileştirilmesi, dolayısıyla raf ömrünün uzatılması için iyi bir kristalizasyon sağlanmalıdır. Kristalizasyon temperleme ile başlar, soğutma ve soğutma sonrası ile tamamlanır. Temperlemede meydana gelen kristalizasyona “ön-kristalizasyon (pre-kristalizasyon)”, soğutmada meydana gelen kristalizasyona “kristalizasyon”, soğutmadan sonra meydana gelen kristalizasyona “son kristalizasyon (post-kristalizasyon)” denir. Kristalizasyonun ilk basamağı olan temperlemede amaç, kakao yağına homojen ve küçük boyutlardaki kararlı kristal yapısının

kazandırılmasıdır. Temperleme sırasında, uygulanan kayma hızı, zaman ve sıcaklık parametreleri kristalizasyonu etkiler (Briggs ve Wang, 2004; Debaste ve diğ. 2008).

Temperleme prosesinde, 45-50 °C'deki bitter çikolata (tüm kakao yağı kristalleri erimiş durumdadır), depozitörde 32 °C olur (kristal formları oluşmaz), depozitörden gelen çikolata aşama aşama 29 °C'ye soğutulur (32-29 °C sıcaklık aralığında kararlı ve kararsız Form IV ve Form V kristalleri oluşur), tekrar 32-34 °C'ye ısıtılır (29-32 °C ya da 29-34 °C sıcaklık aralığında kararsız Form IV erir, yalnızca kararlı Form V kristalleri kalır) ve ardından yavaşça katı hale soğutulur. Temperleme sıcaklığı, çikolata reçetesine, temperleme ekipmanına ve çikolatanın kullanma amacına göre farklılık gösterebilmektedir. Depozitörden 32 °C'de gelen bitter çikolata, aşama aşama 29 °C'ye soğutulmasının ardından 32-34 °C'ye ısıtılmaktadır. Temperlemede, kararlı çekirdek (aşı) kristalleri oluşur, kararlı çekirdek kristalleri büyüyüp kristal oluşturur. Temperlemeden sonra kristalizasyon soğutmayla devam eder (Beckett, 1999; Briggs ve Wang, 2004).

Çikolatanın soğutulmasında, çok kısa soğutma süreleri ve düşük soğutma sıcaklıklarından kaçınılması gerekmektedir. Soğutma çok hızlı ve düşük sıcaklıkta yapılırsa çikolatanın temperlenmesinde açığa çıkan ısı giderilemez, içeride kalır ve daha sonra yüzeye çıkıp yağ çiçeklenmesine neden olur. Uygun temperleme, soğutma ve depolama koşullarının sağlanmasıyla gerçekleştirilen kristalizasyon sonucunda çikolataya homojen dağılan kararlı kristal yapısı kazandırılmış olur. İyi kristalizasyon iyi parlaklık, sertlik ve kırılgenlik, erimeye dayanıklılık, yağ çiçeklenmesinin önlenmesi demektir (Bolliger ve diğ. 1998).

Bir çalışmada, 18 ve 30 °C'deki depolama sıcaklıklarının 8 hafta depolama süresinde dolgulu bitter çikolatanın dokusuna, polimorfik yapısına, yağ çiçeklenmesi oluşumu ve duyuusal davranışlarına etkisi incelenmiştir. 18 °C'de yapılan depolamanın bitter çikolatada yağ çiçeklenmesini geciktirdiği, 30 °C'de yapılan depolamanın yağ göçünü hızlandırdığı, çikolatanın dokusunu zayıflattığı, kaplamada kararsız polimorfların oluşmasına neden olduğu ve çikolatanın ilk üç haftasında yağ çiçeklenmesinin meydana geldiği görülmüştür (Ali ve diğ. 2001).

2.2.1 Çikolatanın kristalizasyon parametrelerinin DTK ile belirlenmesi

Çikolatanın kristalizasyonu ya da erime özellikleri, ağızda bıraktığı tat ve his nedeniyle oldukça önem taşımaktadır. Çikolatanın erime özelliklerinin ölçülmesinde

en önemli analitik yöntemlerden birisi DTK'dır. DTK ısıtma, soğutma veya izotermal koşullar altında ısı akışını ölçer (Robinson ve diğ. 2000). DTK, entalpide meydana gelen değişikliklerin görüntülenmesi yardımıyla, maddelerdeki ısıyla ilişkili reaksiyonların incelenmesinde kullanılır. DTK termal analiz yöntemidir. Termal analiz yönteminde, ölçümü yapılacak madde sıcaklığa maruz bırakılır ve maddenin fiziksel özelliklerindeki değişiklik sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçülür (Özçelik, 1999).

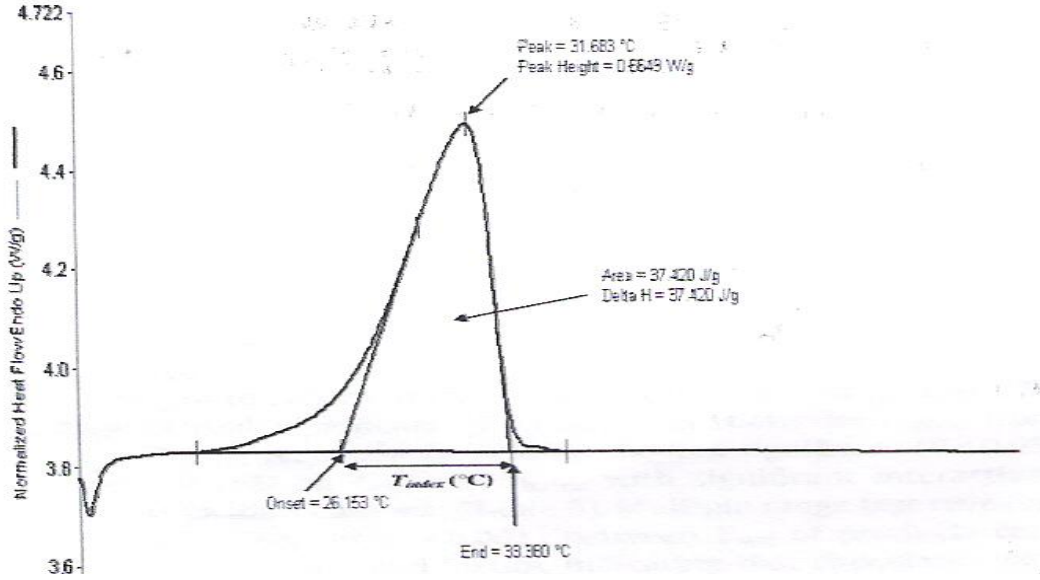
DTK, temperleme seviyesi ve son soğutma hızı gibi proses koşullarıyla ilgili çikolatanın kalitesi hakkında bilgi sağlar. Ancak, DTK grafiğinin yorumlanması, ısıtma sırasında aynı zamanda meydana gelen erime ve tekrar kristallenme gibi çeşitli dönüşümlerden dolayı karmaşık olabilmektedir. Çikolata ve diğer gıdaların DTK'larında çeşitli zayıf, geniş ve örtüşen geçişler görülmektedir (Baichoo ve diğ. 2006; Robinson ve diğ. 2000).

Çikolata üretimi sırasında, kristal durumu ve mevcut katı yağ oranları son ürünlerde erime özelliklerini belirlenmesinde önem taşımaktadır. DTK, çikolata erime profillerindeki değişiklikleri karakterize etmek ve her kristal durumun bağlı miktarlarının ve spesifik polimorfik yapıların erime özelliğine bağlı olarak sıcaklık değişikliklerinin görüldüğü "erime sıcaklığı"nı ifade eden piklerin ölçülmesinde kullanılmaktadır (Özçelik, 1999).

Çikolatanın kristalizasyonunun DTK cihazı kullanılarak incelenmesi konusunda literatürde çok sayıda makale bulunmaktadır (Mazzanti ve diğ. 2003; Baicho ve diğ. 2006; Foubert ve diğ. 2003; Kowalski ve diğ. 2000; Litwinienko ve diğ. 1999; Robinson ve Sichina, 2000; Ulkowski ve diğ. 2005).

Erime özelliklerinin incelenmesinde kullanılan parametreler, erimenin başladığı sıcaklık (T_o), erimenin sonlandığı sıcaklık (T_e), pik sıcaklığı (T_p), erime indeksi ($T_{\text{indeks}} : T_e - T_o$) ve erimenin gerçekleşmesi için gerekli ısı enerjisi olan erime entalpisi (ΔH_e)'dir. DTK grafiğinde, başlangıçta pike çizilen teğetin apsisi kestiği noktadaki sıcaklık değeri T_o , pik sonlandığında, pike çizilen teğetin apsisi kestiği noktadaki sıcaklık değeri T_e ; T_o ve T_p arasındaki sıcaklık değeri farkı T_{indeks} , pikin tepe noktasındaki sıcaklık değeri T_p ve pik alanı ΔH_e olarak bulunmaktadır. Kristalizasyon parametrelerini gösteren DTK grafiği Şekil 2.2'de verilmiştir. Erime entalpisi arttıkça, erime zorlaşır. Erimenin sonlandığı sıcaklığın büyük olması da çikolatanın kolay erimeyi gösterir. Çikolatanın yüksek ΔH_e ve T_e 'e sahip olması

çikolatanın kararlılığı hakkında bilgi verebilir. T_p mevcut kristal çeşidi hakkında bilgi verir. T_p değeri olan 34°C 'de kararlı Form V kristalleri, 29°C 'de daha az kararlı Form IV kristalleri ve 35°C ve üzerinde çok kararlı Form VI kristallerinin varlığı sözkonusudur (Afoakwa ve diğ. 2008b).



Şekil 2.2 : Kristalizasyon parametrelerini gösteren DTK grafiği (Afoakwa ve diğ. 2008b).

Bir çalışmada değişik partikül boyut dağılımına (18, 25, 35, 50 μm), yağ (% 25 ve % 35) ve lesitin (% 0.3 ve % 0.5) içeriğine sahip bitter çikolataların DTK ile erime özellikleri incelenmiş, yağ ve lesitin T_o ve T_p 'yi etkilemezken, artan miktarlarında T_e , T_{indeks} ve ΔH_e 'yi azalttığı, partikül boyutunun ise erime özelliklerini etkilemediği görülmüştür (Afoakwa ve diğ. 2008b).

Çikolatanın depolama zamanı ile erime özellikleri arasındaki ilişki DTK ile incelenmiş ve T_e değerleri 0, 24, 48, 72, 96 saat depolama süreleri için sırasıyla yaklaşık 28.7; 32.4; 33.0; 35.3; 35.7°C bulunmuştur. T_e değerlerindeki değişme depolama zamanıyla çikolata yapısındaki kararsız kristallerin kararlı hale dönüştüğünü göstermektedir. Temperleme sonrası soğutmadaki çikolatanın içerdiği Form IV polimorf kristali ($\sim 28.7^{\circ}\text{C}$) depolamanın 24 saatinde Form V (32.4°C)'ye dönüşmüş, 72 saat sonrasında daha kararlı Form VI kristaline (35.5°C) dönüşmüştür. Çikolatanın depolama süresi olarak 72 saat sonrasında kararlı kristal yapısına sahip olduğu görülmüştür. 25, 35, 50 μm partikül boyutlu çikolatalar 72 saat sonrasında

Form V kristal yapısına dönüşürken, 18 µm partikül boyutlu çikolata 96 saat sonrasında Form VI yapısına dönüşmekte ve T_e ve ΔH_e değerleri değişmektedir. ΔH_e 'nin temperlemeden sonra oldukça düşük olduğu, artan depolama zamanıyla arttığı görülmüştür. Örnek olarak, temperleme sonrası, depolama öncesindeki 18 µm partikül boyutlu çikolatanın T_o , T_e , T_p ve ΔH_e değerleri, yaklaşık 22.8, 28.9, 27.2 ve 35.56 iken, 96 saat depolama süresindeki değerleri sırasıyla yaklaşık 27.4, 35.2, 33.8, 40.63 olarak bulunmuştur. Sonuçta depolamanın ilk 24 saatinde sıvı ve kararsız yağ kristalleri, yağ çiçeklenmesi başlangıcında çikolata yüzeyine çıkmakta, daha uzun depolama sürelerinde bu kristaller daha kararlı kristallere dönüşmekte ve daha büyük kristaller oluşmaktadır (Afoakwa ve diğ. 2009).

Büyük partikül boyutlu çikolatanın küçük partikül boyutluya göre daha hızlı yağ çiçeklenmesi göstermesi mümkündür, bu da kapiler hareketle hidrodinamik güçlerle ilişkilendirilmektedir. Yağ çiçeklenmesinin sıvı ve kararsız kristallerin partiküller arası gözenekler ve boşluklarda oluşan hidrodinamik güçle meydana gelen kapileriteyle başladığı, ve bunun ardından bu kararsız kristallerin kararlı hale dönüşerek büyüdüğü hipotezlenmektedir (Afoakwa ve diğ. 2009a; Afoakwa ve diğ. 2009b).

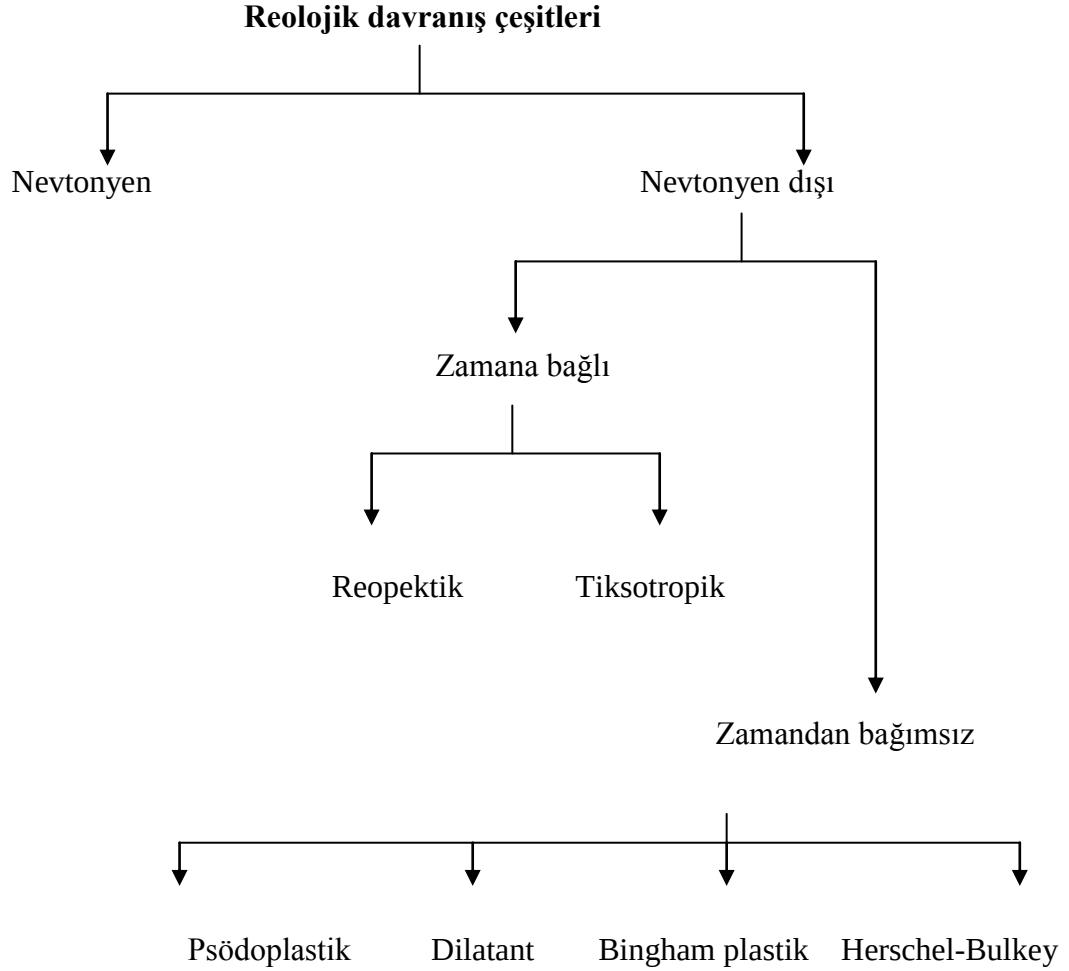
Temperlenmiş çikolatanın son yapısını (sertliğini) reçete, üretim teknikleri, temperleme, polimorfizm (yağ kristallerinin kararlılığı) ve soğutma sıcaklığının etkilediği bilinmektedir (Afoakwa ve diğ. 2007; Beckett, 1999).

2.3 Çikolatanın Reolojik Özellikleri

2.3.1 Reolojinin tanımı ve reolojik davranışlar

Reoloji, maddelerin akışkanlığı ve deformasyonunu inceleyen bilim dalıdır. Reolojide, akışkanların reolojik özellikleri viskozite ile, katılarınki ise elastisite ile ifade edilmektedir. Reolojik özellikler sıcaklık, kayma hızı ($\dot{\gamma}$), kayma hızının uygulanma süresi, basınç, konsantrasyon, pH, su aktivitesi (a_w), ürünün bileşimi ve yapısına bağlıdır. Gıda sanayinde, bir gıda maddesinin reolojik özellikleri, üretimi ve kalitesi açısından ele alınması gereken en önemli özelliklerdendir. Özellikle düşük maliyetli ürün geliştirme ve dolayısıyla proses dizaynı (boru, pompa, ekstrüder, karıştırıcı, kaplama, ısı değiştirici, homojenize edici gibi ekipmanların mühendislik hesaplarında) için büyük öneme sahip reolojik özellikler ayrıca, kalite kontrol analizlerinde, raf ömrü analizleri, duyu analizlerde kullanılırlar (Steffe, 1996).

Reolojik davranışlar kayma hızı ve zamana bağlı olarak sınıflandırılmakta olup, Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3 : Reolojik davranış biçimleri (Lokumcu, 2000).

Reolojik davranışlar genellikle kayma hızına ($\dot{\gamma}$) karşı kayma gerilimi (τ) grafiğinin çizilmesiyle değerlendirilir, çizilen akış eğrisi çeşitli fonksiyonel bağıntılarla matematiksel olarak modellenir (Steffe, 1996).

Reolojik davranışlar, Nevtonyen ve Nevtonyen dışı olmak üzere iki çeşide ayrılmaktadır. Nevtonyen dışı davranış çeşitleri de zamana bağımlı ve zamandan bağımsız olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Steffe, 1996).

Newton Yasasına göre, kayma gerilimi ile kayma hızı arasında çizilen akış grafiği doğrusal olup eğim viskoziteyi vermektedir. Nevtonyen davranışta viskozite kayma hızına bağlı değildir. Viskozite sadece sıcaklık ve maddenin bileşimine bağlıdır. Nevtonyen davranış gösteren gıdaların sadece tek kayma hızında viskozite ölçümleri yeterlidir. Newtonyen akış davranışı gösteren gıdalara örnek

olarak su, süt, çay, kahve, bira, şuruplar, şarap, durultulmuş meyve suları, birçok bal çeşidi, bitkisel yağlar ve bazı çorbalar verilebilir (Steffe, 1996).

Akış özellikleri kayma hızına ve zamana bağlı olan akışkanlar, Nevtonyen dışı akışkan davranışı gösterirler. Bu tip akışkanlar için sabit bir viskozite değeri yoktur, belli bir kayma hızında görünen viskozitelerinden (η) söz edilir. Görünen viskozite, maddenin deformasyonu sırasındaki anlık viskozite demek olup, kayma geriliminin kayma hızına oranıdır, eşitliği **(2.1)**'de verilmiştir (Lokumcu, 2000). Görünen viskoziteye plastik viskozite de denilmektedir (Steffe, 1996).

$$\eta = f(\dot{\gamma}) = \tau / \dot{\gamma} \quad (2.1)$$

η : görünen viskozite (Pa.s), τ : kayma gerilimi (Pa) $\dot{\gamma}$: kayma hızı (1/s)

Çok seyreltik meyve suları hariç birçok sıvı ve yarı katı gıdalar, emülsiyonlar, süspansiyonlar veya yüksek molekül ağırlıklı maddeler Nevtonyen dışı davranış gösterir. Nevtonyen dışı davranışlar zamandan bağımsız ve zamana bağımlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Steffe, 1996; Lokumcu, 2000).

Zamandan bağımsız Nevtonyen dışı davranışlarda kayma gerilimi, kayma hızı süresine bağlı olmayıp sadece kayma hızının fonksiyonu olarak ortaya çıkmaktadır. Nevtonyen olmayan davranışlar, psödoplastik (kayma hızıyla viskozitesi düşen), dilatant (kayma hızıyla viskozitesi artan), Bingham plastik ve Herschel-Bulkley olarak adlandırılır (Steffe, 1996).

Nevtonyen dışı zamandan bağımsız davranışlar için **(2.2)**'deki genel matematiksel model (üslü-yasa) aşağıda verilmiştir (Steffe, 1996):

$$\tau = \tau_0 + K \dot{\gamma}^n \quad (2.2)$$

τ_0 : akma gerilimi (Pa), K : kıvam indeksi, $\dot{\gamma}$: kayma hızı (1/s), n : akış davranış indeksi
 K kıvam indeksi viskoziteye karşılık gelirken, n akış davranış indeksi Nevtonyen davranıştan sapmayı ifade eder, n değerine göre de sınıflandırılabilirler. Kayma hızı arttıkça viskozitesi azalan davranışlar psödoplastik veya kayma incelmesi (shear thinning) gösteren davranışlardır. Psödoplastik davranışta akış davranış indeksi olan n değeri 1'den küçüktür. Örnek olarak, yoğurt, domates salçası, margarin, salata sosları, elma sosu, konsantre portakal suyu, muz püresi, çorba,

tahin/pekmez karışımları, puding, çikolata ve birçok gam çözeltileri verilebilir. Psödoplastik davranış (2.3)'teki üslü yasa ile modellenmektedir (Steffe, 1996; Lokumcu, 2000):

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (0 < n < 1) \quad (2.3)$$

Dilatant davranış şeklinde, kayma hızı arttıkça viskozite artar. Dilatant maddeler yüksek kayma hızında bir katı gibi davranıp pompalama v.b. işlemlerde sorunlara yol açabilirler. Dilatant davranış gösteren gıdalar nadirdir. Çeşitli nişasta süspansiyonları, içinde yüksek moleküllü polisakkarit bulunan ballar ve % 40'lık mısır nişastasası çözeltisi, fıstık ezmesi ve sosis/sucuk eti karışımının dilatant davranış gösterdiği bildirilmiştir. Dilatant davranış (2.4)'teki üslü yasa ile modellenmektedir (Steffe, 1996; Lokumcu, 2000):

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (1 < n < \infty) \quad (2.4)$$

Bingham plastik davranış gösteren gıdalar akma gerilimine sahiptir. Akma gerilimi, gıdanın akışının başlayabilmesi için uygulanması gereken minimum gerilimdir. Bu tür gıdalarda akma gerilimi uygulandıktan sonra akış başlamaktadır. Uygulanan gerilim, akma geriliminden daha az ise akış olmaz, madde katı gibi davranır. Bingham plastik davranışı gösteren maddeler, durgun haldeyken de bir katı gibi davranırlar. Akma gerilimine sahip gıdalara mayonez, margarin, elma sosu, tereyağı, yoğurt, krem peynir, erimiş çikolata, çikolatalı soslar, ketçap ve salça örnek olarak verilebilir (Steffe, 1996). Bingham plastik davranış için matematiksel model (2.5)'te verilmiştir (Steffe, 1996; Lokumcu, 2000).

$$\tau = \tau_0 + K \dot{\gamma}^n \quad (n = 1, \tau_0 > 0) \quad (2.5)$$

Herschel-Bulkley akışkanları da Bingham plastik akışkanlar gibi bir akma gerilimi değerine sahip olup, belli bir akma gerilimi aşıldıktan sonra psödoplastik davranış göstermektedirler. Herschel-Bulkley akışkanlarında plastik viskozite, kayma hızıyla azalmaktadır. Herschel-Bulkley akışkanları için n matematiksel model (2.6)'da verilmiştir (Steffe, 1996; Lokumcu 2000).

$$\tau = \tau_0 + K \dot{\gamma}^n \quad (0 < n < \infty) \quad (2.6)$$

Akış davranış indeksi sıfır ile sonsuz arasındadır. Örnek olarak yoğurt, dondurma, erimiş çikolata, ketçap, mayonez ve margarin verilebilir. Erimiş çikolatanın reolojik davranışı klasikleşmiş bir şekilde Herschel-Bulkey modelinin özel bir formu olan “Casson” denklemi (2.7) ile yapılmaktadır (Steffe, 1996; Lokumcu 2000).

$$\tau = \sqrt[n]{\tau_0^n + (\eta_p \dot{\gamma})^n} \quad (2.7)$$

τ : akma gerilimi, $\dot{\gamma}$: kayma hızı, τ_0 : Casson akma gerilimi, η_p : plastik viskozite,

n : akış davranış indeksi

Herschel-Bulkey modeli diğer modelleri de içine alan bir modeldir. Nevtonyen ve zamandan bağımsız Nevtonyen dışı davranışlar aslında Herschel-Bulkey davranışın özelleşmiş halleri durumundadırlar (Steffe, 1996; Lokumcu, 2000). Zamana bağlı reolojik davranış şekilleri tiksotropik ve reopektik olmak üzere ikiye ayrılırlar:

Tiksotropik davranışta, sabit kayma hızında artan zamanla görünen viskozite azalır. Tiksotropik davranış sabit kayma hızında viskozitedeki değişimle ölçülebileceği gibi, kayma hızı sıfırdan belli bir kayma hızına kadar lineer olarak arttırılıp, bu kayma hızından aynı hızla sıfıra düşürülerek de ölçülebilir. Gidiş ve dönüş eğrisi aynı yolu takip etmiyorsa yani çıkış ve iniş eğrisi arasında halka alanı “loop alanı” adı verilen açıklık ya da başka bir deyişle “histeresis alanı” bulunuyorsa malzemenin tiksotropik olduğu söylenebilmektedir. Tiksotropik maddeler deformasyondan sonra bir süre dinlenmeye bırakılırsa başlangıçtaki yapılarına tamamen ya da kısmen geri dönebilirler. Tiksotropik gıdalara, domates salçası, yoğurt, bebek maması, elma sosu, mayonez, ketçap, çeşitli soslar, erimiş çikolata, sürülebilir peynir, domates salçası, yoğurt, yumurta beyazı ve mango nektarı örnek olarak verilebilir (Steffe, 1996).

Reopektik davranışta tiksotropik davranışın tersine, sabit kayma hızında, artan zamanla görünen viskozite artar. Reopektik maddeler de dinlenmeye bırakıldığında orijinal yapılarını ve reolojik özelliklerini tamamen veya kısmen

geri kazanırlar. Örnek olarak, çırpılmış yumurta akı ve krema verilebilir (Steffe, 1996).

Reolojik davranışları etkileyen faktörler, sıcaklık, konsantrasyon ve partikül boyutu ve miktarıdır. Viskozite ya da plastik viskozite genellikle sıcaklık arttıkça düşmekte, konsantrasyon arttıkça artmakta, partikül boyutu ve miktarı arttıkça bazı gıdalarda artmakta bazılarında ise düşmektedir. Örnek olarak domates sosunun partikül boyutu arttıkça kıvam indeksinin arttığı, akış davranış indeksinin azaldığı bildirilmiştir (Lokumcu, 2000). Çikolatada ise sıcaklık arttıkça plastik viskozite değeri düşmektedir (Beckett, 1999).

Nevtonyen ve Nevtonyen dışı akışkanlar için sıcaklığın viskoziteye etkisi Arrhenius denklemiyle ifade edilmekte olup (2.8)'de verilmiştir:

$$\eta = \eta_{\infty} e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (2.8)$$

η_{∞} : sabit, Pa.s ; E_a : Aktivasyon enerjisi, kJ / kg.mol ,

R : Gaz sabiti, 8.314 kJ / kgmol.K

T : Mutlak sıcaklık, K

Aktivasyon enerjisi (E_a) arttıkça, viskozite sıcaklıkla genellikle düşer (Steffe, 1996).

2.3.2 Çikolata ile ilgili reolojik çalışmalar

Çikolatanın akma davranışı üretimi, kalitesi ve maliyeti açısından değerlendirilmesi gereken en önemli özelliklerden biridir. Reolojik özellikler, hem düşük maliyetli hem de kaliteli bir çikolata üretimi için, reolojik faktörlerin ayarlanması sonucunda ölçümlerin yapılması, çikolata formülünün geliştirilmesi, çikolatanın kaplanması ve kalıplanması, istenilen şekillerde (damla, çubuk, kırıntı v.b.) çikolataların üretilmesi, istenilen kalite özelliklerine ve maliyete göre prosesin tasarlanması için önem taşımaktadır (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Çikolatanın reolojik özelliklerine yağ miktarı, emülgatör miktarı ve türü, nem miktarı, partikül boyut dağılımı, konçlama zamanı ve sıcaklığı, temperleme ve vibrasyon etki etmektedir (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Çikolatada kullanılacak şeker, kakao tozu v.b. hammaddelerin nem miktarının yüksek olması topaklanmaya neden olabileceğinden reolojik özellikleri olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Kakao tozu, süt tozu v.b. hammaddelerin yağ oranlarının yüksek olması düşük plastik viskoziteli çikolata üretilmesine neden olabilmektedir.

İnceltme aşamasında elde edilen partikül boyutu çikolatanın reolojisinde oldukça önemlidir. Partikül boyutu, plastik viskoziteden daha çok akma gerilimi üzerine etkilidir. Yüksek partikül boyutlu çikolata hamuru, düşük akma gerilimli ve düşük viskoziteli çikolata üretimine neden olur. Çikolata üretiminde kabul edilen ortalama partikül boyutu aralığı Avrupa'da 15-22 μm iken, Amerika'da 20-30 μm 'dir. 30 μm 'den yüksek partikül boyutu ağızda pütürlü his yaratmaktadır. Düşük partikül boyutu duysal özellikleri iyileştirirken partiküllerin yüzey alanının artmasına bağlı olarak viskozite ve yıkılma geriliminin artmasına neden olur. Partikül boyut optimizasyonu, viskozite düzenleyicileri ve proses kontrol geliştirme çalışmaları için gereksinimleri azaltır (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Konçlama işlemi çikolataya optimum reolojik özelliğinin kazandırılması açısından önem taşımaktadır. Konçlamada yağ ilavesi ve lesitin ilavesi iki aşamada yapılmaktadır. Birinci aşamada kakao yağı ve lesitin ilavesi ile viskozitenin düşmesi sağlanmış ve konçlamadaki güç gereksinimi azaltılmış olur. Yağın plastik viskoziteyi düşürücü etkisi akma gerilimini düşürücü etkisinden daha fazladır. İkinci aşamada, katılan kakao yağı ve lesitin ise istenen viskozite değerinin ayarlanması için olup, ikinci aşamada viskozite düşüşü birinci aşamaya göre daha etkilidir. Çikolata üretiminde, toplam lesitin miktarının yaklaşık % 30-40'ının konçlamanın ilk aşamasında, % 60-70'inin ise konçlamanın sonuna doğru katılması etkin bir viskozite düşüşüne neden olmaktadır. % 0.1-% 0.3 oranında lesitin ilavesi viskoziteyi düşürürken, % 0.3-0.5'in üzerindeki lesitin ilavesi ise viskozite artışına neden olmaktadır. Emülgatör miktarının yanında türü de viskozite üzerine etkilidir. Örnek olarak, sentetik lesitin, soya lesitininden daha yüksek viskozite düşürücü etkisine sahip olmakla birlikte % 0.3'ün üzerindeki miktarlarında viskozite artışına neden olmaz. 1 kg lesitin viskoziteyi düşürücü etkisi 10 kg kakao yağının etkisine eşdeğerdir. Lesitin, kakao yağından ucuz olması nedeniyle üretimde maliyetin düşürülmesi amacıyla da tercih edilebilmektedir. Düşük konçlama süresi akma geriliminin önemli derecede artmasına neden olmaktadır. Yüksek akma gerilimine sahip çikolatalarla homojen bir kaplama yapılamaz ve ürünler tambura yapışabilir, çikolata içinde kalan hava kabarcığının yukarı çıkamamasından dolayı kalitesiz bir kalıplama meydana gelir. Düşük akma gerilimine sahip çikolata ise kaplanacak yüzeye yapışmayacağından bazı yüzeyler kaplanmadan kalabilir. Konçlama sıcaklığı arttıkça viskozite düşer (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Temperleme aşamasında, uygulanan yüksek karıştırma / kayma hızı düşük partikül boyutunda homojen kararlı kristallerin oluşumuna neden olur. Uygun viskozite değerinin ve kararlı kristal yapısının elde edilmesi için kuvvetli karıştırma/kayma hızı uygulanması önemlidir. Ayrıca düşük temperlemede, yüksek miktarda kararsız kristallerin oluşumu, heterojen partikül boyut dağılımı, yüksek ısı salınımı olması nedeniyle istenenden düşük viskozite değerleri ve yumuşak çikolata; aşırı temperlemede ise çok kararlı kristallerin oluşumu, düşük ısı salınımı sebebiyle istenenden yüksek viskozite değerleri ve sert çikolata elde edilir (Beckett, 1999; Minifie, 1989).

Bitter çikolatayla yapılan bir çalışmada, partikül boyut dağılımı, yağ ve lesitin içeriğinin çikolatanın tüm reolojik özelliklerini önemli derecede etkilediği görülmüştür. Partikül boyutunun arttıkça yıkılma değeri, görünen viskozite değerinin azaldığı, yağ ve lesitin oranı arttıkça yıkılma değeri ve görünen viskozite değerlerinin düştüğü görülmüştür (Afoakwa ve diğ. 2008a).

Çeşitli tatlandırıcıların (maltitol, isomalt ve ksilitol) çeşitli partikül boyutlarındaki çikolataların (106-53, 53-38, 38-20 μm) reolojik özelliklerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada reolojik verilerin en iyi Herschel-Bulkley modeline uyduğu görülmüştür. Maltitol, sükroza göre çikolatanın reolojik özelliklerine daha yakın bir etki oluşturmuştur. İsomalt, diğerlerinden yüksek plastik viskozite oluştururken, maltitol diğerlerinden daha yüksek bir yıkılma gerilimi meydana getirmiştir. Çeşitli tatlandırıcılı çikolataların farklı reolojik özelliklerinin yanında farklı katı hacim kısımları ve farklı partikül boyutlarına sahip oldukları; tatlandırıcıların partikül boyutunun azalmasıyla çikolataların plastik viskozitesinin ve yıkılma değerinin arttığı görülmüştür. Çikolatanın reolojik özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla sükroz yerine kullanılabilecek daha büyük partikül boyutlu tatlandırıcılar seçilebilir. Yüksek partikül boyutunun üretim prosesinde uygun reolojik özellikleri sağlarken, duysal özellikleri olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmiştir (Sökmen ve Güneş, 2006).

2.4 Çikolatanın Raf Ömrünün Belirlenmesi

2.4.1 Raf ömrünün tanımı ve belirlenmesi

Bir gıdanın uygun depolama koşullarında dayanma süresine sözkonusu gıdanın “raf ömrü” denir. Sıcaklık, ışık, nem, radyasyon, oksijen ve demir, bakır, nikel v.b. bazı metaller, bakteri, maya ve küf mantarları gibi mikroorganizmalar ve lipaz ve

lipoksijenaz enzimleri gıdaların raf ömürlerinin kısılmasına yol açarak, daha kısa sürede tat ve kokularında bozulmaların meydana gelmesine sebep olmaktadır. Raf ömrü analizleri, gıda maddesinin yüksek sıcaklıklara maruz bırakılarak, belli bir sıcaklık değeri için oksidatif kararlılığa bağlı dayanma süresinin bulunması esasına dayanmaktadır. Yüksek sıcaklığa maruz bırakılan gıda maddelerinin dayanma sürelerinin hızlı bir şekilde tespit edilmesi “hızlandırılmış raf ömrü analizi” olarak adlandırılmaktadır. Hızlandırılmış raf ömrü analizleri aşağıda verilmiştir (Özçelik, 1999).

2.4.1.1 Schaal Fırın Testi

Schaal Fırın Testinde, açık petri kaplarına konan gıda maddesi bozulana kadar etüvde yüksek sıcaklıklara (30, 40, 50, 60 °C, ...) maruz bırakılmaktadır. Örnekler sabit sıcaklıkta peroksit değeri kabul edilemez değere ulaşana kadar belli zaman aralıklarında lipid oksidasyonu analizleri yapılır (Özçelik, 1999).

2.4.1.2 DTK ile OİS’nin belirlenmesi

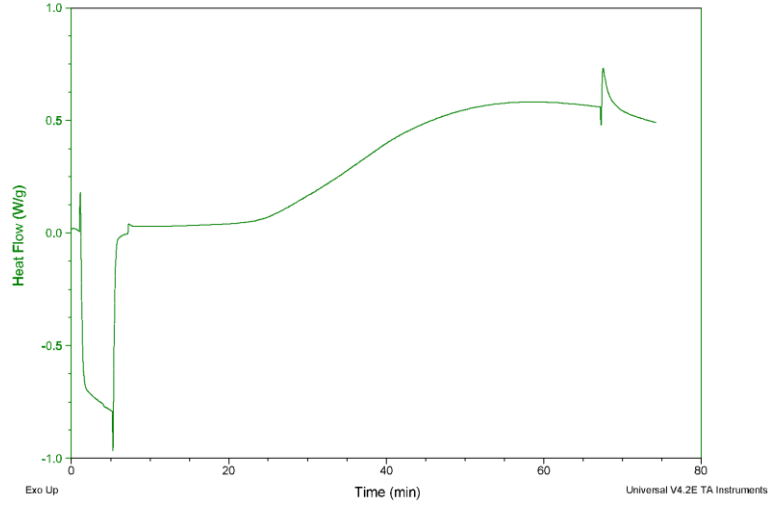
DTK şekerleme endüstrisindeki yağların, kakao yağının ve saf triaçilgliserollerin kristalizasyon ve erime davranışının incelenmesinde kullanılan önemli bir tekniktir. Sıcaklığa maruz bırakılan gıda maddelerinin oksidasyonu egzotermiktir. Başka bir deyişle oksidasyon reaksiyonuyla ısı açığa çıkar. Meydana çıkan reaksiyon ısısı özellikle yağların oksidatif stabilitesinin belirlenmesinde DTK’nın kullanılmasını mümkün kılmaktadır. DTK çok az örnek miktarı gerektirmesi, hızlı sonuç vermesi, örnek hazırlama kolaylığı ve örnek çeşitliliğine olanak vermesi açısından avantajlı bir metottur (Özçelik, 1999).

Lipid oksidasyonunun ölçümünde ölçülen parametrenin bir sınır değerine ulaştığı süre dayanma süresi olarak tespit edilir. Bu cihazlarla yürütülen analizlerde dayanma süresi, Oksidatif İndüksiyon Süresi (OİS)’dir (Özçelik, 1999).

DTK’da ölçüm yapılırken oksijenin verilmeye başlandığı noktaya “sıfır noktası (SN)” denir. Gıdadaki oksidasyonun artışına bağlı olarak egzotermik proseste ısı artışının ivme kazandığı başlangıç noktasına ise “onset noktası (ON)” denir. ON ile SN arasında geçen süre OİS’dir (2.9).

$$\text{OİS} = \text{ON} - \text{SN} \quad (2.9)$$

Bu çalışmada, çikolatanın oksidasyonu sonucunda elde edilen bir DTK grafiği örneğinde (Şekil 2.4) SN 7.5 dak ve ON ise yaklaşık 25 °C'dir.



Şekil 2.4 : Çikolatanın oksidasyonu sonucunda elde edilen DTK grafiği.

Ayrıca, bulunan OİS değerleri kullanılarak (2.10)'a göre Koruma Faktörü (KF) değerleri hesaplanabilir (Özçelik, 1999).

$$KF = \text{Antioksidanlı yağın OİS değeri} / \text{Antioksidansız yağın OİS değeri} \quad (2.10)$$

Genellikle iki veya daha fazla sıcaklıkta yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre sıcaklık katsayısı (Q_{10}) (2.11) ve aktivasyon enerjisi (E_a) (2.12) değeri tespit edilir.

$$Q_{10} = T \text{ sıcaklığındaki raf ömrü} / (T+10) \text{ 'deki raf ömrü} \quad (2.11)$$

T : Sıcaklık değeri, K

Q_{10} değeri sıcaklığa ve E_a 'a bağlı olarak değişmektedir.

$$\log Q_{10} = 2.187 E_a / T(T+10) \quad (2.12)$$

E_a : Aktivasyon enerjisi, kal/mol

T : Sıcaklık değeri, K

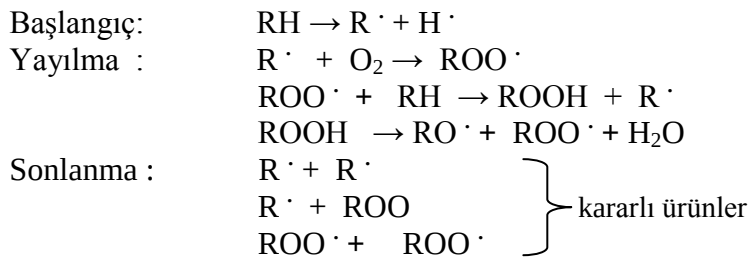
2.4.2 Lipidlerde otoksidasyon

Yağ ve yağlı maddelerin, ısı, ışık, nem, radyasyon, oksijen ve demir, bakır, nikel v.b. bazı metaller gibi dış etkenler ve bakteri, maya ve küf mantarları gibi mikroorganizmalar ve lipaz ve lipoksijenaz enzimleri varlığında tat ve kokularında

bozulma meydana gelir. Buna “yağ bozulması” veya “acılaşma” denir. Bunun nedeni, yağların hidrolizi ve atmosfer oksijeniyle oksidasyonudur. Hidroliz sonucunda oluşan serbest yağ asitleri, ketonlar ve aldehitler yağın acılığını artırırlar. Yüksek molekül ağırlığına sahip olan yağ asitleri (C₁₆-C₂₀), belirli bir sınırı aşmadıkça, koku ve tatta önemli bir değişikliğe neden olmazken, butirik, heksanoik, oktanoik ve dekanoik asitler gibi küçük molekül ağırlığına sahip serbest yağ asitleri (C₄-C₁₀) acılığa neden olurlar (Shahidi ve Naczk, 2003; Altuğ, 2001; Belitz ve Grosch, 1987; Bozkurt ve Göğüş, 1997; Keskin, 1987).

Yağlarda en önemli bozulma türünün oksidasyon sonucu bozulma olduğu bilinmektedir. Yağların yapısındaki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesiyle bozulmaya neden olan kötü kokulu istenmeyen aldehit, keton, hidroksi asitler, keto asitler, alkoller ve daha küçük moleküllü yağ asitleri meydana gelir. Buna “peroksidasyon” denir. Peroksidasyon sonucunda ayrıca A, D ve E vitaminleri, karoten ve temel yağ asitleri gibi birçok önemli maddeler parçalanırlar (Altuğ, 2001; Bozkurt ve Göğüş, 1997; Hung ve Slinger, 1981; Pomeranz ve Meloan, 1987; Keskin, 1987; Allen ve Hamilton, 1983).

Yağlarda otoksidasyon, çifte bağlara komşu α-metilen gruplarında serbest radikallerin oluşmasıyla devam eden zincirleme bir reaksiyondur. Yağ moleküllerinden serbest radikallerin oluşumu α-metilen grubu hidrojeninin hareketliliğine bağlıdır. Bu da çifte bağların durumu ile ve etilenik karbon atomlarında yerine geçen grupların bulunup bulunmaması ile değişmektedir (Keskin, 1987). Yağların otoksidasyon mekanizması, başlangıç (initiation) ya da indüksiyon, yayılma (propagation) ve sonlanma (termination) olmak üzere üç basamakta meydana gelmektedir. Yağların otoksidasyon mekanizması Şekil 2.5’te gösterilmiştir.



RH: Yağ molekülü, R·: Serbest radikal, ROO·: peroksi radikal, ROOH: Hidroperoksit

Şekil 2.5 : Yağların otoksidasyon mekanizması (Shahidi ve diğ. 1992; Belitz ve Grosch, 1987).

Başlangıçta, yağların oksijen, sıcaklık, ışık, nem v.b. koşullara maruz kalmasından dolayı kararsız eşlenmemiş elektronlar ve reaktif yağ asit molekülleri yani serbest radikaller oluşur. Yayılma aşamasında, oksijen molekülü, oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksi radikalleri oluşturur. Oldukça reaktif olan peroksi radikaller diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek hidroperoksitleri ve başka serbest radikalleri meydana getirir. Otoksidasyon ürünlerinin oluşumu, birincil oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitlerin (indüksiyon dönemi) sonunda başlar. İndüksiyon döneminde pek az oksijen harcanmasıyla az miktarda meydana gelen peroksit molekülleri, diğerlerinin peroksidasyonunu katalizleyerek oksijen harcanmasını artırır (Suja ve diğ. 2004; Hung ve Slinger, 1981; Pomeranz ve Meloan, 1987; Allen ve Hamilton, 1983; Nielsen, 1998).

Hidroperoksitler parçalanarak, ketonlar, aldehitler, alkoller, asitler, hidrokarbonlar, epoksiler meydana gelir. Reaksiyon, lipid tamamen okside olana kadar bu şekilde devam eder. Sonlanma aşamasında, meydana gelen tüm serbest radikaller birbirleriyle etkileşerek koyu renkli kararlı ürünleri oluştururlar. Bunlar, yağlarda acılaşmaya ve kötü kokuya neden olan aldehit, keton, hidroksi asit, keto asit, alkol ve daha küçük moleküllu yağ asitleridir (Shahidi ve diğ. 1992; Shahidi, 1997; Pokorny ve diğ. 2001; Altuğ, 2001; Shahidi ve Nacz, 2003; Belitz ve Grosch, 1987).

Yağın peroksit miktarının artmasıyla, acılığı artar, raf ömrü azalır. Peroksitlenmiş yağlar, gıdalarda bulunan yükseltgenmeye duyarlı A, C, E, B₆ vitaminleri, pantotenik asit ve temel yağ asitlerini sindirim borusunda parçalayarak bu vitamin ve temel yağ asitlerinin vücuda alımını engellerler ve kanser, kalp, damar, ülser v.b. hastalıklarına sebep olurlar (Keskin, 1987; Altuğ, 2001).

Gıda kalitesinin artırılması ve raf ömrünün uzatılmasında en önemli etken yağların otoksidasyonunun önlenmesidir. Bu amaçla, gıdalar uygun sıcaklık, ışık, nem v.b. koşullarında üretilmekte, depolanmakta ve antioksidan madde ilavesi yapılmaktadır (Keskin, 1987; Altuğ, 2001).

2.4.3 Lipid oksidasyonunun belirlenmesi

Lipid oksidasyonunun ölçülmesinin amaçlandığı hızlandırılmış raf ömrü analizlerinde gıdalar genellikle 35-50 °C aralığında belli bir sıcaklıkta, depolama süresince belli aralıklarda ve depolama sonunda belli analizler yapılmaktadır. Raf ömrü analizlerinde lipid oksidasyonu, peroksit değeri (PD), *p*-Anisidin değeri

(p-AnD), Kreis Testi, ferrotiyosiyanat metodu, konjuge oksodien değeri (KOD), konjuge dien hidroperokit değeri (KDHP), tiyobarbutirik asit metodu (TBA) gibi yöntemlerle belirlenir (Özçelik, 1999).

Peroksit değeri (PD), yağların bozulmalarıyla meydana gelen birincil oksidasyon ürünleri olan peroksitlerin miktarı hakkında bilgi verir. PD, yağlarda bulunan etkin oksijen miktarının ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit olarak bağlı oksijenlerin miliekivalent (mek / kg) miktarıdır. Peroksit analiz metodu, analizi yapılacak yağın, glasiyel asetik asit ve kloroform içinde çözündürüldükten sonra potasyum iyodür ilavesinin ardından doymuş potasyum iyodür bileşiğinden açığa çıkan iyodun ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisiyle titre edilmesi ilkesine dayanmaktadır. PD, (2.13)'e göre hesaplanır (Anonim, 1995; Anonim, 1986b; Hung ve Slinger, 1981; Pomeranz ve Meloan, 1987; Allen ve Hamilton, 1983; Nielsen, 1998).

$$PD = (a-b).N. f. 1000 / m \quad (2.13)$$

PD: Peroksit değeri (mek / kg)

a : Örnek titrasyonunda sarfedilen 0,002 *N* sodyum tiyosülfat çözeltisi, ml

b : Boş deneme titrasyonunda sarfedilen 0,002 *N* sodyum tiyosülfat çözeltisi, ml.

N: Ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi

f : 0,002 *N* tiyosülfat çözeltisinin ayar faktörü

m : yağ miktarı, g

p-Anisidin değeri (p-AnD), yağların oksidasyonla bozulmaları sonucunda oluşan ikincil oksidasyon ürünleri olan aldehitlerin miktarını (başlıca 2-alkenaller ve 2,4-dienaller) belirler. *p*-Anisidin analiz metodu, aldehitlerin *p*-Anisidinle reaksiyona girmesi sonucunda meydana gelen kromojenlerin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. *p*-AnD, (2.14)'e göre hesaplanır (Suja ve diğ. 2004; Nielsen, 1998).

$$p\text{-AnD} = 25 \times (1.2 A_2 - A_1) / m \quad (2.14)$$

*A*₁ : Yağın absorbans değeri

*A*₂ : Reaksiyon sonrasındaki absorbans değeri

m : Yağ numunesinin ağırlığı (g)

1.2: Düzeltme faktörü

(*p*-Anisidin + yağ-çözgen karışımının seyrelme oranı 1:2'dir)

TOTOKS değeri, birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri bir başka deyişle toplam oksidasyon hakkında bilgi verir. TOTOKS değeri (2.15)'e göre hesaplanır (Nielsen, 1998).

$$\text{TOTOKS} = p\text{-AnD} + (2 \times \text{PD}) \quad (2.15)$$

Raf ömrü çalışmasının sonlandırılma zamanı yağın türüne, PD, *p*-AnD, TOTOKS değeri gibi çeşitli parametrelerin birlikte kullanılmasına ve duyuşal kabul edilebilirlik düzeyine göre değişebilmektedir. PD'nin 20'den büyük olması, *p*-AnD'nin ise 10'dan büyük olması yağın acılaştığını göstermektedir (Özçelik, 1999).

2.4.4 Çikolata ile ilgili raf ömrü çalışmaları

Çikolatanın, depolanmasında ve taşınmasında güneş ışığı almasından kaçınılmalı, serin ve kuru yerde muhafaza edilmesi ve koku veren maddelerden uzak tutulması sağlanmalıdır. Uygun depolama sıcaklığı 16 °C-20 °C arasında, depolama bağıl nemi ise % 65'ten düşük olmalıdır (Anonim, 2008a). Bu koşullarda çikolatanın raf ömrü, bitter çikolata için 12 ay, sütlü çikolata için 9 ay, beyaz çikolata için 6 aydır (Anonim, 1998).

Beyaz çikolatanın 20 °C'de ve % 65 bağıl nemde depolanmasında kahverengileşmesinin incelendiğı bir çalışmada, maksimum PD'leri 15 aydan fazla depolama sürelerinde 9.5 mek peroksit / kg yağ olarak bulunmuştur. Depolama süresi arttıkça PD'nin arttığı ancak yağın bozulmasının başladığı değer olarak ifade edilen 10 mek peroksit / kg değerinin üzerine çıkmadığı görölmüştür. Ayrıca rahatsız edici bir koku ya da tadın olmadığı görölmüştür (Vercet, 2003).

2.5 Çikolatanın Antioksidan Aktivitesi

Çikolatanın antioksidan özelliğı, kakao çekirdeğinden üretilen kakao tozu ve kakao yağından kaynaklanmaktadır. Kakao ve çikolatada bulunan başlıca flavonoidler, flavan-3-oller, antosiyanidin, kateşin, epi-kateşin mono ve polimerleridir. Kakao çekirdeğinde kuru ağırlık başına düşen prosiyanidin oligomerlerinin miktarları % 12-% 48 aralığında değişmektedir. Çeşitli kakao ürünleri ve çikolatalarda başlıca antioksidan bileşeninin flavan-3-oller olduğı tanımlanmaktadır (Vinson ve diğ. 2006; Wollgast ve Anklam, 2000).

Çeşitli çalışmalarda çikolata için belirlenen antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Bu çeşitlilik, kakao çekirdeklerinin kaynağına, çikolata formülasyona ve sıcaklık, zaman gibi proses koşullarına bağlıdır (Cooper ve diğ. 2007). Kakao ve çikolata prosesinin çeşitli aşamalarında bazı koşullara bağlı olarak flavonoid bileşiklerin artması ya da azalmasına göre antioksidan özelliklerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Ham kakao çekirdeğinde polimerler halinde bulunan flavonoidler, fermentasyon aşamasında enzimatik reaksiyonla polimerizasyon sonucunda yüksek antioksidan ve güçlü indirgen özelliğe sahip kahverengi taninlere dönüşürler ve kakao ve kakao ürünlerinin raf ömrünün uzun olmasını sağlarlar (Charalambous, 1993).

Kakao çekirdeklerinin klovamid miktarında kavurma işlemiyle ciddi bir azalma olduğu, böylece antioksidan aktivitesinde de bir azalmanın ortaya çıktığı bulunmuştur (Cervellati ve diğ. 2008). Kakao kekinin topaklanmanın önlenmesi amacıyla alkaliyle muamele edildiği alkalizasyon işleminin polifenolik madde içeriğini önemli derecede azalttığı bilinmektedir (Gu ve diğ. 2006).

El yapımı çikolataların fabrika üretimi çikolatalardan yüksek fenolik madde ve antioksidan aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni çikolatanın sahip olduğu fenolik bileşiklerinin fabrika üretiminde çeşitli aşamalarda kayba uğramasıdır (Cervellati ve diğ. 2008).

Çikolata üretiminde, inceltme ve özellikle sıcaklığa maruziyet sebebiyle konçlama işleminde kakaodan çikolataya gelen fenolik bileşiklerin miktarında azalma olabilmektedir. Çikolatanın ambalajlanmasının uygun yapılmaması sonucunda güneş ışığına maruz kalmasıyla, lipid oksidasyonu başlar, antioksidan bileşikler azalır, bunu takiben bozulma başlar (Beckett, 1999).

Çikolatanın antioksidan özellikleri çikolata türüne göre değişiklik göstermektedir. Bitter ya da sütlü çikolata içerdikleri kakao ürünlerinden dolayı antioksidan bileşikler içerdiklerinden beyaz çikolataya göre daha uzun sürede bozulurlar (Beckett, 1999).

Bir çalışmada, kakao tozunun ve sütlü çikolatanın antioksidan aktiviteleri sırasıyla 20 ve 5.0 mg GAE/g çikolata olarak bildirilmiştir (Bruinsma ve Taren, 1999). Başka bir çalışmada Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak, bitter çikolata, sütlü çikolata ve kakao tozu için toplam polifenol miktarları sırasıyla 8.4 mg GAE /g bitter çikolata, 5.0 mg GAE /g sütlü çikolata ve 20 mg GAE /g kakao tozu olarak; başka bir

çalışmada ise sırasıyla 36.5 mg kateşin /g; 15 mg kateşin /g ve 65 mg kateşin /g olarak bulunmuştur. Normal fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (NP-HPLC) ile yapılan bir çalışmada ise, kateşin ve prosiyanidin miktarları sütlü ve bitter çikolata için sırasıyla 0.7 mg polifenol/g ve 1.7 mg polifenol/g olarak; ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile yapılan bir çalışmada ise sırasıyla 0.2 mg polifenol/g ve 0.5 mg polifenol /g olarak bulunmuştur (Wollgast ve diğ. 2000). Bir çalışmada, kakao tozu, bitter çikolata ve sütlü çikolatanın sırasıyla 42.5; 23.9; ve 9.9 mg fenolik madde /g çikolata içerdiği bulunmuştur (Vinson ve diğ. 2006). Diğer bir çalışmada, kakao, çikolata ve ürünlerinin µmol TE /g çikolata ve mg GAE /g cinsinden antioksidan aktiviteleri ve prosiyanidin (mg/g) miktarları bulunmuş; çeşitli ürünler için antioksidan aktiviteleri ve prosiyanidin miktarları büyükten küçüğe kakao tozu, bitter çikolata ve sütlü çikolata olmak üzere sıralanmıştır. Prosiyanidin miktarlarıyla ilişkili olarak antioksidan aktivitelerinin arttığı görülmüştür (Miller ve diğ. 2006).

HPLC ile yapılan başka bir çalışmada çikolata ve elmanın aynı prosiyanidin oligomerlerini içerdiği bulunmuştur. 40 g çikolatanın bir bardak (240 ml) kırmızı şarapla aynı fenolik madde içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Steinberg ve diğ. 2003; Beckett, 1999).

Bazı gıda ve çikolata çeşitlerinin flavan-3-ol ve antioksidan kapasiteleri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Steinberg ve diğ. 2003).

Çizelge 2.2 : Çeşitli gıda ve içeceklerin flavan-3-ol ve antioksidan kapasiteleri (Steinberg ve diğ. 2003).

	Flavanols+ prosiyanidinler, mg	ORAC, mmol Troloks eşdeğeri
Kakao likörü (100 g’da)	1400.0	40.0
Bitter çikolata (100 g’da)	170.0	13.1
Sütlü çikolata (100 g’da)	70.0	1.3
Elma (100 g’da)	106.0	0.2
Yaban mersini suyu (100 g’da)	12.6	0.2
Kırmızı şarap (100 g’da)	22.0	0.7
Demlenmiş siyah çay (2 g poşet çay / 200 ml su)	40.0	1.6

Çikolataların antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesi analizi (mg TE /g çikolata) ve toplam fenoliklerin belirlenmesi (mg GAE /g çikolata) analiz yöntemi kullanılmakta olup bu yöntemler aşağıda verilmiştir:

Trolox Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Aktivitesi Analizi:

ABTS radikali katyonunun ($ABTS^{\bullet+}$) oluşturulması, saf bileşiklerin, sulu karışımların, içeceklerin, suda ve yağda çözülebilir antioksidanların ve gıda ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitelerinin ölçülmesinde uygulanmakta olan spektrofotometrik metotlardan biri olan Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesi analizinin temelini oluşturmaktadır (Re ve diğ. 1999; Cervellati ve diğ. 2008).

($ABTS^{\bullet+}$)'nun oluşturulmasında geliştirilmiş teknik, ABTS ile potasyum persülfat arasındaki reaksiyon sonucunda doğrudan mavi-yeşil renkli $ABTS^{\bullet+}$ kromoforunun oluşturulmasıdır. ($ABTS^{\bullet+}$)'na antioksidan ilave edildiğinde indirgeme sonucunda renkte azalma meydana gelir. ($ABTS^{\bullet+}$)'nun rengindeki azalma, bir başka deyişle ($ABTS^{\bullet+}$)'nun absorbansındaki azalma, % inhibisyon olarak, konsantrasyonun fonksiyonu olarak belirlenir. Standart madde olarak Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametikroman-2-karboksilik asit)'un kullanılmasıyla Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesi (TE) değeri olarak verilir. TE değerleri, tanımlı bir zaman noktasında ölçülür. Saf bileşiklerin ve gıda ekstraktlarının relatif antioksidan aktivitelerinin ölçümü için yapılan birçok çalışmada, antioksidan aktivitesi ölçüm süresi 4 dak olarak uygun görülmüştür (Re ve diğ. 1999).

Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi:

Bu yöntem fenolik grupların fosfomoliptik ve fosfotungistik asitler (Folin-Ciocalteu reaktifi) yardımıyla oksidasyonu sonucunda oluşan yeşil-mavi kompleksin 765 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Toplam fenolik madde içeriği mg GAE /g çikolata olarak ifade edilir (Cervellati ve diğ. 2008).

Yapılan çeşitli in vitro çalışmalarda, kakaodan elde edilen saf epikateşin oligomerlerinin LDL ve liposomları oksidasyondan koruduğu gösterilmiştir. Ticari çikolata ürünlerinin in vitro olarak LDL karışımlarına ilave edildiğinde lipid oksidasyonunu azalttığı bulunmuştur. Ayrıca, in vivo olarak çikolatadan absorplanan epikateşinin plazma antioksidan kapasitesini arttırdığı ve plazma lipid oksidasyon

ürünlerinin miktarını azalttığı görülmüş ve antioksidan kapasitesi ile plazma epikateşin konsantrasyonu arasında doğru orantı bulunmuştur (Steinberg ve diğ. 2003). Bir araştırmada Hollanda'da insanların diyetle ilgili kateşin alımlarının % 20'sinin çikolata tüketiminden sağladıkları gösterilmiştir (Vinson ve diğ. 2006).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, kakao, kakaolu ürünler ve çikolatanın başlıca kalp ve damar hastalıklarına olmak üzere bir çok sağlığa faydalı etkiler göstermesinin, içerdikleri antioksidan özelliği gösteren flavonoid bileşiklerden kaynaklandığı; ve bu bulguların diğer flavonoidlerce zengin gıdalarda yapılan benzer araştırmalarla desteklendiği bildirilmiştir (Steinberg ve diğ. 2003; Vinson ve diğ. 2006; Wollgast ve Anklam, 2000).

Örnek olarak, meyve ve sebzeler antioksidan maddelerce oldukça zengindir. Literatürde, çeşitli meyve, sebze, meyve suyu, şarap, tarım yan ürünlerinin gallik asit, kateşin ya da ferulik asit ekivalenti /100 g cinsinden toplam fenolik madde miktarlarının ya da antioksidan aktivitelerinin bulunduğu çalışmalar mevcuttur (Balasundram ve diğ. 2006; Murcia ve diğ. 2004). Wang ve diğ. (1996)'nin çeşitli meyvelerin antioksidan kapasiteleri üzerine yaptıkları çalışmasında, en yüksek antioksidan aktivitesi çilekte gözlenmiş ve onu sırasıyla erik, portakal, siyah üzüm, kivi, pembe greyfurt, beyaz üzüm, muz, elma, domates, armut ve kavun izlemiştir. Cao ve diğ. (1996), çeşitli sebzelerin toplam antioksidan kapasitelerini incelemişler, en yüksek antioksidan aktivitesine sarımsağın sahip olduğunu ve bunu sırasıyla pazı, ıspanak, brüksel lahanası, brokoli, pancar, kırmızı biber, soğan, mısır, patlıcan, karnabahar, patates ve havucun izlediğini bulmuşlardır.

Özellikle yeşil çay, beyaz şarap, muz, siyah üzüm, elma v.b. meyvelerden izole edilen kateşin ve türevleri yüksek antioksidan etkisine sahiptirler (Khokhar ve Magnusdottir, 2002; Minussi ve diğ. 2003; Luo ve diğ. 2002; Someya ve diğ. 2002; Steinberg ve diğ. 2003).

Bir çalışmada, toz halindeki yağı petrol eterle uzaklaştırılmış kırmızı üzüm çekirdeklerini farklı çözücü karışımlarıyla ekstrakte etmişler, aseton : su : asetik asit (90: 9.5: 0.5) ekstraktının toplam fenolik madde miktarını 627.98 mg GAE /g ekstrakt olarak, etil asetat :metanol: su (60:30:10) ekstraktınıkini ise 667.87 mg GAE /g ekstrakt olarak bulmuşlardır (Baydar ve diğ. 2003).

Başka bir çalışmada, biberiyenin metanol, aseton, etanol, metilendiklorür, dietileter, hegzan çözügenleriyle elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 39.0, 19.7, 25.1, 18.4, 17.5 ve 6.0 µg fenol/g biberiye olarak bulunmuştur (Özçelik, 1999).

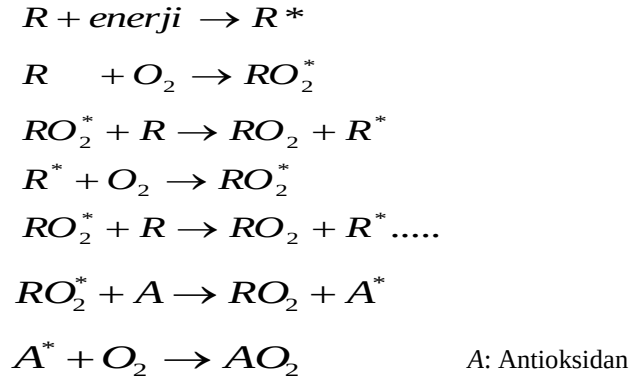
2.5.1 Çikolataya antioksidan ilavesi

Bir çalışmada, el yapımı çikolata üretimiyle dünya çapında tanınan bir şirket tarafından üretilen çikolatanın, fabrika üretimi olan çikolatayla antioksidan kapasitesini ve toplam fenolik içeriğini kıyaslamışlardır. Bunun için, normal fabrika üretimi çikolata, el yapımı çikolata, kırmızı biber ilaveli el yapımı çikolata, biberiye ilaveli el yapımı çikolatalar üretilmiş ve bu çikolataların antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik içerikleri değerlendirilmiştir. Antioksidan kapasiteleri, Briggs-Rauscher (BR) titreşim reaksiyon metodu ve TE antioksidan aktivitesi testiyle bulunmuştur. Toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda, el yapımı çikolatanın fabrika üretimi çikolatadan önemli derecede daha yüksek antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Kakao çekirdeklerindeki biyoaktif maddeler, daha yüksek ürün kalitesine neden olan el yapımı çikolata üretiminde kullanılan doğrudan proses nedeniyle daha iyi korunmaktadır. El yapımı üç tür çikolata numunesi arasında çok büyük bir farkın olmadığı, büyük bir farkın olmamasının üç tür çikolatanın da aynı miktar kakao likörüne sahip olmasından kaynaklandığı, biberiye katkılı el yapımı çikolatanın diğer el yapımı iki çeşit çikolatadan (kırmızı biber katkılı el yapımı çikolata ve katkısız el yapımı çikolata) daha yüksek antioksidan kapasitesine ve toplam fenolik içeriğine sahip olduğu bulunmuştur (Cervellati ve diğ. 2008). Bu durumun, biberiyenin içerdiği yüksek antioksidan kapasitesine sahip rosmarinik asit, karnosik asit ve karnosol bileşiklerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Cervellati ve diğ. 2008; Costa ve diğ. 2007).

2.5.1.1 Antioksidanlar

Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'nde antioksidanlar, yağların acılaşması ve renk değişikliği gibi oksidasyonun neden olduğu bozulmaları önleyerek, gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2008b).

Oksijen ya da peroksitlerle yükseltgenerek, gıdaların indüksiyon sürelerini arttırarak oksidasyonunu engelleyen antioksidanlara “birincil antioksidanlar” denir (Mazza, 1995; Keskin, 1987; Altuğ, 2001; Macrea ve diğ. 1993; Juntachote ve diğ. 2007). Bazı antioksidanlar ise, farklı mekanizmalarla otoksidasyon süresini kısaltırlar. Bu mekanizmalar, hidroksiperoksitleri radikal olmayan ürünlere parçalama, metal iyonlarını bağlama, UV absorplama ve singlet oksijeni inaktifleştirme ve oksijen yakalamadır (Hudson, 1990). Bu mekanizmalarla otoksidasyonu geciktiren antioksidanlara ise “ikincil antioksidanlar” denmektedir (Keskin, 1987). Gıda maddelerinde kullanılabilecek iyi bir antioksidan, fizyolojik olarak zararsız olmalı, yağ veya yağlı ürünlerin kokusuna, tadına ve görünüşüne etki etmemeli, yemeklerin pişirilmesi sırasında yağa ve bununla hazırlanmış besinlere etki etmemeli ve aktif kalmalı, yağda yeterince çözünmeli, düşük konsantrasyonlarda etkili olmalı, kolay elde edilebilmeli ve ucuz olmalıdır (Altuğ, 2001). Antioksidanların etki mekanizması Şekil 2.6’da gösterilmiştir.



Şekil 2.6 : Antioksidanların etki mekanizması (Keskin, 1987).

Antioksidanlar, aktivasyon enerjisini absorplarlar ancak diğer moleküllere aktaramazlar ve genellikle etkin olmayan moleküllere yükseltgenerek bozunurlar (Mazza, 1995; Heim ve diğ. 2002; Altuğ, 2001; Belitz ve Grosch, 1987). Gıdaya belli miktarlarda katılan antioksidan madde, peroksitler tarafından çok hızlı bir şekilde yükseltgenir. Aşırı miktarda peroksit içeren gıdalara antioksidan madde ilavesi, yağların otoksidasyonunun önlenmesinde faydasızdır. Gıdada aşırı miktarda bulunan peroksitler, gıdaya sınırlı miktarda katılmış olan antioksidan maddeyi yükseltgeyerek inaktif duruma getirirler. Gıdalara antioksidan ilavesi peroksitler oluşmadan ya da miktarları çok düşükken yapılmalıdır. Böylelikle gıdaların

indüksiyon sürelerinin uzatılması gerçekleştirilmiş olur (Mazza, 1995; Altuğ, 2001; Macrea ve diğ. 1993).

Antioksidan aktivitesi, genellikle oksijen, sıcaklık, ışığa maruz kalma süresi, yağın doymamışlık derecesi arttıkça azalmakta; antioksidan maddenin ortamdaki çözünürlüğü ve sınırlı miktarda peroksit bileşiklerine sahip ortamdaki antioksidan konsantrasyonu, antioksidan maddenin kimyasal yapısındaki hidroksil sayısı arttıkça, artmaktadır. Gıda uzun süre oksijen, sıcaklık ve ışığa maruz kaldığında, otoksidasyon reaksiyonunun başlama ve yayılma basamaklarında serbest radikallerin sayısının artmasıyla otoksidasyon reaksiyonu hızlanır ve antioksidan aktivitesi azalmaya başlar (Pokorny ve diğ. 2001; Jonsson, 1991; Heim ve diğ. 2002). Yüksek miktarda peroksit içeren, acılaşıp yağlarda antioksidan konsantrasyonunu arttırmanın faydası yoktur. Gıdalara antioksidanlar, peroksitler oluşmamışken ya da miktarları düşükken katılmalıdır (Mazza, 1995; Macrea ve diğ. 1993). Antioksidan aktivitesi, ortamdaki peroksit madde miktarı arttıkça azalmaktadır. Yağlarda doymamışlık derecesi arttıkça oksidasyon hızı artmaktadır. Ayrıca serbest yağ asitlerinin ve yağın diğer bileşenlerinden yağ alkoller ve mono-diaçilgliserollerin varlığı antioksidan aktivitesini düşürmektedir (Belitz ve Grosch, 1987).

Antioksidan aktivitesi antioksidan maddenin ortamdaki çözünürlüğüne göre değişir. Polar antioksidan maddeler, apolar substratlarda, apolar antioksidan maddeler ise polar substratlarda etkilidir. Buna “polar paradoks” denir (Soong ve Barlow, 2004).

Gıda antioksidanları, depolamada ya da üretim sırasında yapılan sterilizasyon, pastörizasyon, dehidrasyon, pişirme ve bekletme gibi işlemler sonucunda belirgin bir kayba uğramaktadır (Jonsson, 1991).

Antioksidanlar, sentetik antioksidanlar ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki çeşide ayrılırlar. Sentetik antioksidanlar, tokoferollerin ve askorbik asidin doğala özdeş formları veya türevleri veya doğal yapı ile ilgisi olmayan antioksidanlar şeklinde sentezlenen antioksidanlardır (Altuğ, 2001). En çok kullanılan sentetik antioksidanlar ise fenollü olanlarıdır. Gıdalarda kullanılan başlıca yapay antioksidanlar BHT, BHA, tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ), nordihidroguairatik asit (NDGA), eritorbik asit ve gallatlardır (Altuğ, 2001).

Doğal antioksidanlar, genellikle bitkisel kaynaklı maddelerde doğal olarak bulunan antioksidanlardır. En bilinen doğal antioksidanlar, tokoferoller, askorbik asit ve

tuzları, karotenoidler, glukoz oksidaz, antosiyanidin ve flavonoid gibi fenolik bileşikler, kükürtlü organik bileşikler ve sülfidlerdir. Baharat, yağlı tohum v.b. gıda atıklarından elde edilen polifenolik maddelerce zengin ekstraktların gıdalarda antioksidan aktivitelerine etkilerinin belirlenmesi üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Ames ve diğ. 1993; Keskin, 1987; Altuğ, 2001; Wang ve diğ. 1996; Macheix ve diğ. 1990).

Normal koşullarda muhafaza edilen yağ ve yağ içeren gıdalarda oksidasyonunun önlenerek raf ömrünün uzatılması, gıdanın içerdiği doğal antioksidanlar veya gıdaya ilave edilen doğal ya da sentetik antioksidan maddeleriyle sağlanmaktadır (Altuğ, 2001; Keskin, 1987; Jayaprakasha ve diğ. 2001; Rice- Evans ve diğ. 1997; Baydar ve diğ. 2003; Madhavi ve diğ. 1996; Reddy ve diğ. 2005). Sentetik antioksidanlar olan BHT, BHA, TBHQ, veya ethoksikunin'in, doğal antioksidanlarla aynı etkiyi göstermelerine karşın insan sağlığını tehdit eden toksik etkilere sahip olması nedeniyle bilimsel çalışmalar daha çok doğal antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Papas, 1999; Madhavi ve diğ. 1996; Buck, 1991; Altuğ, 2001; Keskin, 1987; Pokorny, 1991).

Gıda ürünlerinde antioksidan kullanımında maksimum faydanın sağlanabilmesi için antioksidanların seçimi ve kullanımında bazı önemli noktalara dikkat edilmesi gerekmektedir. Antioksidanın formu (toz ya da çözelti halinde), etkileştirme yöntemi ve zamanı özellikle antioksidanın dağılımı ve ürünün kararlılığı açısından oldukça önemlidir. Amla, moringa yaprağı, kuru üzüm, BHT ve BHA'nın ekstraktlarının % antioksidan aktivitesi değerlerinin sırasıyla 87, 98, 88, 85 ve 92 olarak; toz hallerinin antioksidan aktivitelerinin ise sırasıyla 72, 87, 25, 85 ve 92 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Antioksidanların ekstrakt formlarının toz formlarına göre gösterdikleri daha yüksek antioksidan aktivite değerlerinin ekstrakt formu içindeki antioksidan bileşiklerinin (C vitamini, E vitamini ve β -karoten) daha yüksek konsantrasyonda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. BHA, amla, kuru üzüm, moringa yaprağı ekstraktının katıldığı bisküvilerin yağlarının ve kontrolün başlangıçtaki % antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla 70, 73, 57, 95 ve 30 olarak; altı hafta süreyle oda koşullarında depolama sonrasındaki % antioksidan aktivite değerlerinin ise sırasıyla 60, 50, 36, 68 ve 9; başlangıçtaki peroksit değerlerinin sırasıyla 0.5, 0.6, 0.1, 0.3 ve 0.7, altı hafta sonundaki peroksit değerlerinin ise sırasıyla 1.5, 2.6, 1.1, 0.8 ve 3.2 g ekivalent /100 g olarak;

başlangıçtaki % stearik asit cinsinden serbest asit değerlerinin sırasıyla 0.8, 0.34, 0.34, 0.6 ve 7.1; altı hafta sonundaki serbest asit değerlerinin ise sırasıyla 3.31, 2.69, 2.78, 2.64 ve 14.10 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak kuru üzüm ve moringa ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre daha düşük lipid oksidasyonuna neden olduğu ve duyusal değerlendirme sonucunda %1 ve %2 konsantrasyonlarındaki ekstraktların sentetik antioksidanlar yerine kullanılabileceği ve ekstraktların bisküvilerin organoleptik özelliklerinde herhangi bir etki oluşturmadığı görülmüştür (Reddy ve diğ. 2005).

2.5.1.2 Biberiye tozu

Biberiye, ballıbabagiller (*Lamiaceae*) familyasından *Rosmarinus officinalis* L. türü bitkilerinin baharat olarak kullanılmak üzere toplanmış ve gölgede kurutulmuş yapraklarıdır. Biberiye tepesinde grimsi-yeşil, alt kısımlarında daha beyaz ve tüylü bir yapıya; aromatik, hoş, ferahlatıcı ve acımsı, okaliptol ve kafur'a benzeyen bir tada ve uçucu yağlardan kafur ve sineol'e göre daha az kokuya sahiptir (Anonim, 2003). Öğütülmüş biberiye 315 µm göz açıklığındaki elekten tamamen geçmelidir (Anonim, 1996).

Biberiye, ilkbahar ve yaz boyunca soluk mavi renkli çiçekler açan, kışın yapraklarını dökmeyen, 1-2 metre yüksekliğinde, deniz kıyısında yetişen bir bitkidir. Latince adı olan *Rosmarinus officinalis* deniz nemi anlamına gelmektedir. Türkiye'de İstanbul, Ege ve Akdeniz bölgelerinde yetiştirilmekte olup, yaprakları ve çiçekli bitkileri yaz mevsiminde toplanıp açık havada kurutulmaktadır. Biberiye kan dolaşımını hızlandırıcı, mide ve bağırsak hastalıklarını önleyici, sinirleri uyarıcı ve güçlendirici v.b. sağlık üzerine olumlu etkilere sahiptir. Bitkinin tıbbi etkisinin çiçek açtığı zamanlarda daha yoğun olduğu bilinmektedir (Anonim, 2009).

Baharatlardan elde edilen ekstraktlar, bitkisel yağlarda antioksidan etkisi göstermektedir. Ancak, üründe keskin koku ve acı tada sebep olabilmektedirler. Bir baharat çeşidi olan biberiyeden elde edilen fenolik bileşikler içeren ekstraktlar üründe hafif bir koku ve acılık meydana getirmektedir (Shahidi ve Wanasundara, 1992). Biberiye yapısında karnosik asit, karnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, metilkarnosat, rosmarinik asit, rosmaridifenol ve rosmarikinon fenolik bileşiklerini içermekte olup, antioksidan aktivitesi bu fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Biberiye ekstraktlarının yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğu,

BHT ve BHA'ya göre uçuculuklarının az olduğu ve soya fasülyesi yağında peroksit oluşum hızını yavaşlattığı ve lezzet stabilitesini arttırdığı saptanmıştır (Sanchez-Escalante ve diğ. 2001; Altuğ, 2001).

Biberiyenin hindi sosisinde, pişmiş domuz kıyma etinde modifiye atmosferle birlikte, sardalya yağında ve birçok hayvansal yağ ve bitkisel yağlarda; bunun yanında kekik, karanfil, tarçın, karabiber, zencefil, sarımsak ve soğanın ise çeşitli biyolojik sistemlerde antioksidan aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Lacroix ve diğ. 1998).

Biberiye, lipid antioksidanı ve metal bağlayıcısı olarak bilinmektedir. Örnek olarak, % 0.0009 konsantrasyonundaki biberiye ekstraktının fosfolipit lipozomlarının peroksidasyonunu % 50 oranında önlediği gösterilmiştir. Biberiye ekstraktının, +4 °C'de 144 saat depolanan kıyılmış, küp, parça ve ezilmiş şekilde dört çeşit sığır kıymasının oksidasyonuna ve rengine etkisinin incelendiği bir çalışmada, kıyılmış ve küp şeklindeki biberiyeli sığır kıymasının en düşük TBARS değerine, en yüksek a* değerine (kırmızılık) ve oksimiyoglobin içeriğine sahip olduğu görülmüştür (Balentine ve diğ. 2006). Lipid/baharat oranı 1/0.1 g olarak eklenen toz haldeki biberiyenin ya da kekiğin, doymamış yağ asitleri olan araşidonik ve linoleik asitlerin 3 ve 9 kilo Gray'de gama ışınlanması sonucunda oluşan uçucu C₁₀-C₁₉ hidrokarbonlarının miktarını % 52.5-80.5 oranında azalttığı bulunmuştur (Lacroix ve diğ. 1998).

Buzdolabında 2±1 °C'de 20 gün boyunca depolanmış modifiye atmosfer (% 70 O₂ + % 20 CO₂ + % 10 N₂) paketli sığır köftelerinin oksidasyonuna, rengine, kokusuna, TBARS ve metmiyoglobin oluşumuna, psikrotrofik mikroorganizma sayısına, askorbik asit (500 ppm), taurin (50 mM), karnosin (50 mM), biberiye tozu (1000 ppm) ve bunların kombinasyonlarının etkisi incelenmiş, biberiyenin tek başına ya da askorbik asitle birlikte metmiyoglobin oluşumu ve lipid oksidasyonunun önlenmesinde etkili olduğu görülmüştür. Askorbik asit, askorbik asit+taurin ve askorbik asit+karnosin katkılarının miyoglobin oksidasyonunun önlenmesinde sınırlı bir etki gösterdiği, karnosin ve karnosin+askorbik asit katkılarının lipid oksidasyonunun önlenmesinde etkili olduğu, tek başına kullanılan taurinin ise bir antioksidatif etkiye neden olmadığı görülmüştür (Sanchez-Escalante ve diğ. 2001).

Buzdolabında 2±1 °C'de 20 gün boyunca depolanmış modifiye atmosfer (% 80 O₂ + %20 CO₂) paketli domuz kıymasının oksidasyonuna, biberiye tozu (1000 ppm)

+ askorbik asit (50 ppm), karabiber (% 0.5), biberiye tozu (1000 ppm)+askorbik asit (500 ppm)+karabiberin (% 0.5) etkisi incelenmiş, tüm katkıların TBARS değerlerini düşürdüğü, karabiber katkılı kıymanın TBARS değerinin diğer katkılı kıymalarinkinden düşük olduğu; diğer katkılı kıymaların TBARS değerleri arasında önemli derecede farklılık bulunmadığı görülmüştür (Martinez ve diğ. 2007).

Biberiye ve kekikotunun sığır burgerindeki antioksidan aktivitesinin BHT / BHA'nın antioksidan aktivitesiyle karşılaştırıldığı çalışmada, 100 ppm BHT / BHA; 200 ppm BHT / BHA, 100 ppm biberiye ekstraktı, 200 ppm biberiye ekstraktı, 100 ppm biberiye ekstraktı + 100 ppm BHT / BHA karışımı, 100 ppm kekik otu ekstraktı, 200 ppm kekik otu ekstraktı ve 100 ppm kekik otu ekstraktı + 100 ppm BHT / BHA karışımı için β -karoten-linoleik asit sistemindeki % antioksidan aktivitesi değerleri sırasıyla 94.48, 98.13, 77.67, 85.62, 89.71, 60.63, 75.15, 97.38 olduğu bulunmuş, ekstraktların BHT / BHA ile sinerjik etki yaptığı ve en yüksek antioksidan aktivitesini 100 ppm biberiye ekstraktı + 100 ppm BHT / BHA karışımının sağladığı görülmüştür (Trindade ve diğ. 2009).

Biberiyenin fındık füresinin raf ömrünü geciktirmedeki etkinliğinin DTK ile incelendiği başka bir çalışmada, biberiyeden çeşitli çözenler (metanol, aseton, etanol, dietileter, hegzan) kullanılarak ekstrakte edilmiş biberiye ekstraktları fındık füresinden ekstrakte edilmiş yağlara ilave edilmiş, farklı çözenler için OİS ve KF değerleri büyükten küçüğe Dietileter>Etanol>Aseton>Hegzan>Metanol şeklinde bulunmuştur. Ayrıca, artan biberiye ekstraktı dozlarında (200, 400, 600, 1000 ve 2000 ppm) OİS ve KF değerlerinin arttığı görülmüştür (Özçelik, 1999).

2.5.1.3 Üzüm çekirdeği tozu

Üzüm çekirdekleri kateşin, epikateşin prosiyanidinler, antosiyaninler gibi flavonoidler, gallik asit ve ellacik asit gibi fenolikler ve resveratrol ve pikeid gibi stilbenler bakımından zengin olduğundan önemli bir antioksidan kaynağıdır. Üzüm çekirdeğinin hastalıkların oluşumunu önlemeye, hormonal dengeyi korumaya, yaşlanma sürecini geciktirmeye, yaşlılık lekelerinin giderilmesine yardımcı olduğu, cilt ve bağ dokusunu ve damarları güçlendirdiği bilinmektedir (Yılmaz ve Toledo, 2006; Jayaprakasha ve diğ. 2001; Jayaprakasha ve diğ. 2003; Rice- Evans ve diğ. 1997; Pekić ve diğ. 1997; Baydar ve diğ. 2003; Gabetta ve diğ. 2000; Kennedy ve diğ. 2000).

Ahn ve diğ. (2002), üzüm çekirdeği ve hurma çekirdeği ekstraktının antioksidan aktivitelerini invitro koşullarda β -karoten ağartma metoduyla incelemiş ve her iki çekirdek ekstraktının da güçlü antioksidan etkisine sahip olduğu sonucuna varmıştır. Negro ve diğ. (2003), kırmızı üzüm kabuğu, meyvesi ve çekirdeği etanol ekstraktları arasında en yüksek antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik madde miktarına sahip olan ekstraktın üzüm çekirdeği ekstraktı olduğunu bulmuştur.

Yapılan bir çalışmada, üzüm çekirdeğinin yaklaşık olarak % 15 (+)-kateşin, (-)-epikateşin, % 80 (-)-epikateşin 3-O- gallat monomerlerini, dimer, trimer, tetramer bileşikleri ve bunların gallatları; % 5 pentamer, hegzamer ve heptamer bileşikleri ve bunların gallatlarını içerdiği gösterilmiştir (Gabetta ve diğ. 2000). Üzüm çekirdeği ekstraktının E vitamini kadar güçlü in vivo etkisi olup lipid oksidasyonunu önleyerek dokulardaki oksidatif zararı engellediği bilinmektedir. Denek olarak tavşanların kullanıldığı bir çalışmada, % 1 (a/a) üzüm çekirdeği ekstraktının katıldığı diyetin tüketilmesinin kan serum lipid profilini etkilemeksizin aort damarındaki sertliği önlediği bildirilmektedir. Bir başka çalışmada, yüksek ya da düşük fenolik içerikli *V. vinifera L.* üzüm çekirdeği ekstraktlarının farelerde antiülser etkisi gösterdiği bulunmuştur. 5 mg /g *trans*-resveratrol içeren üzüm çekirdeği ekstraktının deri yara ve hastalıklarının tedavisinde kullanılabildiği bildirilmektedir (Yılmaz ve Toledo, 2006).

Diğer bir çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin ekmeğin antioksidan kapasitesini yükselttiği, ekmekte glikolizlenme son ürünü olan karboksimetillisin miktarını azalttığı ve ekmeğin duyuşal özelliklerde önemli bir değişikliğe neden olmadan rengini istenen yönde etkilediği bulunmuştur (Peng ve diğ. 2009).

Kennedy ve diğ. (2000), üzümün olgunlaşması sırasında flavan-3-ol monomerlerinin ((+)-kateşin, (-)-epikateşin ve (-)-epikateşin-3-O-gallat) miktarlarında % 90 oranında, prosiyanidin miktarlarında ise % 60 oranında bir azalma olduğunu saptamışlardır. Flavan-3-ol monomer miktarlarında görülen bu azalma büyükten küçüğe sıralanacak olursa, (-)-epikateşin-3-O-gallat $\geq$ (+)-kateşin $>$ (-)-epikateşin şeklindedir. Üzüm çekirdekleri (+)-kateşin, (-)-epikateşin ve (-)-epikateşin-3-O-gallat gibi monomerik fenolik bileşikler, dimerik, trimerik ve tetramerik prosiyanidinlerce zengin olduğundan önemli bir antioksidan kaynağıdır (Jayaprakasha ve diğ. 2001; Rice-Evans ve diğ. 1997; Pekić ve diğ. 1998; Baydar ve diğ. 2003).

Bir çalışmada, bisküviye moringa yaprakları (*Moringa oleifera*), kurutulmuş amla (*Emblica officinalis*) ve kuru üzüm (*Vitis vinifera*)'ün etanolik ekstraktları katılmış ve ekstrakt katkılı bisküvilerin antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu, en yüksek antioksidan aktivitesini moringa yapraklarının sağladığı görölmüştür (Reddy ve diğ. 2005).

Kuru üzüm içeren unlu mamüllerin daha uzun süre tazeliğini koruduğu bilinmektedir. Kuru üzüm tozunun % 12 oranında katıldığı buğday ekmeklerinde küf gelişiminin önlendiği, raf ömrünün ise 1-3 gün aralığında arttığı bilinmektedir (Lagrange ve Payne, 1988).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan çikolata örnekleri, Altınmarka Gıda San. ve Tic. A.Ş.'den temin edilen kakao tozu, kakao yağı, şeker ve lesitin kullanılarak laboratuvar ortamında yapılmıştır. Biberiye ve üzüm çekirdeği tozu ambalajlı olarak piyasadan satın alınmıştır.

Yapılan çikolatada % 40.00 şeker, % 22.63 kakao tozu, % 36.82 kakao yağı ve % 0.29 oranında lesitin kullanılmıştır. Kristal haldeki şeker, kahve öğütücüsü ve porselen havan kullanılarak belli bir inceliğe inceltip, belli bir elek boyutuna elenmiştir. Bir beher içine konulan belli miktardaki kakao yağı 60 °C'deki su banyosunda eritilmiş, içine kakao tozu ve şeker eklendikten sonra karışım beher içindeki çikolata 60 °C'deki su banyosunda mikserle orta hızda (hız ayarı 4'te) 3 saat konçlanmıştır. Konçlama işleminin son yarım saatinde karışıma, önceden 60 °C'deki su banyosunda eritilmiş olan belli miktardaki lesitin ve kakao yağı eklenmiştir. Biberiye tozu (BT) ve üzüm çekirdeği tozu (ÜÇT) kahve öğütücüsünde öğütülüp, porselen havanda ezildikten sonra 200 µm elek boyutuna elenmiştir. Konçlama bittikten sonra, çikolata beherlere paylaştırılmıştır. Çalışmada, çikolatada duyuusal uygunluğu bozmayan en yüksek katkı dozunun belirlenmesi amacıyla çikolataya çeşitli dozlarda BT (% 0.1, % 0.5, % 0.8 ve % 1.0) ve ÜÇT (% 0.1, % 0.5, % 0.8 ve % 1.0) katılmış ve çikolatalar tadılmıştır. % 1.0 BT ya da % 1.0 ÜÇT katkısı, çikolatada keskin bir koku ve tat oluşturduğundan, çalışılacak en yüksek katkı dozu % 0.8 olarak belirlenmiştir. Bir beher çikolataya kontrol numunesi olması amacıyla katkı yapılmamış, diğerlerine % 0.1, % 0.5, % 0.8 oranlarında BT veya ÜÇT katkıları yapılmış ve her biri 60 °C'deki su banyosunda 10 dak elle sabit hızda karıştırılmıştır. Belli bir sıraya göre su banyosundan çıkartılan çikolata numunelerinin temperleme işlemi yapılmıştır. Çikolataların temperleme süresi her bir numune için aynı tutulmuştur. Temperleme işleminde çikolatanın sıcaklığı, elle yüksek sabit hızda karıştırılarak 29 °C'ye düşürülmüş, yaklaşık 10 dak 29 °C'de sabit tutulduktan sonra su banyosu yardımıyla elle yüksek sabit hızda karıştırılarak

32 °C'ye çıkartılmış ve 32 °C'de yaklaşık 10 dak sabit tutulmuştur. Temperlenen çikolatalar 10 °C sıcaklıktaki buzdolabında 72 saat saklanmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Kristalizasyon parametrelerinin DTK ile belirlenmesi

Buzdolabında 10 °C'de 72 saat saklanan çikolata numunelerinden yaklaşık 5 mg çikolata alüminyum tava (pan) içine tartıldıktan sonra hermetik olarak kapatılmıştır. Çikolata içeren tava, DTK cihazına yerleştirilmiştir. Örnekler N₂ gazı altında 5 °C / dak hızında 15 °C'den 55 °C'ye ısıtılmıştır. Ölçüm sonrasında otomatik çizilen DTK grafiğinden T_o, T_e, T_p ve ΔH_e değerleri bulunmuş, (T_e-T_o) değerleri hesaplanmıştır. Çalışma iki tekrarlı ve üç paralelli gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 Reolojik ölçümler

Çikolata örneklerinin reolojik özellikleri 3.5 cm çapındaki plaka-plaka konfigürasyonuna sahip Hake Reostress 1 Marka Rehometre kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler 0-300 s⁻¹ kayma hızı aralığında 60 s'de gidiş ve 300-0 s⁻¹ kayma hızı aralığında 60 s'de dönüş olmak üzere 40, 50 ve 60 °C'lerde yapılmıştır. Ölçüm sonuçları Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleri kullanılarak modellenmiştir. Sıcaklığın reolojik parametrelere etkisi (2.8)'deki Arrhenius denklemiyle modellenmiştir. Çalışma iki tekrarlı ve iki paralelli gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Raf ömrü analizleri

3.2.3.1 Schaal fırın testi

Çikolata numuneleri ağzı açık petrilere konulmuş ve 30, 40, 50 °C'lerdeki etüvlere yerleştirilmiştir. İki paralel olarak çalışılmıştır. Belirli zaman aralıklarında petrilere alınan çikolataların hegzanla ekstraksiyonuyla yağları ayrılmıştır. Kapaklı 750 g'lık cam kavanozlar içine belli miktarlarda tartılan çikolataların üzerine hegzan ilave edilmiş ve yarım saat çalkalanmıştır. Kavanozlarda, üst faz olan hegzan-yag karışımları pipetle çekilip iki kat Whatman 42 filtre kağıdından erlenlere süzölmöştür. Ayrılan sıvı hegzan-yag karışımına susuz sodyum sülfat eklenip Whatman 42 filtre kağıdından süzölmöştür. Süzölen hegzan-yag karışımındaki hegzan çözgeni 40 °C'de döner buharlaştırıcı yardımıyla sıcaklıkta uzaklaştırılmıştır.

Elde edilen yağların peroksit analizi ve *p*-Anisidin analizi yapılmış, TOTOKS değerleri hesaplanmıştır.

Peroksit analizleri

Çikolatadan ekstrakte edilen yağdan yaklaşık 2 g 250 ml'lik erlene konulmuş, üzerine 10 ml kloroform, 15 ml glasiyel asetik asit ve 1 ml doymuş potasyum iyodür çözeltisi eklenip erlenin kapağı kapatılıp, ışıktan uzak bir yerde oda sıcaklığında 5 dak bekletilmiştir. Yaklaşık 75 ml destile su ilave edildikten sonra çalkalanıp 1-2 damla nişasta çözeltisi eklenmiş ve 0.002 N ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisiyle titre edilmiştir. Boş deneme için, 250 ml'lik erlen içine aynı miktarlarda kloroform, glasiyel asetik asit ve doymuş potasyum iyodür konmuş, erlenin kapağı kapatılıp ışıktan uzak bir yerde oda sıcaklığında 5 dak bekletilmiştir. Yaklaşık 75 ml destile su ilave edildikten sonra çalkalanıp 1-2 damla nişasta çözeltisi eklenmiş ve 0.002 N ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisiyle titre edilmiştir. PD'leri (2.13)'e göre hesaplanmıştır.

***p*-Anisidin analizleri**

Çikolatadan ekstrakte edilen yaklaşık 4-5 g yağ numunesi, 25 ml'lik balonjojeye konulmuş, isooktanla 25 ml hacme tamamlanıp, 350 nm'de isooktana karşı absorbansı ölçülmüştür (Yağın absorbansı).

Yağ çözeltisinden 5 ml alınıp üzerine 1 ml *p*-Anisidin çözeltisi eklenmiş, 1 dak karıştırıldıktan sonra, 350 nm'de absorbansı ölçülmüştür (Reaksiyon sonunda oluşan ürünün verdiği absorbans). Referans olarak isooktan üzerine 1ml *p*-Anisidin çözeltisi eklenmiştir. Absorbans değerlerinin ölçülmesinden önce spektrofotometre referansa karşı sıfırlanmıştır. p-AnD'leri (2.14)'e göre hesaplanmıştır.

TOTOKS değerinin hesaplanması

Çikolatadan ekstrakte edilen yağ numunelerinin TOTOKS değerleri (2.15)'e göre hesaplanmıştır.

3.2.3.2 OİS'nin DTK ile belirlenmesi

OİS'nin belirlenmesi çalışması, çikolata, % 0.1, % 0.5, % 0.8 oranında BT ve ÜÇT katkılı çikolatalar, kakao yağı, BT ve ÜÇT katkılı kakao yağları; normal çikolatadan ekstrakte edilen kakao yağı ve BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilen kakao yağları ile yapılmıştır. Çalışma iki paralelli gerçekleştirilmiştir.

Analiz öncesinde DTK analiz koşulları bilgisayarda ayarlanmıştır. Başlangıç aşamasında, sistemin sıcaklığı 40 °C'de 1 dak sabit tutularak, izotermal koşulda numuneden, 20 ml/dak hızında N₂ gazı geçirilmiştir. Isı artırma aşamasında, numuneden 20 ml/dak hızda N₂ gazı geçirilmesine devam edilerek, 30 °C/dak sıcaklık artış hızında sistemin sıcaklığının 4.5 dak'da 40 °C'den 165 °C'ye çıkması sağlanmıştır. Üçüncü aşamada, yine sisteme 20 ml/dak hızda verilen N₂ gazı altında, sıcaklık 2 dak boyunca 165 °C'de sabit tutulmuştur. Dördüncü aşama olan oksidasyon aşamasında, sıcaklık sisteme verilen 150 ml/dak hızındaki O₂ gazı varlığında 60 dak boyunca 165 °C'de sabit tutulmuştur (Özçelik, 1999).

DTK'da analiz koşulları ayarlandıktan sonra yaklaşık 5 mg çikolata / kakao yağı numunesi, ağzı açık olan alüminyum kaplar içine tartılmış ve cihazın fırınına yerleştirilmiştir. İçi boş alüminyum kap referans olarak, cihazın referans bölümüne yerleştirilmiş ve analiz başlatılmıştır.

Ayrıca sıcaklığın raf ömrüne etkisini incelemek amacıyla çikolatadan ve % 0.8 ÜÇT katılmış çikolatadan ekstrakte edilen yağların DTK'da oksidasyonu 155, 165 ve 175 °C sıcaklıklarda ölçülmüştür. Sıcaklığın incelendiği çalışmada, sıcaklık dışında bütün koşullar aynıdır. Analiz sonunda elde edilen DTK grafiğinden SN ve ON'ları bulunmuş, OİS ve KF değerleri sırasıyla (2.9) ve (2.10)'a göre hesaplanmıştır. Ayrıca Q₁₀ ve E_A değerleri sırasıyla (2.11) ve (2.12)'ye göre bulunmuştur.

3.2.4 Antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

3.2.4.1 Çikolata ekstraktlarının hazırlanması

Çikolatadan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu Serafini ve diğ. (2003)'nin önerdiği prosedürle gerçekleştirilmiştir. 2 g çikolata numunesi havanda ezilmiş, elde edilen tozun yaklaşık 1 g'ına 10 ml hegzan eklenerek yağı uzaklaştırılmış, karışım 30 °C'de 10 dak ultrasona maruz bırakılmış ve ardından 3000 rpm'de 10 dak santrifüjlenmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Kalıntı 5 ml aseton:su:asetik asit (hacimce 70.0: 29.8: 0.2) karışımıyla ekstrakte edilmiştir. Karışım 30 °C'de 15 dak ultrason banyosuna konmuş, ardından 875 g hızında 4 dak santrifüjlenmiştir. Üst kısım ayrılmış, ve işlem 2 ml aseton:su:asetik asit (hacimce 70.0: 29.8: 0.2) karışımıyla tekrarlanmıştır. Üst kısımdan toplanan sıvılar, 0.45 µm'lik PTFE filtreden süzölmüş, ardından çözügen 45 °C'deki su banyosunda vakumlu

buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktın hacmi destile suyla 10 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.4.2 Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesi

Analiz için, öncelikle 7 mM ABTS stok çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS radikali katyonu ($ABTS^{\bullet+}$), ABTS stok çözeltisiyle, 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisinin 1:0.5 oranında karıştırılması ve çözelti karışımının kullanmadan önce oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletilmesi sonucunda meydana gelmiştir. ABTS ve potasyum persülfat stokiometrik olarak 1:0.5 oranında reaksiyona girerler, ABTS'nin tam oksidasyonunun gerçekleşmemesi sonucunda $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu oluşur. ABTS'nin oksidasyonu aniden başlar, fakat absorbans değeri 6 saatten daha uzun bir süre geçene kadar maksimum ve kararlı hali almaz. $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu, oda sıcaklığında karanlıkta saklandığı müddetçe, iki günden daha fazla kararlı halde kalabilmektedir. $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu çözeltisi etanolle 734 nm'de 0.700 (± 0.020) absorbans değerine seyreltilmiş ve 30 °C'de dengeye bırakılmıştır.

Antioksidan standart maddesi olarak kullanılan Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametikroman-2-karboksilik asit) 'un 2.5 mM konsantrasyonunda etanoldeki çözeltisi hazırlanmıştır.

1 ml $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi ($A_{734\text{ nm}} = 0.700 \pm 0.020$) etanolde hazırlanmış 10 μl antioksidan çözeltisine ya da 10 μl Troloks standart çözeltisine (0-15 μM konsantrasyon aralığında) eklendikten sonra karıştırmadan 30 °C'de 4 dak sonraki absorbansları 734 nm'de ölçülmüştür. Aynı işlem boş deneme için yapılmıştır. 734 nm'deki % İnhibisyon değerleri hesaplanmış ve standart antioksidan madde Troloks'un konsantrasyonuna karşı grafiği çizilmiştir. Standart Troloks grafiğinden, antioksidan aktivitesi bulunması istenen numunenin % İnhibisyon değeri ile aynı % İnhibisyon değerine sahip olan Troloks'un konsantrasyonu okunmuştur. Numunenin antioksidan aktivitesi mg TE /g çikolata olarak ifade edilmiştir. % İnhibisyon değerleri (3.1)'e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(A_r - A_n) / A_r] \times 100 \quad (3.1)$$

A_r : Referansın absorbansı

A_n : Numunenin ya da Troloks standardının absorbansı

3.2.4.3 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Belli bir konsantrasyona seyreltilmiş 2 ml numune antioksidan çözeltisi, 10 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile (destile suyla 1:10 oranında seyreltilmiş) 25 ml hacimli erlende karıştırılıp, 24 °C'de 5 dak bekletilmiştir. Karışıma, 0.6 g susuz sodyum karbonat içeren çözeltiden 8 ml eklenmiştir. Yaklaşık 2 saat sonra 24 °C'de 765 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Boş deneme (2 ml destile su) için aynı işlem yapılmıştır. Standart olarak galik asit kullanılmış ve toplam fenolik içeriği mg GAE / ml olarak bulunup, mg GAE /g çikolata cinsinden ifade edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kristalizasyon Parametreleri

Çeşitli dozlardaki (% 0.1; % 0.5 ve %0.8) BT ve ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonuna etkisinin DTK ile incelenmesinde, çalışmalar iki tekrarlı ve üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Normal çikolata (NÇ), % 0.1 BT katkılı çikolata (BT01), % 0.5 BT katkılı çikolata (BT05), % 0.8 BT katkılı çikolata (BT08), % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata (ÜÇT01), % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata (ÜÇT05), % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata (ÜÇT08) örneklerinin kristalizasyon parametreleri (T_o , T_p , T_e , ΔH ve T_e-T_o) Çizelge 4.1'de verilmiştir. Ayrıca, yine iki tekrarlı ve üç paralelli olarak gerçekleştirilen normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın (BT08+ÜÇT08) kristalizasyon parametreleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 : Çikolata örneklerinin kristalizasyon parametreleri

Çikolata	T_o (°C)	T_p (°C)	T_e (°C)	T_e-T_o (°C)	ΔH_e (J/g)
NÇ	26.75±1.06	32.81±0.26	34.72±0.62	7.97±0.55	43.07±0.64
BT01	26.10±0.64	2.44±0.19	34.99±0.05	8.89±0.67	48.23±4.37
BT05	27.77±0.00	32.67±0.23	35.08±0.06	7.31±0.06	45.30±0.72
BT08	27.06±0.22	32.40±0.16	35.17±0.46	8.11±0.25	44.78±0.46
ÜÇT01	26.75±1.27	32.49±0.16	35.04±0.11	8.29±1.37	48.31±3.07
ÜÇT05	23.48±0.49	32.57±0.28	34.87±0.46	8.16±1.31	47.95±3.43
ÜÇT08	23.62±0.33	32.18±0.22	34.58±0.27	9.61±1.61	49.70±1.79

NÇ: Normal çikolata, **BT01**: % 0.1 oranında BT katkılı çikolata, **BT05**: % 0.5 oranında BT katkılı çikolata, **BT08**: % 0.8 oranında BT katkılı çikolata, **ÜÇT01**: % 0.1 oranında ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05**: % 0.5 oranında ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08**: % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.2 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın kristalizasyon parametreleri.

Çikolata	T_o (°C)	T_p (°C)	T_e (°C)	T_e-T_o (°C)	ΔH_e (J/g)
NÇ	24.83±0.02	31.27±0.00	33.51±0.08	8.69±0.06	39.06±2.50
BT08+ÜÇT 08	23.79±0.16	29.15±0.18	32.56±0.04	8.77±0.11	28.47±0.33

NÇ: Normal çikolata, **BT08+ ÜÇT08**: % 0.8 oranında BT ile % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de ortalama ve standart sapmalarıyla birlikte verilen çikolataların kristalizasyon parametrelerinin istatistiksel analizi (tek yönlü ANOVA yöntemi) yapılmış, çikolata numunelerinin kristalizasyon parametrelerine etkisinin birbirinden önemli derecede farklı olmadığı ($p>0.05$ olduğundan) görülmüştür. Bu bulguyla, BT ve ÜÇT’nin çeşitli dozlarında çikolatanın erime özelliklerini, bir başka deyişle temperlemesini etkilemediği ortaya konulmuştur. Kristalizasyon parametrelerinin belirlendiği DTK grafiklerinin bazıları Ek A.1’de Şekil A.1- Şekil A.7’de, istatistiksel analiz sonuçları ise Ek B.1’de Çizelge B.1 ve Çizelge B.2’de verilmiştir.

Bu çalışmada, çikolatalar temperlendikten sonra kararlı kristallerin oluşması amacıyla yaklaşık 10°C ’de 72 saat bekletilmesinin ardından DTK’da ölçümleri yapılmıştır.

Afoakwa ve diğ. (2008b)’nin yaptığı çalışmada, değişik partikül boyut dağılımına (18, 25, 35, 50 μm), yağ (% 25 ve % 35) ve lesitin (% 0.3 ve % 0.5) içeriğine sahip bitter çikolataların DTK ile erime özellikleri incelenmiş, partikül boyut dağılımının çikolatanın kristalizasyon parametrelerini etkilemediği, artan yağ ve lesitin miktarlarının, T_e , (T_e-T_o) ve ΔH_e değerlerinde azalmaya neden olduğu, T_o ve T_p erime sıcaklıklarını etkilemediği bulunmuştur. Yağ miktarı % 35, lesitin miktarı % 0.5, partikül boyutu $50 \pm 1.0 \mu\text{m}$ olan bitter çikolatanın T_o , T_p , T_e , T_e-T_o ve ΔH_e değerleri sırasıyla 26.8 ± 0.3 , 32.4 ± 0.1 , 33.0 ± 0.4 , $6.2 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$, ve $43.43 \pm 0.46 \text{ J/g}$ olarak bulunmuştur. Aynı yağ ve lesitin miktarlarına sahip farklı partikül boyutlarındaki çikolataların kristalizasyon parametre değerleri yaklaşık aynı civarda bulunmuştur. Bu çalışmada, kullanılan normal çikolata, BT ve ÜÇT katkılı çikolatalar, % 37 yağ ve % 0.45 lesitin miktarına sahiptir. Kullanılan BT ve ÜÇT’nin partikül boyutu 200 μm ’dir. Bu çalışmada bitter çikolata için bulunan T_o , T_p , T_e , T_e-T_o ve ΔH_e değerleri sırasıyla 26.75 ± 1.06 , 32.81 ± 0.26 , 34.72 ± 0.62 , $7.97 \pm 0.55^{\circ}\text{C}$, $43.07 \pm 0.64 \text{ J/g}$ olup literatürdeki değerlere yakındır.

Afoakwa ve diğ. (2009a), çikolatanın erime özellikleri ile depolama zamanı arasındaki ilişkiyi DTK ile incelemiş ve T_e değerlerini 0, 24, 48, 72, 96 saat depolama süreleri için sırasıyla yaklaşık 28.7; 32.4; 33.0; 35.3; 35.7°C olarak bulmuşlardır. Depolama zamanıyla T_e değerlerindeki artış, çikolatanın zamanla kararlı hale dönüştüğünü göstermektedir. Temperleme sonrası soğutmadaki

çikolatanın içerdiği Form IV polimorf kristali ($\sim 28.7^{\circ}\text{C}$) depolamanın 24 saatinde Form V (32.4°C)'ye, 72 saat sonrasında daha kararlı Form VI kristaline (35.5°C) dönüşmüştür. 25, 35, 50 μm partikül boyutlu çikolatalar 72 saat sonrasında Form V kristal yapısına dönüşmüştür. Artan depolama zamanıyla ΔH_e 'nin arttığı görülmüştür. Örnek olarak, temperleme sonrası depolama öncesindeki 18 μm partikül boyutlu çikolatanın T_o , T_e , T_p ve ΔH_e değerleri, yaklaşık 22.8, 28.9, 27.2 $^{\circ}\text{C}$ ve 35.56 J/g iken, 96 saat depolama süresindeki değerleri sırasıyla yaklaşık 27.4, 35.2, 33.8 $^{\circ}\text{C}$ ve 40.63 J/g olarak bulunmuştur.

4.2 Reolojik Ölçümler

Çeşitli dozlardaki (% 0.1; % 0.5 ve % 0.8) BT ve ÜÇT'nin çikolatanın reolojik özelliklerine etkisinin incelenmesinde, çalışmalar iki tekrarlı ve iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Çikolata numunelerinin 40, 50 ve 60 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarındaki reolojik ölçümleri Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modeline göre modellenmiştir. Çeşitli sıcaklıklarda yapılan reolojik ölçümlerden Bingham plastik (2.5), Herschel-Bulkley (2.6) ve Casson (2.7) modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerinin ortalama değerleri Çizelge 4.3-Çizelge 4.8'de verilmiştir. Çeşitli dozlarda BT ve ÜÇT katkılı çikolataları için kayma hızı (1/s) ve kayma gerilimi (Pa) arasında çizilen akış grafiklerinden bazıları (Birinci çalışmanın birinci paralelleri) Ek A.1'de Şekil A.8-Şekil A.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 : Çikolata örneklerinin 40 $^{\circ}\text{C}$ 'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerinin ortalama değerleri ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NC	37.54	1.06	0.9965	14.91	3.01	0.82	0.9987	6.09	0.41	0.68	0.9987
BT01	36.89	1.06	0.9971	16.09	2.85	0.84	0.9988	7.56	0.44	0.73	0.9988
BT05	35.64	1.10	0.9967	13.96	2.97	0.83	0.9989	5.21	0.41	0.70	0.9984
BT08	37.22	1.15	0.9969	11.27	3.84	0.80	0.9992	5.68	0.41	0.73	0.9986
ÜÇT01	34.47	1.07	0.9974	12.86	4.22	0.80	0.9937	8.24	0.48	0.79	0.9989
ÜÇT05	37.04	1.13	0.9973	19.04	2.42	0.86	0.9990	10.1	0.45	0.85	0.9987
ÜÇT08	35.35	1.06	0.9972	13.64	2.79	0.83	0.9989	6.73	0.44	0.74	0.9990

NC: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.4 : Çikolata örneklerinin 50 °C’deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerinin ortalama değerleri ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NÇ	33.14	0.77	0.9422	19.44	1.91	0.84	0.9986	13.68	0.55	0.58	0.9988
BT01	31.41	0.73	0.9973	18.14	1.84	0.84	0.9989	12.52	0.57	0.54	0.9990
BT05	30.44	0.80	0.9978	17.98	0.87	0.86	0.9990	12.36	0.56	0.62	0.9988
BT08	31.39	0.84	0.9978	18.81	1.83	0.86	0.9992	13.15	0.57	0.66	0.9990
ÜÇT01	31.34	0.75	0.9976	20.09	1.66	0.86	0.9989	13.91	0.58	0.58	0.9989
ÜÇT05	32.84	0.77	0.9973	20.02	1.83	0.85	0.9986	14.49	0.57	0.60	0.9988
ÜÇT08	30.98	0.76	0.9976	18.20	1.82	0.85	0.9990	12.64	0.56	0.58	0.9990

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.5 : Çikolata örneklerinin 60 °C’deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NÇ	32.38	0.55	0.9958	20.42	1.61	0.82	0.9979	15.49	0.55	0.57	0.9981
BT01	32.05	0.53	0.9966	22.49	1.33	0.85	0.9980	18.54	0.57	0.41	0.9983
BT05	31.18	0.57	0.9967	20.94	0.87	0.84	0.9982	16.56	0.59	0.43	0.9988
BT08	31.25	0.57	0.9967	20.44	1.49	0.84	0.9983	15.82	0.58	0.43	0.9985
ÜÇT01	32.28	0.52	0.9962	22.60	1.34	0.84	0.9978	18.50	0.61	0.40	0.9980
ÜÇT05	34.90	0.55	0.9960	24.94	1.38	0.84	0.9975	20.80	0.62	0.42	0.9977
ÜÇT08	31.73	0.54	0.9966	22.28	1.36	0.85	0.9981	18.23	0.62	0.41	0.9983

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Ayrıca, yine iki tekrarlı ve üç paralelli olarak gerçekleştirilen normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT’nin birlikte katıldığı çikolatanın çeşitli sıcaklıklardaki kristalizasyon parametreleri Çizelge 4.6-Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.6 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 40 °C’deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NÇ	33.60	1.19	0.9969	11.46	3.05	0.84	0.9986	2.69	0.36	0.76	0.9986
BT08+ÜÇT08	40.09	1.34	0.9941	9.09	4.09	0.81	0.9895	0.00	0.10	0.16	0.9972

NÇ: Normal çikolata, BT08+ ÜÇT08: % 0.8 oranında BT ile % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.7 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 50 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NÇ	31.43	0.86	0.99	16.89	2.06	0.85	0.9979	10.55	0.53	0.66	0.9980
BT08+ÜÇT08	34.80	1.00	0.99	18.02	2.37	0.85	0.9984	10.82	0.52	0.76	0.9984

NÇ: Normal çikolata, BT08+ ÜÇT08: % 0.8 oranında BT ile % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.8 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın 60 °C'deki Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleriyle elde edilen reolojik parametrelerin ortalama değerlerinin ve korelasyon sayıları.

	Bingham			Herschel-Bulkley				Casson			
	τ_0	η_p	r	τ_0	K	n	r	τ_0	n	η_p	r
NÇ	32.34	0.66	0.9972	21.16	1.58	0.99	0.9985	16.14	0.59	0.51	0.9987
BT08+ÜÇT08	33.75	0.74	0.9970	21.37	1.66	0.86	0.9983	15.8	0.58	0.57	0.9985

NÇ: Normal çikolata, BT08+ ÜÇT08: % 0.8 oranında BT ile % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolata

Çeşitli dozlardaki (% 0.1, % 0.5, % 0.8) BT ve ÜÇT katkısının (Çizelge 4.3-Çizelge 4.5) ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının (Çizelge 4.6-Çizelge 4.8) sabit sıcaklıkta çikolatanın reolojik parametrelerini etkilemediği ve korelasyon sayılarının 1 değerine yakın olması nedeniyle çikolataların reolojik ölçümlerinin Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modellerine uydukları görülmüştür. Çikolataların 40, 50 ve 60 °C'lerde yapılan reolojik ölçümlerinin sonuçlarına göre, sıcaklık arttıkça plastik viskozitelerinin artış eğilimi gösterdiği görülmektedir.

Bitter çikolatanın reolojik özelliklerine partikül boyut dağılımı, yağ ve lesitin miktarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yıkılma değeri ve plastik viskozite değerinin partikül boyutu, yağ ve lesitin miktarı arttıkça azaldığı bulunmuştur. Literatürde, önemli reolojik parametreler olan plastik viskozite ve akma gerilimini etkileyen etmenlerin yağ, lesitin miktarı ve partikül boyutu olduğu bildirilmektedir. (Afoakwa ve diğ. 2008a). Bu çalışmada, kullanılan çikolata, BT ve ÜÇT katkılı çikolatalar, aynı partikül boyutu, aynı yağ oranı (% 37) ve aynı lesitin oranına (% 0.45) sahiptir. Çikolataya belli dozlarda katılan BT ve ÜÇT'nin partikül boyutu 200 µm'dir.

Yağ katkısının bitter çikolatanın kristalizasyonuna etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada, % 35 yağlı bitter çikolata için 28.2 °C'deki plastik viskozite ve akma gerilimi ortalama değerleri sırasıyla 1.65 Pa.s ve 6.18 Pa olarak bulunmuştur (Loisel ve diğ. 1998). Bu çalışmada yapılan bitter çikolatanın yağ oranı % 36.82, 40 °C'deki

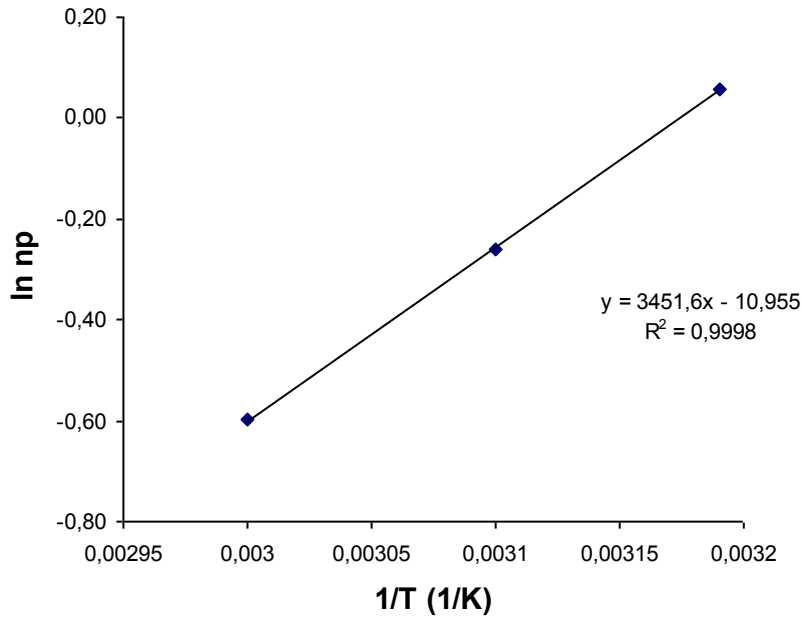
ortalama plastik viskozite ve akma gerilimi değerleri ise sırasıyla 0.68 Pa.s ve 6.09 Pa olarak bulunmuş olup, literatürdeki değerlere yakınlık göstermektedir. Bu çalışmadaki değerlerin literatürdeki değerlerden farklılığı, çikolatanın yağ oranının ve ölçüm sıcaklığının yüksek olması ve reçetenin farklı olabilmesiyle ilişkilendirilebilir. Sıcaklık ve yağ oranı arttıkça plastik viskozite ve akma gerilimi düşmektedir.

Sıcaklığın plastik viskoziteye etkisi Bingham modeline göre normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için elde edilmiş plastik viskozite değerleri kullanılarak incelenmiş, (2.8) yardımıyla $1/T$ ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafiklerin eğiminden E_a 'ları hesaplanmış, $1/T$, η_p ve $\ln \eta_p$ değerleri Çizelge 4.9'da, $1/T$ ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafikleri ise Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.

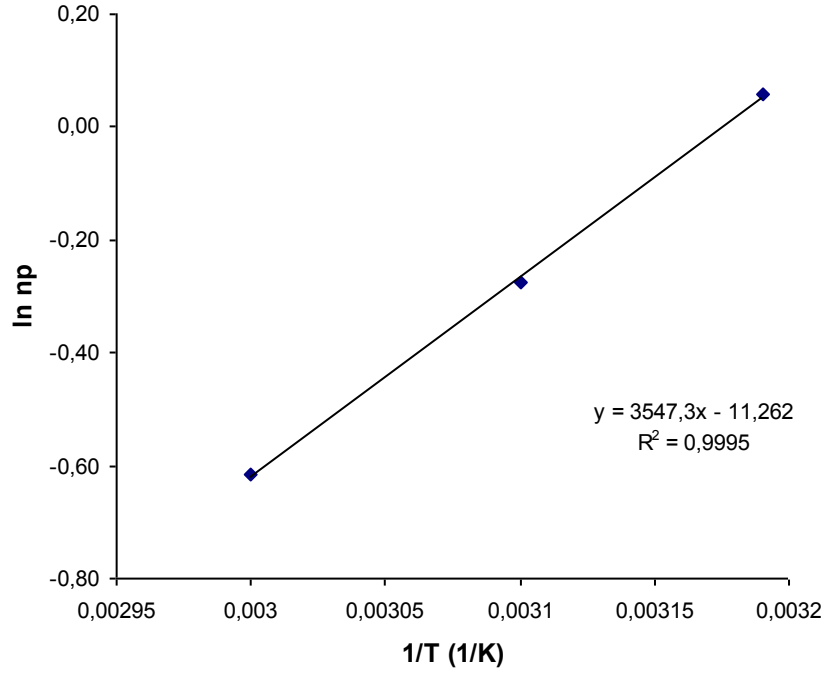
Çizelge 4.9 : Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için çeşitli sıcaklıklardaki η_p ve $\ln \eta_p$ değerleri.

$1/T$ (K^{-1})	NÇ		ÜÇT08	
	η_p	$\ln \eta_p$	η_p	$\ln \eta_p$
$3.19 \cdot 10^{-3}$	1.06	0.06	1.06	0.06
$3.10 \cdot 10^{-3}$	0.77	-0.26	0.76	-0.28
$3.00 \cdot 10^{-3}$	0.55	-0.60	0.54	-0.62

NÇ: Normal çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata



Şekil 4.1 : Normal çikolata için $1/T$ ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafik.



Şekil 4.2 : % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için 1/T ile $\ln \eta_p$ arasında çizilen grafik.

Normal çikolatanın plastik viskozitesinin (Şekil 4.1) ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın plastik viskozitesinin (Şekil 4.2) sıcaklıkla arttığı görülmüştür (Çizelge 4.9). Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'deki grafiklerin eğiminden normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için E_a değerleri sırasıyla 28.76 ve 29.64 kJ/kg.mol olarak bulunmuştur. E_a arttıkça, plastik viskozite sıcaklıkla genellikle düşer (Steffe, 1996). Çalışmadaki normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için bulunan E_a değerleri birbirine yakındır. E_a değerlerinin birbirine yakın olması, normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın plastik viskozitelerinin sıcaklıkla değişimlerinin birbirine yakın değerlerde olacağı anlamına gelmektedir. Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın sabit sıcaklıktaki plastik viskozite değerlerinin (Çizelge 4.6-Çizelge 4.7) birbirinden önemli derecede farklı olmadığı görülmektedir.

4.3 Raf Ömrü Analizleri

4.3.1 Schaal fırın testi

Çeşitli dozlarda (% 0.1, % 0.5, % 0.8) BT ve ÜÇT katkılı çikolataların 30, 40 ve 50 °C'deki Schaal Fırın Testi iki tekrarlı ve iki paralelli olarak yapılmış, zamana bağlı elde edilen ortalama PD'leri Çizelge 4.10-Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.10 : Çikolata örneklerinin 30 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD’leri.

	30 °C’deki PD (mek peroksit/kg yağ)						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.85±0.10	1.85±0.10	1.85±0.10	1.85±0.10	1.85±0.10	1.85±0.10	1.85±0.10
7	1.90±0.10	1.87±0.20	1.86±0.20	1.86±0.20	1.87±0.20	1.86±0.30	1.85±0.20
15	1.96±0.10	1.93±0.10	1.92±0.10	1.91±0.20	1.93±0.10	1.92±0.20	1.91±0.10
30	2.04±0.10	2.00±0.30	2.00±0.10	1.99±0.10	2.00±0.00	1.99±0.20	1.98±0.20
45	2.41±0.20	2.38±0.20	2.37±0.20	2.36±0.10	2.37±0.10	2.37±0.10	2.36±0.20
100	2.69±0.30	2.67±0.10	2.66±0.20	2.65±0.10	2.66±0.10	2.65±0.10	2.64±0.10

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 da BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.11 : Çikolata örneklerinin 40 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD’leri.

	40 °C’deki PD (mek peroksit/kg yağ)						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10
7	1.93±0.20	1.91±0.10	1.90±0.10	1.89±0.20	1.91±0.10	1.89±0.20	1.88±0.10
15	2.00±0.10	1.99±0.10	1.98±0.10	1.96±0.10	1.98±0.20	1.97±0.10	1.95±0.20
30	2.11±0.00	2.09±0.20	2.07±0.10	2.06±0.20	2.08±0.10	2.07±0.20	2.06±0.10
45	2.61±0.20	2.58±0.10	2.57±0.10	2.55±0.10	2.58±0.10	2.57±0.20	2.55±0.10
100	2.98±0.20	2.97±0.20	2.95±0.30	2.94±0.20	2.95±0.20	2.94±0.20	2.93±0.10

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 da BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.12 : Çikolata örneklerinin 50 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde zamana bağlı elde edilen PD’leri

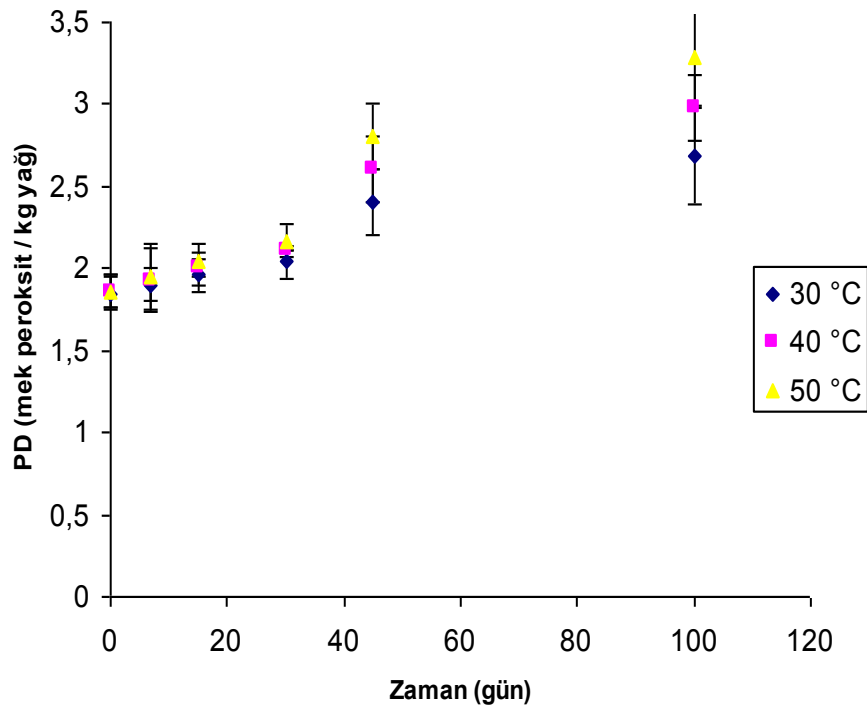
	50 °C’deki PD (mek peroksit/kg yağ)						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10	1.86±0.10
7	1.95±0.20	1.94±0.20	1.93±0.20	1.92±0.10	1.94±0.10	1.93±0.10	1.92±0.20
15	2.05±0.10	2.03±0.20	2.03±0.10	2.02±0.10	2.03±0.20	2.01±0.20	2.00±0.10
30	2.17±0.10	2.16±0.10	2.15±0.20	2.14±0.20	2.15±0.10	2.14±0.20	2.13±0.20
45	2.81±0.20	2.80±0.10	2.78±0.10	2.77±0.10	2.79±0.20	2.78±0.10	2.77±0.10
100	3.28±0.30	3.27±0.20	3.26±0.30	3.25±0.20	3.27±0.10	3.25±0.20	3.24±0.20

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 da BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.10-Çizelge 4.12’ye bakıldığında her bir çikolata örneği için, sabit sıcaklıkta, zaman arttıkça ortalama PD’lerinin arttığı, ancak PD’nin 100. gün sonunda yağların bozulduğu PD değeri olan 10 mek peroksit /kg yağ değerine ulaşmadığı görülmüştür. Ayrıca sabit sıcaklık ve sabit zaman için, çikolataya katılan BT ve ÜÇT’nin miktarının artmasıyla çikolatanın PD’nin değişmediği görülmüştür.

Bu çalışmada 100.gün sonunda tüm çikolata örnekleri için elde edilen ortalama PD'leri 30, 40 ve 50 °C için sırasıyla 2.67, 2.95 ve 3.25 mek peroksit/kg yağ civarındadır. Literatürde, beyaz çikolatanın 20 °C'de ve % 65 bağıl nemde depolanmasında maksimum PD olan 9.5 mek peroksit / kg yağ değerine 15 aydan fazla depolama sürelerinde ulaşıldığı bildirilmiştir (Vercet, 2003). Bitter çikolatanın sütlü çikolatadan daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olması ve yağ içeriği nedeniyle bozulmayı hızlandıracak olan süt bileşenine sahip olmaması nedeniyle sütlü çikolataya göre daha uzun sürede bozulabileceği düşünülmelidir. Bu çalışmada bitter çikolatanın 100. gün sonunda bozulmaması literatüre uygundur.

Çalışmada her bir çikolata örneği için sabit zamanda, sıcaklık arttıkça ortalama PD'lerinin arttığı görülmüştür (Çizelge 4.10-Çizelge 4.12). Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla PD'leri arasında çizilen grafik Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla PD'leri arasında çizilen grafik.

Çikolata örneklerinin 30, 40 ve 50 °C'deki Schaal Fırın Testinde, zamana bağlı elde edilen ortalama p-AnD'leri Çizelge 4.13-Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.13 : Çikolata örneklerinin 30 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.

	30°C’deki p-AnD’leri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10
7	1.39±0.10	1.36±0.20	1.35±0.20	1.34±0.20	1.36±0.10	1.35±0.30	1.34±0.30
15	1.48±0.20	1.45±0.30	1.43±0.10	1.40±0.20	1.42±0.20	1.41±0.20	1.38±0.20
30	1.52±0.20	1.50±0.20	1.48±0.30	1.47±0.30	1.48±0.10	1.48±0.10	1.40±0.40
45	1.91±0.30	1.88±0.20	1.85±0.20	1.80±0.30	1.87±0.20	1.84±0.20	1.79±0.30
100	2.20±0.20	2.16±0.30	2.15±0.30	2.13±0.20	2.15±0.20	2.12±0.30	2.10±0.20

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 da BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.14 : Çikolata örneklerinin 40 °C’deki yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.

	40 °C’deki p-AnD’leri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.33±0.10	1.33±0.10	1.33±0.10	1.33±0.10	1.33±0.10	1.33±0.10	1.33±0.10
7	1.40±0.10	1.38±0.20	1.37±0.10	1.36±0.20	1.38±0.10	1.37±0.20	1.36±0.20
15	1.50±0.20	1.48±0.10	1.46±0.10	1.42±0.20	1.46±0.10	1.44±0.10	1.43±0.10
30	1.59±0.10	1.55±0.20	1.52±0.10	1.49±0.10	1.50±0.10	1.46±0.20	1.45±0.20
45	2.15±0.21	2.05±0.20	2.00±0.20	1.95±0.20	2.00±0.10	1.98±0.10	1.92±0.10
100	2.50±0.10	2.46±0.20	2.41±0.10	2.37±0.10	2.42±0.30	2.39±0.30	2.37±0.20

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 da BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

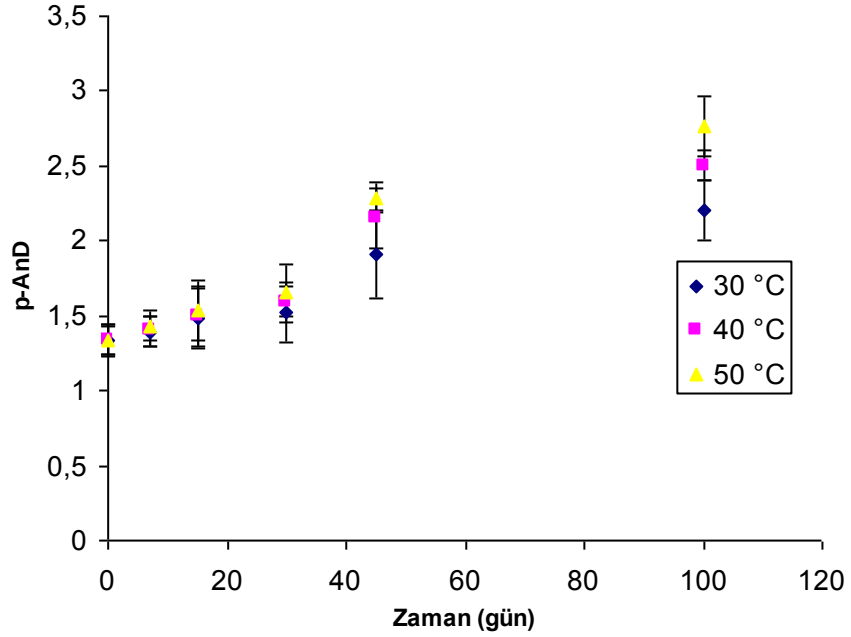
Çizelge 4.15 : Çikolata örneklerinin 50 °C’deki yapılan Schaal Fırın Testinde elde edilen zamana bağlı p-AnD’leri.

	50 °C’deki p-AnD’leri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10	1.34±0.10
7	1.43±0.10	1.42±0.10	1.41±0.20	1.41±0.20	1.42±0.10	1.40±0.30	1.39±0.30
15	1.53±0.20	1.51±0.20	1.51±0.10	1.50±0.10	1.50±0.10	1.49±0.10	1.48±0.20
30	1.65±0.20	1.63±0.10	1.63±0.20	1.62±0.10	1.63±0.10	1.61±0.10	1.60±0.20
45	2.29±0.10	2.27±0.20	2.26±0.10	2.25±0.10	2.26±0.10	2.25±0.10	2.24±0.10
100	2.76±0.20	2.75±0.200	2.74±0.20	2.72±0.20	2.75±0.20	2.74±0.20	2.72±0.20

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 da BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.13-Çizelge 4.15’e bakıldığında her bir çikolata örneği için sabit sıcaklıkta, zaman arttıkça ortalama p-AnD’lerinin arttığı, sabit sıcaklık ve sabit zaman için, çikolataya katılan BT ve ÜÇT’nin miktarının artmasıyla çikolatanın p-AnD’nin değişmediği görülmüştür. Çalışmada 100.gün sonunda tüm çikolata numuneleri için elde edilen ortalama p-AnD’leri 30, 40 ve 50 °C için sırasıyla 2.14, 2.42 ve 2.73

olarak bulunmuştur. Her bir çikolata örneği için sabit zamanda, sıcaklık arttıkça ortalama p-AnD'lerinin arttığı görülmüştür (Çizelge 4.13-Çizelge 4.15). Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla p-AnD arasında çizilen grafik Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla p- AnD arasında çizilen grafik.

Çikolata örneklerinin 30, 40 ve 50 °C'deki Schaal Fırın Testinde, zamana bağlı elde edilen ortalama TOTOKS değerleri Çizelge 4.16-Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.16 : Çikolata örneklerinin 30 °C'deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.

	30 °C'deki TOTOKS değerleri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10
7	5.20±0.10	5.12±0.20	5.09±0.20	5.05±0.20	5.10±0.20	5.07±0.30	5.05±0.20
15	5.41±0.10	5.32±0.10	5.27±0.10	5.22±0.20	5.27±0.10	5.24±0.20	5.29±0.10
30	5.60±0.10	5.51±0.30	5.48±0.10	5.44±0.10	5.49±0.00	5.46±0.20	5.36±0.20
45	6.74±0.20	6.65±0.20	6.59±0.20	6.52±0.10	6.62±0.10	6.57±0.10	6.51±0.20
100	7.58±0.30	7.50±0.10	7.46±0.20	7.43±0.10	7.47±0.10	7.41±0.10	7.38±0.10

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolata, BT05: % 0.5 da BT katkılı çikolata, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.17 : Çikolata örneklerinin 40 °C’deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.

	40 °C’deki TOTOKS değerleri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10	5.04±0.10
7	5.26±0.20	5.21±0.10	5.17±0.10	5.14±0.20	5.18±0.10	5.16±0.20	5.20±0.10
15	5.50±0.10	5.45±0.10	5.41±0.10	5.34±0.10	5.42±0.20	5.38±0.10	5.33±0.20
30	5.81±0.00	5.72±0.20	5.66±0.10	5.60±0.20	5.66±0.10	5.60±0.20	5.56±0.10
45	7.37±0.20	7.21±0.10	7.14±0.10	7.05±0.10	7.16±0.10	7.12±0.20	7.02±0.10
100	8.46±0.20	8.39±0.20	8.32±0.30	8.25±0.20	8.32±0.20	8.27±0.20	8.23±0.10

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 da BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.18 : Çikolata örneklerinin 50 °C’deki Schaal Fırın Testinde zamana bağlı olarak elde edilen TOTOKS değerleri.

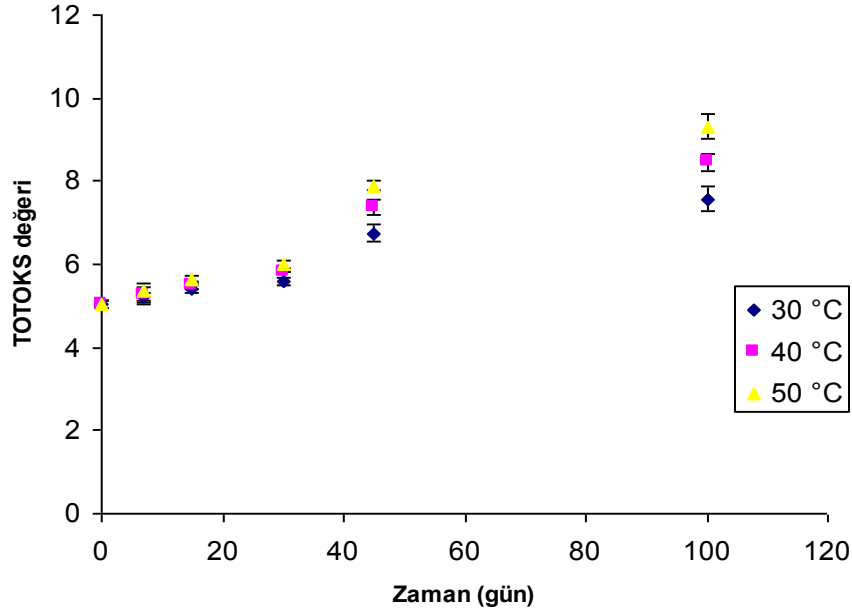
	50 °C’deki TOTOKS değerleri						
Zaman (gün)	NÇ	BT01	BT05	BT08	ÜÇT01	ÜÇT05	ÜÇT08
0	5.05±0.10	5.05±0.10	5.05±0.10	5.05±0.10	5.05±0.10	5.05±0.10	5.05±0.10
7	5.34±0.20	5.31±0.20	5.27±0.20	5.25±0.10	5.29±0.10	5.26±0.10	5.23±0.20
15	5.62±0.10	5.57±0.20	5.56±0.10	5.53±0.10	5.55±0.20	5.52±0.20	5.47±0.10
30	5.99±0.10	5.95±0.10	5.93±0.20	5.90±0.20	5.93±0.10	5.89±0.20	5.86±0.20
45	7.90±0.10	7.86±0.10	7.83±0.10	7.79±0.10	7.84±0.20	7.82±0.10	7.77±0.10
100	9.32±0.30	9.29±0.20	9.26±0.30	9.22±0.20	9.28±0.10	9.24±0.20	9.21±0.20

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 da BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çizelge 4.16-Çizelge 4.18’e bakıldığında her bir çikolata örneği için, sabit sıcaklıkta zaman arttıkça ortalama TOTOKS değerlerinin arttığı, sabit sıcaklık ve sabit zaman için, çikolataya katılan BT ve ÜÇT’nin miktarının artmasıyla çikolatanın TOTOKS değerlerinin değişmediği görülmüştür. Bu çalışmada 100.gün sonunda tüm çikolata numuneleri için elde edilen ortalama TOTOKS değerleri 30, 40 ve 50 °C için sırasıyla 7.47, 8.35 ve 9.26 olarak bulunmuştur. Çalışmada her bir çikolata örneği için sabit zamanda, sıcaklık arttıkça ortalama TOTOKS değerlerinin arttığı görülmüştür (Çizelge 4.15-Çizelge 4.18). Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla TOTOKS değerleri arasında çizilen grafik Şekil 4.5’te verilmiştir.

Schaal Fırın Testi sonuçlarına bakıldığında, çikolata numunelerinin PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerinin zamanla ya da sıcaklıkla çok hızlı artmadığı, ortalama değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Bu da bitter çikolata ve diğer çeşitli dozlarda BT ya da ÜÇT katkılı çikolataların bozulmasının 30, 40 ve 50 °C

sıcaklıklarında ve depolama zamanı olan 100 günde kolay olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.5 : Normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla TOTOKS değerleri arasında çizilen grafik.

Örnek olarak normal çikolata için sıcaklığa bağlı zamanla raf ömrü parametreleri arasında çizilen grafiklerden (Şekil 4.3-Şekil 4.5) sabit zamanda üç sıcaklık değeri için ya da sabit sıcaklıkta çeşitli zaman aralıklarında PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerinin birbirine yakın değerlerde olduğu görülebilmektedir.

4.3.2 OİS'nin DTK ile belirlenmesi

Çikolata örnekleriyle 165 °C'de DTK'da yapılan oksidasyon çalışmalarında, DTK grafiğinde oksidasyona bağlı egzotermik ısı artışını gösteren herhangi bir pik oluşmamıştır. Bu durum, çikolata örneklerinin arın 165 °C'de 60 dak'da okside olmadığını göstergesidir. Bunun üzerine, % 0.8 oranında BT ve % 0.8 oranında ÜÇT katılarak oda sıcaklığında karanlıkta muhafaza edilmiş iki çeşit kakao yağının oksidasyonu DTK ile incelenmiş, pik oluştuğu görülmüştür. DTK grafiğinden, kakao yağının ortalama ON değerinin 16.0 dak olduğu, % 0.8 oranında BT ve ÜÇT katkılı iki çeşit kakao yağının ortalama ON değerlerinin ise 30 dak olduğu bulunmuştur (Şekil A.35-Şekil A.37). Bu bulgu, % 0.8 oranındaki BT ya da % 0.8 oranındaki ÜÇT'nin kakao yağının raf ömrünü uzattığını göstermektedir. Bu bulgudan yola çıkılarak çeşitli oranlarda BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan yağları hegzanla

ekstrakte edilmiş, ekstrakte yağların oksidasyonu DTK ile incelenmiştir. Çalışma üç paralelli gerçekleştirilmiştir. Normal çikolatadan ekstrakte edilmiş yağ, % 0.1 BT, % 0.5 BT, % 0.8 BT ve % 0.1 ÜÇT, % 0.5 ÜÇT, % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilmiş yağların ortalama ON değerlerinin sırasıyla 16.5 dak, 24.0 dak, 25.5 dak, 27.5 dak ve 24.5 dak, 26 dak, 29 dak olduğu bulunmuştur. Analizde sıcaklığın 165 °C’de sabitlendiği zaman olan SN’sı 7.5 dak olup, OİS değerleri (2.9)’a göre, KF değerleri ise (2.10)’a göre hesaplanmış ve çeşitli dozlarda BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilen yağların ortalama ON, OİS ve KF değerleri Çizelge 4.19’da verilmiştir.

Çizelge 4.19 : Normal çikolata ve BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilen yağların 165 °C’deki ON, OİS ve KF değerleri.

Ekstrakte yağlar	ON (dak)	OİS (dak)	KF
NÇ	16.5	9.0	1
BT01	24.0	16.5	1.83
BT05	25.5	18.0	2.00
BT08	27.5	20.0	2.22
ÜÇT01	24.5	17.0	1.88
ÜÇT05	26.0	18.5	2.05
ÜÇT08	29.0	21.5	2.38

NÇ: Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ, BT01: % 0.1 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ, BT05: % 0.5 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ, BT08: % 0.8 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ.

Ayrıca, normal çikolatadan ekstrakte edilen yağın ve % 0.8 BT ile %0.8 ÜÇT’nin birlikte katıldığı çikolatadan ekstrakte edilen yağın oksidasyonunun incelendiği ikinci bir deneme üç paralelli olarak yapılmıştır. Bu çalışmada, normal çikolatadan ekstrakte edilen yağın ortalama ON değeri 17.5 dak ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT’nin katıldığı çikolatadan ekstrakte edilen yağın ortalama ON değeri ise 44.5 dak olarak bulunmuş, OİS değerleri (2.9)’a göre, KF değerleri ise (2.10)’a göre hesaplanmış, ON, OİS ve KF değerleri Çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 : Normal çikolatadan ve % 0.8 ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağların 165 °C’deki ON, OİS ve KF değerleri.

Ekstrakte yağlar	ON (dak)	OİS (dak)	KF
NÇ	17.5	10.0	1
BT08+ÜÇT08	44.5	37.0	4.11

NÇ: Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ, BT08+ ÜÇT08: % 0.8 oranında BT ile % 0.8 oranında ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ.

Elde edilen sonuçlara göre, BT ve ÜÇT'nin çikolatanın ON ve KF değerlerini, dolayısıyla raf ömrünü artan katkı dozuyla birlikte arttırdığı görülmektedir. Ayrıca, ÜÇT'nin OİS ve KF değerleri üzerine etkisinin BT'ninkinden biraz daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.19 ve Çizelge 4.20).

Bir çalışmada, çeşitli çözügenlerle (dietileter, etanol, aseton, hegzan, metanol) biberiyeden ekstrakte edilmiş biberiye ekstraktlarının fındık fûresinin OİS ve KF değerlerini artan biberiye dozlarında (200, 400, 600, 1000 ve 2000 ppm) arttırdığı dolayısıyla raf ömrünü uzattığı bulunmuştur (Özçelik, 1999). Bazı çalışmalarda, biberiye tozunun sığır köftesi ve domuz kıymasının raf ömrünü arttırdığı bulunmuş olup, biberiyenin et ürünlerinin raf ömrünü arttırmadaki etkinliği bildirilmiştir (Sanchez-Escalante ve diğ. 2001; Martinez ve diğ. 2007).

Literatürde, üzüm çekirdeğinin bir gıdanın raf ömrüne etkisinin DTK ile incelendiği bir çalışma bulunmadığından bu çalışmada elde edilen ÜÇT ilave edilmiş çikolataların yağlarının OİS ve KF değerleri literatürle kıyaslanamamıştır. Ancak, üzüm çekirdeğinin yüksek fenolik madde miktarı ve yüksek antioksidan aktivitesi gösterdiğini bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur (Karadeniz ve diğ. 2000; Negro ve diğ. 2003; Yılmaz ve Toledo, 2006; Jayaprakasha ve diğ. 2001; Jayaprakasha ve diğ. 2003; Rice- Evans ve diğ. 1997; Pekić ve diğ. 1997; Baydar ve diğ. 2003; Gabetta ve diğ. 2000; Kennedy ve diğ. 2000). Kateşinlerce zengin yüksek fenolik madde miktarına sahip yan ürün olan kakao kabuğu, kakao yaprağı, çay yaprağı ekstraktlarının ilave edildiği ayçiçek yağının 8 gün boyunca 65 °C'ye maruz bırakıldığı bir çalışmada büyükten küçüğe sırasıyla çay yaprağı, kakao kabuğu ve kakao yaprağı ekstraktlarının ayçiçek yağını oksidasyona karşı korudukları, oksidasyonun önlenmesinde sentetik antioksidan olan BHA kadar etkili oldukları bulunmuştur (Osman ve diğ. 2004). Bu çalışmada da kateşinlerce zengin üzüm çekirdeği tozunun çikolatanın raf ömrünü uzattığı bulunmuştur.

Kuru üzüm tozunun % 12 oranında katıldığı buğday ekmeklerinde raf ömrünün 1-3 gün aralığında arttığı bilinmektedir (Lagrange ve Payne, 1988). Diğer bir çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin ekmekte raf ömrü için önemli olan glikolizlenme son ürünü olan karboksimetillisin miktarını azalttığı bulunmuştur (Peng ve diğ. 2009). Başka bir çalışmada da, üzüm çekirdeği ekstraktının köftenin raf ömrünü uzattığı bulunmuş olup, bir çok et ürününün raf ömrünün uzatılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Banon ve diğ. 2007).

Başka bir çalışmada, fenoliklerce zengin *Satureja hortensis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha Spicata* L. ve *Melisa officinalis* L. bitkilerinin çeşitli çözenlerle ekstraksiyonları sonucunda elde edilen ekstraktlarının % 0.1 ve % 0.5'lik çözeltilerinden bir miktar ayçiçek yağına ilave edilmiş, ayçiçek yağı (5 g), karanlıkta 100 °C'de içinden 100 ml/dak hızında hava geçirilerek okside edilmiştir. Bitkilerin etanolik ekstraktlarının oksidasyonu önleyici etkileri büyükten küçüğe *Satureja hortensis* L., *Mentha piperita* L., *Mentha Spicata* L. ve *Melisa officinalis* L. olarak bulunmuştur. Oksidasyonu önleme etkinliği F faktörüyle belirlenmiştir. F faktörü, ekstraktlı ayçiçek yağının indüksiyon periyodunun, ekstraksız ayçiçek yağının indüksiyon periyoduna oranıdır. *Satureja hortensis* L. türünün etanol ekstraktının % 0.1-0.5 konsantrasyon aralığı için antioksidan etkinlik faktörü, F: 1.8-2.3 arasındadır. *Satureja hortensis* L., *Mentha piperita* L. ve *Melisa officinalis* L. türünün etanol ekstraktlarının % 0.5 ilaveli ayçiçek yağının F faktörleri sırasıyla, 2.0, 1.9 ve 1.5 olup, % 0.02 BHT katkılı ayçiçek yağının F faktöründen (F = 1.2) büyük olarak bulunmuştur (Marinova ve Yanishlieva, 1996). Fenoliklerce zengin bitki ekstraktlarının ayçiçek yağının oksidasyonunu önleme etkinliğini (F faktörü) artan dozla birlikte arttırdığı görülmektedir. F faktörü bu çalışmada koruma faktörüne (KF) karşılık gelmektedir. Bu çalışmada, fenolik madde içeriği zengin olan biberiye ve üzüm çekirdeği tozlarının çikolatanın KF değerlerini artan dozla (% 0.1'den % 0.8'e doğru) birlikte arttırdığı bulunmuştur.

Sıcaklığın OİS'ne etkisinin incelendiği çalışmada normal çikolatadan ekstrakte edilen yağın ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK ile 155 °C, 165 °C ve 175 °C'de elde edilen ON ve OİS değerleri Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Çizelge 4.21 : Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağın ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK ile 155 °C, 165 °C ve 175 °C'de elde edilen ON ve OİS değerleri.

	ÜÇT08		NÇ	
Sıcaklık (°C)	ON (dak)	OİS (dak)	ON (dak)	OİS (dak)
155	37	29.5	26.5	19
165	29	21.5	16.5	9
175	23	17	10.5	3

NÇ: Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ

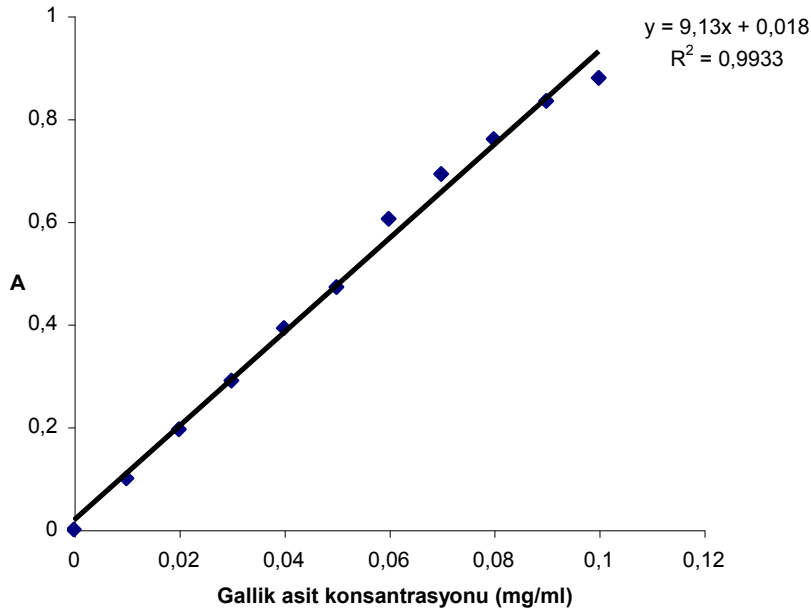
Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için, 155-165 °C’de ve 165-175 °C sıcaklık değerleri için (2.11)’e gre hesaplanan ortalama Q_{10} değerleri sırasıyla 1.268 ve 1.589 olarak bulunmuştur. Normal çikolatadan ekstrakte edilen yağ ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için (2.12)’ye gre için hesaplanan E_a değerleri ise sırasıyla 17.62 kkal/mol ve 9.05 kkal/mol olarak bulunmuştur. Literatürde, biberiye katkılı fındık fresi yağının Q_{10} ve E_a değerlerinin normal katkısız fındık fresi yağından daha düştük çıktığı bulunmuştur olup, yüksek sıcaklıktaki raf ömrü çalışmalarında elde edilen Q_{10} ve E_a değerlerinin düştük sıcaklıkta yürütülen raf ömrü alışmalarındakilerine göre daha düştük olduğu bildirilmektedir. rnek olarak, bir çalışmada 26.7-36.7 °C ve 100-110 °C sıcaklıklarında bulunan Q_{10} değerlerinin sırasıyla 2.26 ve 1.70 olduğu bildirilmiştir. Biberiyeli fındık fresi yağının ve normal fındık fresi yağının 145-165 °C’deki Q_{10} değerleri sırasıyla 1.35 ve 1.37; E_a değerleri ise sırasıyla 10.9 ve 11.43 kkal/mol olarak bulunmuştur (zelik, 1999). Bu çalışmada da, normal çikolata yağı ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata yağı için bulunan ortalama Q_{10} değerleri sırasıyla 1.589 ve 1.268; ortalama E_a değerleri ise sırasıyla 17.62 kkal/mol ve 9.05 kkal/mol olarak bulunmuştur. Q_{10} değerindeki artış, sıcaklıktaki her 10 °C artışın raf ömrünü azaltıcı etkisi olarak tanımlanmaktadır (zelik, 1999). Antioksidanlı yağ, sıcaklıktan daha az etkilenebileceğinden, antioksidanlı yağın düştük Q_{10} değerine sahip olması gerekmektedir. Bu çalışmada da, ÜÇT katkılı çikolata yağının Q_{10} ve E_a değerleri, normal çikolata yağınıninkilerden düştük bulunmuştur.

4.4 Antioksidan Aktivitesi

4.4.1 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Çikolata örneklerinde toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için gallik asit konsantrasyonu (mg GAE/ml) ile absorbands değerleri arasında grafik çizilmiş, gallik asit standart eğrisi elde edilmiştir (şekil 4.6). Çalışma iki tekrarlı ve iki paralelli yapılmıştır.

Çikolata rneklerinin toplam fenolik madde miktarlarının standart sapmalarıyla birlikte ortalama değerleri izelge 4.22’de verilmiştir.



Şekil 4.6 : Gallik asit standart eğrisi.

Çizelge 4.22 : Çikolata örneklerinin toplam fenolik madde miktarları.

	mgGA/ml	mg GA/g çikolata
NÇ	0.096±0.000	9.6±0.0
BT01	0.098±0.001	9.8±0.1
BT05	0.100±0.001	10.0±0.1
BT08	0.110±0.003	11.0±0.3
ÜÇT01	0.100±0.001	10.0±0.1
ÜÇT 05	0.107±0.001	10.7±0.1
ÜÇT 08	0.120±0.001	12.0±0.1

NÇ: Normal çikolata, BT01: % 0.1 BT katkıli çikolata, BT05: % 0.5 BT katkıli çikolata, BT08: % 0.8 BT katkıli çikolata, ÜÇT01: % 0.1 ÜÇT katkıli çikolata, ÜÇT05: % 0.5 ÜÇT katkıli çikolata, ÜÇT08: % 0.8 ÜÇT katkıli çikolata

Ayrıca, normal çikolatadan ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katkıli çikolatanın toplam fenolik madde miktarının incelendiği ikinci bir çalışmada elde edilen toplam fenolik madde miktarı ortalama değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelge 4.23 : Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkıli çikolatanın ortalama toplam fenolik madde miktarları

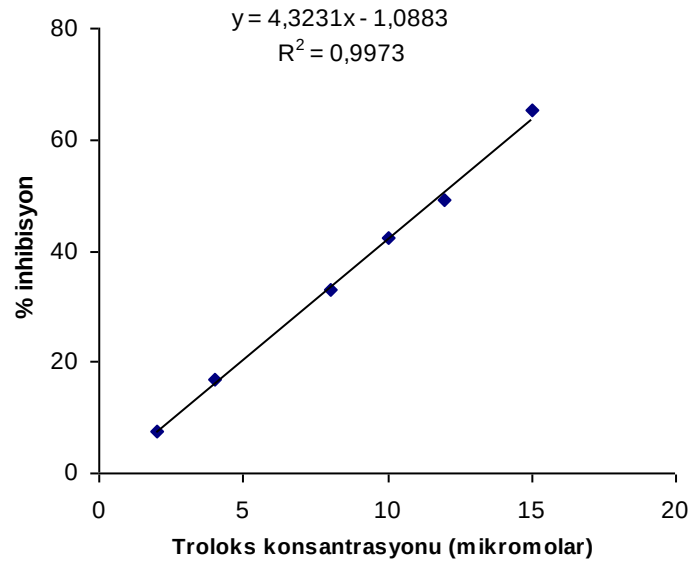
	mg GAE/ml	mg GAE/g çikolata
NÇ	0.089±0.00	8.9±0.0
BT08+ÜÇT08	0.198±0.001	19.8±0.1

NÇ: Normal çikolata, BT08 + ÜÇT08: % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkıli çikolata

Çikolata örneklerinin toplam fenolik madde miktarları sonuçları istatistiksel (tek yollu ANOVA yöntemi) olarak incelenmiş, sonuçlar Ek B.1’de Çizelge B.3’te verilmiştir. İstatistiksel sonuçlara göre, toplam fenolik madde miktarı için normal çikolata ile % 0.1 BT, % 0.5 BT, 0.1 ÜÇT katkılı çikolatalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamış ($p>0.05$), % 0.8 BT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan ikinci çalışma için, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT’nin birlikte katıldığı çikolatanın toplam fenolik madde miktarlarının birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. İstatistiksel sonuçlar, Ek B.1’de Çizelge B.4’te verilmiştir. Sonuçlara göre, çikolatanın toplam fenolik madde miktarının, artan BT ve ÜÇT dozuna bağlı olarak arttığı ve ÜÇT’nin çikolatada BT’den daha yüksek toplam fenolik madde miktarına neden olduğu da söylenebilir.

4.4.2 Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

Troloks standart antioksidan madde konsantrasyonu (μM Troloks) ile % İnhibisyon değerleri arasında çizilen Troloks standart eğrisi Şekil 4.7’de verilmiştir. Çalışma, iki tekrarlı ve iki paralelli yapılmıştır.



Şekil 4.7 : Troloks standart eğrisi.

Çikolata numunelerinin mg TE /g çikolata cinsinden elde edilen ortalama Troloks antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı değerleri Çizelge 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4.24 : Çikolata numunelerinin Troloks antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.

	mg TE /g çikolata	mg GAE /g çikolata
NÇ	21.65±1.00	9.6±0.0
BT01	24.50±0.50	9.8±0.1
BT05	27.03±1.00	10.0±0.1
BT08	32.86±1.00	11.0±0.3
ÜÇT01	27.40±0.30	10.0±0.1
ÜÇT05	28.90±0.80	10.7±0.1
ÜÇT08	37.69±0.60	12.0±0.1

NÇ: Normal çikolata, **BT01:** % 0.1 BT katkılı çikolata, **BT05:** % 0.5 BT katkılı çikolata, **BT08:** % 0.8 BT katkılı çikolata, **ÜÇT01:** % 0.1 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT05:** % 0.5 ÜÇT katkılı çikolata, **ÜÇT08:** % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Ayrıca, normal çikolatanın ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada bulunan ortalama TE antioksidan aktivitesi değerleri ve toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.25'te verilmiştir.

Çizelge 4.25: Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 08 ÜÇT katkılı çikolatanın antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.

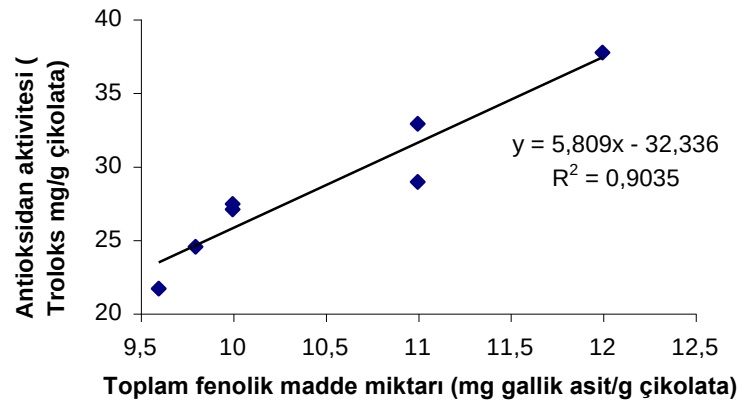
	Troloks eşdeğeri (mg/g çikolata)	mg GA/g çikolata
NÇ	17.45±0.9	8.9±0.0
BT08+ ÜÇT08	65.5±0.9	19.8±0.1

NÇ: Normal çikolata, **BT08 + ÜÇT08:** % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata

Çikolata örneklerinin TE antioksidan aktiviteleri sonuçları istatistiksel olarak (tek yönlü ANOVA) incelenmiş, sonuçlar Ek B.1'de Çizelge B.5'te verilmiştir. İstatistiksel sonuçlara göre, TE antioksidan aktivitesi için normal çikolata ile % 0.1 BT katkılı çikolata arasında önemli derecede farklılık bulunmamış ($p>0.05$), % 0.5 BT, % 0.8 BT, % 0.1 ÜÇT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan ikinci çalışma için, istatistiksel olarak normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın TE antioksidan aktivitesi değerlerinin birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. İstatistiksel

sonuçlar Ek B.1’de Çizelge B.6’da verilmiştir. Sonuçlara göre, çikolatanın antioksidan aktivitesinin artan BT ve ÜÇT dozuna bağlı olarak arttığı söylenebilir. Ayrıca, ÜÇT’nin çikolatada BT’den daha yüksek antioksidan aktivitesine neden olduğu söylenebilir.

Antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarı arasında korelasyon grafiği çizilmiş (Şekil 4.8), toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında lineer bir ilişki bulunmuştur.



Şekil 4.8 : Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında çizilen korelasyon grafiği.

4.4.3 Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesiyle ilgili literatürle sonuçların kıyaslanması

Miller ve diğ. (2006) çalışmasında, ABD’deki bazı bitter çikolataların toplam fenolik madde miktarlarını bildirmiştir. Buna göre, bitter çikolata için toplam fenolik madde miktarı 11.7’den 14.9 mg GAE/g çikolata aralığında değişmektedir. Cervellati ve diğ. (2008)’nin fabrika üretimi çikolata, el yapımı çikolata, biberiye katkılı el yapımı çikolata ve kırmızı biber katkılı el yapımı çikolatanın sırasıyla Folin-Ciocalteau ve Troloks yöntemiyle buldukları toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri sonuçları Çizelge 4.26’da verilmiştir.

Çizelge 4.26 : Fabrika üretimi, el yapımı, biberiye katkılı el yapımı ve kırmızı biber katkılı el yapımı çikolataların toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Çikolatalar	mg TE /g	mg GAE /g
Fabrika üretimi	20±2	13.2±0.8
El yapımı	33±3	15±1
Kırmızı biber katkılı el yapımı	35±7	15±1
Biberiye katkılı el yapımı	40±5	16±1

Çizelge 4.26'daki sonuçlardan el yapımı çikolataların fabrika yapımı çikolatalardan daha yüksek antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu görülmektedir. Biberiye el yapımı çikolatanın toplam fenolik miktarını ve antioksidan aktivitesini biraz arttırırken, kırmızı biberin etki etmediği görülmektedir. Bu tez çalışmasında elde yapılan bitter çikolatanın toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerleri ise sırasıyla 9.6 ± 0.0 mg GAE/g ve 21.65 ± 1.00 mg TE /g olarak bulunmuştur.

Amerika Gıda ve İlaç İdaresi'nin kakao ve çikolata ürünleri için genel olarak kabul ettiği tüketilen standart miktarları kakao tozu için 5 g; sütlü ve bitter çikolata için 40 g'dır. Yapılan bir çalışmada 40 g bitter ve sütlü çikolata için antioksidan aktiviteleri sırasıyla 9100 ve 3200 μ mol Troloks olarak bulunmuştur (Gu ve diğ. 2006). Literatürde bitter çikolata için bulunan 9100 μ mol Troloks/40 g antioksidan aktivitesi değeri 56.94 mg Troloks/g değerine karşılık gelmektedir. Başka bir çalışmada, kakao tozu, bitter ve sütlü çikolata için, toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 45.30, 11.73 ve 5.38 mg GAE/g; antioksidan aktiviteleri ise sırasıyla 720, 195.7 ve 72.3 μ mol TE /g olarak bulunmuştur (Miller ve diğ. 2006). Bitter çikolata için bulunmuş olan 195.7 μ mol TE/g antioksidan değeri 48.94 mg TE/g değerine karşılık gelmektedir. Bir diğer çalışmada, 100 g bitter çikolata için antioksidan aktivitesi değeri 13.1 mmol Troloks eşdeğeri /100 g olarak bulunmuş olup bu değer 32.78 mg TE /g'a karşılık gelmektedir. Bu tez çalışmasında yapılan bitter çikolata için antioksidan aktivitesi 21.65 ± 1.00 mg TE /g olarak bulunmuştur.

Başka bir çalışmada, 40 g çikolata (bir seferde tüketilen referans miktar) için toplam fenolik madde miktarları sütlü ve bitter çikolata için sırasıyla 394 mg ve 951 mg olarak bulunmuştur. 40 g çikolatanın toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin bir bardak kırmızı şarabın (240 ml: bir seferde tüketilen referans miktar) toplam fenolik madde içeriğine ve antioksidan aktivitesine eşdeğer olduğu bilinmektedir. Kırmızı şarabın 431 mg/240 ml, siyah çay 943 mg/240 ml, kakao tozunun (% 35 yağlı) kullanıldığı sıcak kakaonun ise 211 mg /5 g polifenolik madde içerdiği bilinmektedir (Vinson ve diğ. 1999). Bu çalışmada yapılan bitter çikolatanın ortalama toplam fenolik madde miktarı 9.60 mg GAE /g olarak bulunmuş olup bu değer 384 mg GAE / 40 g çikolata değerine karşılık gelmektedir. Bu çalışmada, bitter çikolata için bulunan toplam fenolik madde miktarı olan 384 mg GAE / 40g çikolata değeri bir bardak kırmızı şarabın toplam fenolik madde miktarına yakın değerdedir.

Diğer bir çalışmada, kakao tozu, bitter çikolata ve sütlü çikolatanın sırasıyla 42.5; 23.9; ve 9.9 mg fenolik madde /g çikolata içerdiği bulunmuştur (Vinson ve diğ. 2006).

Literatürdeki çeşitli çalışmalarda çikolata için belirlenen antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarlarının farklılık gösterdiği görülmektedir. Bu farklılık, kakao çekirdeklerinin kaynağına, çikolatanın formülasyonuna, konçlama sıcaklığı ve zamanı gibi proses koşullarına, analizde kullanılan ekstraksiyon çözücüsünün cinsine, ekstraksiyon prosedürüne ve toplam fenolik madde içeriğinin ifade edildiği fenolik bileşik maddenin cinsine (gallik asit, kateşin, askorbik asit v.b) bağlıdır (Cooper ve diğ. 2007). Örnek olarak, Waterhouse ve diğ. (1996), hacimce % 70 metanolle ekstraksiyon sonrası bitter çikolata için toplam fenolik madde miktarını 8.4 mg GAE/g olarak bulmuşken, aynı analiz metodunun kullanıldığı bu çalışmada ekstraksiyon işleminde hacimce % 70 aseton kullanılmış ve bitter çikolata için toplam fenolik madde miktarı 9.60 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar arasındaki farkın, ekstraksiyon çözücüsünün farklı olmasının yanında kakao çekirdeklerinin kaynağı, çikolatanın formülasyonu, konçlama sıcaklığı ve zamanı gibi proses koşullarının da farklı olabilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmelidir.

Bir çalışmada, literatürde farklı çalışmalara ait farklı ekstraksiyon prosedürleri ve farklı antioksidan aktivitesi analiz metotları kullanılarak kakao tozu, bitter çikolata, sütlü çikolata ve çeşitli çikolata ürünleri için elde edilen toplam fenolik madde miktarı sonuçları verilmiştir (Wollgast ve Anklam, 2000).

5. SONUÇ

Çikolata, kakao ürünleri ile şeker ve/veya tatlandırıcı; gerektiğinde süt yağı dışındaki hayvansal yağlar hariç olmak üzere diğer gıda bileşenleri ile süt ve/veya süt ürünleri ve katılmasına izin verilen katkı ve/veya aroma maddelerinin katılmasıyla hazırlanan kakao yağındaki kakao tanecikleri ve fosfolipitlerle kaplanmış şekerin süspansiyonudur (Anonim, 2008a; Afoakwa ve diğ. 2008b; Beckett, 1999).

Çikolata, başlıca bileşeni olan kakaodan gelen flavonoidler, flavan-3-oller, antosiyanidin, kateşin, epi-kateşin mono ve polimerleri gibi fenolik bileşikler içermesi nedeniyle antioksidan özelliğe sahiptir (Vinson ve diğ. 2006; Wollgast ve Anklam, 2000).

Besin değeri ve antioksidan aktivitesi nedeniyle sağlığa faydalı olan çikolataya, antioksidan aktivitesi yüksek olan biberiye tozu (BT) ve üzüm çekirdeği tozu (ÜÇT)'nin katılmasıyla hem farklı hem de yüksek antioksidan aktivitesine sahip çikolatanın üretilmesi düşünülmüştür.

Üretici tarafından, tüketici tarafından da talep gören uygun kalite özellikleri veya yüksek besin değerine veya antioksidan aktivitesine sahip, düşük maliyetli (reçete, proses tasarımı v.b. açısından) bir ürünün üretilmesi tercih edilmektedir. Bu nedenle çalışmada, BT ve ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonuna ya da erime özelliklerine ve reolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Çikolatanın kristalizasyonunun ve reolojik özelliklerinin incelenmesi birinci başarı ölçütüdür.

Çikolatanın uygun kristalizasyon ya da erime, parlaklık, sertlik, kırılgenlik ve duyuşal özellikleri gibi kalite özelliklerine sahip olması, kararlı kristal yapısına sahip olmasına bağılıdır. Çikolataya kararlı kristal yapısının kazandırılması proseste temperleme işleminle gerçekleştirilmektedir. Uygun olmayan temperleme işlemiyle parlak olmayan, çok sert, kırılgen ya da çok yumuşak, çabuk eriyen ve istenmeyen duyuşal özelliklere sahip çikolata üretilmiş olmaktadır.

Çikolatanın kaplama, kalıplama ve duyuşal özelliklerinin istenilen şekilde sağlanabilmesi, pompalama, karıştırma, ısıtma ile ilgili proses tasarımlarının ve bu

özelliklere bağı olarak üretimde maliyet ayarlamalarının yapılabilmesi için reolojik özellikler önem taşımaktadır. Örnek olarak yüksek plastik viskozite ve akma gerilimi değerlerine sahip olan çikolata gıdanın üzerinde kolay yayılmayarak homojen şekilde kaplanmaz ve bu çikolatanın pompalanması, karıştırılması ve ısıtılması daha fazla enerji gerektirir. Bu, çikolatanın duysal özelliğini olumsuz yönde, maliyetini ise arttırıcı yönde etkilemektedir.

Uygun kristalizasyon ve reolojik özelliklerin oluşturulmasıyla, çikolatanın raf ömrünün korunması ya da uzatılması sağlanmış olmaktadır. Ancak, gıdaların raf ömrünü kısaltan en önemli nedenlerden biri işleme ya da depolama sırasındaki oksidasyondur. Özellikle depolama sırasında gıdaların uygun olmayan sıcaklık, ışık, nem koşullarına, oksijen ve demir, bakır, v.b. metallere maruz kalmasıyla doymamış yağların oksidasyonu sonucunda oluşan serbest yağ asitleri, ketonlar ve aldehitler nedeniyle gıdaların tadında, kokusunda, renginde, yapısında bozulmalar meydana gelmektedir. Gıdaların oksidasyonunun önlenemediği durumlarda gıdalara antioksidan ilavesi yapılmaktadır. Çalışmada BT ve ÜÇT'nin çikolatanın raf ömrüne etkisinin incelenmesi ikinci başarı ölçütü iken antioksidan aktivitesine etkisinin incelenmesi üçüncü başarı ölçütüdür.

Çalışmada, çikolatada duysal uygunluğu bozmayan en yüksek katkı dozunun belirlenmesi amacıyla çikolataya çeşitli dozlarda (% 0.1, % 0.5, % 0.8 ve % 1.0) BT ya da ÜÇT katılmış ve çikolatalar tadılmıştır. % 1.0 BT ya da ÜÇT'nin çikolatada keskin bir koku ve tat oluşturduğu görüldüğünden çikolatada kullanılacak en yüksek katkı dozu % 0.8 olarak belirlenmiştir.

Çeşitli dozlarda BT ya da ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonuna etkisinin incelendiği çalışmada elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak tek yöllü ANOVA yöntemiyle incelenmiş, kristalizasyon parametreleri (T_o , T_p , T_e , ΔH ve $T_e - T_o$) için, normal çikolata ile BT ya da ÜÇT katkılı çikolatalar arasında önemli derecede bir farklılığın olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür. Bu bulguyla, çalışılan dozlardaki BT ve ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonunu başka bir deyişle erime özelliklerini dolayısıyla temperlemesini etkilemediği ortaya konulmuştur. Çalışmada, çikolatanın T_o , T_p , T_e , ($T_e - T_o$) ve ΔH_e değerleri sırasıyla 26.75 ± 1.06 , 32.81 ± 0.26 , 34.72 ± 0.62 , 7.97 ± 0.55 °C, 43.07 ± 0.64 J/g olarak bulunmuş olup literatürdeki değerlere yakındır. Örnek olarak, Afoakwa ve diğ. (2009b), çikolatanın depolama zamanı ile erime özellikleri arasındaki ilişkiyi DTK ile incelemiş ve T_e değerlerini 0, 24, 48, 72,

96 saat depolama süreleri için sırasıyla yaklaşık 28.7; 32.4; 33.0; 35.3; 35.7 °C olarak bulmuşlardır. Ayrıca, temperleme sonrası depolama öncesindeki 18 µm partikül boyutlu çikolatanın T_o , T_e , T_p ve ΔH_e değerleri, yaklaşık 22.8, 28.9, 27.2 °C ve 35.56 J/g iken, 96 saat depolama süresindeki değerleri sırasıyla yaklaşık 27.4, 35.2, 33.8 °C ve 40.63 J/g olarak bulunmuştur.

Çikolata örneklerinin reolojik davranışı, 40, 50 ve 60 °C’lerde Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modelleri kullanılarak modellenmiştir. Reolojik ölçümlerde, çikolata örneklerinin reolojik parametrelerinin korelasyon sayılarının 1’e yakın olduğu, dolayısıyla akış davranışlarının Bingham plastik, Herschel-Bulkley ve Casson modellerine uygun olduğu görülmüştür. BT ve ÜÇT’nin sabit sıcaklıkta, çikolatanın plastik viskozite ve akma gerilimi değerlerine etki etmediği ve sıcaklıkla plastik viskozite değerlerinde azalma görülmüştür. Plastik viskozite, artan sıcaklıkla genellikle düşmektedir (Steffe, 1996). Sıcaklığın çikolatanın plastik viskozitesine etkisi, normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata kullanılarak Arrhenius denklemiyle **(2.8)** modellenmiş, normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için E_a değerleri sırasıyla 28.76 ve 29.64 kJ/kg.mol olarak bulunmuştur. Yüksek E_a değeri, plastik viskozitenin sıcaklıkla daha çok değişmesi demektir (Steffe, 1996). Çalışmadaki normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata için bulunan E_a değerleri birbirine yakın olduğundan, bu iki çeşit çikolatanın plastik viskozitelerinin sıcaklıkla değişimlerinin birbirine yakın değerlerde olacağı düşünülmelidir. Normal çikolata ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın sabit sıcaklıktaki plastik viskozite değerlerinin birbirinden önemli derecede farklı olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada yapılan çikolatanın (% 36.82 yağ) 40 °C’deki Casson plastik viskozite ve akma gerilimi değerleri sırasıyla 0.68 Pa.s ve 6.09 Pa olarak bulunmuştur. Yağ katkısının bitter çikolatanın kristalizasyonuna etkisinin incelendiği bir çalışmada ise, % 35 yağlı bitter çikolata için 28.2 °C’deki Casson-Steiner plastik viskozite ve akma gerilimi ortalama değerleri sırasıyla 1.65 Pa.s ve 6.18 Pa olarak bulunmuştur (Loisel ve diğ. 1998). Değerler literatürle yakınlık göstermekte olup, değerler arasındaki farklılık çikolatanın yağ oranının ve ölçüm sıcaklığının yüksek olması, reolojik modelin farklılığı ve reçetenin farklı olabilmesinden kaynaklanabilir.

Çalışmada, BT ve ÜÇT’nin çikolatanın raf ömrüne etkisi Schaal Fırın Testi ve DTK ile incelenmiştir. 30, 40 ve 50 °C’de yapılan Schaal Fırın Testinde sabit sıcaklıkta her bir çikolata örneği için zaman arttıkça ortalama PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerinin

arttığı, sabit sıcaklık ve sabit zamanda, çikolataya katılan BT ve ÜÇT'nin ve katkı dozu artışının çikolatanın ortalama PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerini etkilemediği bulunmuştur. Schaal Fırın Testinde, 100.gün sonunda tüm çikolata numuneleri için 30, 40 ve 50 °C 'deki ortalama PD'leri 2.67, 2.95 ve 3.25 mek peroksit /kg yağ; ortalama p-AnD'leri sırasıyla 2.14, 2.42 ve 2.73; ortalama TOTOKS değerleri ise sırasıyla 7.47, 8.35 ve 9.26 civarında bulunmuştur. Her bir çikolata örneği için sabit zamanda, sıcaklık arttıkça ortalama PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerinin arttığı görülmüştür.

Çikolata örneklerinin 30, 40 ve 50 °C sıcaklıklarda 100.gün sonunda, yağların bozulduğunu gösteren PD olan 10 mek peroksit/kg yağ değerine ulaşmadığı ve çikolata örneklerinin PD, p-AnD ve TOTOKS değerlerinin zamanla ya da sıcaklıkla çok hızlı artmadığı görülmüştür. Bu da bitter çikolata ve diğer çeşitli dozlarda BT ya da ÜÇT katkılı çikolataların bozulmasının 30, 40 ve 50 °C sıcaklıklarında ve depolama zamanı olan 100 günde kolay olmadığını göstermektedir. Literatürde, beyaz çikolatanın 20 °C'de ve % 65 bağıl nemde depolanmasında 15 aydan fazla depolama süresinde ancak 9.5 mek peroksit / kg yağ PD'ne ulaştığı bildirilmiştir (Vercet, 2003). Bitter çikolatanın sütlü çikolatadan daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu ve süt tozu içermediğinden daha uzun sürede bozulabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada bitter çikolatanın 100. gün sonunda bozulmaması literatüre uygundur.

Çikolatanın raf ömrüne BT ve ÜÇT'nin etkisinin 165 °C ve 60 dak'da DTK ile incelenmesinde, DTK grafiğinde herhangi bir pik oluşmamıştır. Buna bağlı olarak, % 0.8 oranında BT ve % 0.8 ÜÇT katkılı iki çeşit kakao yağının oksidasyonu DTK ile incelenmiştir. DTK grafiğinden, kakao yağının ortalama ON değerinin 16.0 dak olduğu, % 0.8 oranında BT ve % 0.8 oranında ÜÇT katkılı iki çeşit kakao yağının ortalama ON değerlerinin ise 30 dak olduğu bulunmuştur. Piklerin kakao yağıyla yapılan oksidasyon çalışmasında görülmesi sebebiyle, DTK'da BT ve ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilen yağların oksidasyonunun ölçülmesi düşünülmüştür. Çikolata, % 0.1 BT, % 0.5 BT, % 0.8 BT ve % 0.1 ÜÇT, % 0.5 ÜÇT, % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatalardan ekstrakte edilmiş yağların ortalama OİS değerlerinin sırasıyla 9.0 dak, 16.5 dak, 18 dak, 20 dak, 17 dak, 18.5 dak ve 21.5 dak olduğu bulunmuştur. Ayrıca, yapılan bir diğer denemede, çikolatadan ekstrakte edilen yağ ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için ortalama OİS

değerleri sırasıyla 10.0 dak ve 37 dak olarak bulunmuştur. BT ve ÜÇT'nin artan katkı dozlarında çikolatanın OİS'ni ve KF'nü arttırdıkları görülmüştür. ÜÇT'nin OİS ve KF değerleri üzerine etkisinin BT'ninkinden biraz daha yüksek olduğu görülmüştür. Bir çalışmada, çeşitli çözügenlerle (dietileter, etanol, aseton, hegzan, metanol) biberiyeden elde edilmiş ekstraktların, fındık fûresinin OİS ve KF değerlerini katkı dozu arttıkça (200, 400, 600, 1000 ve 2000 ppm) arttırdıkları bulunmuştur (Özçelik, 1999). Ayrıca, biberiye tozunun sığır köftesi ve domuz kıyması gibi et ürünlerinin raf ömrünü arttırdığı bildirilmiştir (Sanchez-Escalante ve diğ. 2001; Martinez ve diğ. 2007). Literatürde üzüm çekirdeğinin bir gıdanın raf ömrüne etkisinin DTK ile incelendiği bir çalışma bulunmadığından bu çalışmada elde edilen üzüm çekirdeği tozu ilave edilmiş çikolataların yağlarının OİS ve KF değerleri literatürle kıyaslanamamıştır. Ancak, üzüm çekirdeği de diğer birçok bitki ve baharatlar gibi yüksek fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesine sahiptir (Banon ve diğ. 2007; 200Karadeniz ve diğ. 2000; Negro ve diğ. 2003; Yılmaz ve Toledo, 2006; Jayaprakasha ve diğ. 2001; Jayaprakasha ve diğ. 2003; Rice- Evans ve diğ. 1997; Pekić ve diğ. 1997; Baydar ve diğ. 2003; Gabetta ve diğ. 2000; Kennedy ve diğ. 2000). Kateşinlerce zengin yüksek fenolik madde içeriğine sahip yan ürün olan kakao kabuğu, kakao yaprağı, çay yaprağı ekstraktlarının ilave edildiği ayçiçek yağının 8 gün 65 °C'ye maruz bırakıldığı bir çalışmada ayçiçeği yağının raf ömrünü uzattıkları bulunmuştur (Osman ve diğ. 2004). Bu çalışmada da kateşinlerce zengin üzüm çekirdeği tozunun çikolatanın raf ömrünü uzattığı bulunmuştur.

Sıcaklığın OİS'ne etkisi, normal çikolata ve % 0.8 katkılı çikolata kullanılarak, DTK'da incelenmiş, 155 °C, 165 °C ve 175 °C'deki OİS'nin çikolatadan ekstrakte edilen yağ için sırasıyla 19 dak, 9 dak ve 3 dak ve % 0.8 katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için sırasıyla 29.5 dak, 21.5 dak ve 17 dak olduğu bulunmuştur. Sıcaklık arttıkça OİS'nin azaldığı, bir başka deyişle raf ömrünün azaldığı görülmüştür. Çalışmada, 155-165 °C'de ve 165-175 °C'de hesaplanan ortalama Q_{10} değerleri çikolatadan ekstrakte edilen yağ ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağ için sırasıyla 1.589 ve 1.289 olarak; E_a değerleri ise sırasıyla 17.62 kkal/mol ve 9.05 kkal/mol olarak bulunmuştur. Bir çalışmada, biberiyeli fındık fûresi yağının ve normal fındık fûresi yağının 145-165 °C'deki ortalama Q_{10} değerleri sırasıyla 1.35 ve 1.37; E_a değerleri ise sırasıyla 10.9 ve 11.43 kkal/mol olarak bulunmuş olup normal

findık füresi yağının Q_{10} ve E_a değerlerinin antioksidanlı findık füresi yağından daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Özçelik, 1999).

Çikolataların toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemiyle incelenmiştir. Normal çikolata, % 0.1, % 0.5 ve % 0.8 BT ve % 0.1, % 0.5 ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 9.60 ± 0.0 , 9.80 ± 0.1 , 10.0 ± 0.1 , 11.0 ± 0.3 ve 10.0 ± 0.1 , 10.7 ± 0.1 , 12.0 ± 0.1 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatayla yapılan diğer bir çalışmada, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 8.9 ± 0.0 ve 19.8 ± 0.1 mg GAE/g olduğu bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarının BT veya ÜÇT katkı dozu yüksek olan çikolatalarda yüksek olduğu, ÜÇT'nin BT'den daha yüksek toplam fenolik madde miktarına neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, çikolata, % 0.1, % 0.5 ve % 0.8 BT ve % 0.1, % 0.5 ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların Troloks antioksidan aktivitesi 21.65 ± 1.00 , 24.50 ± 0.50 , 27.03 ± 1.00 , 32.86 ± 1.00 , 27.40 ± 0.30 , 28.90 ± 0.80 ve 37.69 ± 0.60 mg TE/g olarak bulunmuştur. Normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatayla yapılan diğer bir çalışmada, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatanın Troloks antioksidan aktivitelerinin sırasıyla 17.45 ± 0.90 ve 65.50 ± 0.90 mg TE/g olduğu bulunmuştur. Çikolatanın antioksidan aktivitesinin BT ve ÜÇT'nin katkı dozu arttıkça arttığı görülmüştür. Çikolataların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri istatistiksel olarak ANOVA tek yönlü istatistiksel yöntemiyle incelenmiştir. İstatistiksel olarak, toplam fenolik madde miktarı için, normal çikolata ile % 0.1 BT, % 0.5 BT, % 0.1 ÜÇT katkılı çikolatalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamış ($p > 0.05$), % 0.8 BT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Yapılan diğer çalışmada için, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın toplam fenolik madde miktarlarının istatistiksel olarak birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p < 0.05$) bulunmuştur. Sonuçlara göre, çikolatanın toplam fenolik madde miktarının, artan BT ve ÜÇT dozuna bağlı olarak artış eğilimi gösterdiği ve ÜÇT'nin çikolatada BT'den daha yüksek toplam fenolik madde miktarına neden olduğu söylenebilir.

Antioksidan aktivitesi değerlerinin istatistiksel sonuçlarına göre, TE antioksidan aktivitesi değeri için, normal çikolata ile % 0.1 BT katkılı çikolatalar arasında önemli

derecede farklılık bulunmamış ($p>0.05$), % 0.5 BT, % 0.8 BT, % 0.1 ÜÇT, % 0.5 ÜÇT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolataların normal çikolatadan önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Yapılan diğer çalışmada, normal çikolata ve % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın TE antioksidan aktivitesi değerlerinin birbirinden önemli derecede farklı olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. Sonuçlara göre, çikolatanın antioksidan aktivitesinin artan BT ve ÜÇT dozuna bağlı olarak artış eğilimi gösterdiği ve ÜÇT'nin çikolatada BT'den daha yüksek antioksidan aktivitesine neden olduğu söylenebilir.

Antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik madde miktarları arasında çizilen korelasyon grafiğinden, toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında lineer bir ilişki olduğu görülmüştür. Literatürde, antioksidan aktivitesinin toplam fenolik madde miktarıyla birlikte arttığını bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Beer ve diğ. 2005; Minussi ve diğ. 2003; Soong ve Barlow, 2004). Bu çalışmada bitter çikolata için bulunan toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi değerleri literatürdeki değerlere yakınlık göstermektedir. Örnek olarak bir çalışmada el yapımı bitter çikolata için toplam fenolik madde miktarı ve Trolox antioksidan aktivitesi sırasıyla 15.0 ± 1 mg GAE/g ve 33.0 ± 3 mg TE/g olarak; % 0.02 oranında BT katkılı bitter çikolatanın toplam fenolik madde miktarı ve TE antioksidan aktivitesi ise sırasıyla 16.0 ± 1 mg GAE/g ve 40.0 ± 5 mg TE/g olarak bulunmuştur. Literatür ve bu çalışmada toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitesi değerleri arasında görülen farklılık, kakao çekirdeklerinin kaynağı, çikolatanın formülasyonu, konçlama sıcaklığı ve zamanı gibi proses koşulları, analizde kullanılan ekstraksiyon çözücüsünün cinsi, ekstraksiyon prosedürü ve toplam fenolik madde miktarının ifade edildiği fenolik bileşiğin cinsi (gallik asit, kateşin, askorbik asit v.b.)'nden kaynaklanabilmektedir (Cooper ve diğ. 2007).

Bu çalışmanın sonucunda, BT ve ÜÇT'nin çikolatanın kristalizasyonunu ve reolojik özelliklerini etkilemediği; DTK'deki ölçümlerde artan katkı dozlarında OİS'nde artışa neden olduğu dolayısıyla raf ömrünü uzattığı; artan katkı dozlarında toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin artış eğilimi gösterdiği bulunmuştur. Çikolatanın kristalizasyonunun ve reolojik özelliklerinin BT ya da ÜÇT katkısıyla değişmemesi, katkılı çikolataların üretiminde pompalama, ısıtma v.b. gibi proses aşamalarında ilave bir enerjiye gereksinim duyulmayacağını dolayısıyla

Üretimin maliyetinin artmayacağını göstermektedir. Bu çalışmayla, kristalizasyon ve reolojik özellikleri etkilemeyen, raf ömrü uzun, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi yüksek olan yeni çeşit biberiye ve üzüm çekirdeği tozlu ikolatalar üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Adamson, G. E., Lazarus, S. A., Mitchell, E. E., Prior, R. L., Cao, G., Jacobs, P. H., Kremers, B. G., Hammerstone, J. F., Rucker, R. B., Ritter, K. A. and Schmitz, H. H.,** 1999: HPLC Method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 4184-4188.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., and Fowler, M.,** 2007: Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate-a review, *Trends in Food Science and Technology*, **18**, 290-298.
- Afoakwa, E. O., Paterson, M. F., and Vieira, J.,** 2008a. Relationship between reological, textural and melting properties of dark chocolate as influenced by particle size distributon and composition. *Eur. Food Ses. Technol.*, **227**, 1215-1223.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., and Vieira, J.,** 2008b. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry, *Food Research International*, **41**, 751-757.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., and Vieira, J.,** 2009a: Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates, *Journal of Food Engineering*, **91**, 571-581.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., and Vieira, J.,** 2009b: Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. *Food Research International*, **42**, 200-209.
- Ahn, H. S., Jeon, T. I., Lee, J. Y., Hwang, S. G., Lim, Y. and Park, D. K.,** 2002: Antioxidative activitiy of persimmon and grape seed extract: in vitro and in vivo, *Nutrition Research*, **22**, 1265-1273.
- Ali, A., Selamat, J., Che Man, Y. B., and Suria, A.M.,** 2001: Effect of storage temperature on texture, polymorphic structure, bloom formation and sensory attributes of filled dark chocolate, *Food Chemistry*, 491- 497.
- Allen, J.C., and Hamilton, R. J.,** 1983: *Rancidity in Food*, Applied Science Publishers, London.
- Altuğ, T.,** 2001: *Gıda Katkı Maddeleri*, 17-38, Meta Basım, Bornova, İzmir.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M.,** 1993: Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**, 7915-7922.
- Anonim,** 1986a: Preservatives: Antioxidants, *Food Technology*, 94-102.

- Anonim**, 1986b: TS-4964 Hayvansal Bitkisel Yağlar Peroksit Sayısı, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim**, 1990: TS 7800, Çikolata, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim**, 1995: AOAC Official Method 965.33 peroxide value of oils and fats, Washington:ACS Publication.
- Anonim**, 1996 (1/Şubat 1996): TS 1227-ISO 3310. Deney elekleri- Teknik özellikler ve deneyler-Kısım 1: Tel örgülü deney elekleri.
- Anonim**, 1998: Her yönüyle kakao ve çikolata, *Un Mamulleri Dünyası*, 98-1:125-126.
- Anonim**, 2001: Sekizinci beş yıllık kalkınma planı, 2001 yılı programı destek çalışmaları: Ekonomik ve sosyal sektördeki gelişmeler.
- Anonim**, 2002: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Gıda Katkı Maddeleri, *Resmi Gazete* Tarih:25 Ağustos 2002, Resmi Gazete Sayısı 24857.
- Anonim**, 2003: TS 11126, Kurutulmuş Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), Nisan 2003.
- Anonim**, 2006: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Şeker Tebliği, *Yayımlandığı R. Gazete*: 23.08.2006-26268, Tebliğ no: 2006/40.
- Anonim**, 2008a: TS 7800, Çikolata, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim**, 2008b: Renklendiriciler Ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması hakkında Tebliğ, *Yayımlandığı R. Gazete*: 31.12.2008-27097, Tebliğ no: 2008/69.
- Anonim**, 2009: <<http://www.bitkisel-tedavi.com>, alındığı tarih 13.10.2009.
- Arts, I. C. W., Hollman, P.C.H. and Kromhout, D.**, 1999: Chocolate as a source of tea flavonoids, *The Lancet*, 354, 488.
- Baba, S., Natsume, M., Yasuda, A., Nakaruma, Y., Tamura, T., Osakabe, N., Kanegae, M. and Kondo, K.**, 2007: Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder, *Journal of Nutrition*, 137, 1436-1441.
- Baicho, N., MacNaughtan, W., Mitchell, J. R. and Farhat, I. A.**, 2006: STEPSCAN Differential Scanning Calorimetry Study of the Thermal Behavior of Chocolate, **1**, 169-177.
- Balasundaram, N., Sundram, K. and Saman, S.**, 2006: Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products:Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, **99**, 191-203.
- Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M. Garrido, M. D. and Price, A.**, 2007: Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties, *Meat Science*, **77**, 626-633.
- Baydar, N. G., Özkan, G. and Sağdıç, O.**, 2003: Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts, *Food Control*, Article In Press.

- Beckett**, 1999: *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, Third edition, Published by Blackwell Science, United Kingdom.
- Beer, D., Elizabeth, J., Gelderblom, W. C. A and Manley, M.**, 2005: Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines and selected phenolic compounds: In vitro inhibition of microsomal lipid peroxidation, *Food Chemistry*, **90**: 569-577.
- Belitz, H. D. and Grosch, W.**, 1987: *Food Chemistry*, Springer-Verlag. Berlin.
- Bernard W., and Minifie**, 1989: *Chocolate, Cocoa, and Confectionery*, Chapman and Hall, International Thomson Publishing Company, NewYork, USA.
- Bolliger, S., Breitschuh, B., Stranzinger, M., Wagner, T. and Windhab, E. J.** 1998: Comparison of Precrystallization of Chocolate, *J. of Food Engineering*, **35**, 281-297.
- Bozkurt, H. and Göğüş, F.**, 1997: *Food Quality Control Laboratory Manual*, Gaziantep Üniversitesi, Türkiye.
- Briggs, J. L., and Wang, T.**, 2004: Influence of Shearing and Time on the Rheological Properties of milk Chocolate During Tempering, *J. AOCS*, **81** (2), 117-121.
- Bruinsma, K. and Taren, D. L.**, 1999: Chocolate: Food or drug? *Journal of the American Dietetic Association*, **99** (10), 1249-1256.
- Buck, D. F.**, 1991: *Food Additive Users Handbook*, AVI Publishers, New York 1-46.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L.**, 1996: Antioxidant capacity of tea and common vegetables, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3426-3431.
- Cervellati, R., Greco, E., Costa, S., Guerra, M. C., and Speroni, E.**, 2008: A comparison of antioxidant properties between artisan-made and factory-produced chocolate, *Int. Journ. Of Food Sci. and Tech.*, **43**, 1866-1870.
- Charalambous, G.**, 1993: *Shelflife Studies of Foods and Beverages*, Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects, Elsevier Science Publishers B. V., Holland.
- Cidell, J. L., and Alberts, H. C.**, 2006: Constructing quality: The multinational histories of chocolate, *Geoforum*, **37**, 999-1007.
- Cooper, K. A., Campos-Gimenes, E., Jimenez Alvarez, D., Nagy, K., Donovan, J. L., and Williamson, G.**, 2007: Rapid reversed phase ultra performance liquid chromatography analysis of the major cocoa polyphenols and inter-relationships of their concentration in chocolate, *Journ. Of Agric. and Food Chem.*, **55**, 2841- 2847.
- Counet, C., Callemien, D., Ouwerx, C., and Collin, S.**, 2002: Use of Gas Chromatography-Olfactometry To Identify Key Odorant Compounds in Dark Chocolate, Comparison of Samples before and after Conching, *J. of Agric. Food Chem.*, **50** (8), 2385-2391.

- Debaste, F., Kegelaers, Y., Liegeois, S., Amor, H. B., and Halluin, V.,** 2008: Contribution to modelling of chocolate tempering process, *J. of Food Engineering*, **88**, 568-575.
- Foubert, I., Vanrolleghem, P. A., and Dewettinck, K.,** 2003: A differential scanning calorimetry method to determine the isothermal crystallization kinetics of cocoa butter, *Thermochimica Acta*, **400**, 131-142.
- Gabetta, B., Fuzzati, N., Griffini, A., Lolla, E., Pace, R., Ruffilli, T. and Peterlongo, F.,** 2000: Characterization of proanthocyanidins from grape seeds, *Fitoterapia*, **71**, 162-175.
- Gu, L., House, S. I., Wu, X., Ou, B., and Prior, R. L.,** 2006: Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products, *Journ. Agric. And Food Chem.*, **54**, 4057-4061.
- Hausteen, B. H.,** 2002: The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacology and Therapeutics*, **96**, 67-202.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., and Bobilya, D. J.,** 2002: Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J. of Nutritional Biochemistry*, **13**, 572-584.
- Heiss, C., Dejam, A., Kleinbongard, P., Schewe, T., Sies, H. and Kelm, M.,** 2003: Vascular effects of cocoa rich in flavan-3-ols, *J. of American Medical Association*, **290**, 1030-1031.
- Hung, S. S. O. and Slinger, S. J.,** 1981: Studies of chemical methods of assessing the oxidative quality and storage stability of feeding oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **58**, 785-788.
- Hurst, W. J., Glinski, J. A., Miller, K. B., Apgar, J., Davey, M. H., and Start, D. A.,** 2008: Survey of the trans-Resveratrol and trans-Piceid Content of Cocoa-Containing and Chocolate Products, *J. Agric. Food Chem.*, **56** (18), 8374-8378.
- J-Essien, W. A., West, G., Alderson, P. G., and Tucker, G.,** 2008: Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans, *Food Chemistry*, **108**, 1155-1159.
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., and Sakariah, K. K.,** 2001: Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro, *Food Chemistry*, **73**, 285-290.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., and Sakariah, K. K.,** 2003: Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts, *Food Research International*, **36**, 117-122.
- Jeffrey, M. S.,** 1993: Key functional properties of sucrose in chocolate and sugar confectionery, *Food Technology*, **47**(1), 141-144.
- Jonsson, I.,** 1991: Thermal degradation of carotenoids and influence of their physiological functions, In M. Friedman (Ed.), *Nutrition and toxicological consequences of food processing*, 75-82, Plenum Press, New York, USA.

- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., and Bauer, F.,** 2007: The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork, *LWT*, **40**, 324-330.
- Karadeniz, F., Durst, R. W., and Wrolstad, R. E.,** 2000: Polyphenolic composition of raisins, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **48**, 5343-5350.
- Karpinska, M., Borowski, J., and Danowska-Oziewicz, M.,** 2001: The use of natural antioxidants in ready-to-serve food, *Food Chemistry*, **72**, 5-9.
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., and Waterhouse, A. L.,** 2000: Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening, *Phytochemistry*, **55**, 77-85.
- Keskin, H.,** 1987: *Besin Kimyası*, Cilt:1, s: 163-170, Güryay Matbaacılık
- Khokhar, S., and Magnusdottir, S. G. M.,** 2002: Total phenol, catechin and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 565-570.
- Kofink, M., Papagiannopoulos, M., and Galensa, R.,** 2007: (-)-Catechin in cocoa and Chocolate: Occurrence and Analysis of an Atypical Flavan-3-ol Enantiomer, *Molecules*, **12**, 1274-1288.
- Kowalski, B., Gruczynska, E., and Maciaszek, K.,** 2000: Kinetics of rapeseed oil oxidation by pressure differential scanning calorimetry measurements, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 337-341.
- Kris-Etherton, and Keen, C. L.,** 2002: Evidence that the antioxidant flavanoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health, *Current Opinion in Lipidology*, **13**: 41-49.
- Lacroix, M., Smoragicz, L., Pazdernik, M., Kone, M. I., and Krzystyniak, K.,** 1998: Prevention of lipid radiolysis by natural antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.), *Food Research International*, **30** (6), 457-462.
- Lagrange, V., and Payne, T. J.,** 1988: Shelf life extension of food products containing raisins and raisin products, *Cereal Foods World*, **33** (2), 211-214.
- Litvinienko, G., Daniluk, A., and Kasprzycka-Guttman, T.,** 1999: A Differential Scanning Calorimetry Study on the Oxidation of C₁₂-C₁₈ Saturated Fatty Acids and Their Esters, *J. AOAC*, **76** (6), 655-657.
- Loisel, C., Lecq, G., Keller, G. and Ollivon, M.,** 1998: Dynamic Crystallization of Dark Chocolate as Affected by Temperature and Lipid Additives, *J. Of Food Science*, **63** (1), 73-79.
- Lokumcu,** 2000: Tahinin Reolojik Karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*.
- Luo, X. D., Basile, M. J., and Kennelly, E. J.,** 2002: Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 1379-1382.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Billot, J.,** 1990: *Fruit phenolics*, Florida, USA: CRC Press, Inc..

- Macrea, R., Robinson, R. K., and Sadler, M. J.,** 1993: Encyclopedia of Food Science, *Food Technology and Nutrition*, 217-237, Academic Press, New York.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., and Salunkhe, D.K.,** 1996: Food Antioxidants: Technological, *Toxicological and Health Perspectives*, Marcel Dekker, Inc. USA.
- Makoto, T., Takano, H., Osakabe, N., Yasuda, A., Inoune, K., Yanagisawa, R., Ohwatari, T. and Uematsu, H.,** 2007: Dietary supplementation with cacao liquor proanthocyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice, *Nutrition*, **23**, 351-355.
- Marinova, E. M., and Yanishlieva, N. V.,** 1996: Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil, *Food Chemistry*, **58** (3), 245-248.
- Martinez, L., Cilla, I., Beltran, J. A., and Roncales, P.,** 2007 : Effect of illumination on the display life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere, Influence of the addition of rosemary, ascorbic acid and black pepper, *Meat Science*, **75**, 443-450.
- Mazza, G.,** 1995: Anthocyanins in grapes and grape products, *Critical Review of Food Science and Nutrition*, **35**, 341-371.
- Mazzanti, G., Guthrie, S. E., Sirota, E. B., Marangoni, A. G., and Idziak, S. H. J.,** 2003 : Orientation and Phase Transition of Fat Crystals under Shear, *Crystal Growth and Design*, **3** (5), 721-725.
- Meyer, A. S., Yi, O., Pearson, D. A., Waterhouse, A., and Frankel, E.,** 1997: Inhibition of human low- density lipoprotein oxidation in relation to phenolic antioxidants in grapes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 1638-1643.
- Miller, K. B., Stuart, D. A., Smith, N. L., Lee, C. Y., McHale, N. L., Flanagan, J. A., Ou, B. and Hurst, W. J.,** 2006: Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States, *J. Agric. Food Chem.*, **54** (11), 4062-4068.
- Minifie, B. W.,** 1989: *Chocolate, Cocoa, And Confectionery: Science and Technology*, Third Edition, Chapman and Hall, New York.
- Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M. and Duran, N.,** 2003: Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines, *Food Chemistry*, **82**, 409-416.
- Monotti, C.,** 2008: Future chocolate market growth in four EU countries, *British Food Journal*, **110** (7), 671-690.
- Murcia, M. A., Egea, I., Romojaro, F., Parras, P., Jimenex, A. M., and Martinez-Tome, M.,** 2004: Antioxidant Evaluation in Dessert Spices Compared with Common Food Additives. Influence of Irradiation Procedure, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 1872-1881.

- Negro, C., Tommasi, L., and Miceli, A.,** 2003: Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts, *Bioresource Technology*, **87**, 41-44.
- Nelson, B. C., and Sharpless, K. E.,** 2003: Quantification of the Predominant Monomeric Catechins in Baking Chocolate Standard Reference Material by LC/APCI-MS, *J. Agric. Food Chem.*, **51** (3), 531-537.
- Nielsen, S. S.,** 1998: *Food Analysis*, Rheological Principles for Food Analysis, Second Edition, An Aspen Publication, Chapter 34, Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Osman, H., Nasarudin, R., and Lee, S. L.,** 2004. Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential, *Food Chemistry*, **86**, 41-46.
- Özçelik, B.,** 1999: Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) Antioksidanların Fındık Füresinin Raf Ömrünü Geciktirmedeki Etkinliği, *İTÜ Doktora Tezi*, İstanbul.
- Pearson, D. A., Paglieroni, T. G., Rein, D., Wun, T., Derek, D. S., Wang, J. F., Holt, R. R., Gosselin, R., Schmitz, H. H. and Keen, C. L.,** 2002: The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex-vivo platelet function, *Thrombosis Research*, **106**, 191-197.
- Pekić, B., Kovač, V., Alonso, E., and Revilla, E.,** 1997: Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds, *Food Chemistry*, **61** (1/2), 201-206.
- Peng, X., Ma, J., Cheeng, K-W., Chen, F., and Wang, M.,** 2009: The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread, *Food Chemistry*, Article in Press.
- Pokorny, J.,** 1991: Natural antioxidants for food use, *Trends in Food Science and Technology*, 223-226.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M.,** 2001: *Antioxidants in food*, CRC Press, USA.
- Pomeranz, Y. and Meloan, C. E.,** 1987: *Food Analysis: Theory and Practice*. Second Edition, An Avi Book, New York.
- Ramljak, D., Romanczyk, L. J., Barlow, L. J., Thompson, N., Knezevic, V., Galperin, M., Ramesh, A., and Dickson, R. B.,** 2005: Pentameric procyanidin from *Theobroma cacao* selectively inhibits growth of human breast cancer cells, *Molecular Cancer Therapy*, **4**, 537-546.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. A.,** 1999 : Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, **26**, 1231-1237.
- Reddy, V., and Kumar, A.,** 2005: Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits, *Food Chemistry*, **90**, 317-321.

- Rein, D., Paglieroni, T. G., Wun, D., Pearson, D. A., Schmitz, H. H., Gosselin, R. and Keen, C. L.,** 2000: Cocoa inhibits platelet activation and function, *American Journal of Clinical Nutrition*, **72**, 30-35.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G.,** 1997: Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends In Plant Science Reviews*, **2** (4), 152-159.
- Rice- Evans C. A., Packer, L.,** 2003: *Flavonoids in Health and Disease*, Second Edition, Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Robert, M.,** 1987: *Chocolate*, Hersey Foods Corporation Technical Center, 243,246-247, 251. Academic Press, Hershey, Pennsylvania 17033.
- Robinson, P., and Sichina, B.,** 2000: Characterization of Chocolate Using Power Compensated DSC, Perkin Emler Instruments, *Thermal Analysis application note*, www.perkinelmer.com.
- Sanchez-Escalante A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltran, J. A., and Roncales, P.,** 2001: The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere, *Meat Science*, **58**, 421-429.
- Schantz, B., and Rohm, H.,** 2005. Influence of lecithin-PGPR blends on the rheological properties of chocolate, *Lebensm.-Wiss.u- Technol.* **38**, 41-45.
- Schenk, H., and Pescher, R.,** 2004: Understanding the Structure of Chocolate. Radiation Physics and Chemistry, **71**, 829-835.
- Serafini, M., Bugianesi, R., Maiani, G., Valtuena, S., De Santis, S. and Crozier, A.,** 2003: Plasma antioxidant from chocolate, *Nature*, **424**, 1013.
- Shahidi, F. S., and Wanasundara, P. D.,** 1992: Phenolic Antioxidants, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **32** (1), 67-103.
- Shahidi, F.,** 1997: *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and applications*, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Shahidi, N., and Nacz, M.,** 2003: *Phenolics in food and nutraceuticals*, CRC Press, Boca Raton.
- Shrikhande, A. J.,** 2000:: Wine by-products with health benefits, *Food Research International*, **33**, 469-474.
- Someya, S., Yoshiki, Y. and Okubo, K.,** 2002: Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*), *Food Chemistry*, **79**, 351-354.
- Soong ve Barlow, P. J.,** 2004: Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, *Food Chemistry*, **88**, 411-417.
- Sökmen, A.,** 2005: Bazı Sükroz İkamelerinin Çikolatanın Reolojik Özelliklerine Etkileri, *İTÜ Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul.
- Sökmen, A., and Gunes, G.,** 2006: Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate, *LWT*, **39**, 1053-1058.
- Steffe, J. F.,** 1996: *Rheological Methods in Food Process Engineering*, Freeman Press, USA.

- Steinberg, F. M., Bearden, M. M. and Keen, C. L.,** 2003: Cocoa and Chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health, *J. of the American Dietetic Association*, **103** (2), 215-223.
- Suja, K. P., Abraham, J. T., Thamizh, S. N., Jayalekshmy, A., and Arumughan, C.,** 2004: Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection, *Food Chemistry*, **84**, 393-400.
- Taubert, D., Roesen, R., and Schömig, E.,** 2007a: Effects of cocoa and tea intake on blood pressure- a meta analysis, *Archives of Internal Medicine*, **167**, 626-634.
- Taubert, D., Roesen, R., Lehmann, C., Yung, N., and Schömig, E.,** 2007b: Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide, *Journal of American Medical Association*, **298**, 49-60.
- Trindade, R. A., Lima, A., Andrade-Wartha, E. R., Oliveira, E., Silva, A. M., Mancini-Filho, J., and Villavicencio, A.L.C.H.,** 2009: Consumer's evaluation of the effects of gamma irradiation and natural antioxidants on general acceptance of frozen beef burger, *Radiation Physics and Chemistry*, **78**, 293-300.
- Ulkowski, M., Musialik, M., and Litwinienko, G.,** 2005: Use of Differential Scanning Calorimetry To Study lipid Oxidation. 1. Oxidative Stability of Lecithin and Linolenic Acid, *J. Agric. Food Chem.*, **53** (23), 9073-9077.
- Vercet, A.,** 2003: Browning of white chocolate during storage, *Food Chemistry*, **81**: 371-377.
- Vinson, J. A., Proch, J. ve Zubik, L.,** 1999: Phenol Antioxidant Quantitiy and Quality in Foods: Cocoa Dark Chocolate and Milk Chocolate, *J. Agric. Food Chem.*, **47** (12), 4821-4824.
- Vinson J. A., Proch, J., Bose, P., Muchler, S., Taffera, P., Shuta, D., Samman, N., and Agbor, A.,** 2006: Chocolate Is a Powerful ex Vivo and in Vivo Antioxidant, and Antiatherosclerotic Agent in an Animal Model, and A Significant Contributor to Antioxidants in the European and American Diets, *J. Agric. Food Chem.*, **54** (21), 8071-6076.
- Wang, H., Cao, G., and Prior, R. L.,** 1996. Total antioxidant capacity of fruits, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 701-705.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., and Fu, Y. J.,** 2008: Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components, *Food Chemistry*, **108**, 1019-1022.
- Waterhouse, A. L., Shirley, J. R., and Donovan, J. L.,** 1996: Antioxidant in chocolate, *The Lancet*, 348, 834.
- Wollgast, J., and Anklam, E.,** 2000: Polyphenols in Chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, **33**, 449-459.
- Won Lee, K., Kim, Y., J., Lee, H. J., and Lee, C. Y.,** 2003: Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7292-7295.

- Yilmaz, Y., and Toledo, R. T.,** 2004: Health, aspects of functional grape seed constituents, *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 422-433.
- Yilmaz, Y., and Toledo, R. T.,** 2006: Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols, *J. of Food Composition and Analysis*, **19**, 41-48.

EKLER

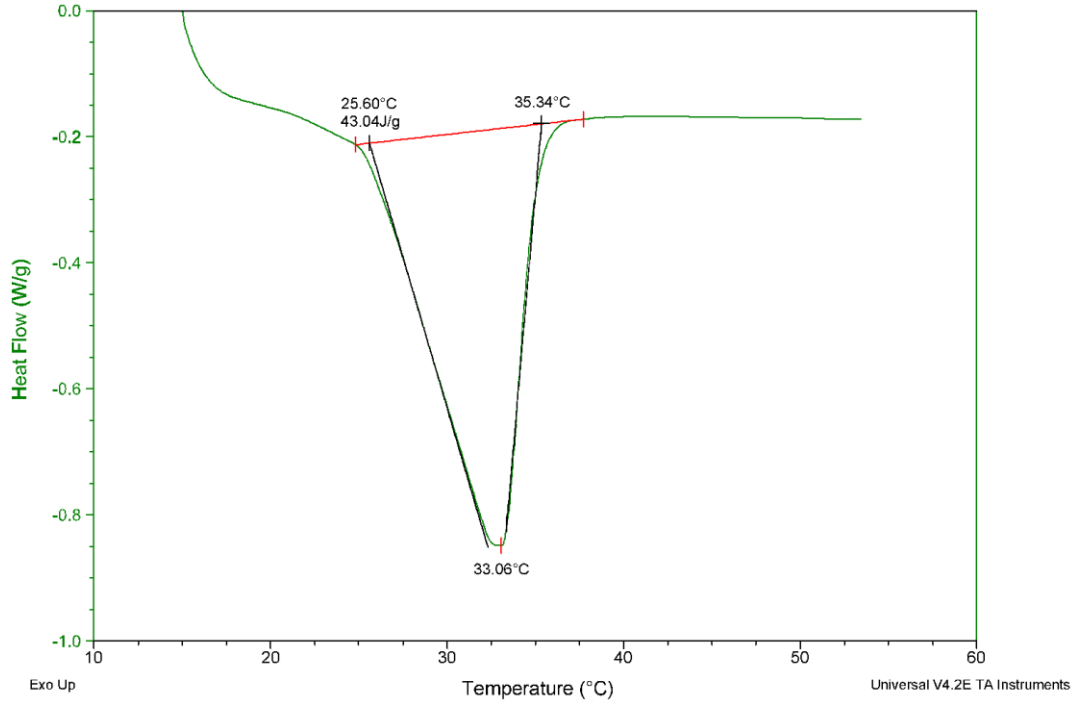
EK A.1 : Şekiller

EK B.1 : Çizelgeler

Sample: cikolata
Size: 5.6000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...06112009krist tekrarı\ncp-2.001
Operator: Filiz
Run Date: 06-Nov-2009 18:21
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

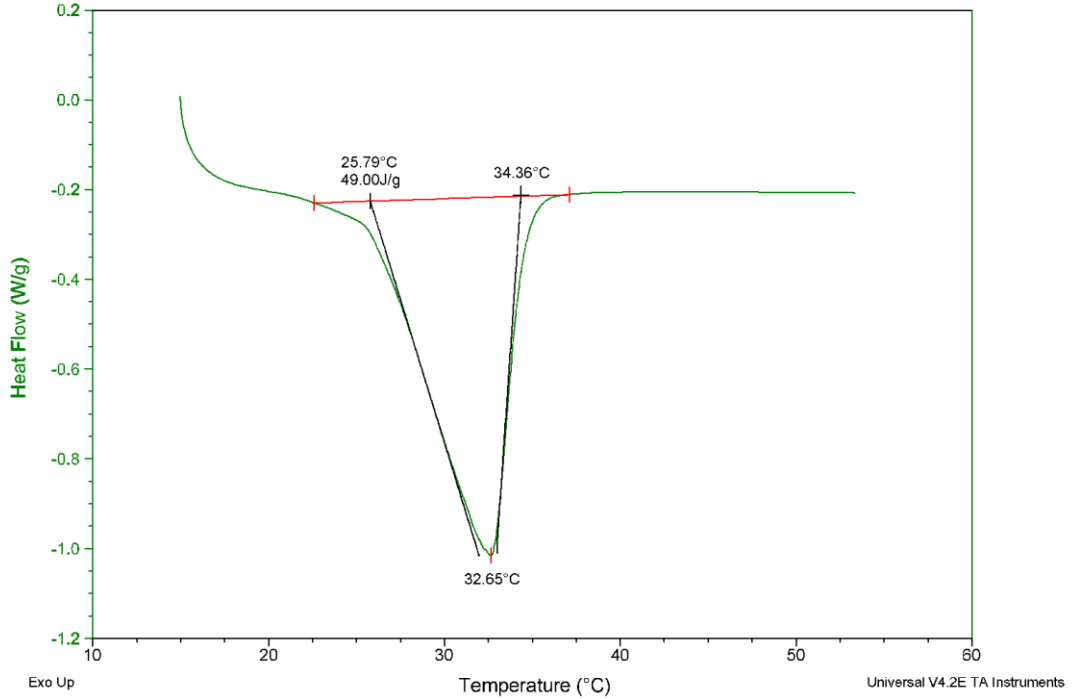


Şekil A.1 : Normal çikolatanın DTK kristalizasyon eğrisi (Birinci tekrarın ikinci paralel çalışması)

Sample: cikolata
Size: 5.3000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...06112009krist tekrarı\btp01-1.001
Operator: Filiz
Run Date: 06-Nov-2009 15:07
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

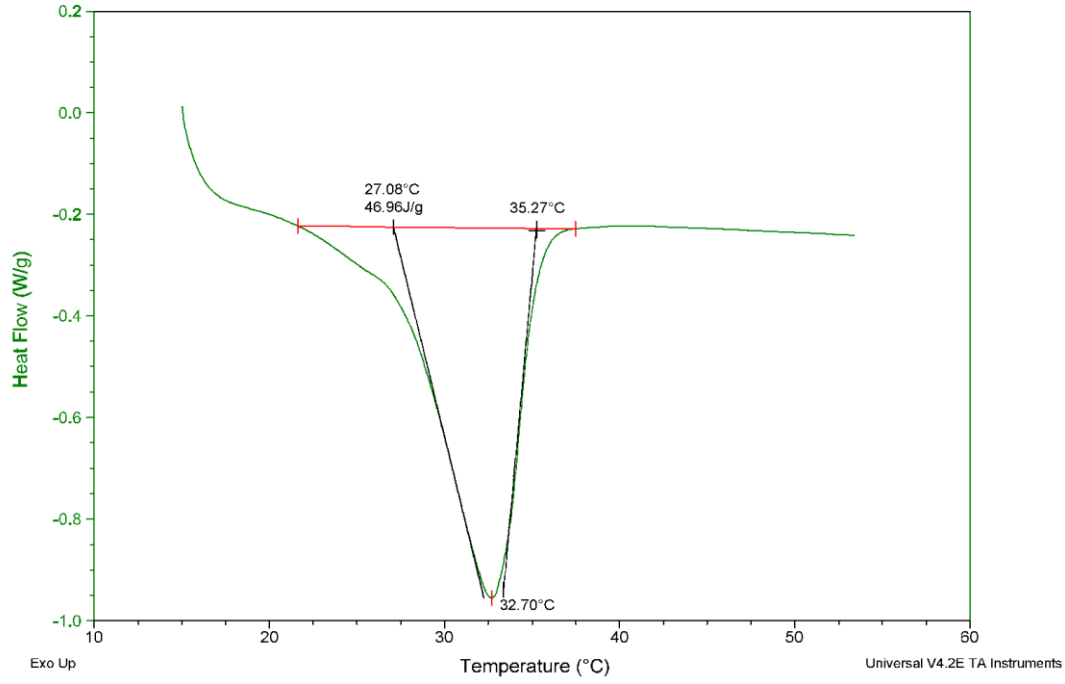


Şekil A.2 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarın ikinci paralel çalışması).

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...\06112009krist tekrarı\btp05-3.001
Operator: Filiz
Run Date: 06-Nov-2009 16:14
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

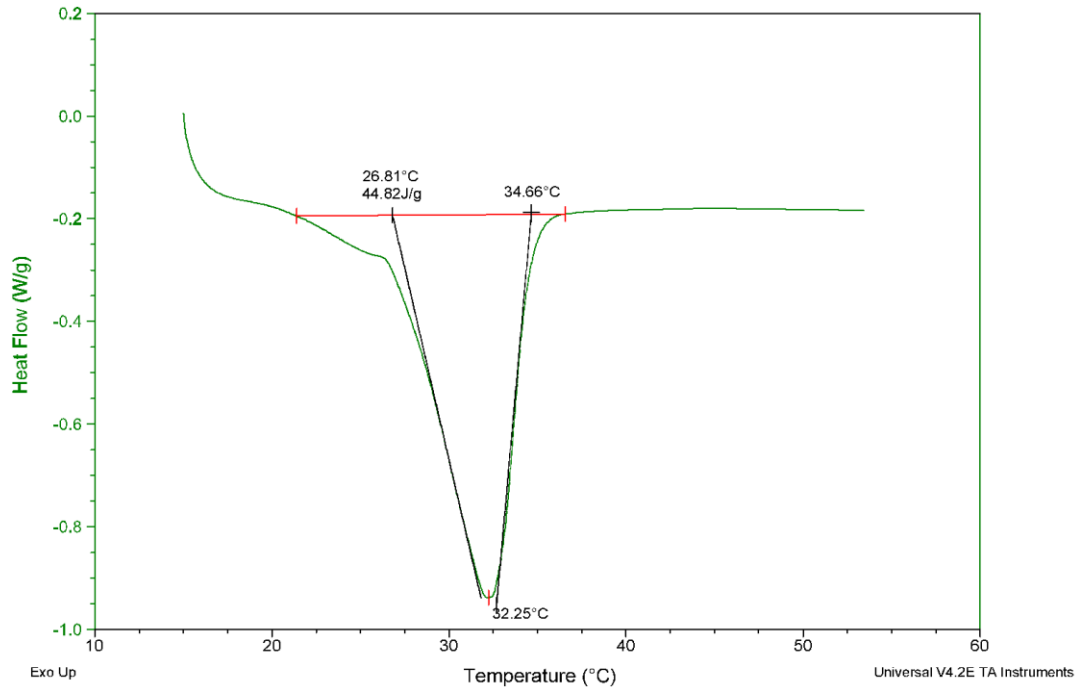


Şekil A.3 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarı üçüncü paralel çalışması).

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...\06112009krist tekrarı\btp08-3.001
Operator: Filiz
Run Date: 06-Nov-2009 16:54
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

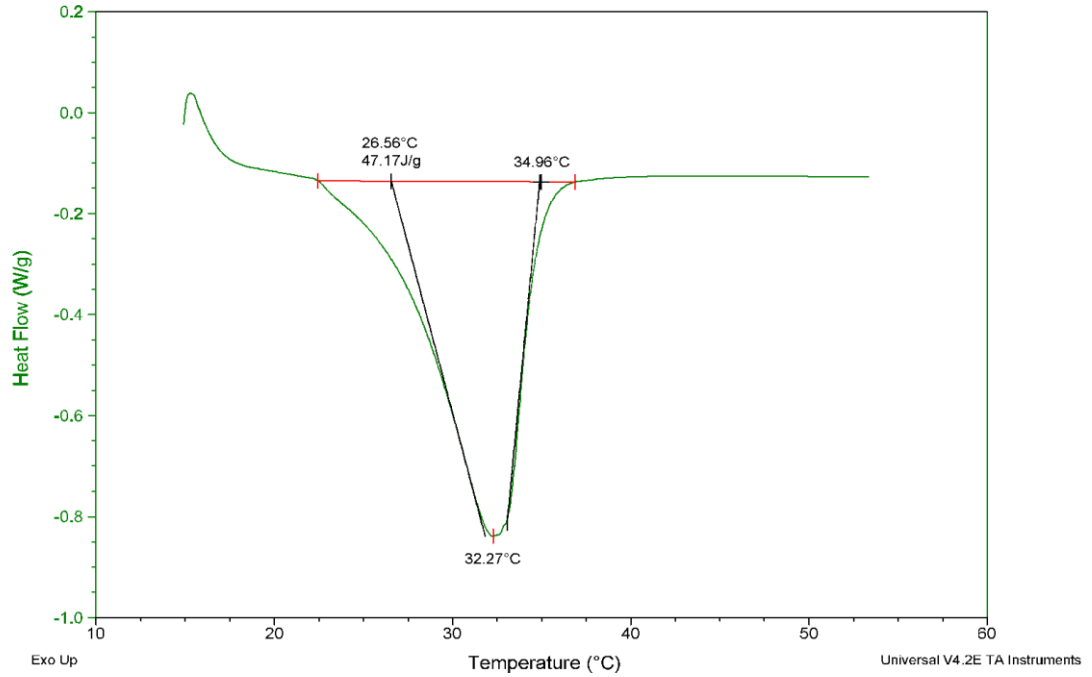


Şekil A.4 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği (Birinci tekrarı üçüncü paralel çalışması).

Sample: cikolata
Size: 5.0000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...03122009kristalizasyon\01uct-1.001
Operator: Filiz
Run Date: 03-Dec-2009 11:12
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

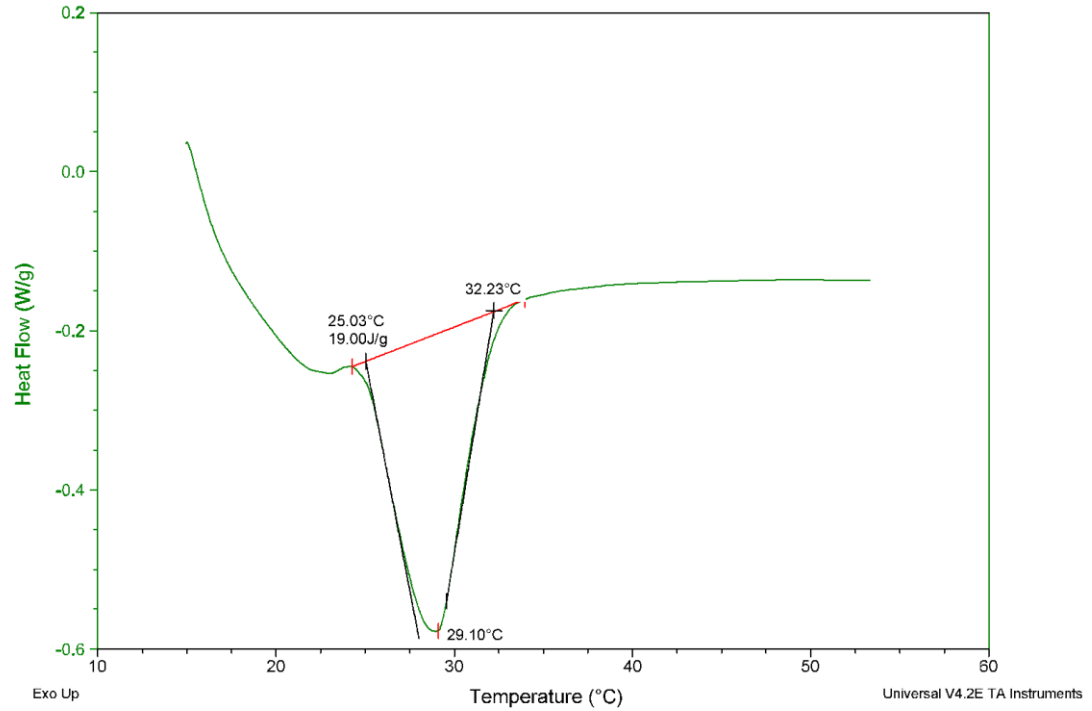


Şekil A.5 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği
(Birinci tekrarın birinci paralel çalışması).

Sample: cikolata
Size: 5.2000 mg
Method: Ramp

DSC

File: C:\...03122009kristalizasyon\05uct-1.001
Operator: Filiz
Run Date: 03-Dec-2009 12:27
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

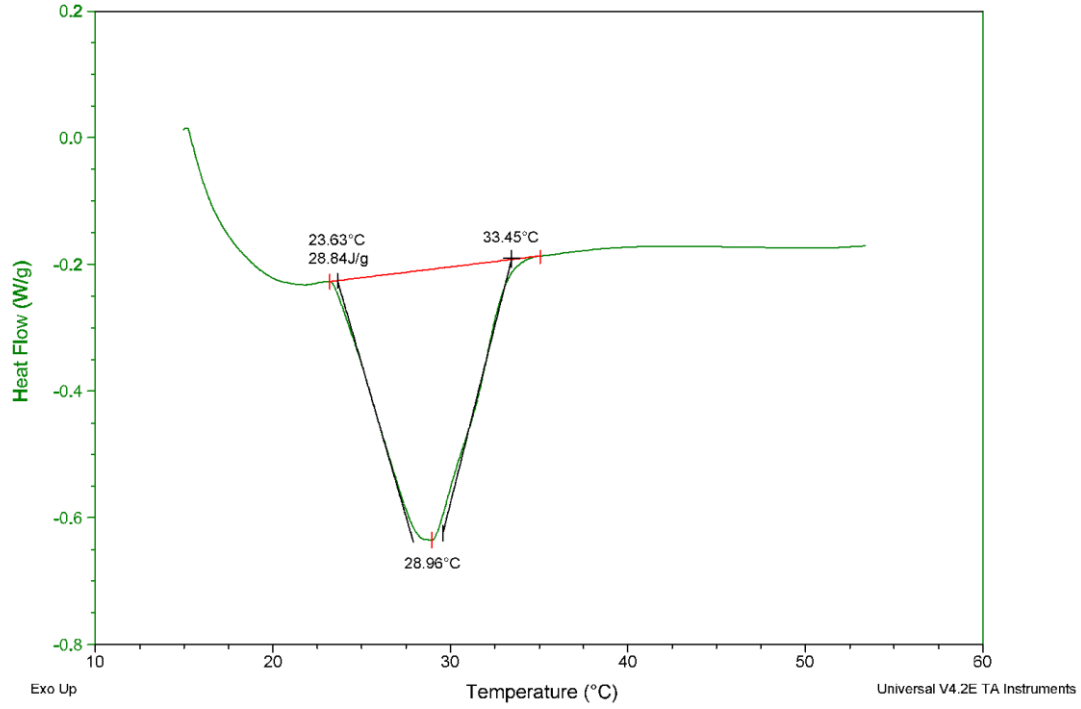


Şekil A.6 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği
(Birinci tekrarın birinci paralel çalışması).

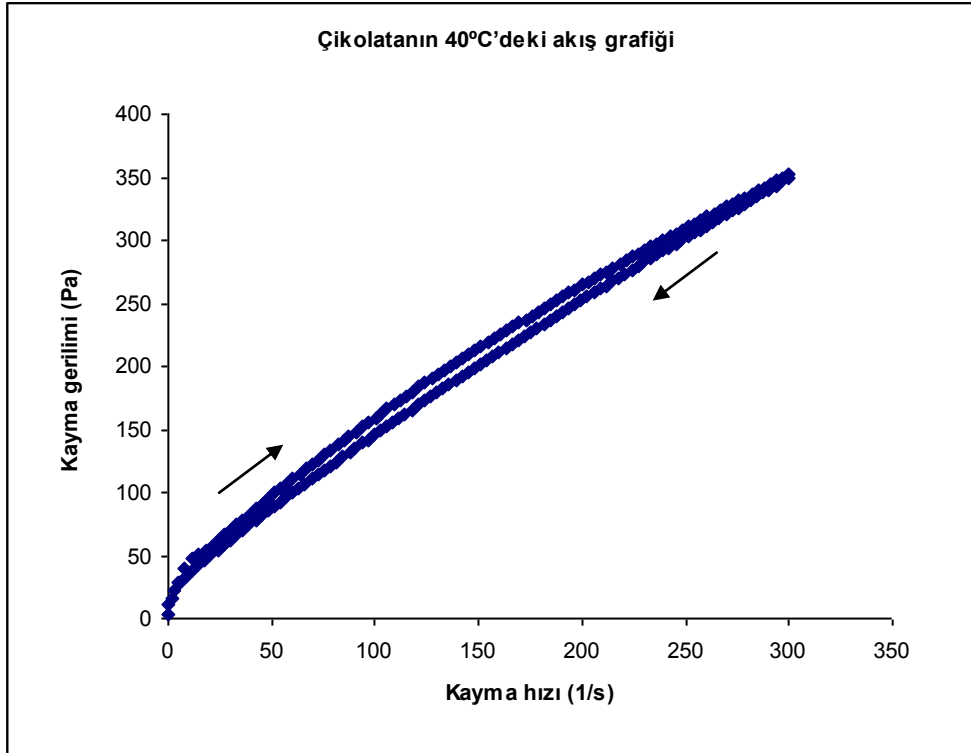
Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Ramp

DSC

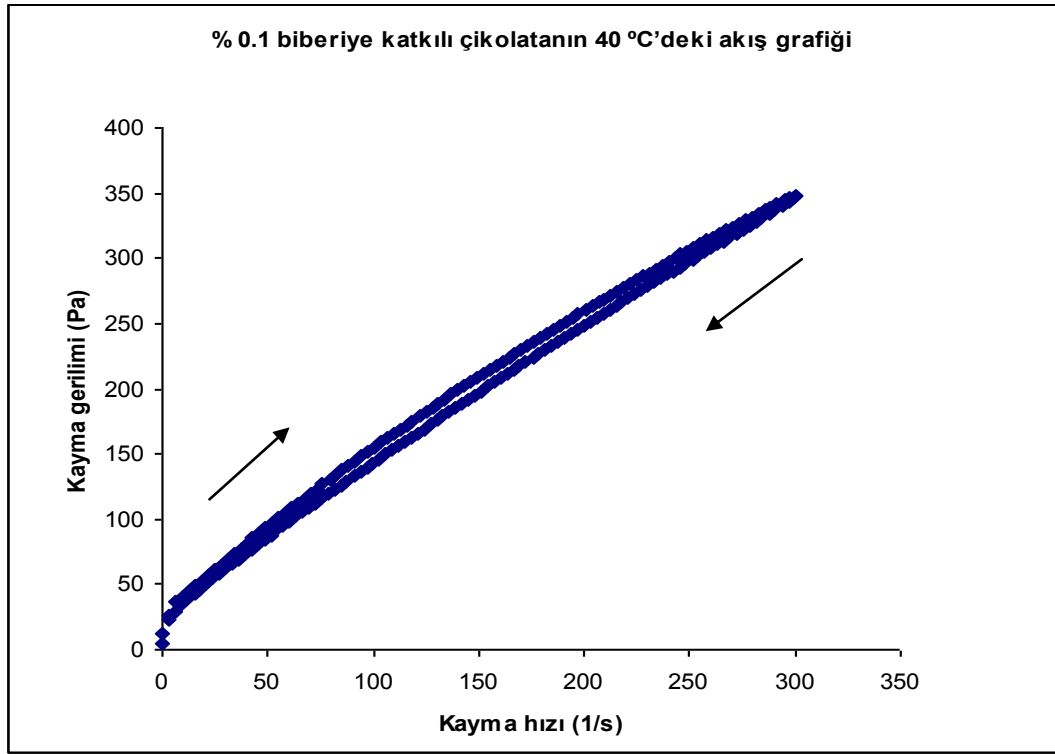
File: C:\...\03122009kristalizasyon\08uct-2.001
Operator: Filiz
Run Date: 03-Dec-2009 13:44
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287



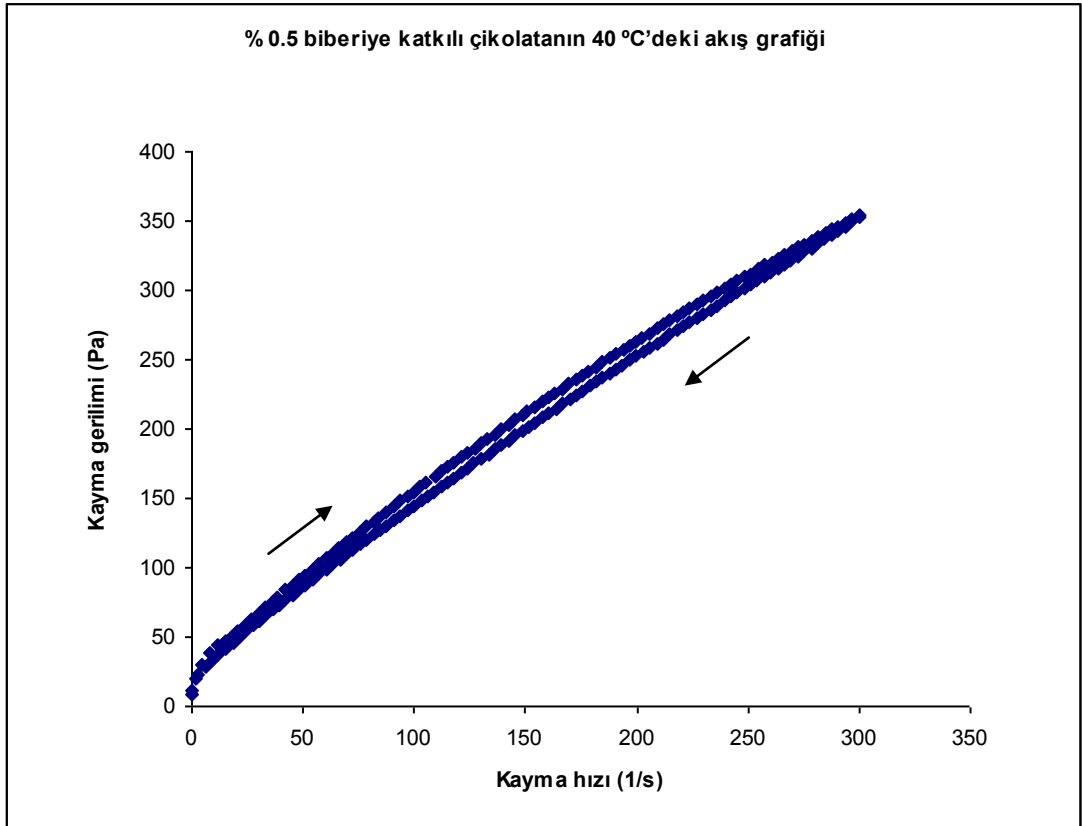
Şekil A.7 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın kristalizasyon grafiği
(Birinci tekrarın ikinci paralel çalışması).



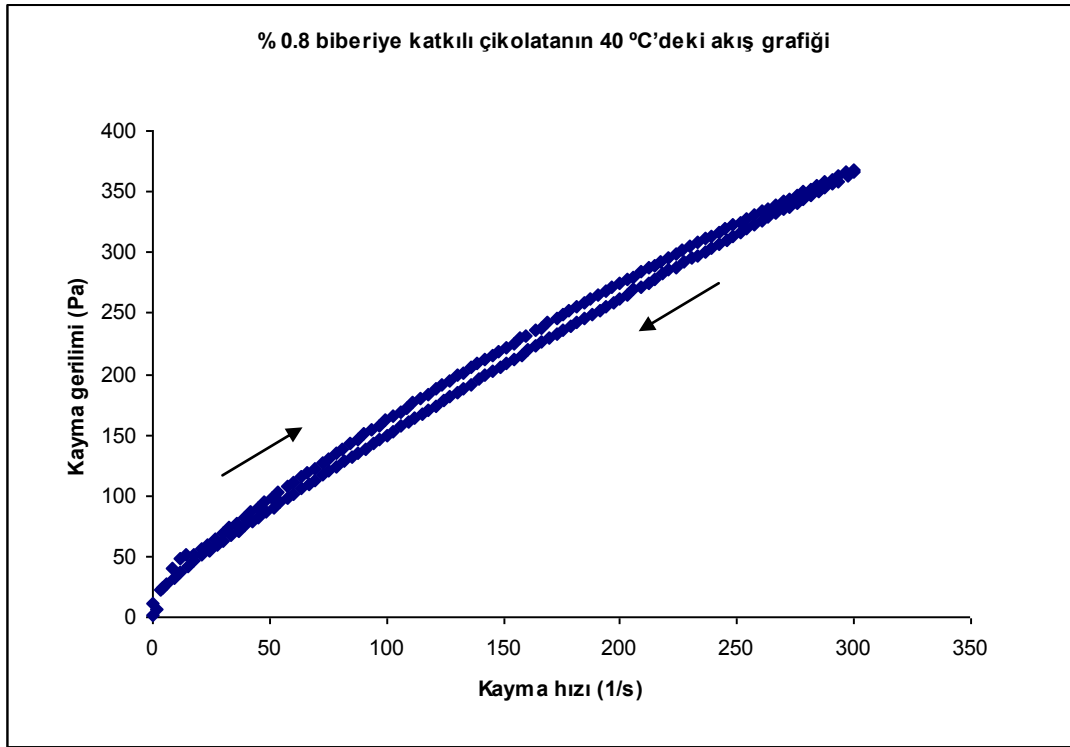
Şekil A.8 : Çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği



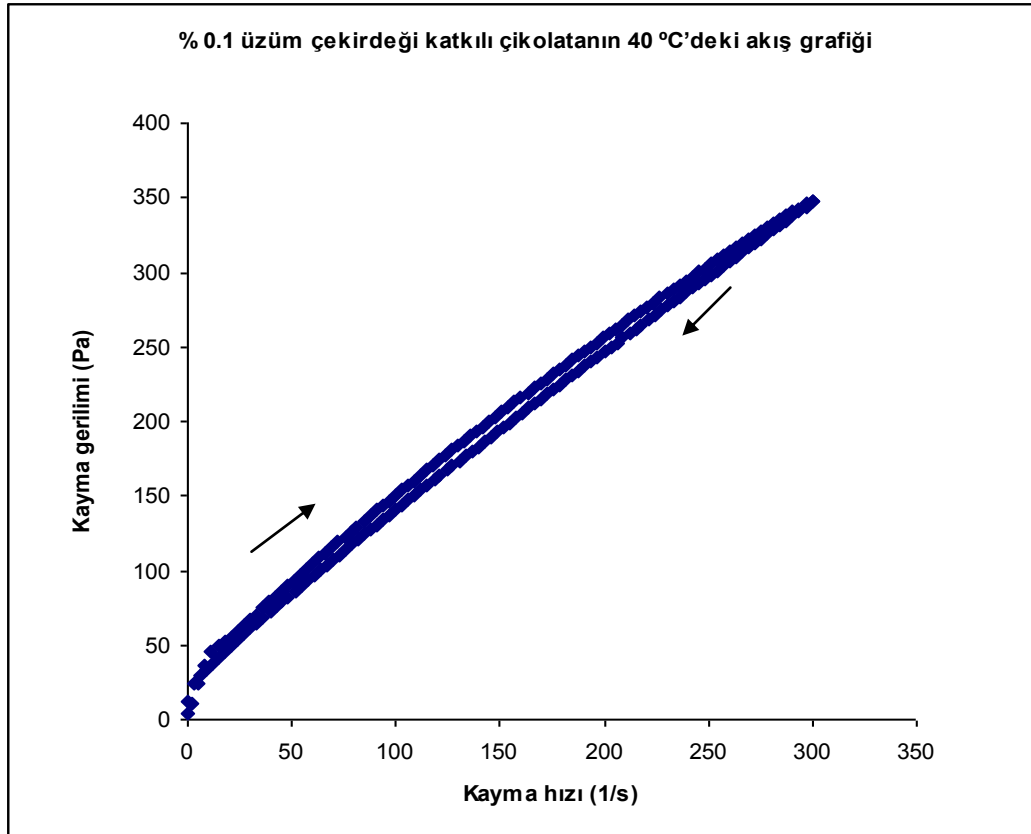
Şekil A.9 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 40  C'deki akış grafiği



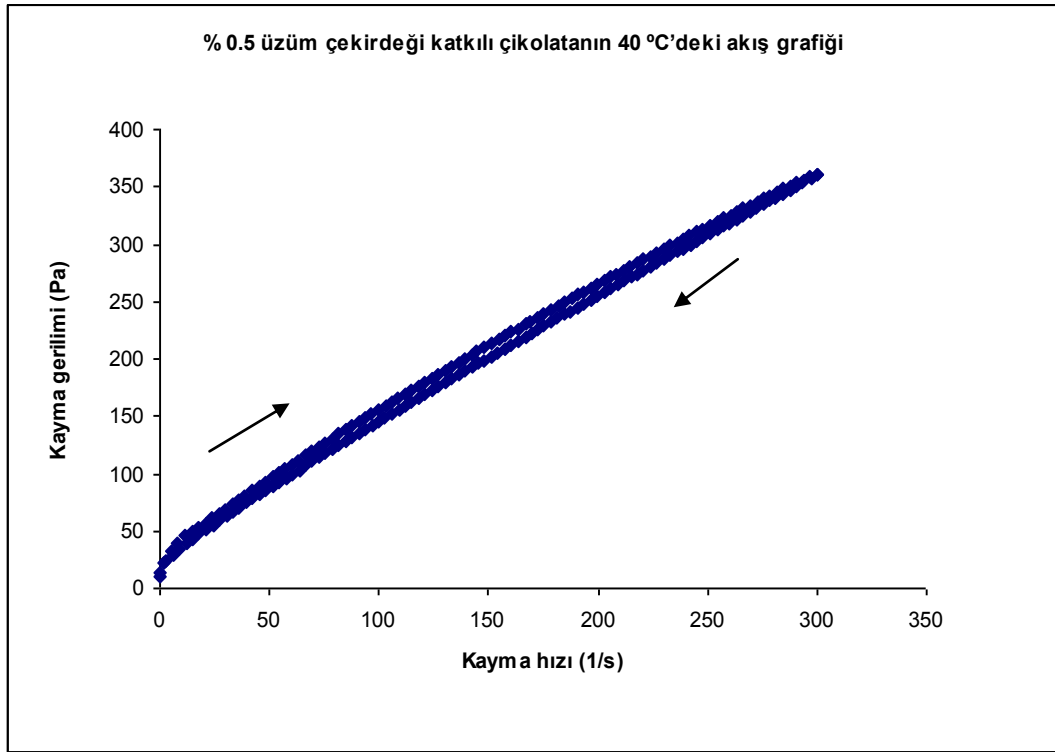
Şekil A.10 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın 40  C'deki akış grafiği



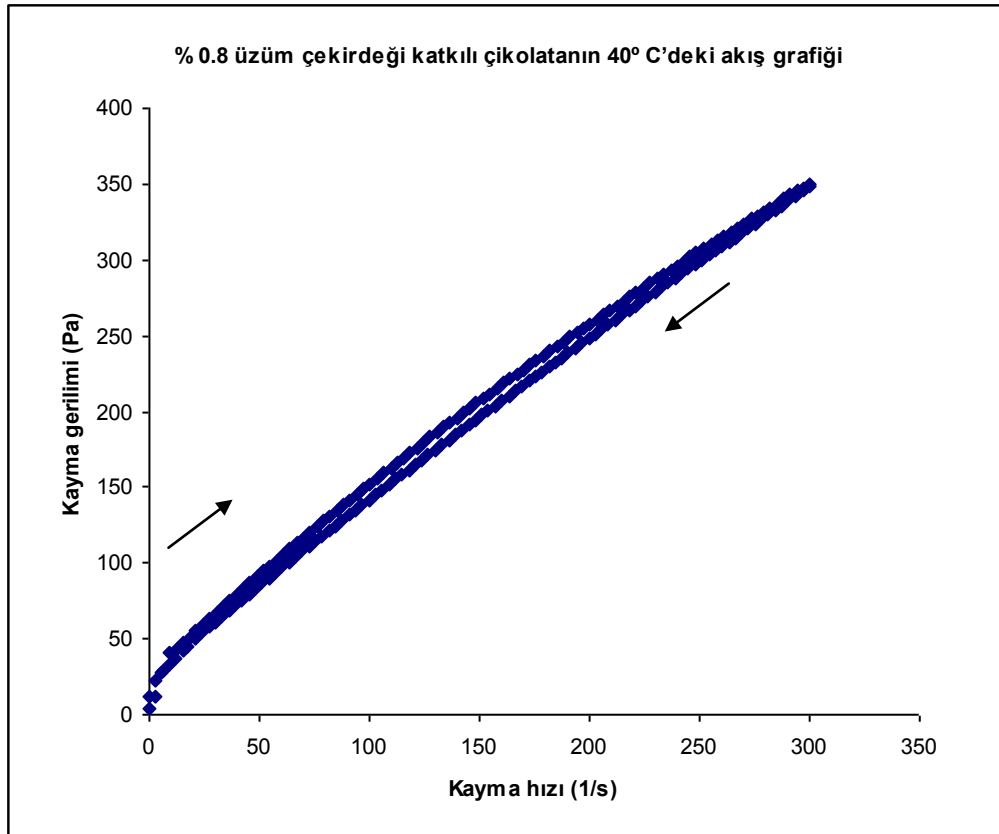
Şekil A.11 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği



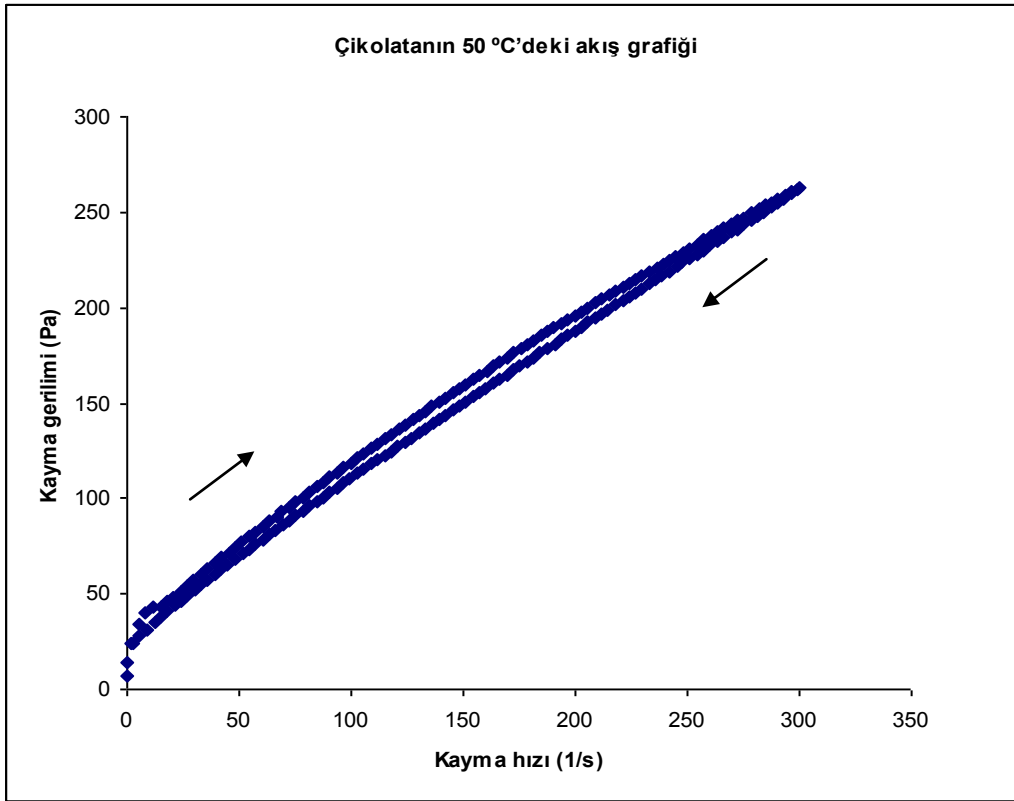
Şekil A.12 : % 0.1 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği



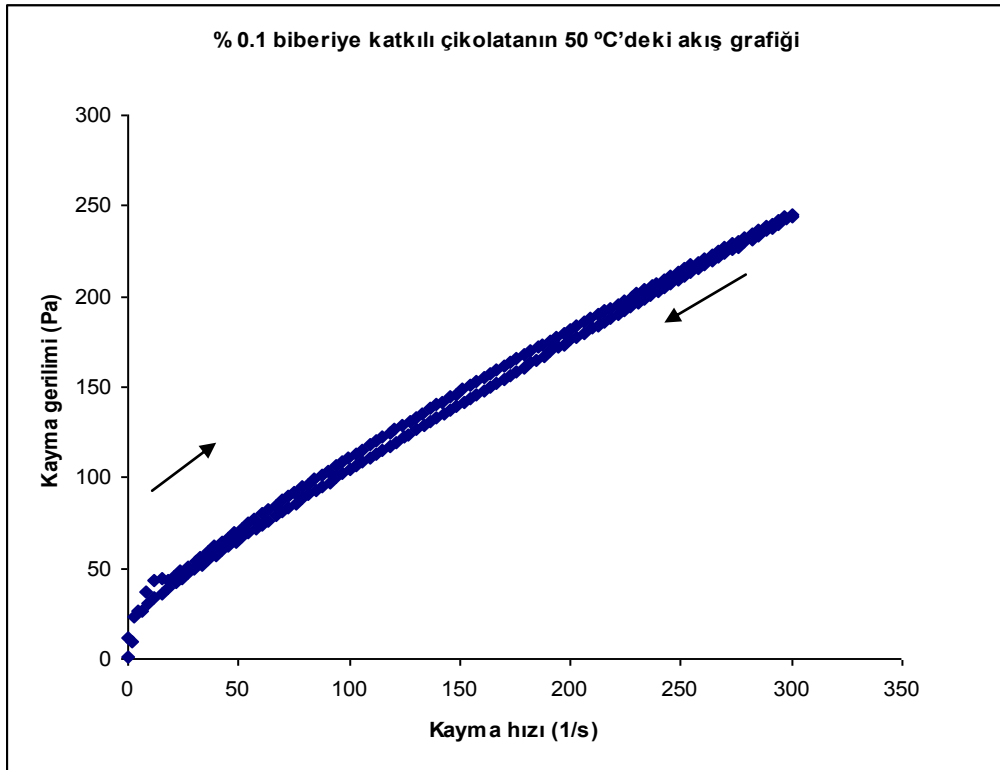
Şekil A.13 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği



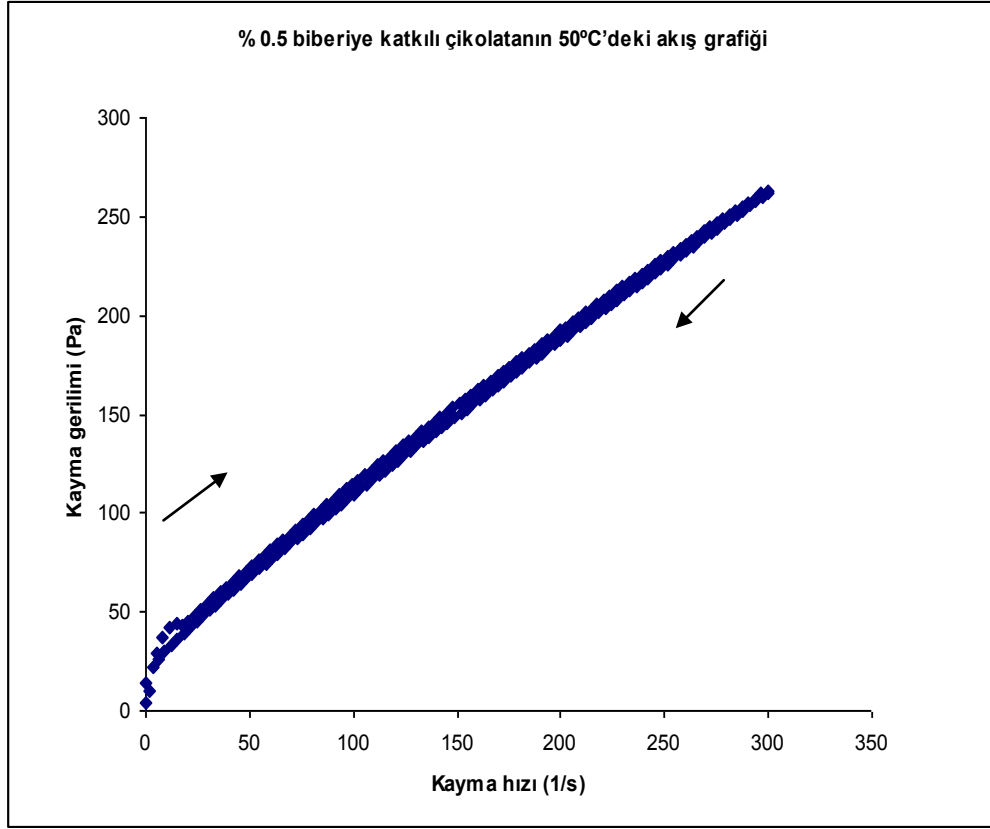
Şekil A.14 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği



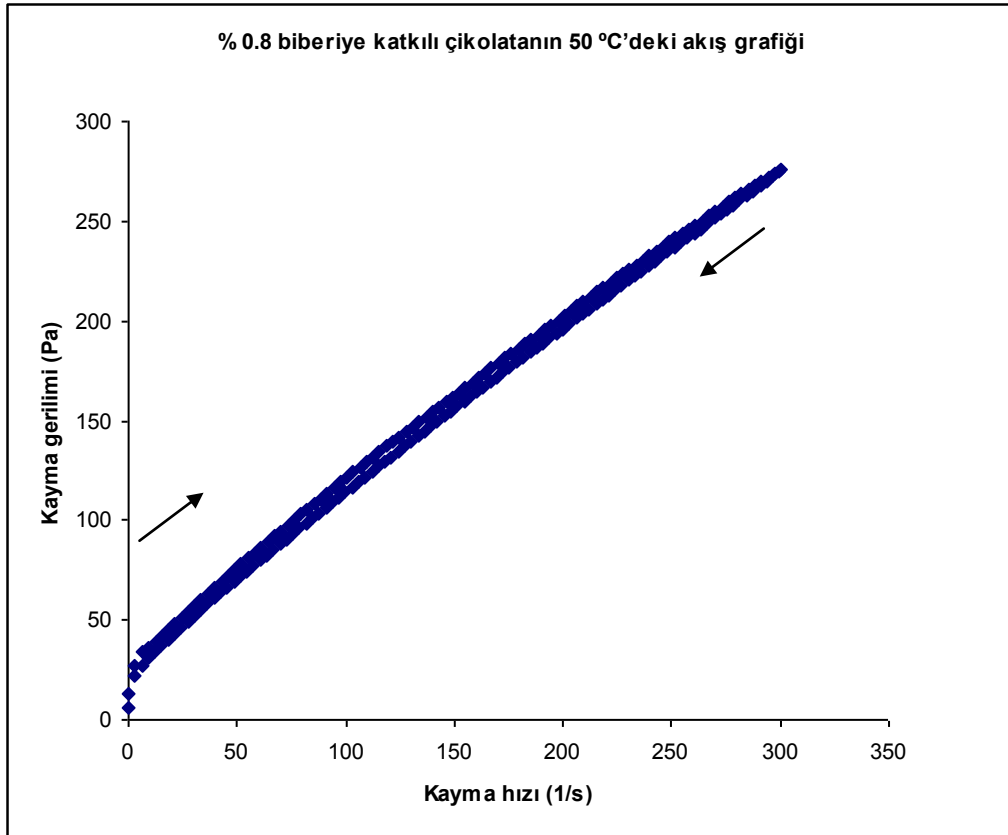
Şekil A.15 : Çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



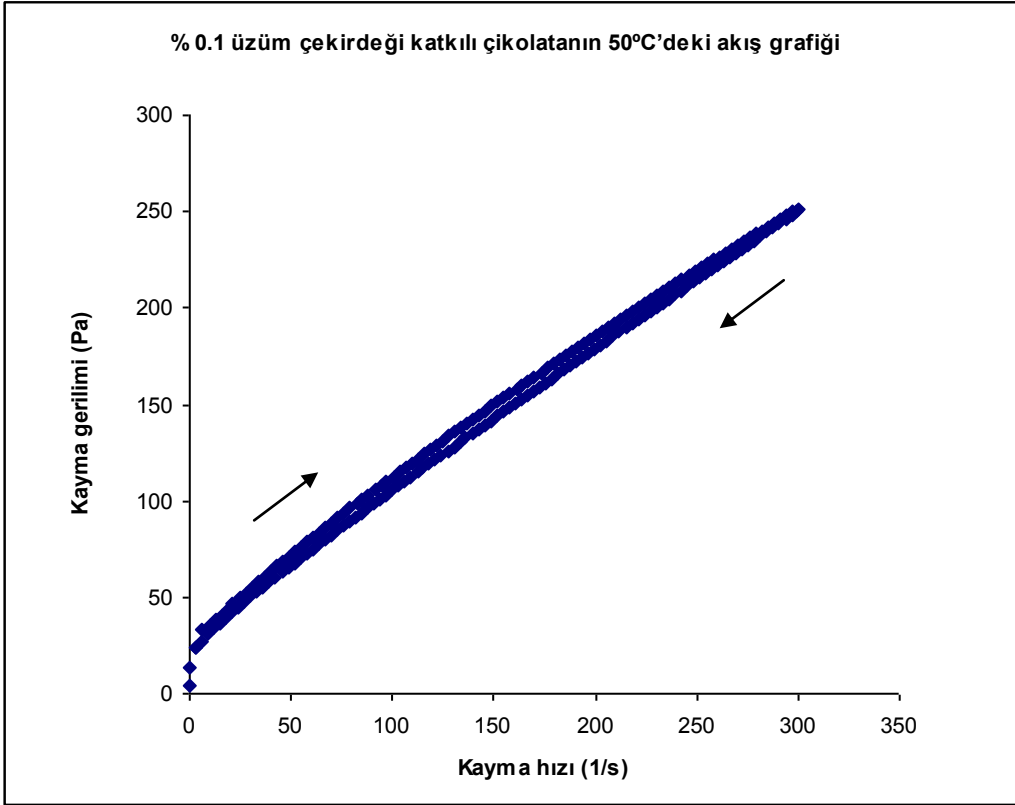
Şekil A.16 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



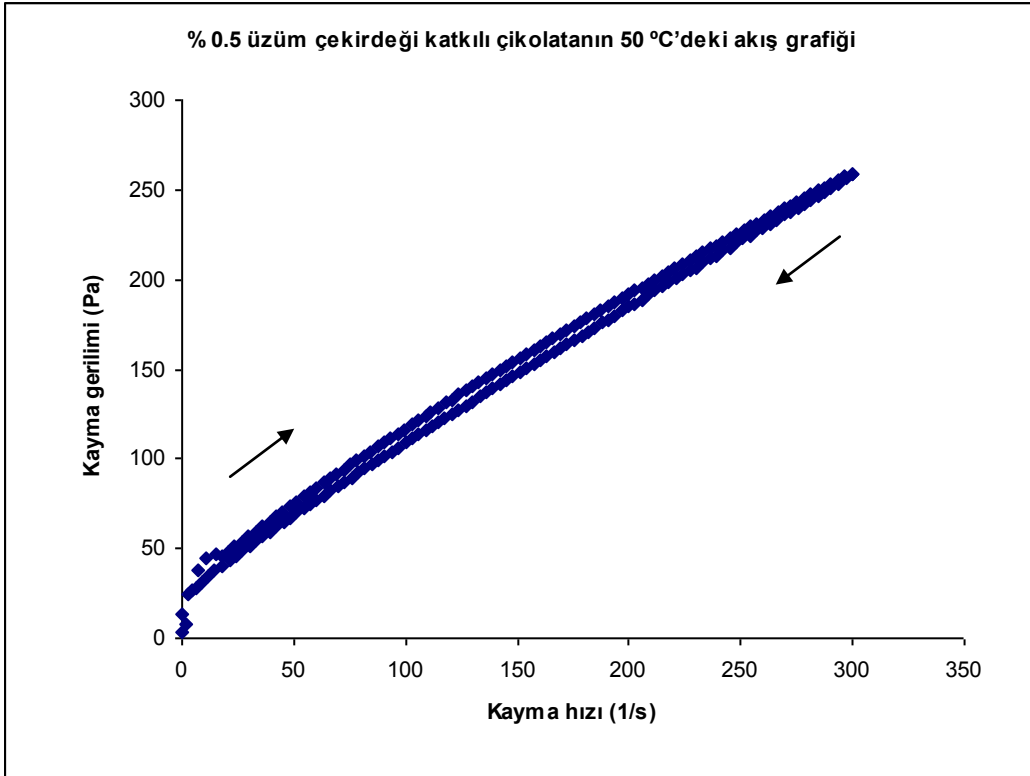
Şekil A.17 : % 0.5 biberiye katkılı ikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



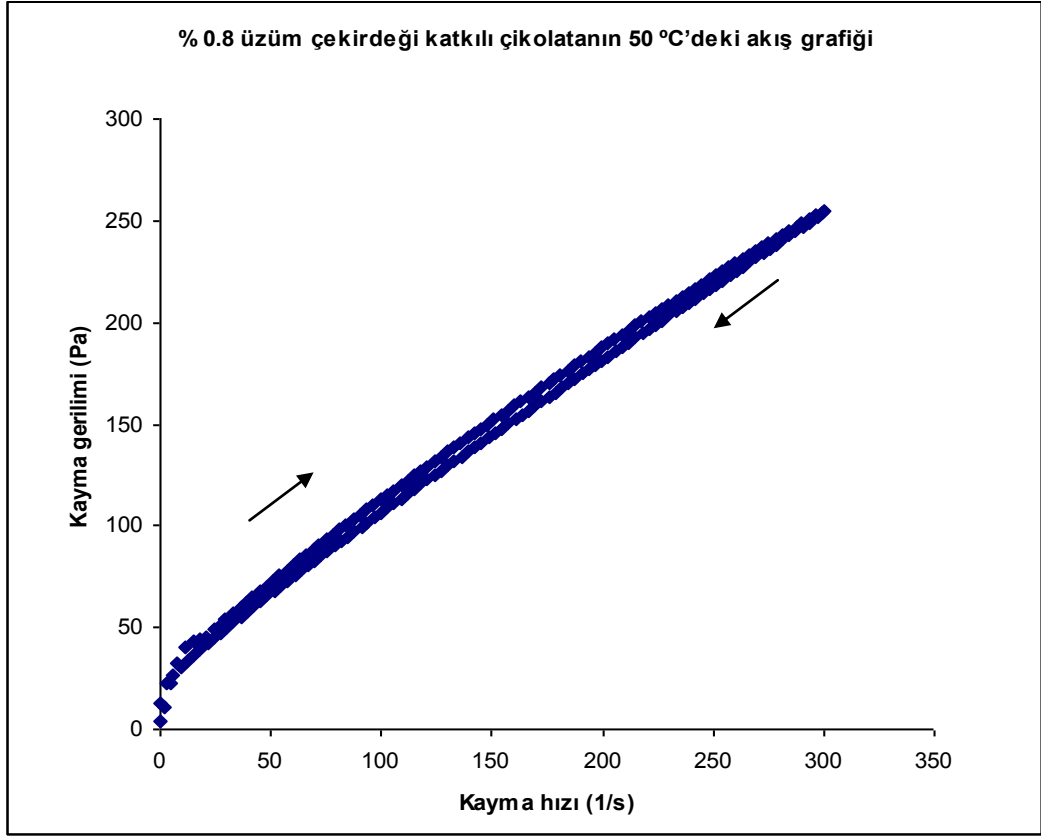
Şekil A.18 : % 0.8 biberiye katkılı ikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



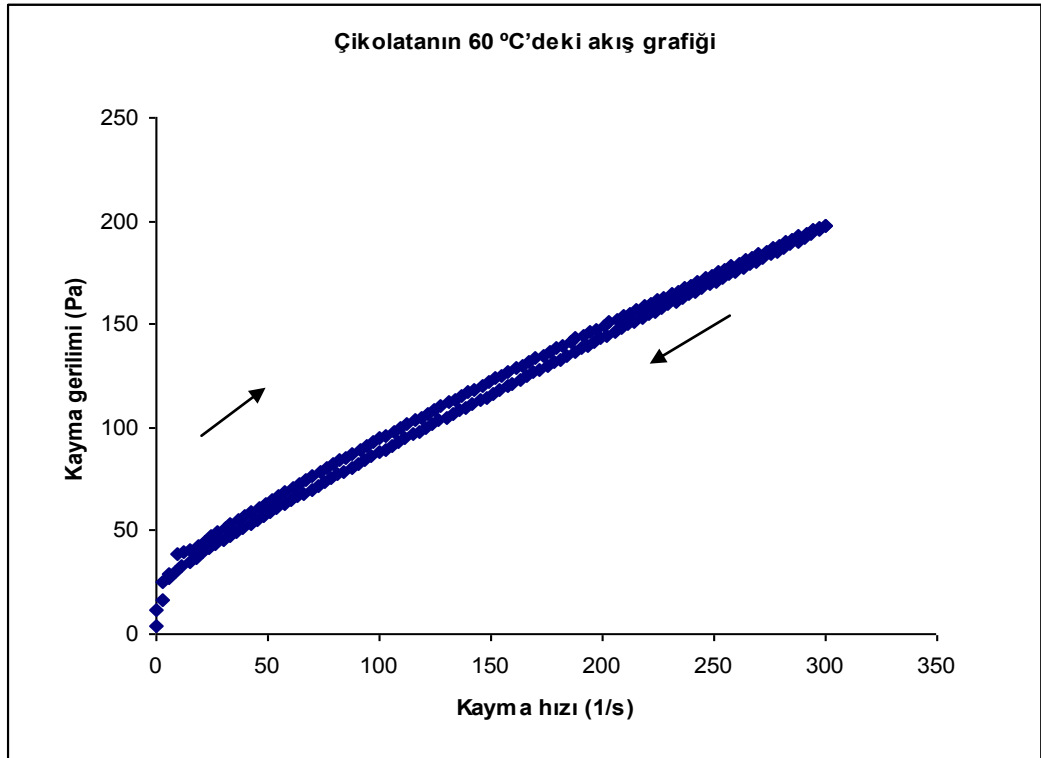
Şekil A.19 : % 0.1 üzüm çekirdeği tozu katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



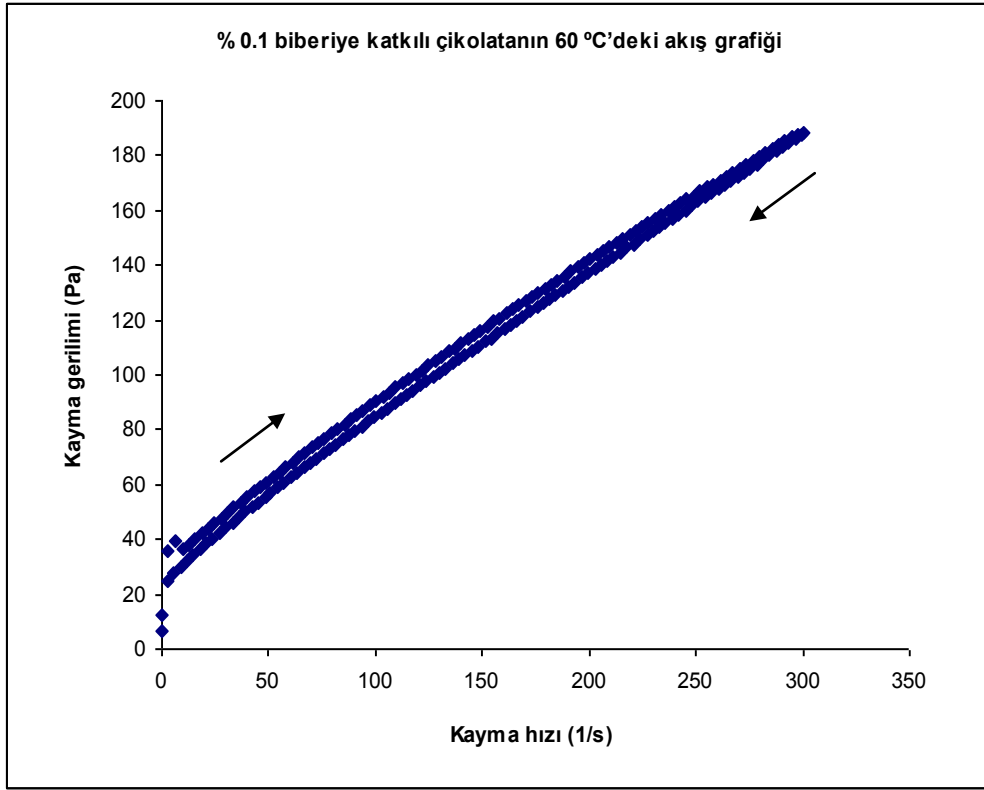
Şekil A.20 : % 0.5 üzüm çekirdeği tozu katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



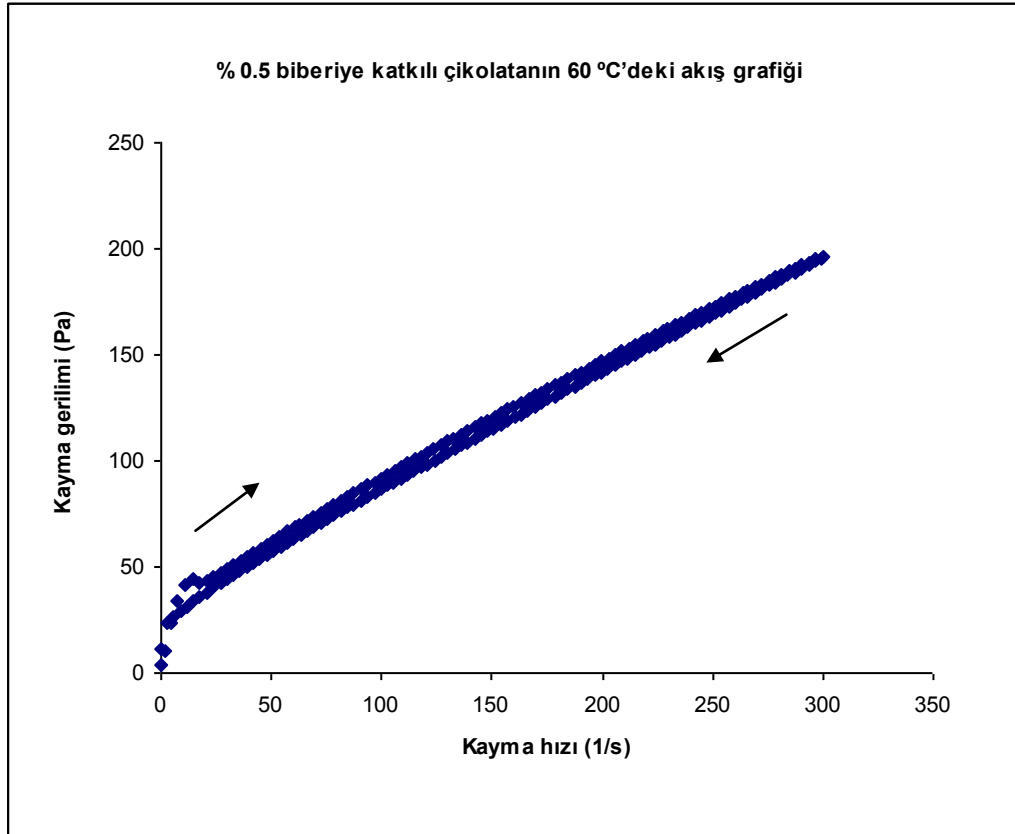
Şekil A.21 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 50 °C'deki akış grafiği



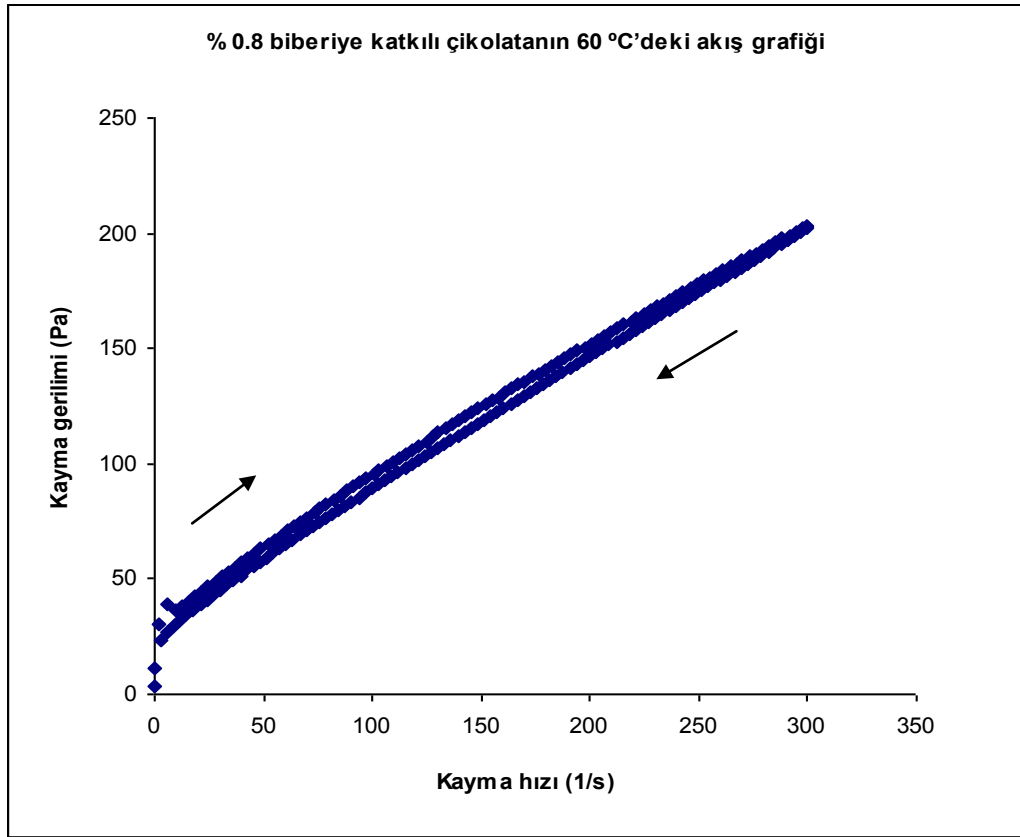
Şekil A.22 : Çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği



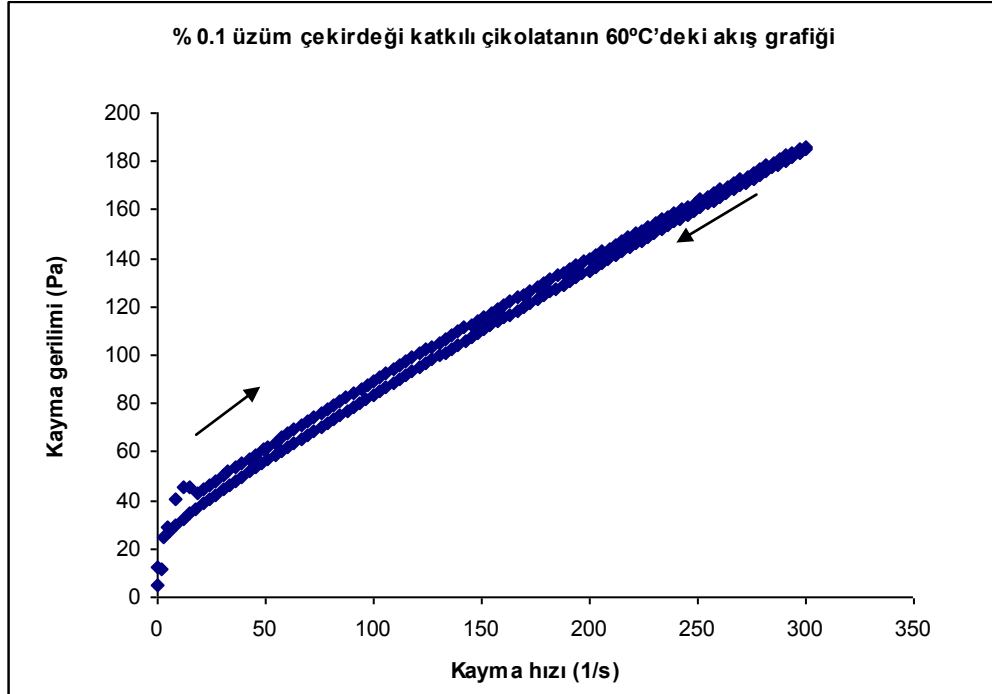
Şekil A.23 : % 0.1 biberiye katkılı çikolatanın 60  C'deki akış grafiği



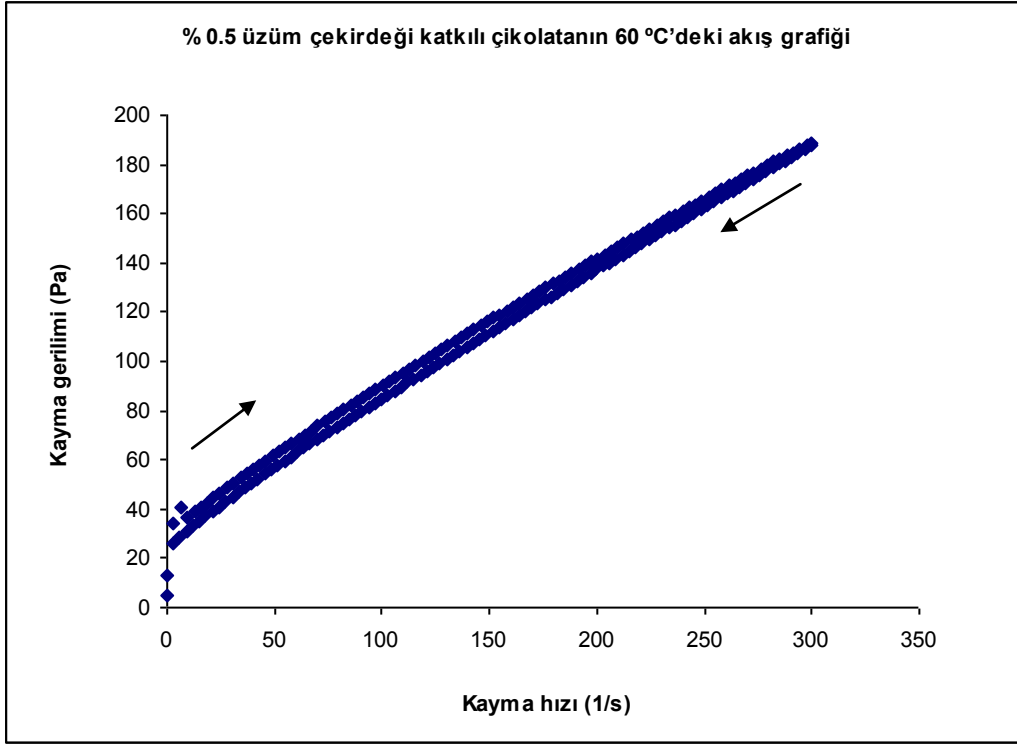
Şekil A.24 : % 0.5 biberiye katkılı çikolatanın 60  C'deki akış grafiği



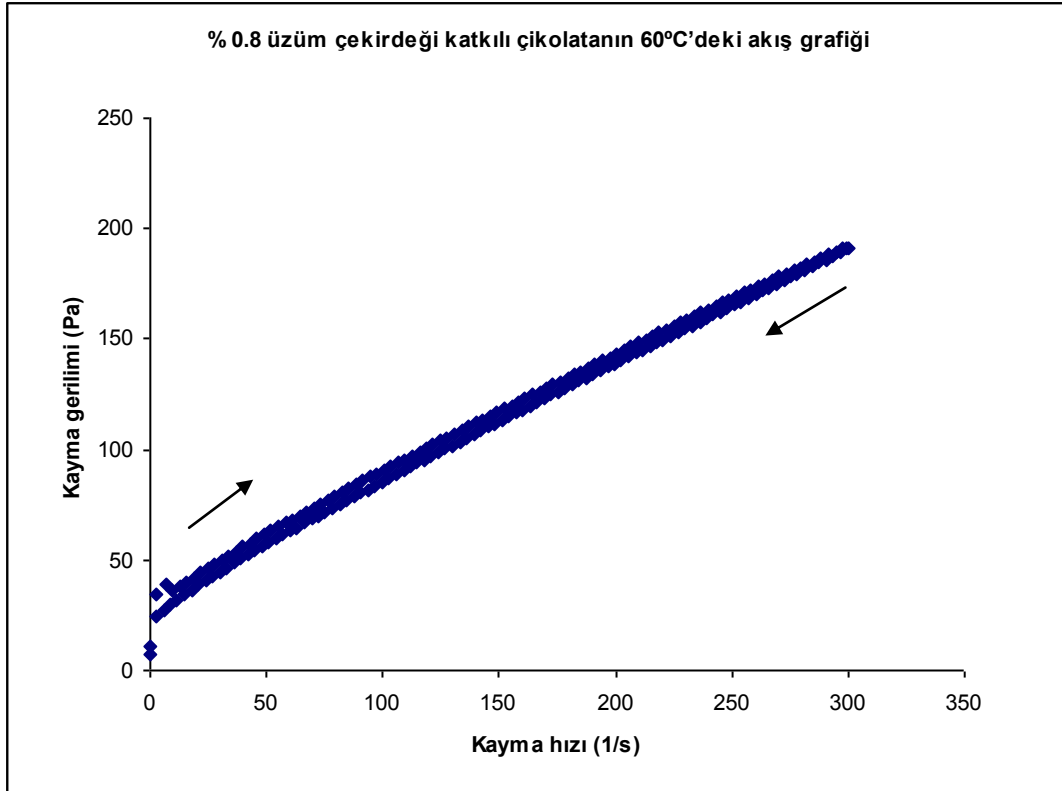
Şekil A.25 : % 0.8 biberiye katkılı çikolatanın 60  C'deki akış grafiği



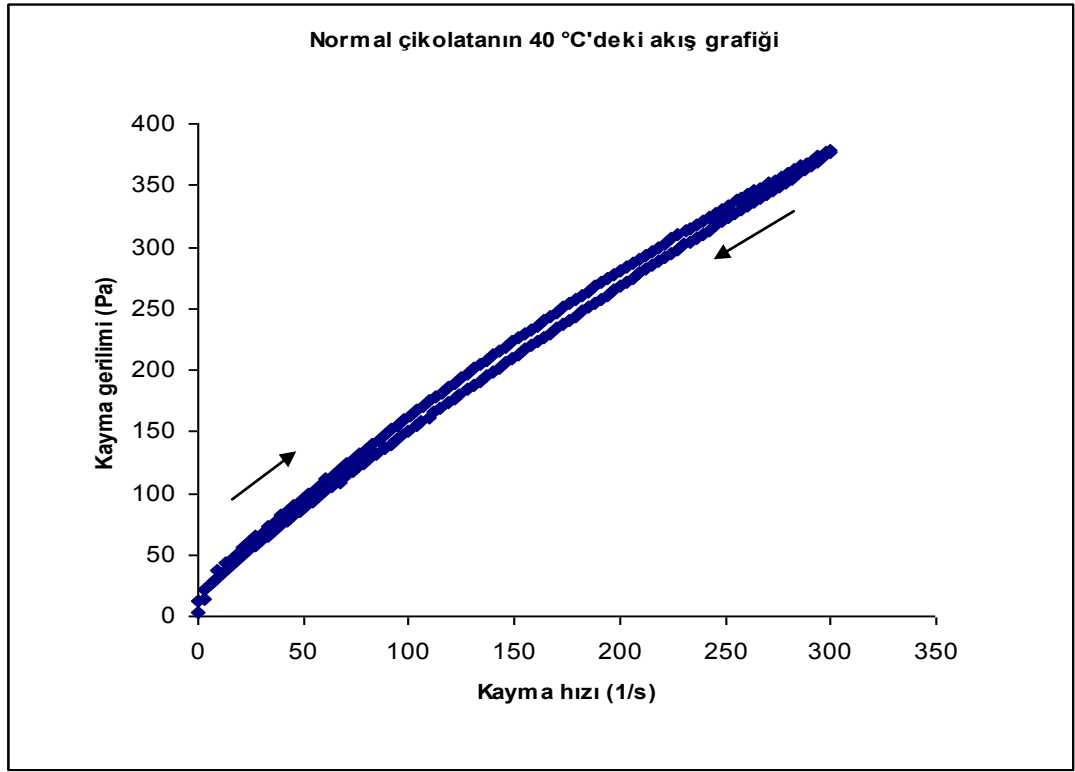
Şekil A.26 : % 0.1  z m çekirdeği katkılı çikolatanın 60  C'deki akış grafiği



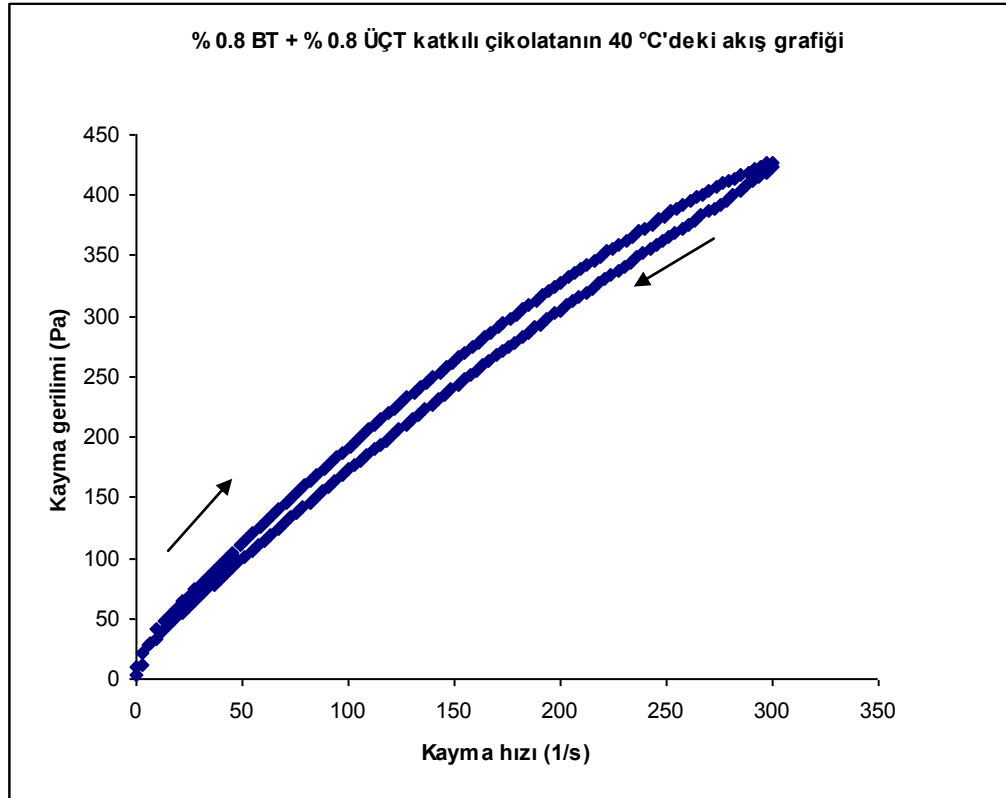
Şekil A.27 : % 0.5 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği



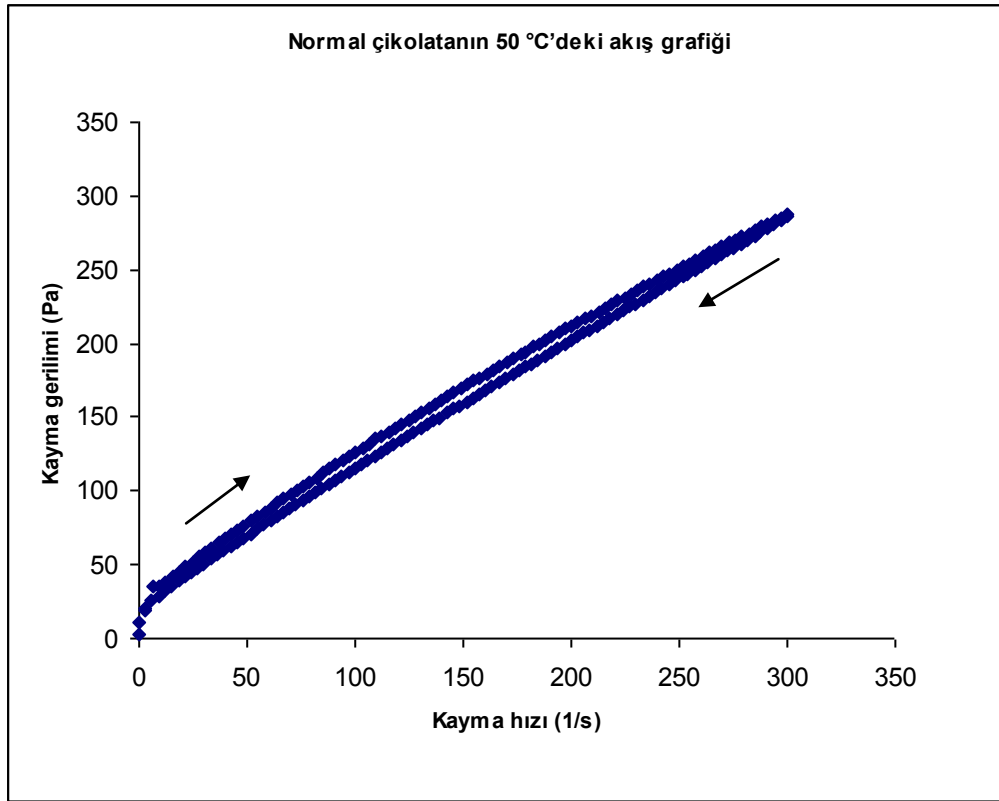
Şekil A.28 : % 0.8 üzüm çekirdeği katkılı çikolatanın 60 °C'deki akış grafiği



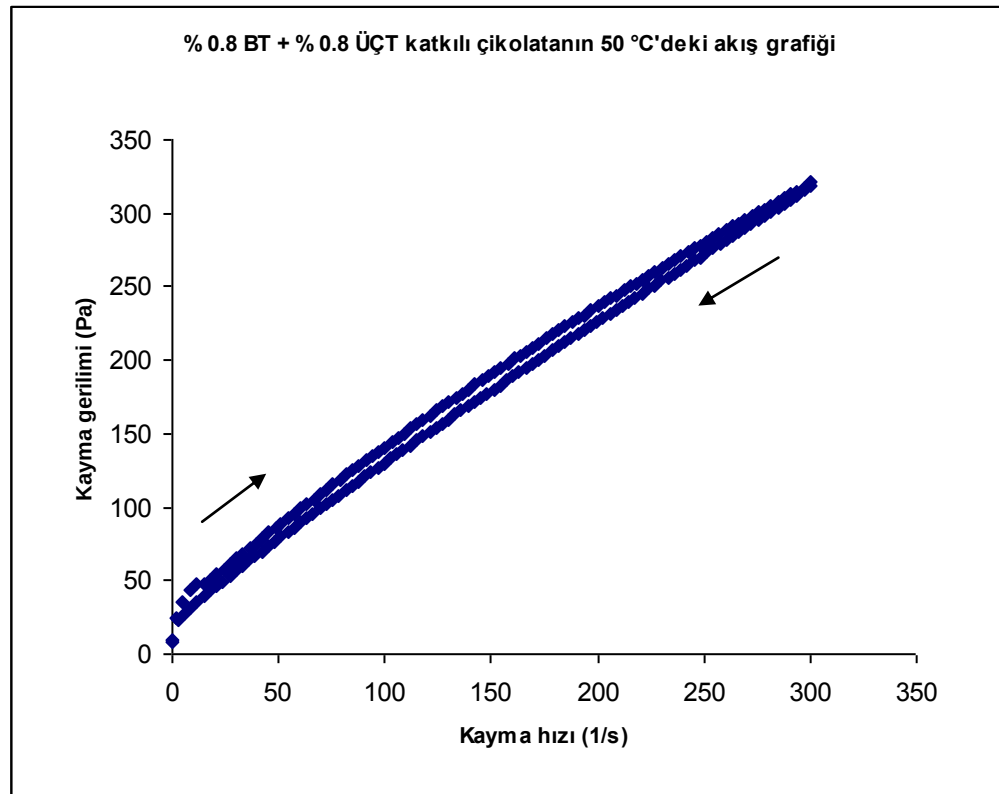
Şekil A.29: Normal çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal çikolata)



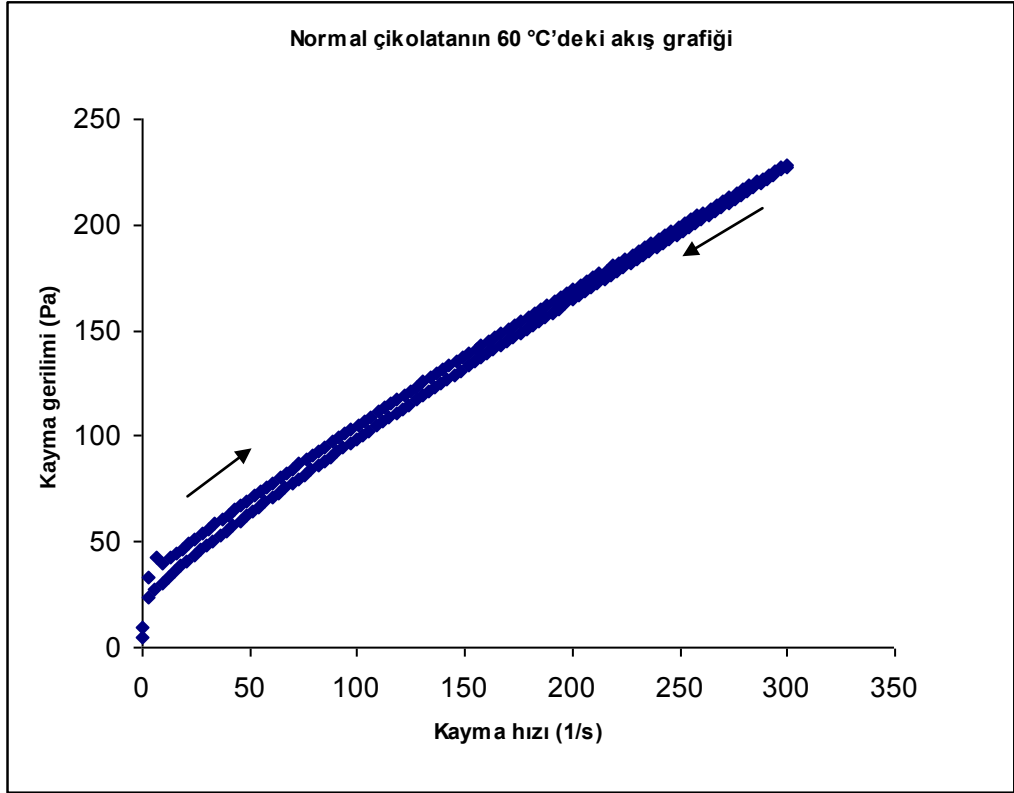
Şekil A.30 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT'nin birlikte katıldığı çikolatanın 40 °C'deki akış grafiği)



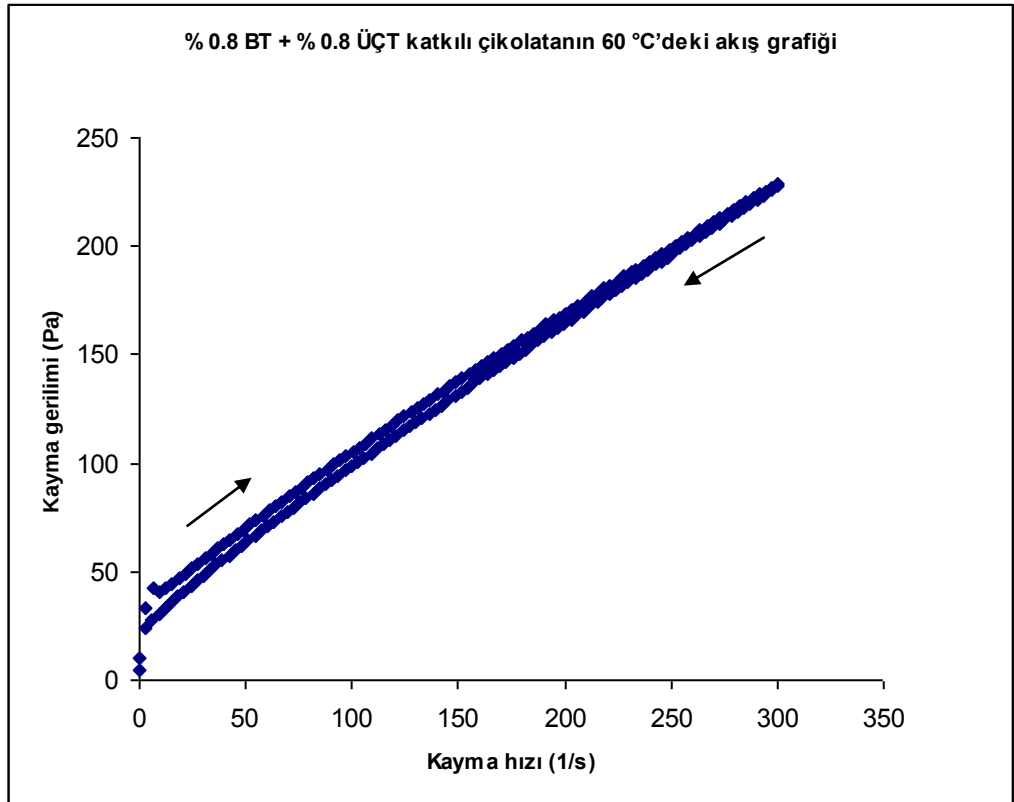
Şekil A.31 : Normal ikolatanın 50  C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8    T'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal ikolata)



Şekil A.32 : % 0.8 BT ile % 0.8    T'nin birlikte katıldığı çikolatanın 50  C'deki akış grafiği)



şekil A.33 : Normal ikolatanın 60  C'deki akış grafiği (% 0.8 BT ile % 0.8   T'nin birlikte katıldığı çikolatanın reolojisinin incelendiği çalışmadaki normal çikolata)

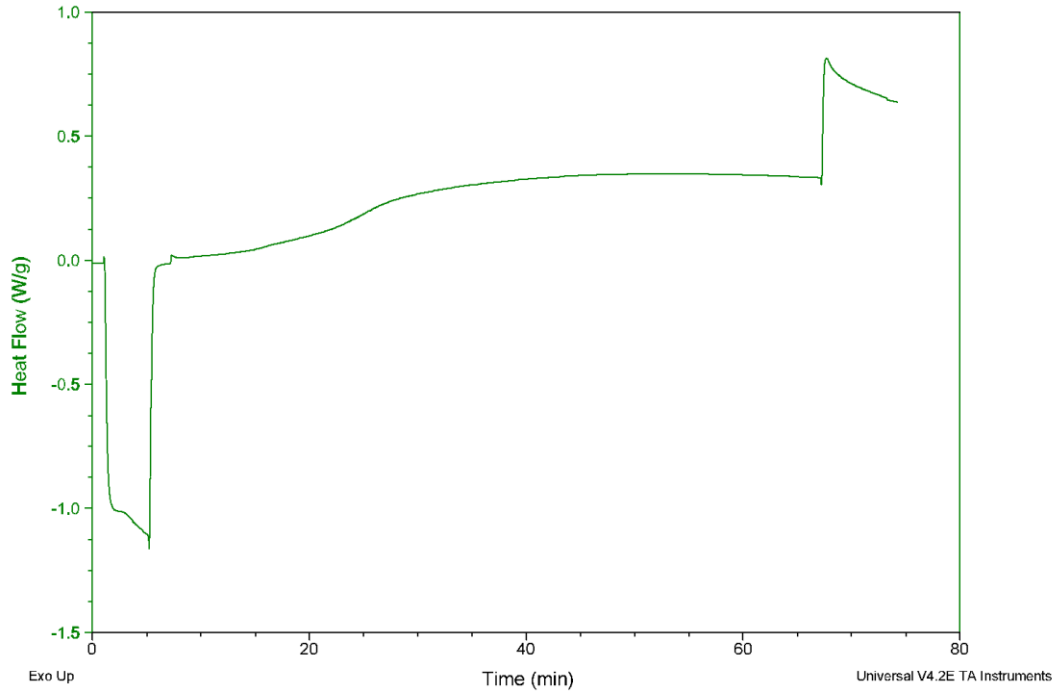


şekil A. 34 : % 0.8 BT ile % 0.8   T'nin birlikte katıldığı çikolatanın 60  C'deki akış grafiği)

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...\Ozgeloxidation\22.12.09\deneme kak
Operator: filiz
Run Date: 22-Dec-2009 17:05
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

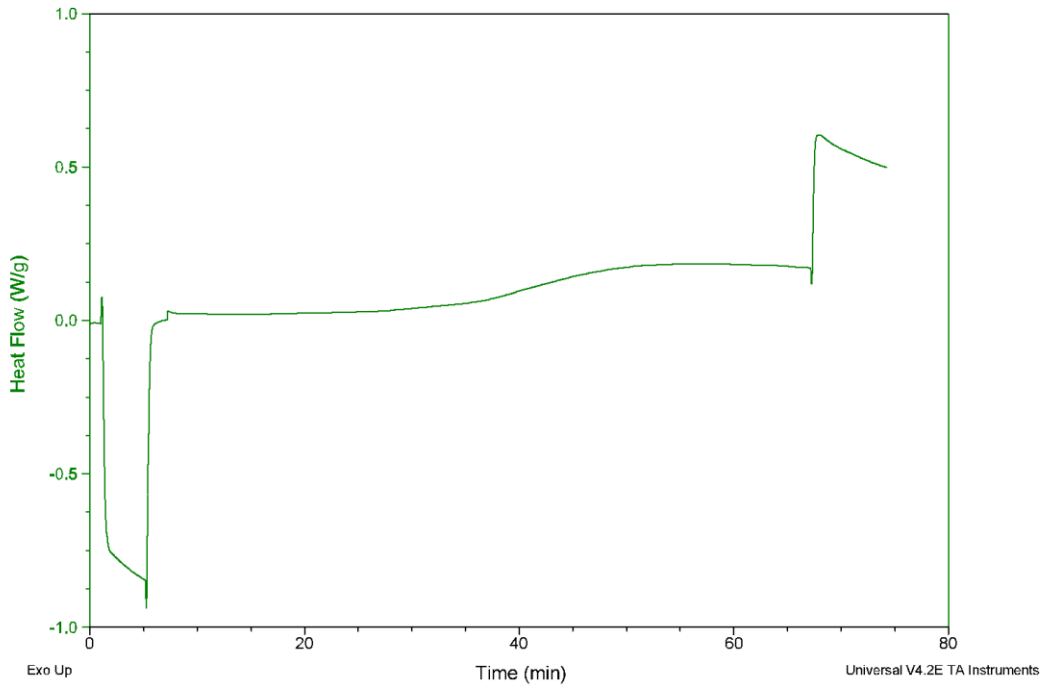


Şekil A.35 : Kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.7000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...\Ozgeloxidation\22.12.09\kak08bt
Operator: filiz
Run Date: 22-Dec-2009 18:34
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

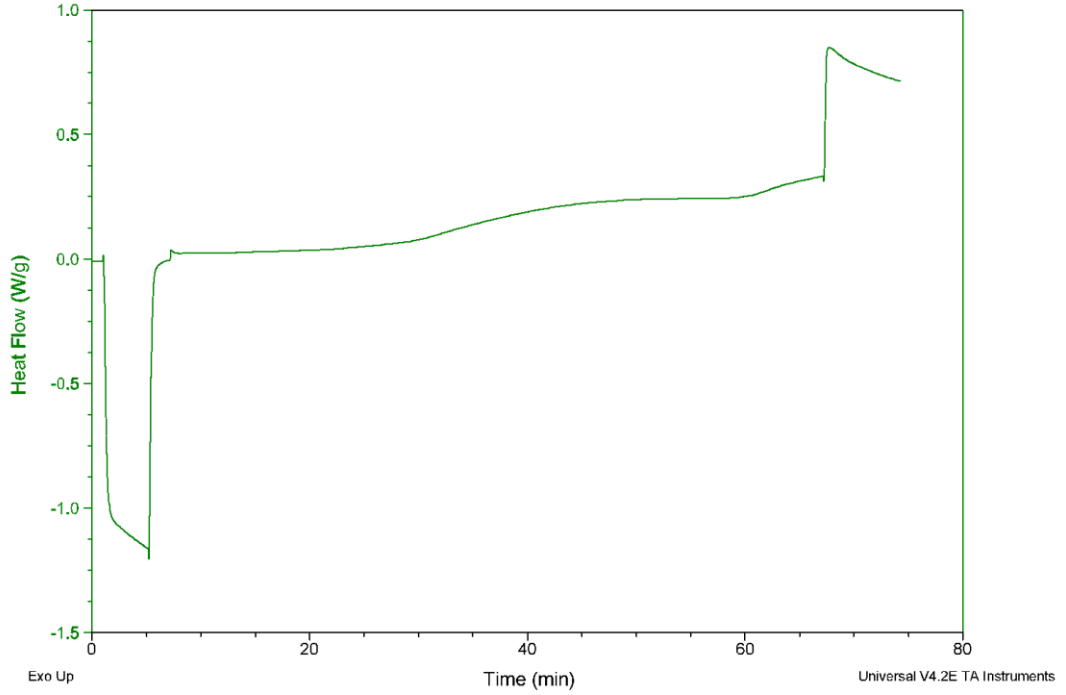


Şekil A.36 : % 0.8 BT katkılı kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.7000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...oxidation\kaklar\kak08uct-p2.002
Operator: filiz
Run Date: 04-Nov-2000 20:37
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

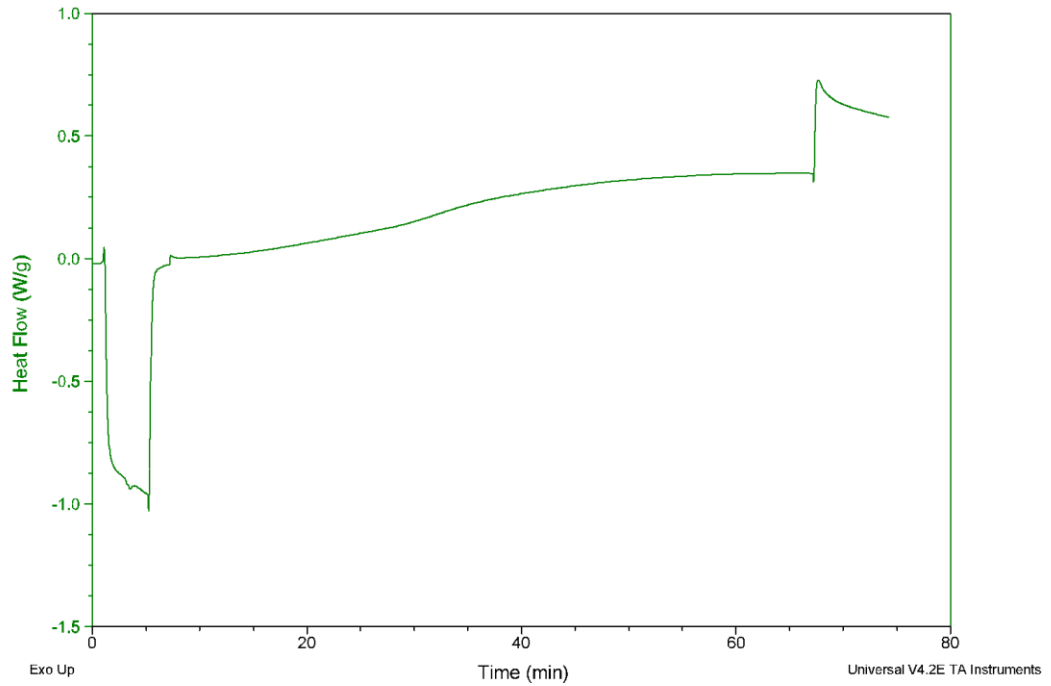


Şekil A.37 : % 0.8 ÜÇT katkıli kakao yağının DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.7000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...DSC\Ozge\oxidation\ckaklar\ckak
Operator: filiz
Run Date: 02-Jan-2000 15:12
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

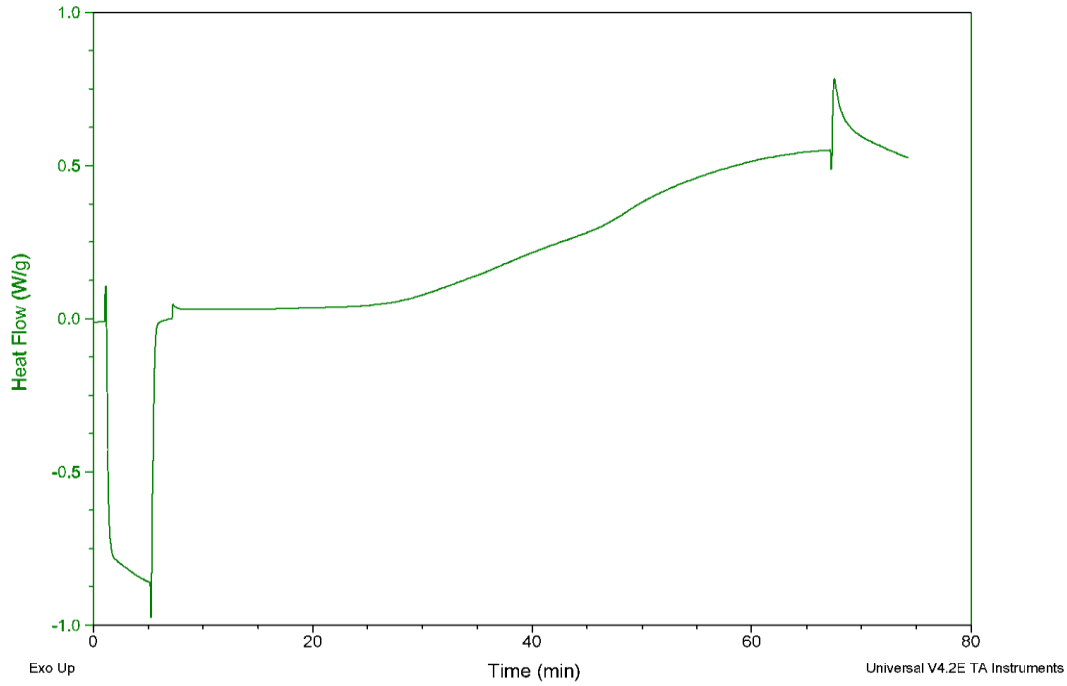


Şekil A.38 : Çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 4.9000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...\Ozgeloxidation\ckaklar\ckak01bt
Operator: filiz
Run Date: 03-Jan-2000 08:55
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

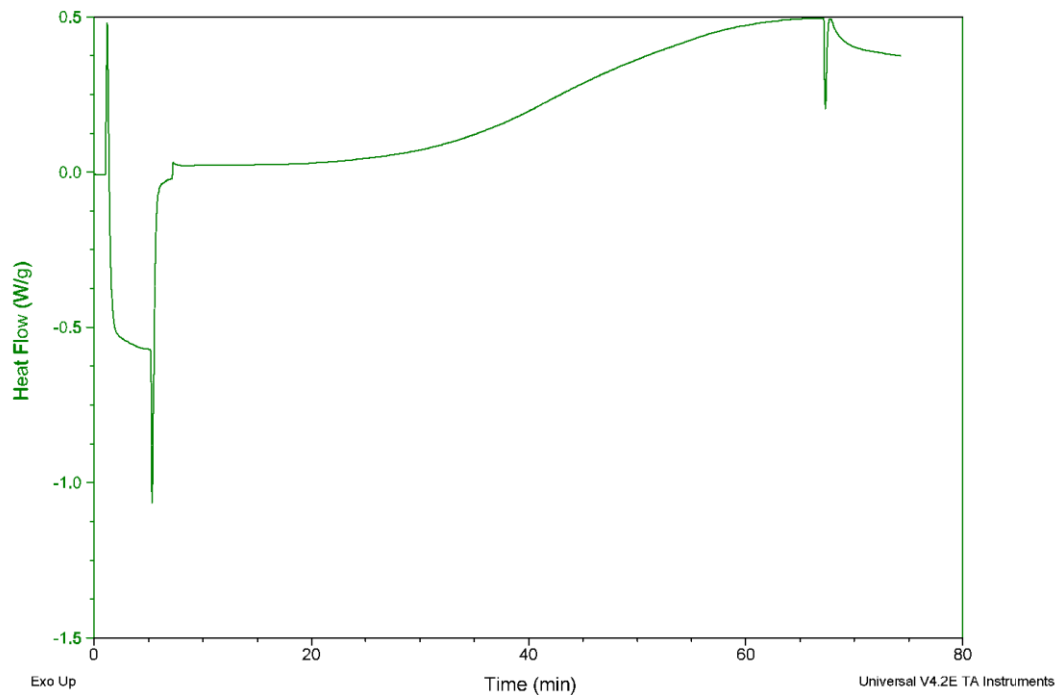


Şekil A.39 : % 0.1 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...\oxidation\ckaklar\ckak05bt-p3.001
Operator: filiz
Run Date: 04-Jan-2000 03:23
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

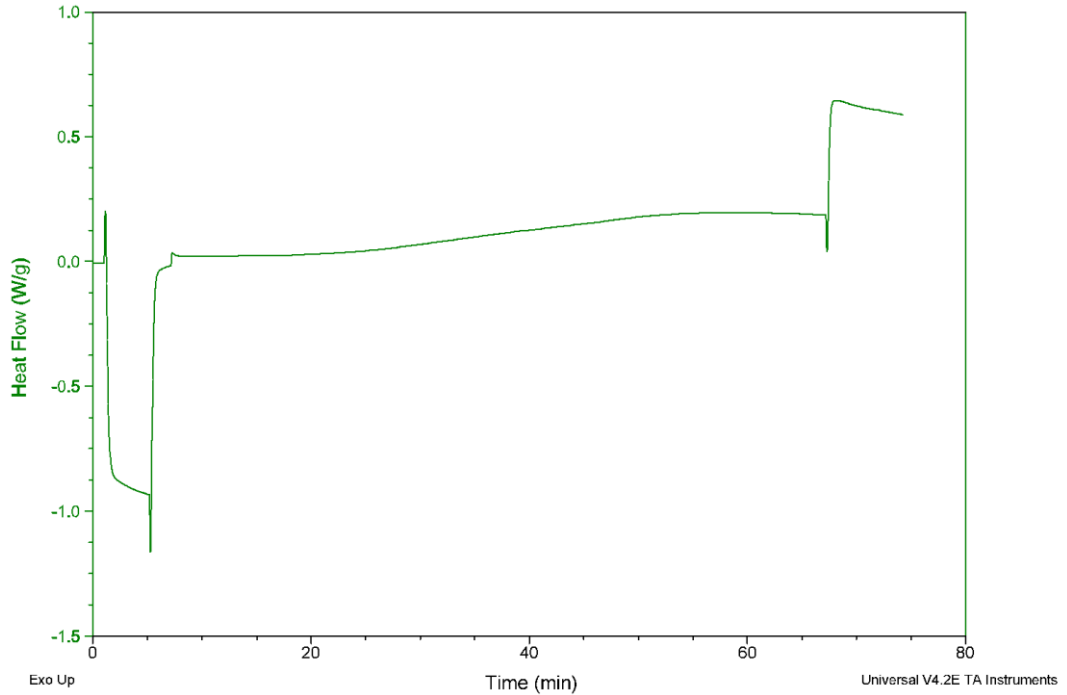


Şekil A.40 : % 0.5 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...oxidation\ckaklar\ckak08bt-p3.001
Operator: filiz
Run Date: 03-Jan-2000 23:13
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

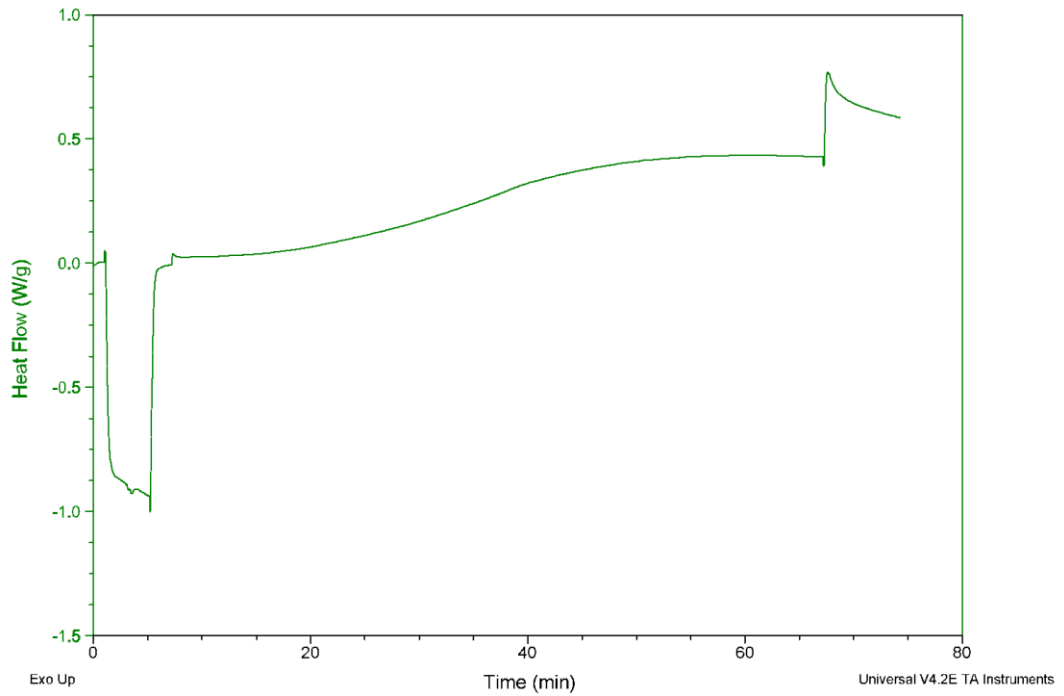


Şekil A.41 : % 0.8 BT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.8000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\...oxidation\ckaklar\ckak01uct-p2.001
Operator: filiz
Run Date: 03-Jan-2000 16:09
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

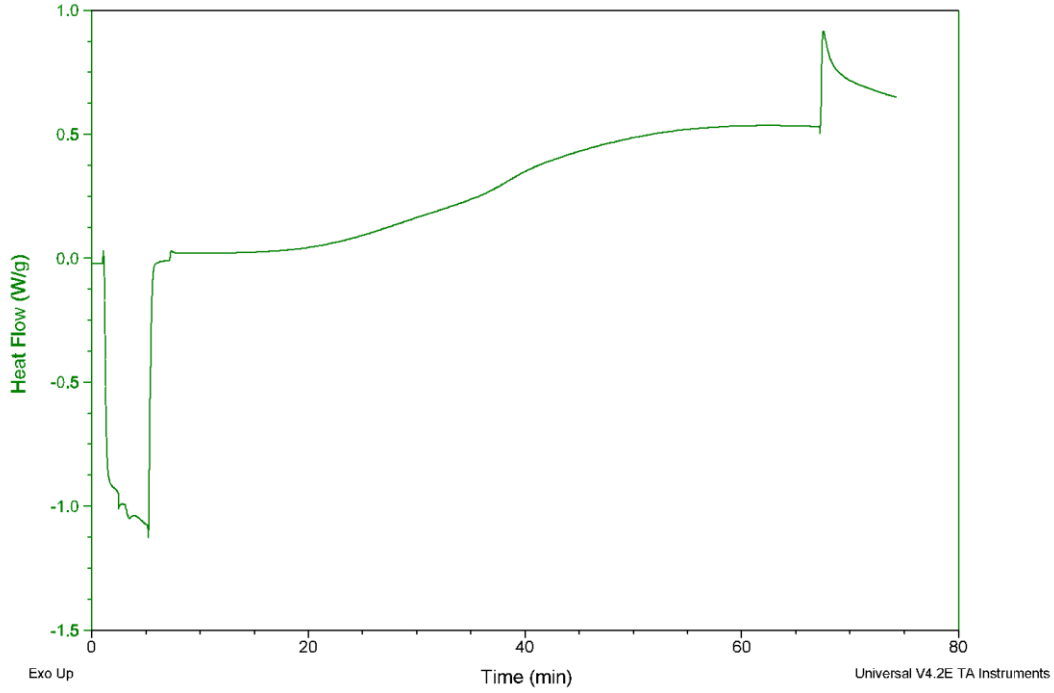


Şekil A.42: % 0.1 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.5000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\Ozgeloxidation\ckaklar\ckak05uct
Operator: filiz
Run Date: 03-Jan-2000 05:45
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

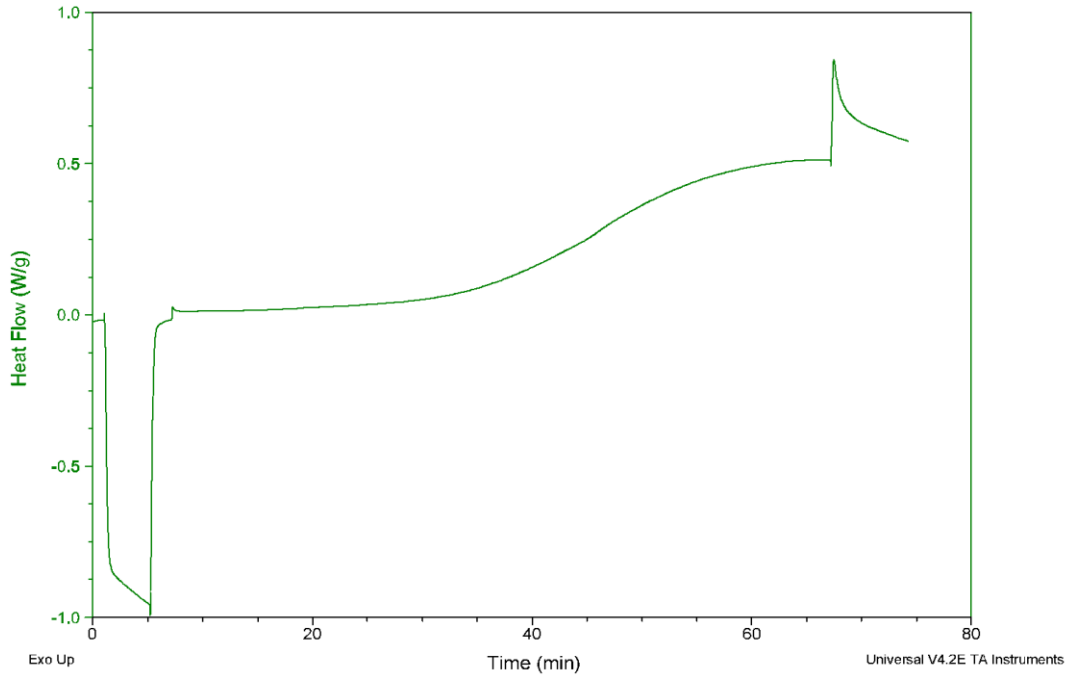


Şekil A.43 : % 0.5 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.6000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\Ozgeloxidation\ckaklar\ckak08.uct
Operator: filiz
Run Date: 02-Jan-2000 16:39
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287

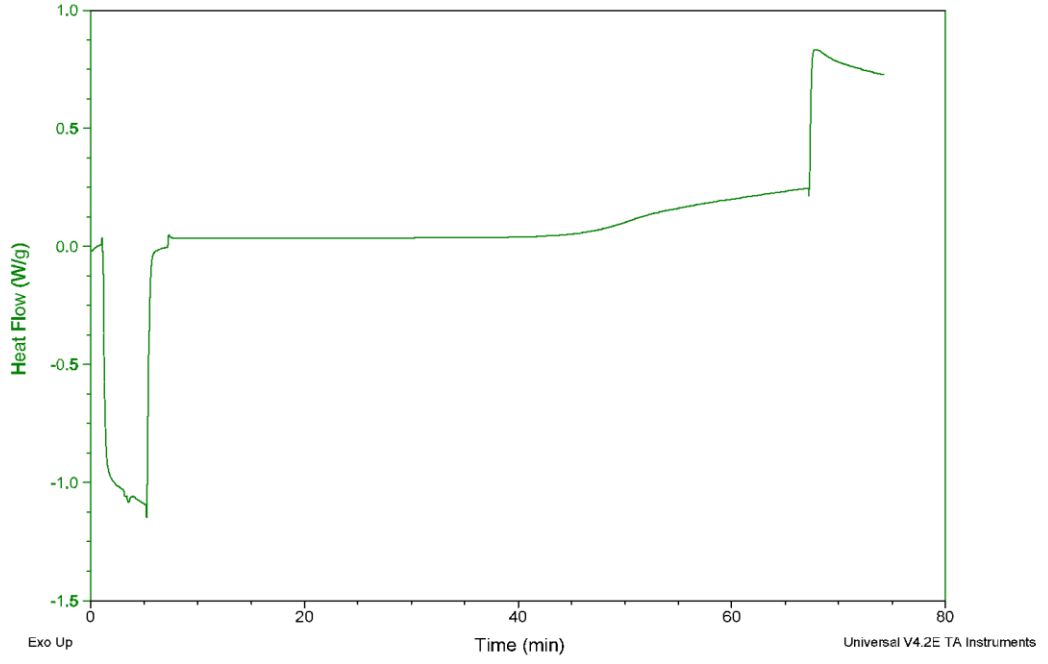


Şekil A.44 : % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Sample: cikolata
Size: 5.7000 mg
Method: Oxygen induction time

DSC

File: C:\... \cakakbt08-uct08.001A
Operator: filiz
Run Date: 05-Nov-2000 04:47
Instrument: DSC Q10 V9.4 Build 287



Şekil A.45 : % 0.8 BT ve % 0.8 ÜÇT katkılı çikolatadan ekstrakte edilen yağın DTK oksidasyon eğrisi

Çizelge B.1 : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Örnek 1:NÇ, Örnek 2: BT01, Örnek 3: BT05, Örnek 4: BT08, Örnek 5: ÜÇT01 Örnek 6: ÜÇT05, Örnek 7: ÜÇT08

NÇ: normal çikolata, BT01: % 0.1 oranında biberiye tozu (BT) eklenen çikolata
BT05: % 0.5 oranında BT eklenen çikolata, BT08: % 0.8 oranında BT eklenen çikolata,
ÜÇT01: % 0.1 oranında üzüm çekirdeği tozu (ÜÇT) eklenen çikolata ÜÇT05: % 0.5 oranında ÜÇT eklenen çikolata ÜÇT08: % 0.8 oranında ÜÇT eklenen çikolata

Factor	Type	Levels	Values
Örnek	fixed	7	1 2 3 4 5 6 7

Analysis of Variance for T_0 , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	6.224	6.224	1.037	0.34	0.893
Error	7	21.168	21.168	3.024		
Total	13	27.392				

Analysis of Variance for T_p , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	9.306	9.306	1.551	0.40	0.855
Error	7	26.811	26.811	3.830		
Total	13	36.117				

Analysis of Variance for T_e , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	6.309	6.309	1.052	0.70	0.658
Error	7	10.461	10.461	1.494		
Total	13	16.770				

Unusual Observations for T_e

Obs	T3	Fit	StDev Fit	Residual	St Resid
11	31.2500	33.0600	0.8644	-1.8100	-2.09R
12	34.8700	33.0600	0.8644	1.8100	2.09R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for T_e-T_0 , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	1.6801	1.6801	0.2800	0.37	0.875
Error	7	5.2600	5.2600	0.7514		
Total	13	6.9401				

Analysis of Variance for ΔH_e , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	320.6	320.6	53.4	0.48	0.804
Error	7	776.5	776.5	110.9		
Total	13	1097.2				

Çizelge B.1 devamı : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T₀

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	0.6950	1.739	0.3997	0.9994
3	0.8400	1.739	0.4830	0.9983
4	0.1000	1.739	0.0575	1.0000
5	1.4500	1.739	0.8338	0.9726
6	-0.3200	1.739	-0.1840	1.0000
7	-0.6100	1.739	-0.3508	0.9997

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	0.145	1.739	0.0834	1.0000
4	-0.595	1.739	-0.3422	0.9998
5	0.755	1.739	0.4342	0.9991
6	-1.015	1.739	-0.5837	0.9954
7	-1.305	1.739	-0.7505	0.9834

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	-0.740	1.739	-0.4255	0.9992
5	0.610	1.739	0.3508	0.9997
6	-1.160	1.739	-0.6671	0.9908
7	-1.450	1.739	-0.8338	0.9726

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	1.3500	1.739	0.7763	0.9804
6	-0.4200	1.739	-0.2415	1.0000
7	-0.7100	1.739	-0.4083	0.9993

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	-1.770	1.739	-1.018	0.9340
7	-2.060	1.739	-1.185	0.8803

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	-0.2900	1.739	-0.1668	1.000

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T_p

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Çizelge B.1 devamı : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	1.5000	1.957	0.7664	0.9816
3	1.0600	1.957	0.5416	0.9969
4	0.3550	1.957	0.1814	1.0000
5	1.6250	1.957	0.8303	0.9731
6	-0.4350	1.957	-0.2223	1.0000
7	-0.4650	1.957	-0.2376	1.0000

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	-0.440	1.957	-0.225	1.0000
4	-1.145	1.957	-0.585	0.9953
5	0.125	1.957	0.064	1.0000
6	-1.935	1.957	-0.989	0.9416
7	-1.965	1.957	-1.004	0.9377

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	-0.705	1.957	-0.3602	0.9997
5	0.565	1.957	0.2887	0.9999
6	-1.495	1.957	-0.7639	0.9819
7	-1.525	1.957	-0.7792	0.9801

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	1.2700	1.957	0.6489	0.9920
6	-0.7900	1.957	-0.4037	0.9994
7	-0.8200	1.957	-0.4190	0.9992

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	-2.060	1.957	-1.053	0.9243
7	-2.090	1.957	-1.068	0.9197

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	-0.03000	1.957	-0.01533	1.000

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T_e

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	0.725	1.222	0.5931	0.9950
3	0.440	1.222	0.3599	0.9997

Çizelge B.1 devamı : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

4	0.240	1.222	0.1963	1.0000
5	0.855	1.222	0.6994	0.9883
6	-1.145	1.222	-0.9366	0.9537
7	-0.610	1.222	-0.4990	0.9980

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
1.530	0.7242			
7	-1.335	1.222	-1.092	0.9123

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	-0.200	1.222	-0.164	1.0000
5	0.415	1.222	0.339	0.9998
6	-1.585	1.222	-1.297	0.8351
7	-1.050	1.222	-0.859	0.9686

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	0.615	1.222	0.503	0.9979
6	-1.385	1.222	-1.133	0.8988
7	-0.850	1.222	-0.695	0.9886

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	-2.000	1.222	-1.636	0.6695
7	-1.465	1.222	-1.198	0.8751

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	0.5350	1.222	0.4376	0.9990

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable $T_e - T_0$

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	0.0300	0.8668	0.0346	1.0000
3	-0.4000	0.8668	-0.4614	0.9987
4	0.1550	0.8668	0.1788	1.0000
5	-0.5950	0.8668	-0.6864	0.9893
6	-0.8250	0.8668	-0.9517	0.9504
7	0.0050	0.8668	0.0058	1.0000

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	-0.4300	0.8668	-0.4960	0.9981

Çizelge B.1 devamı : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

4	0.1250	0.8668	0.1442	1.0000
5	-0.6250	0.8668	-0.7210	0.9864
6	-0.8550	0.8668	-0.9863	0.9422
7	-0.0250	0.8668	-0.0288	1.0000

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	0.5550	0.8668	0.6402	0.9925
5	-0.1950	0.8668	-0.2250	1.0000
6	-0.4250	0.8668	-0.4903	0.9982
7	0.4050	0.8668	0.4672	0.9986

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	-0.7500	0.8668	-0.865	0.9675
6	-0.9800	0.8668	-1.131	0.8996
7	-0.1500	0.8668	-0.173	1.0000

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	-0.2300	0.8668	-0.2653	0.9999
7	0.6000	0.8668	0.6922	0.9889

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	0.8300	0.8668	0.9575	0.9490

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable ΔH_c

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	10.1350	10.53	0.96227	0.9479
3	0.6550	10.53	0.06219	1.0000
4	-0.3850	10.53	-0.03655	1.0000
5	10.3500	10.53	0.98268	0.9431
6	-0.9200	10.53	-0.08735	1.0000
7	-0.8250	10.53	-0.07833	1.0000

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	-9.48	10.53	-0.900	0.9612
4	-10.52	10.53	-0.999	0.9390
5	0.21	10.53	0.020	1.0000
6	-11.06	10.53	-1.050	0.9251
7	-10.96	10.53	-1.041	0.9277

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
----------------	------------------------	---------------------	---------	---------------------

Çizelge B.1 devamı : BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

4	-1.040	10.53	-0.0987	1.0000
5	9.695	10.53	0.9205	0.9571
6	-1.575	10.53	-0.1495	1.0000
7	-1.480	10.53	-0.1405	1.0000

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	10.7350	10.53	1.01923	0.9336
6	-0.5350	10.53	-0.05080	1.0000
7	-0.4400	10.53	-0.04178	1.0000

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	-11.27	10.53	-1.070	0.9191
7	-11.17	10.53	-1.061	0.9218

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	0.09500	10.53	0.009020	1.000

Çizelge B.2 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi

Örnek 1: NÇ (Normal çikolata) , Örnek 2: BT08+ÜÇT08 (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata)

Factor	Type	Levels	Values
Örnek_1	fixed	2	1 2

Analysis of Variance for T_0 , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek_1	1	3.3672	3.3672	3.3672	9.17	0.094
Error	2	0.7344	0.7344	0.3672		
Total	3	4.1016				

Analysis of Variance for T_p , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek_1	1	1.046	1.046	1.046	0.62	0.514
Error	2	3.388	3.388	1.694		
Total	3	4.433				

Analysis of Variance for T_e , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek_1	1	0.8145	0.8145	0.8145	0.97	0.429
Error	2	1.6858	1.6858	0.8429		
Total	3	2.5003				

Çizelge B.2 devamı : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın kristalizasyon parametrelerine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi

Analysis of Variance for $T_e - T_0$, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek_1	1	0.722	0.722	0.722	0.66	0.502
Error	2	2.193	2.193	1.097		
Total	3	2.916				

Analysis of Variance for ΔH_1 , using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek_1	1	31.2	31.2	31.2	0.23	0.680
Error	2	273.8	273.8	136.9		
Total	3	305.0				

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T_0

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek_1

Örnek_1 = 1 subtracted from:

Level	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
Örnek_1				
2	-1.835	0.6060	-3.028	0.0939

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T_p_1

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek_1

Örnek_1 = 1 subtracted from:

Level	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
Örnek_1				
2	-1.022	1.301	-0.7857	0.5144

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable T_e_1

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek_1

Örnek_1 = 1 subtracted from:

Level	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
Örnek_1				
2	-0.9025	0.9181	-0.9830	0.4292

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable $T_e - T_0_1$

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek_1

Örnek_1 = 1 subtracted from:

Level	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
Örnek_1				
2	0.8500	1.047	0.8117	0.5022

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable ΔH_e_1

All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek_1

Örnek_1 = 1 subtracted from:

Level	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
Örnek_1				
2	-5.583	11.70	-0.4771	0.6804

Çizelge B.3: BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında ilavesinin çikolatanın toplam fenolik madde miktarına etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Örnek 1:NÇ, Örnek 2: BT01, Örnek 3: BT05, Örnek 4: BT08, Örnek 5: ÜÇT01 Örnek 6: ÜÇT05, Örnek 7: ÜÇT08

NÇ: normal çikolata, BT01: % 0.1 oranında biberiye tozu (BT) eklenen çikolata
BT05: % 0.5 oranında BT eklenen çikolata, BT08: % 0.8 oranında BT eklenen çikolata, ÜÇT01: % 0.1 oranında üzüm çekirdeği tozu (ÜÇT) eklenen çikolata ÜÇT05: % 0.5 oranında ÜÇT eklenen çikolata ÜÇT08: % 0.8 oranında ÜÇT eklenen çikolata

Factor Type Levels Values
Örnek fixed 7 1 2 3 4 5 6 7

Analysis of Variance for FenolikM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	8.4525	8.4525	1.4088	84.79	0.000
Error	7	0.1163	0.1163	0.0166		
Total	13	8.5688				

Unusual Observations for FenolikM

Obs	FenolikM	Fit	StDev Fit	Residual	St Resid
7	10.8250	11.0300	0.0911	-0.2050	-2.25R
8	11.2350	11.0300	0.0911	0.2050	2.25R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Tukey Simultaneous Tests
Response Variable FenolikM
All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	0.2050	0.1289	1.590	0.6931
3	0.3625	0.1289	2.812	0.1975
4	1.4075	0.1289	10.920	0.0001
5	0.4000	0.1289	3.103	0.1395
6	1.0925	0.1289	8.476	0.0007
7	2.3600	0.1289	18.309	0.0000

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	0.1575	0.1289	1.222	0.8660
4	1.2025	0.1289	9.329	0.0004
5	0.1950	0.1289	1.513	0.7327
6	0.8875	0.1289	6.885	0.0025
7	2.1550	0.1289	16.719	0.0000

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	1.04500	0.1289	8.1073	0.0009
5	0.03750	0.1289	0.2909	0.9999
6	0.73000	0.1289	5.6635	0.0079
7	1.99750	0.1289	15.4969	0.0000

Örnek = 4 subtracted from:

Çizelge B.3 devamı: BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında ilavesinin çikolatanın toplam fenolik madde miktarına etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	-1.007	0.1289	-7.816	0.0012
6	-0.315	0.1289	-2.444	0.3027
7	0.953	0.1289	7.390	0.0016

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
6	0.6925	0.1289	5.373	0.0106
7	1.9600	0.1289	15.206	0.0000

Örnek = 6 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
7	1.268	0.1289	9.833	0.0003

Çizelge B.4: % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın toplam fenolik madde miktarına etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel incelenmesi

Örnek 1: NÇ (Normal çikolata) , Örnek 2: BT08+ÜÇT08 (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata)

Factor Type Levels Values
Örnek fixed 2 1 2

Analysis of Variance for FenolikM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	1	0.57760	0.57760	0.57760	42.47	0.023
Error	2	0.02720	0.02720	0.01360		
Total	3	0.60480				

Tukey Simultaneous Tests
Response Variable FenolikM
All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	0.7600	0.1166	6.517	0.0228

Çizelge B.5: BT ve ÜÇT'nin çeşitli dozlarında ilavesinin çikolatanın antioksidan aktivitesine etkisinin ANOVA tek yöllü modeliyle istatistiksel incelenmesi

Örnek 1: NÇ, Örnek 2: BT01, Örnek 3: BT05, Örnek 4: BT08, Örnek 5: ÜÇT01 Örnek 6: ÜÇT05, Örnek 7: ÜÇT08

NÇ: normal çikolata, BT01: % 0.1 oranında biberiye tozu (BT) eklenen çikolata
BT05: % 0.5 oranında BT eklenen çikolata, BT08: % 0.8 oranında BT eklenen çikolata, ÜÇT01: % 0.1 oranında üzüm çekirdeği tozu (ÜÇT) eklenen çikolata ÜÇT05: % 0.5 oranında ÜÇT eklenen çikolata ÜÇT08: % 0.8 oranında ÜÇT eklenen çikolata

Factor Type Levels Values
Örnek fixed 7 1 2 3 4 5 6 7

Analysis of Variance for antioxidant activity, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	6	340.068	340.068	56.678	51.37	0.000
Error	7	7.723	7.723	1.103		
Total	13	347.791				

Tukey Simultaneous Tests
Response Variable antioxidant activity
All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	2.862	1.050	2.725	0.2188
3	5.387	1.050	5.129	0.0137
4	11.222	1.050	10.684	0.0002
5	5.757	1.050	5.481	0.0095
6	7.262	1.050	6.914	0.0025
7	16.050	1.050	15.280	0.0000

Örnek = 2 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	2.525	1.050	2.404	0.3166
4	8.360	1.050	7.959	0.0010
5	2.895	1.050	2.756	0.2110
6	4.400	1.050	4.189	0.0385
7	13.187	1.050	12.555	0.0001

Örnek = 3 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
4	5.8350	1.050	5.5550	0.0088
5	0.3700	1.050	0.3522	0.9997
6	1.8750	1.050	1.7850	0.5921
7	10.6625	1.050	10.1509	0.0002

Örnek = 4 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
5	-5.465	1.050	-5.203	0.0126
6	-3.960	1.050	-3.770	0.0628
7	4.828	1.050	4.596	0.0243

Örnek = 5 subtracted from:

Level Örnek	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
-------------	---------------------	------------------	---------	------------------

6	1.505	1.050	1.433	0.7724
7	10.293	1.050	9.799	0.0003

Örnek = 6 subtracted from:

Level	Difference	SE of		Adjusted
Örnek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
7	8.788	1.050	8.366	0.0008

Çizelge B.6 : % 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkısının çikolatanın antioksidan aktivitesine etkisinin ANOVA tek yollu modeliyle istatistiksel olarak incelenmesi

Örnek 1: NÇ (Normal çikolata), Örnek 2: BT08+ÜÇT08 (% 0.8 BT ile % 0.8 ÜÇT katkılı çikolata)

Factor	Type	Levels	Values
Örnek	fixed	2	1 2

Analysis of Variance for antioxiddant activity, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Örnek	1	2369.3	2369.3	2369.3	3698.35	0.000
Error	2	1.3	1.3	0.6		
Total	3	2370.5				

Tukey Simultaneous Tests
Response Variable antioxidant activity
All Pairwise Comparisons among Levels of Örnek

Örnek = 1 subtracted from:

Level	Difference	SE of		Adjusted
Örnek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
2	48.68	0.8004	60.81	0.0003



Ad Soyad: Özge ÖZGEN

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul, 1978

Lisans Üniversite : İstanbul Üniversitesi Kimya Bölümü (1996-2000)

Yüksek lisans : Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Bölümü (2000-2004)

İş durumu : Altınmarka Gıda San. ve Tic. A.Ş. (2004-2006)
Bilimsel alanda serbest çevirmenlik (2006-2010)