İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK YAĞI KULLANILARAK ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİYLE KAKAO YAĞI İKAMESİ ÜRETİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Müh. N. Feyza UYGUN

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği
Programı : Gıda Mühendisliği

HAZİRAN 2007

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK YAĞI KULLANILARAK ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİYLE KAKAO YAĞI İKAMESİ ÜRETİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. N. Feyza UYGUN
(506031522)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 07 Mayıs 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 12 Haziran 2007

Tez Danışmanı :	**Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK**
Diğer Jüri Üyeleri	**Prof.Dr. Artemis KARAALİ (İ.T.Ü.)**
	Prof.Dr. Güldem ÜSTÜN (İ.T.Ü.)

HAZİRAN 2007

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, fikirleri ile beni yönlendiren hocam Sayın Doç. Dr. Beraat Özçelik'e teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım sırasında emeği geçen Ar. Gör. Neşe Şahin'e ve Ar. Gör. Derya Kahveci'ye ayrıca çalışmalarımda beni yalnız bırakmayan Nalan Demir'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmamı, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni her konuda destekleyen ve anlayış gösteren aileme ve dostlarıma ithaf ediyorum.

Mayıs, 2007 **N. Feyza UYGUN**

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR **v**
TABLO LİSTESİ **vi**
ŞEKİL LİSTESİ **viii**
ÖZET **ix**
SUMMARY **x**

1. GİRİŞ **1**

2. LİTERATÜR ÖZETİ **2**
2.1 Kakao ve Kakao yağı 2
2.1.1 Kakao bitkisi ve tarihçesi 2
2.1.2 Kakao tanelerinin bileşimi 4
2.1.3 Kakao yağı 5
2.1.3.1 Kakao yağının bileşimi 6
2.2 Kakao Yağı İkameleri veya Kakao Yağı Alternatifleri 9
2.2.1 Kakao yağı eşdeğerleri (CBE) 11
2.2.2 Kakao yağı benzerleri (CBS) 11
2.2.3 Kakao yağı yerini tutanlar (CBR) 12
2.3 Kakao Yağı İkamelerinin Üretim Yöntemleri 12
2.3.1 Harmanlama ve fraksiyonlama 12
2.3.2 İnteresterifikasyon 14
2.3.2.1 Kimyasal interesterifikasyon 14
2.3.2.2 Enzimatik interesterifikasyon 15
2.4 Kakao Yağı İkamelerinin Enzimatik İnteresterifikasyon Yöntemiyle Üretilmesiyle İlgili Yapılan Literatür Çalışmaları 17
2.5 Kakao Yağı İkamelerinin Ticari Olarak Üretim Prosesleri 20
2.6 Polimorfizm 24
2.6.1 Terminoloji ve polimorfik formlar 24
2.6.2 Kristal geometrisi 27
2.6.3 Kristalizasyon ve polimorfizmin çikolata ve şekerleme endüstrisi açısından önemi 31
2.6.4 Kakao yağı ikameleri ve polimorfizm 32
2.6.5 Kristalizasyonun kontrolü 34
2.6.6 Erime ve kristalizasyonun ölçülmesi 37

3. MATERYAL VE METOT **38**
3.1 Materyal 38
3.2 Metot 38
3.2.1 İnteresterifikasyon reaksiyonu 38
3.2.2 Ürünlerin analizi 39
3.2.2.1 Triaçilgliserol bileşimi analizi 40
3.2.2.2 Erime özelliklerinin tespiti amacıyla kullanılan DSC metodu 40

3.2.2.3 Yağ asidi analizinde kullanılan gaz kromatografisi metodu 41
3.2.3 Deneysel tasarım 41
3.2.4 İstatistiksel analiz 42

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 43
4.1 Hammaddelerin Yağ Asidi Bileşimleri 43
4.2 Ön Denemeler 44
4.3 Triaçilgliserol Bileşimi Analizi Sonuçları 44
4.4 Erime Profili Analizi Sonuçları 52
4.5 Ürünlerin ve Kakao Yağının Yağ Asidi Bileşimi Sonuçları 58
4.6 İstatistiksel Analiz Sonuçları 61

5. SONUÇ 62

KAYNAKLAR 64

EK A. İSTATİSTİK HESAPLAMA TABLOLARI 69

ÖZGEÇMİŞ 75

KISALTMALAR

P	: Palmitik asit
St	: Stearik asit
O	: Oleik asit
Po	: Palmitoleik asit
M	: Miristik asit
L	: Linoleik asit
Li	: Linolenik asit
A	: Araşidik asit
B	: Behenik asit
Sat	: Doymuş yağ asitleri
U	: Doymamış yağ asitleri
POP	: 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol
POSt	: *rac*-palmitoyl-stearoyl-2-oleoyl-glycerol
StOSt	: 1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol
BOB	: Glycerol 1,3-behenate 2-oleate
CBE	: Kakao yağı eşdeğeri
CBS	: Kakao yağı benzeri
CBR	: Kakao yağı yerini tutanlar
POMF	: Palm yağı orta fraksiyonu
STR	: Karıştırıcılı tank reaktör
FFA	: Serbest yağ asidi
XRD	: X ışını difraksiyonu
DSC	: Diferansiyel tarama kalorimetresi
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
XRPD	: X ışını toz difraksiyon
NIR	: Yakın kızıl ötesi
TS	: Türk standardı
FAME	: Yağ asidi metil esteri
RPM	: Dakikada dönme (Revolution per minute)
GC	: Gaz kromatografisi
AOAC	: Association of official analytical chemists

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1	:Kakao Yağının Yağ Asidi Bileşimi ……...	6
Tablo 2.2	:Farklı Ülkelerden Kakao Yağlarının Triaçilgliserol Bileşimi …...	8
Tablo 2.3	:Kakao Yağının Triaçilgliserol Bileşimi ……	9
Tablo 2.4	:Kakao Yağı İkamesi Olarak Kullanılan Bazı Yağların Yağ Asidi Bileşimleri……...	10
Tablo 2.5	:Enzimatik Yöntemler Kullanılarak Kakao Yağı İkamesi Üretimi Amacıyla Laboratuvar Ölçeğinde Yapılan Çalışmalar ….....	20
Tablo 2.6	:POSt, POP Ve StOSt Triaçilgliserolleri İçin Polimorfik Formlar Ve Bu Formların Erime Noktaları ……..	26
Tablo 2.7	:Yedi Kristalografik Sistem için Örnekler …….	30
Tablo 3.1	:Elde Edilen Kakao Yağı İkamelerinin Kodları ve Çalışmada Kullanılan Palm Stearin, Fındık Yağı ve Stearik Asit Oranları ..	42
Tablo 4.1	:Substrat Olarak Kullanılan Yağların Yağ Asidi Bileşimleri……..	43
Tablo 4.2	:Kakao Yağı Ve Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin Göreceli Yüzdesel Triaçilgliserol Bileşimi……	46
Tablo 4.3	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……..	48
Tablo 4.4	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……..	49
Tablo 4.5	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……..	50
Tablo 4.6	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……..	51
Tablo 4.7	:DSC Analizi Sonucunda Piklerin Gözlendiği Sıcaklıklar……..	53
Tablo 4.8	:DSC Analizi Sonucunda Bazı Ticari Kakao Yağı İkamelerinin Erime Sıcaklıkları……	54
Tablo 4.9	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim……	57
Tablo 4.10	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim……	57
Tablo 4.11	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış Ve Erime Sıcaklığındaki Değişim……	57
Tablo 4.12	:Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış Ve Erime Sıcaklığındaki Değişim……	58

Tablo 4.13 :Kakao Yağı Ve Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin Yağ Asidi Bileşimi……... 59
Tablo A.1 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin OOO Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu…… 69

Tablo A.2 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin OOO Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 69
Tablo A.3 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POO Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu……... 70
Tablo A.4 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POO Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 70
Tablo A.5 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POP Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu……... 70
Tablo A.6 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POP Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 71
Tablo A.7 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POS Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu……... 71
Tablo A.8 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POS Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 72
Tablo A.9 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin SOS Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu……... 72
Tablo A.10 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin SOS Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 73
Tablo A.11 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin DSC İle Tesbit Edilen Erime Sıcaklığı için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu……. 73
Tablo A.12 :Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin Erime Sıcaklığı Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi…… 74

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Ağaçta Kakao Meyvesi……. 3
Şekil 2.2 : Kakao Çekirdekleri……..…… 3
Şekil 2.3 : Kurutulan Kakao Çekirdekleri…….. 3
Şekil 2.4 : Harmanlama ve Fraksiyonlama Yöntemleri Kullanılarak CBE Üretimi için Proses Şeması…… 13
Şekil 2.5 : Enzimatik İnteresterifikasyon Yoluyla Karıştırıcılı Bir Tank Reaktörde Kakao Yağı Eşdeğerlerinin (CBE) Üretimi için Proses Şeması……... 22
Şekil 2.6 : Enzimatik İnteresterifikasyon Yoluyla Paketlenmiş-Yatak Reaktörler Kullanılarak Kakao Yağı Eşdeğerlerinin (CBE) Üretimi için Endüstriyel Proses……. 23
Şekil 2.7 : Kakao Yağının İzotermal Faz Geçiş Şeması……. 27
Şekil 2.8 : Yedi Kristal Sistem için Kristalografik Eksenler ve Birim Hücreler……. 28-29
Şekil 2.9 : Kakao Yağı ve Kakao Yağı Eşdeğeri Karışımının İzotermal Diyagramı…….. 32
Şekil 2.10 : Kakao yağı ve kakao yağı benzeri karışımının izotermal diyagramı……... 33
Şekil 2.11 : Kakao Yağı Ve Kakao Yağı Yerini Tutan Karışımının İzotermal Diyagramı…….. 34
Şekil 2.12 : Temperleme İşlemi Boyunca Sıcaklık Değişimi……... 35
Şekil 3.1 : İnteresterifikasyonun Gerçekleştirilmesi için Kullanılan Yöntem 39
Şekil 4.1 : Kakao Yağına Ait HPLC Kromatogramı…….. 45
Şekil 4.2 : Üretilen Kakao Yağı İkamelerinden 14 Numarayla Kodlanan Ürüne Ait HPLC Kromatogramı……... 45
Şekil 4.3 : Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……. 49
Şekil 4.4 : Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……. 50
Şekil 4.5 : Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……. 51
Şekil 4.6 : Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim……. 52
Şekil 4.7 :1-7 Numaralarıyla Kodlanan Kakao Yağı İkamelerinin DSC Termogramlarının Kakao Yağı DSC Termogramıyla Karşılaştırılması…… 55
Şekil 4.8 :8-14 Numaralarıyla Kodlanan Kakao Yağı İkamelerinin DSC Termogramlarının Kakao Yağı DSC Termogramıyla Karşılaştırılması…… 55
Şekil 4.9 :Kakao Yağına Ait GC Kromatogramı…… 60

FINDIK YAĞI KULLANILARAK ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİYLE KAKAO YAĞI İKAMESİ ÜRETİLMESİ

ÖZET

Kakao yağı, gıda endüstrisinde kullanılan pahalı ve önemli bir hammaddedir. Çikolata ve şekerleme endüstrisinde ürünlere, çok önemli fiziksel ve kimyasal özellikler katar. Kakao yağı oda sıcaklığında kırılgandır ve vücut sıcaklığında tamamen ve hızla erir, dik bir erime profiline sahiptir. Kakao yağıyla aynı fiziksel özelliklere sahip, doğal olarak oluşan başka yağ yoktur. Ancak sağlanmasındaki belirsizlik, kalitedeki çeşitlilik, diğer yağlarla karşılaştırıldığında yüksek maliyet ve sıcak iklimlerde kullanımının uygun olmaması gibi pek çok etken, alternatiflerin aranmasına neden olmuştur.

Kakao yağı ikamesi üretimi amacıyla kullanılan başlıca yöntemler, fraksiyonel kristalizasyon ve interesterifikasyon tepkimeleridir. Lipazların kullanıldığı enzimatik yöntemler, kimyasal interesterifikasyonla ilgili geleneksel yöntemlere göre önemli avantajlara sahiptir.

Fındık, Türkiye'de çok yaygın olarak yetiştirilen bir meyvedir ve Türkiye, fındık üretiminde dünya ülkeleri arasında ilk sırada yer alır. Bu çalışmada ülkemize özgü bir ürün olan fındık yağının, enzimatik interesterifikasyon yoluyla kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, çeşitli oranlarda fındık yağı, palm stearin ve stearik asit kullanılarak *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM 1,3-spesifik lipazla kakao yağı ikamesi üretilmiş ve elde edilen ürünler, triaçilgliserol bileşimi, erime özellikleri ve yağ asidi bileşimi açısından değerlendirilmiştir.

Bu analizler sonucundaki veriler dikkate alınarak fındık yağı kullanılarak triaçilgliserol bileşimi ve erime özellikleri açısından kakao yağına benzeyen ürünler elde edilmiştir. Bununla birlikte, daha etkili saflaştırma yöntemlerinin geliştirilmesi için çalışmalara ihtiyaç vardır.

PRODUCTION OF COCOA BUTTER LIKE FATS BY INTERESTERIFICATION OF HAZELNUT OIL

SUMMARY

Cocoa butter is an expensive and important raw material used in the food industry. It gives products very important physical and chemical properties in chocolate and confectionery industry. Cocoa butter is brittle at room temperature and is compeletely and fast melting at body tempereture, it has sharp melting profile. There is no other naturally occurring fat with the same physical properties as cocoa butter. But numerious factors like uncertainty in supply, variability in quality, high price when compared to other fats and unsuitableness for use in hot climates have driven the search alternatives.

The main methods for cocoa butter-like fats production are fractionated cristallization and interesterification reactions. The enzymatic methods which are used lipases, have important advantages over the traditional methods of chemical interesterification. For this purpose the 1,3-specific lipase from *Mucor miehei* is used prevalently.

Hazelnut is widely grown in Turkey and Turkey is the leading country in hazelnut production. In this study, the use of hazelnut oil which is a specific product to our country is aimed for production of cocoa butter-like fats by interesterification reactions.

In the study, various proportions of hazelnut oil, palm stearin and stearic acid used for production of cocoa butter like fats by 1,3-specific lipase Lipozyme ® RM IM from *Rhizomucor miehei* and the synthesized product evaluated about triacylglycerol composition, melting properties and fatty acid composition.

When considered data after these analysis, in terms of triacylglycerol composition and melting properties, cocoa butter like fats achieved by using hazelnut oil. However, it's needed more effective purification methods.

1. GİRİŞ

Kakao yağı, çikolata ve şekerleme endüstrisi açısından oldukça önemli bir hammaddedir. Kakao yağının önemi bu yağın kendine has bileşiminden ve bu bileşim sayesinde ürünlere kattığı fiziksel özelliklerden kaynaklanmaktadır. Kakao yağı, oda sıcaklığında sert ve kırılgandır, ağıza alındığında ise hızla eriyerek çikolata veya şekerleme ürünündeki lezzetin hissedilmesine katkıda bulunur. Ayrıca ürünlerdeki diğer bileşenleri destekleyerek devamlı faz olarak rol oynar.

Bütün bu olumlu özelliklerine karşın, doğal bir ürün olmasından kaynaklanan bileşimdeki ve sağlanmasındaki belirsizlikler, artan talep, sıcak iklim koşullarında kullanımının zor olması ve fiyatının diğer yağlara oranla yüksek olması gibi bir takım faktörler bu yağlara alternatiflerin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu amaçla kullanılan başlıca yöntemler harmanlama, fraksiyonel kristalizasyon ve interesterifikasyon reaksiyonlarıdır. Bu yöntemler arasında 1,3-spesifik lipazların kullanıldığı enzimatik interesterifikasyon yöntemi, spesifiklik ve kakao yağına yakından benzeyen bir ürün oluşturulabilmesi gibi avantajları sayesinde öne çıkmaktadır.

Bu çalışmada, ülkemize özgü çok önemli bir ürün olan fındık yağının, 1,3- spesifik lipazlar kullanılarak enzimatik interesterifikasyon yöntemiyle kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Kakao ve Kakao Yağı

2.1.1 Kakao bitkisi ve tarihçesi

Kakao ağacını ve bu ağacın meyvelerini tanımlamada kullanılan "kakao" terimi, aynı zamanda kurutulmuş fermente edilmiş taneleri ve bu tanelerden üretilen tozu da ifade eder. Kakao ağacı, botanik olarak *Theobroma cacao* (Sterculiaceae familyası) olarak bilinen küçük bir ağaçtır. Optimum yetişme sıcaklığı 18-32°C, yetiştirilmesi için gerekli minimum sıcaklık 10°C, tercih edilen yıllık yağış miktarı 1.500 ve 2000 mm arasında olan kakao ağacı, yükseklik, enlem ve nem bakımından yalnızca sınırlı bölgelerde yetiştirilir. Bitkinin gelişimi açısından sıcak ve nemli iklimler gereklidir (Minifie, 1989; Fowler, 1999; Hancock ve Fowler (revize eden), 1994).

Kakao çekirdekleri bakla (Pod) adı verilen bir bölüm içinde bulunur ve bu baklalar 5-6 ay içinde gelişir. Baklalar genellikle oval şekildedirler ve 150 ila 300 mm arasında bir uzunluğa sahiptirler. Baklanın içinde şekil 2.2'de gösterildiği gibi şekerli yapışkan bir madde içine gömülmüş, oval şekilli yaklaşık 20-40 çekirdek bulunur. Yaklaşık 15-30 mm uzunluğunda ve 1.0-1.3 g. ağırlığında olan bu çekirdekler ise, kırmızı/kahverengi ince bir kabukla kaplı kahverengi kotiledonlardan (nibler) oluşur (Hancock ve Fowler (revize eden), 1994; Pritchard, 1991).

Kakao meyvesi ve kakao çekirdekleri Şekil 2.1, 2.2 ve 2.3'te gösterilmektedir (Anon., 2005).



Şekil 2.1: Ağaçta Kakao Meyvesi (Anon., 2005)



Şekil 2.2: Kakao Çekirdekleri (Anon., 2005)



Şekil 2.3: Kurutulan Kakao Çekirdekleri (Anon., 2005)

Kakao, M.S. 460 ila 480'den beri orta Amerika'lı Mayalar ve Meksikalı Aztekler tarafından, doğal bitki örtüsünün bir parçası olarak yetiştiriliyordu. Aztekler, kakaodan "chocolatl" olarak adlandırdıkları Aztek dilinde sıcak içecek anlamına gelen bir karışım tüketiyorlardı. Kakao niblerinin kavrulması, öğütülmesi daha sonra su, mısır ve baharatla karıştırılarak ezilmesiyle elde edilen bu içeceğin afrodizyak olduğuna inanılıyordu. Kakao çekirdeklerini Avrupa'ya ilk kez İspanyollar Güney Amerika'ya gittiklerinde Columbus getirdi fakat yeni bir içecek olarak ürünün ticari değerini fark eden ilk kişi Don Cortes oldu. Don Cortes kakao yetiştirme ve bu içeceği hazırlama yöntemlerini Azteklerden öğrenerek 1528 yılında İspanya'ya döndü ve içeceği tanıttı. İspanyollar içeceği çok acı bularak ürüne şeker eklediler ve

içeceğin popülerliği arttı (Apgar ve Stanley, 1998; Minifie, 1989; Hancock ve Fowler (revize eden), 1994).

Daha sonra kakao ağaçları batı Hindistan adalarında ve Filipinler'de yetiştirilmeye başlandı. Güney Amerika ve Batı Hint adaları uzun süre kakao tanelerinin ana tedarikçisi halindeydi. 1900 lü yıllardan sonra ise kakao ağacı, çok uygun yetişme şartlarının olduğu ve kakao üretimini kısa sürede yüksek bir düzeye ulaştıran batı Afrika'ya götürülerek o bölgede yetiştirilmeye başlandı. Şimdi ise çoğunlukla ekvatora 20 derece enlemde bulunan bütün tropik yağmur ormanı bölgelerinde yetiştirilmektedir (Minifie, 1989; Hancock ve Fowler (revize eden), 1994).

Çikolata içeceği, İspanya'dan sonra 1600'lerin ortasında İtalya, Hollanda, ve Fransa'da, daha sonra İngiltere'de tanındı. O yıllarda, çikolata oldukça pahalıydı ve yalnızca zenginlerin tüketebildiği bir üründü. Fakat 1700'lerdeki çeşitli gelişmelerden sonra kakao ürünleri, fabrika ölçeğinde yapılmaya başlandı. 1728'de Bristol, İngiltere'de Fry fabrikası üretime başladı. Ondokuzuncu yüzyıl sonlarına doğru da kalıp çikolatalar ve diğer çikolata kaplamalı şekerlemeler üretilmeye başlandı (Minifie, 1989).

Kakao bitkisinin Batı Afrika, Güneydoğu Asya, Güney Amerika olmak üzere üç ana yetişme bölgesi vardır. En fazla kakao üreten ülkeler ise Fildişi Sahili, Gana, Endonezya, Brezilya ve Nijeryadır. Bununla beraber dünyada dikkate değer kakao ihracatı yalnızca Batı Afrika ve Endonezya tarafından yapılmaktadır. Kakao üreten diğer ülkeler ise kakao ürünleri için geniş iç pazarlara sahip ülkelerdir (Fowler, 1999).

2.1.2 Kakao tanelerinin bileşimi

Kakao tanelerinin bileşimi göz önünde bulundurulduğunda tanenin büyük bölümünün yağdan oluştuğu görülür. Genel olarak kakao tanesi % 54 yağ,% 12 protein, % 5 nem, % 1.46 kül, %1.09 teobromin ve % 0.44 kafein içerir (Pritchard, 1991).

Uygun şekilde fermente edilmiş olgun kakao tanelerinde bileşimdeki varyasyon azdır, bununla birlikte olgunlaşmamış, iyi fermente olmamış tanelerle orta büyüklükteki taneler yüksek miktarda kabuk yağı ve düşük miktarda kakao yağı içerebilir (Minifie, 1989).

Kakao tanelerinin bileşiminde orjinden kaynaklanan farklılıklar gözlenebilir. Örneğin, batı Afrika orjinli kakao taneleri yaklaşık %58 yağ oranına sahipken, Meksika ve Endonezya kaynaklı kakao taneleri, daha az düzeyde, yaklaşık %53 oranında yağa sahiptir (Pritchard, 1991).

2.1.3 Kakao yağı

Theobroma ağacının çekirdeği kakao tanelerinden elde edilen kakao yağı, organoleptik ve fiziksel özellikler üzerinde önemli bir etkiye sahip, sert, kırılgan, özel tadı ve triaçilgliserol bileşimi nedeniyle çok değerli, çikolata ve diğer şekerleme ürünleri için önemli bir tüketilebilir yağdır (Smith, 2001; Pritchard, 1991).

Kabuk çekirdekten ayrıldığında, geriye nib adı verilen kısım kalır ve bu kısım yaklaşık %55 yağ içerir. Taneler, fermentasyon, kurutma, temizleme ve kavurma işlemlerine tabi tutulduktan sonra, kakao nibi elde etmek için tanelerin kabukları ayrılır. Daha sonra kakao kütlesi veya kakao likörü üretimi için öğütme işlemi uygulanır. Kakao kütlesine presleme veya solvent ekstraksiyonu uygulanarak kakao yağı elde edilir. (Smith, 2001; Beckett, 1999).

Kakao yağının kristal kafesi çok özel bir bileşime sahiptir ve imal edilen ürüne parlaklık, ısırma efekti etkisi (çıtırtı), erime özellikleri gibi kakao ürünlerinde olması istenen fiziksel özellikleri verir. Kakao yağının fonksiyonelliği bu yağdaki triaçilgliserol türünün yaklaşık %90 ının simetrik triaçilgliserollerden oluşmasından ileri gelir (Lipp ve diğ., 2001).

Kakao yağı çikolatada yağ olmayan bileşenleri destekleyen devamlı fazdır ve çikolatanın nispeten oda sıcaklığında sert ve kırılgan olma fakat ağızda hızla erime gibi özellikleri kakao yağından kaynaklanır. Bileşenlerinin yapısı, kakao yağının özelliklerini etkiler. Kakao yağı, yaklaşık 27 ila 33°C arasında oldukça dar bir sıcaklık aralığında erir. Lezzetin ortaya çıkmasında büyük bir etkiye sahip olan erime profilinin dikliği, kakao yağının şekerleme uygulamaları için tercih edilmesine neden olur. Lezzet hem kakao yağından hem de kakao yağı tarafından taşınan yağ olmayan bileşenlerden ileri gelir ve kakao yağı ağızda eridikçe ortaya çıkar. Eğer kakao yağı keskin bir erime özelliğine sahipse, lezzetin ortaya çıkması yoğun ve hızlı bir şekilde gerçekleşir. Kakao yağının erime profili yeterince dik değilse bu durum lezzetin ortaya çıkmasındaki etkiyi azaltabilir. Ayrıca yağın keskin erime özelliği, ağızda

erime sırasında yağ tarafından sıcaklığın absorbe edilmesinden kaynaklanan bir serinleme hissine de neden olur (Smith, 2001).

2.1.3.1 Kakao yağının bileşimi

Kakao yağının basit olarak adlandırılabilecek fakat aynı zamanda oldukça spesifik bir bileşimi vardır. Kakao yağında, yağ asitlerinin % 95'inden fazlasını üç yağ asidi, palmitik asit (hekzadekanoik, 16:0 veya P), stearik asit (oktadekanoik, 18:0 veya St) ve oleik (oktadek-*cis*-9-enoik, 18:1 veya O) asit oluşturur. Bu üç yağ asidinden sonra en yüksek miktarda linoleik asit bulunmaktadır. Kakao yağı, palmitik, stearik ve oleik asitten oluşan bu üç başlıca yağ asidini hemen hemen eşit miktarlarda içerir. Bunların dağılımları, yaklaşık %20-26 palmitik asit, %29-38 stearik asit ve %29-38 oleik asittir (Talbot, 1999; Smith, 2001).

Kakao yağının yağ asidi bileşimi Tablo 2.1'de gösterilmiştir (Vazquez ve diğ., 2004).

Tablo 2.1: Kakao Yağının Yağ Asidi Bileşimi (Vazquez ve diğ., 2004).

Yağ asidi	% Bileşim
14:0 (M)	0.1
16:0 (P)	25.8
16:1 (Po)	0.3
18:0 (St)	34.5
18:1 (O)	34.9
18:2 (L)	3.0
18:3 (Li)	0.2
20:0 (A)	1.0
Diğer	0.2

Kakao yağı çoğunlukla triaçilgliserollerden oluşur, bununla beraber di- ve monoaçilgliseroller, serbest yağ asitleri, fosfolipidler, iz bileşenler ve diğer kompleks lipidleri de az miktarda içerir. Kakao yağında açil grupları gliserol pozisyonları boyunca rastgele dağılmazlar. Özel bir şekilde gliserolün 1 ve 3 pozisyonlarında doymuş açil grupları yer alır ve gliserolün merkez pozisyonunda bir oleoyl grubu bulunur. Kakao yağında bulunan başlıca triaçilgliserol sınıfı, 1,3-disaturated-2-oleoyl-glycerol, Sat-O-Sat (Sat = doymuş, O = oleik) grubu triaçilgliserollerdir. Ve

bu Sat-O-Sat grubu triaçilgliseroller, kakao yağı triaçilgliserollerinin yaklaşık %70-90 ını kapsar. Orandaki bu varyasyon, kakao bitkisinin alttürlerinden ve iklimsel koşullardan kaynaklanır. Daha yüksek çevre sıcaklıkları daha yüksek Sat-O-Sat ve daha düşük Sat-O-O oranlarına neden olur (Smith, 2001; van Malssen ve diğ., 1996; Chaiseri ve Dimick, 1989)

Farklı ülke kaynaklarından elde edilen kakao yağlarının triaçilgliserol bileşimi Tablo 2.2'de gösterilmiştir (Chaiseri ve Dimick, 1989).

Tablo 2.2: Farklı Ülkelerden Kakao Yağlarının Triaçilgliserol Bileşimi (%) (Chaiseri ve Dimick, 1989).

Kaynak Ülke	Örnek sayısı	POSt	StOSt	POP	StOO	PLSt	POO	StLSt	PLP	StOA
Bolivya	1	40.4	22.8	22.6	4.0	3.5	3.3	2.1	1.1	0.5
Brezilya	6	37.1	26.0	17.9	6.7	3.7	3.9	3.2	0.9	0.04
Kolombiya	2	39.4	25.0	20.4	4.4	3.6	3.3	2.3	1.1	0.6
Ekvador	3	38.4	26.9	19.2	5.4	3.2	3.0	2.3	1.2	0.4
Peru	1	35.8	24.6	18.3	7.4	3.9	4.3	3.7	1.5	0.4
Venezuela	1	40.4	28.8	20.4	2.8	3.1	1.0	1.9	0.9	0.8
Kosta Rika	1	38.7	27.4	17.8	5.5	3.5	2.6	3.0	1.0	0.4
Dominik Cumhuriyeti	4	38.2	26.5	18.4	6.1	3.2	3.3	2.7	1.1	0.6
Guatemala	1	39.0	27.5	19.3	4.9	3.4	2.3	2.2	1.0	0.4
Meksika	1	38.8	27.8	19.1	4.1	3.5	2.4	3.0	1.1	0.6
Panama	1	41.4	27.3	19.1	3.1	3.0	1.5	2.7	1.0	0.8
Kamerun	2	38.3	27.7	17.9	5.8	3.4	3.0	2.5	1.0	0.5
Gabon	1	37.1	26.5	17.5	7.3	3.5	3.7	3.0	0.9	0.4
Gana	3	39.0	27.5	17.8	4.9	3.4	2.2	2.2	1.2	0.4
Fildişi Sahili	9	39.6	28.5	19.0	3.9	3.0	1.9	2.5	1.0	0.6
Nijerya	2	38.8	27.8	17.9	5.2	3.6	2.3	3.0	1.0	0.5
Endonezya	2	40.6	28.1	19.9	3.6	3.0	1.6	1.7	1.1	0.5
Malezya	20	40.0	31.1	18.4	2.9	2.8	1.2	2.2	0.7	0.8
Solomon Adaları	1	40.7	29.5	19.3	2.8	3.0	0.9	2.0	1.0	0.7

Kakao yağındaki başlıca triaçilgliseroller, POP (1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol), POSt (*rac*-palmitoyl-stearoyl-2-oleoyl-glycerol) ve StOSt (1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol) dan oluşan Sat-O-Sat grubu triaçilgliserollerdir. Kakao yağına değer katan keskin erime profili, kimyasal olarak benzer triaçilgliserollerin kombinasyonu sayesinde oluşur (Smith, 2001; Talbot, 1999).

Kakao yağının fiziksel davranışını çoğunlukla bu üç temel triaçilgliserol belirler, bununla birlikte, digliserit ve üçlü doymuş gliseritler gibi iz miktarda bulunan diğer gliseritler de erime ve kristalizasyon davranışı üzerinde etkili olabilir (Padley, 1997).

Tablo 2.3'te kakao yağının triaçilgliserol bileşimi gösterilmiştir (Van Malssen ve diğ., 1996).

Sat-O-Sat grubu triaçilgliserollerden sonra kakao yağında en fazla bulunan triaçilgliserol sınıfları, tekli doymuş dioleoylgliseroller (Sat-O-O) ve ikili doymuş-2-linoleoyl-gliseroller (Sat-L-Sat) dir. Bu gruptaki triaçilgliseroller Sat-O-Sat grubuna göre daha düşük erime noktasına sahiptirler ve bu triaçilgliserolleri daha fazla miktarda içeren kakao yağları daha yumuşak özelliktedir (Smith, 2001).

Tablo 2.3: Kakao Yağının Triaçilgliserol Bileşimi (Van Malssen ve diğ., 1996).

Triaçilgliserol	% Bileşim
PLP	1.1
POO	4.3
PLSt	3.0
POP	13.8
StOO	5.6
StLSt	2.0
POSt	35.9
StOSt	23.4
StOA	1.45
POA	1.1
StOL	1.0
Diğer	6.6

2.2 Kakao Yağı İkameleri veya Kakao Yağı Alternatifleri

Kakao yağı, organoleptik ve fiziksel özellikler açısından çikolata ve şekerleme endüstrisi için çok önemli bir bileşen olmasına rağmen, bir takım faktörler, kakao yağına alternatiflerin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu faktörlerin başında, çikolatada yağsız kakao katılarına oranla daha fazla yağa ihtiyaç bulunması gelmektedir. Ayrıca kakao doğal bir ürün olduğu için kakao yağı sağlanmasında belirsizlik ve çeşitlilik

bulunmaktadır. Bunların dışında, en önemli nedenlerden biri kakao yağının fiyatının diğer yağlara oranla yüksek olmasıdır (Smith, 2001).

Çikolata şekerlemelerinde kullanılan başlıca yağ grupları, simetrik SatOSat tipi yağlar, laurik yağlar, trans sertleştirilmiş yağlar ve süt kaymağıdır. Simetrik SatOSat tipi yağlar, kakao yağı, kakao yağı fraksiyonları, kakao yağı eşdeğerleri, illipe, sal, kokum, shea yağları ve palm fraksiyonlarıdır. Laurik yağlar ise, palm çekirdek yağları, hidrojenize palm çekirdek yağları, hindistan cevizi yağı ve stearinleridir. Kakao yağı ikamesi olarak kullanılan bazı yağların yağ asidi bileşimleri Tablo 2.4'de gösterilmiştir (Padley, 1997).

Bu gruplandırmada temel alınan, değişik yağların kimyasal özellikleridir. Kimyasal açıdan en basit olan kakao yağı ve kakao yağı eşdeğerleridir; en karmaşığı süt kaymağıdır. Şekerleme yağlarının davranışını anlamada fiziksel özellikler ve kimyasal bileşimin ilişkisi önemlidir. Bu açıdan bakıldığında Kakao yağı ve kakao yağı eşdeğerlerinin (CBE) kimyasal özelliklerinin diğer sıvı ve katı yağlarınki ile karşılaştırıldığında nispeten basit olduğu söylenebilir. Kimyasal bileşimdeki farklılık fiziksel davranışa ters olarak yansır; yani, kimyasal bileşimin basitliği fiziksel davranışın daha karmaşık olmasına yol açar (Padley, 1997).

Tablo 2.4: Kakao Yağı İkamesi Olarak Kullanılan Bazı Yağların Yağ Asidi Bileşimleri (% Ağırlık) (Padley, 1997).

Yağ Kaynağı	16:0 (P)	18:0 (St)	18:1 (O)	18:2 (L)	Diğer
Palm fraksiyonu	56	6	32	4	2
Shea stearin	5	57	33	3	2
İllipe yağı	18	46	35	1	Iz
CBE	28	34	33	3	2

Kakao yağı ikameleri genel olarak 3 gruba ayrılır;

a) Kakao yağı eşdeğerleri (CBE),

b) Kakao yağı benzerleri (CBS) veya laurik benzerler ve

c) Kakao yağı yerini tutanlar (CBR) veya laurik olmayan benzerler (Lipp ve Anklam, 1998; Smith, 2001).

2.2.1 Kakao yağı eşdeğerleri (CBE)

Kakao yağı eşdeğerleri, fiziksel ve kimyasal özellikler bakımından kakao yağına benzerdirler. Laurik olmayan bitkisel yağlardır ve kakao yağıyla kakao yağının özelliklerini değiştirmeden her oranda karıştırılabilirler (Lipp ve Anklam, 1998).

Kakao yağı eşdeğerleri bileşim açısından kakao yağına oldukça yakın olacak şekilde tasarlanmışlardır ve böylece çeşitli oranlarda kakao yağının yerini alabilirler. Bir kakao yağı eşdeğeri, kakao yağıyla uyumlu yani, katı fazda tam çözünürlüğe sahip olmalıdır. Bu iki yağın birbirine uyumu açısından erime noktası ve erime aralığının birbirine uyumu ayrıca benzer moleküler büyüklük, şekil ve benzer bir polimorfik davranış oldukça önemlidir (Smith, 2001).

Bu yağlar genellikle bitkisel yağların fraksiyonlanması ve harmanlanması veya interesterifikasyonuyla elde edilirler.

Kakao yağı eşdeğerlerinin başlıca avantajları; kakao yağından daha ucuz oldukları için çikolata üretim maliyetini düşürmeleri, üründe süt yağına karşı toleransı artırmaları, yağ çiçeklenmesinin kontrolüne yardımcı olmaları ve yüksek sıcaklıklarda depolama direncini artırmalarıdır (Shukla, 1990).

2.2.2 Kakao yağı benzerleri (CBS)

Kakao yağı benzerleri, bazı fiziksel benzerliklerle birlikte kimyasal olarak kakao yağından tamamen farklı laurik bitkisel yağlar olarak tanımlanırlar. Laurik yağlar, palm çekirdek yağları, hidrojenize palm çekirdek yağları, hindistan cevizi yağı ve stearinleridir (Padley, 1997; Lipp ve Anklam, 1998).

Kakao yağı benzerlerinin başlıca avantajları; uzun raf ömrü ve iyi bir oksidatif stabilite sağlamaları, iyi aroma sağlamaları ve yenildikten sonra ağızda mumsu bir tat bırakmamaları, kakao yağına benzer dokusal özellikler göstermeleri ve sertlik ve kırılganlıklarının iyi olması, bu yağlar kullanıldığında temperlemeye ihtiyaç duyulmaması ve kakao yağından ucuz olmalarıdır (Shukla, 1990).

Bununla birlikte bu yağların bazı dezavantajları vardır. Bunlardan en önemlisi kakao yağı benzerlerinin kakao yağıyla ötektik karışım oluşturarak kakao yağına en fazla % 6 tolerans göstermeleridir. Bu nedenle eğer çikolatadan sonra kakao yağı benzerlerinin kullanıldığı bir üretim yapılıyorsa ekipmanın iyi bir şekilde temizlenmesi gerekir. Bu nedenle ayrı üretim hatlarının kullanılması tercih edilir.

Ayrıca bu yağlar neme maruz kaldığında lipaz enzimiyle hidroliz gerçekleşebilir. Bu durumda serbest kalan laurik asit, çok az bulunduğu durumlarda bile hissedilebilen keskin sabunsu bir lezzete neden olur. Bunların dışında bu yağlar düşük süt yağı toleransına sahiptirler (Shukla, 1990).

2.2.3 Kakao yağı yerini tutanlar (CBR)

Kakao yağı yerini tutanların yağ asidi dağılımı kakao yağına benzer fakat triaçilgliserol yapısı kakao yağından tamamen farklıdır. Bu yağlar laurik olmayan yağlardır. Kakao yağıyla karışabilirlikleri kakao yağı benzerleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek olmakla birlikte küçük oranlarla sınırlıdır (Lipp ve Anklam, 1998).

Bu yağlar soya, pamuk, mısır, yerfıstığı ve ayçiçeği yağı gibi yağların hidrojene edilmesi ve fraksiyonlanmasıyla elde edilir. Zincir uzunluğu ve moleküler ağırlık açısından kakao yağına benzedikleri için % 25'e kadar kakao yağıyla karışabilirliğe sahiptirler. Ayrıca bu yağlar kullanıldığında temperlemeye ihtiyaç duyulmaz (Shukla, 1990).

2.3 Kakao Yağı İkamelerinin Üretim Yöntemleri

Doğal olarak oluşan yağlar arasında kakao yağıyla aynı fiziksel özelliklere sahip başka yağ yoktur. Bu nedenle kakao yağı alternatifleri genellikle başka yağların harmanlanması ve/veya modifiye edilmesiyle yapılır. Yağların modifiye edilmesinde kullanılan başlıca yöntemler, fraksiyonel kristalizasyon ve yağın interesterifikasyonudur (Lipp ve Anklam, 1998).

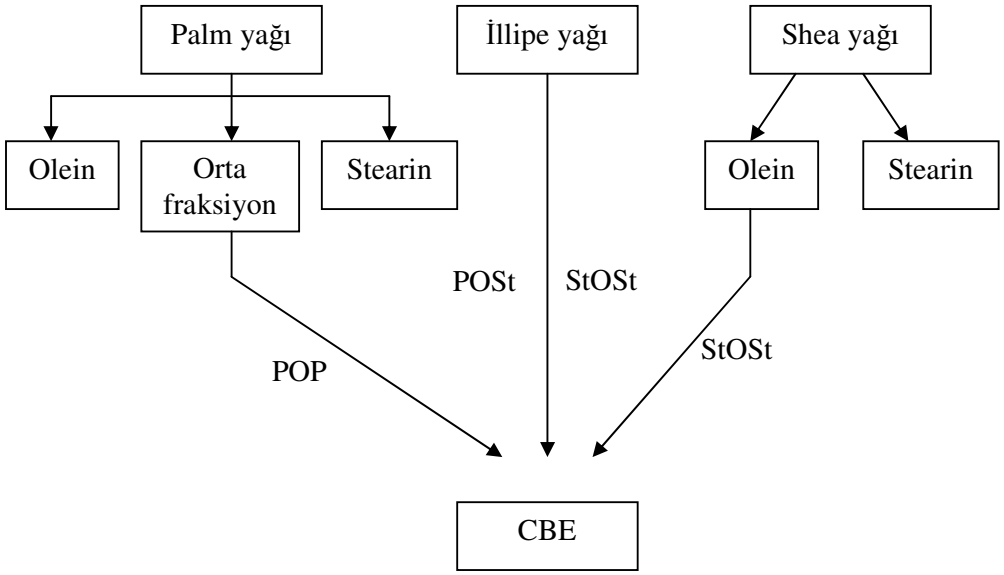
2.3.1 Harmanlama ve fraksiyonlama

Fraksiyonlama işlemi, yağların fiziksel özeliklerinden faydalanılarak uygulanan bir ayırma işlemidir. Kristallerin seçilmesini ve ayırmayı doğrudan etkilediği için, fraksiyonlamada kritik nokta, katılaşma boyunca soğutmanın kontrolüdür (Kellens, 1999).

Palm yağı yaklaşık %35-40 POP içerir, palm yağından fraksiyonel kristalizasyonla elde edilen palm yağı orta-fraksiyonu ise fraksiyonlama işlemi sayesinde POP açısından %70-80 e kadar zenginleştirilmiş olur. Palm yağı orta fraksiyonu, kakao yağına benzer düzeyde Sat-O-Sat triaçilgliserollerini içerse de, davranış olarak kakao

yağıyla özdeş değildir; bu yağda POSt ve StOSt triaçilgliserolleri eksiktir. POP, POSt ve StOSt nin faz davranışları karmaşık olduğu için bu tip bir farklılık, bu yağların kakao yağını ikame etmesi açısından önemli bir etkendir. Eksik olan triaçilgliserol çeşitleri bunlarca zengin olan yağ veya yağ fraksiyonları karıştırılarak yani harmanlama işlemi yapılarak tamamlanır. (Smith, 2001).

Harmanlama ve fraksiyonlama yöntemleri kulllanılarak CBE üretimi için proses şeması Şekil 2.4'te gösterilmektedir (Talbot, 1999).



Şekil 2.4: Harmanlama ve Fraksiyonlama Yöntemleri Kullanılarak CBE Üretimi için Proses Şeması (Talbot, 1999).

CBE üretimi amacıyla kullanılan doğal yağların başlıcaları, palm yağı, illipe yağı, shea yağı, sal yağı, aceituno, mango çekirdek, kokum ve çin bitkisel içyağıdır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanları palm yağı, illipe yağı ve shea yağıdır (Talbot, 1999).

Palm bitkisinden (*Elaeis guineensis*) elde edilen palm yağı, Malezya orjinli ve kolaylıkla bulunabilen bir yağdır. Yüksek oranda POP, orta oranda POSt ve düşük oranlarda StOSt triaçilgliserollerini içerir. İllipe yağı, *Shorea stenoptera* bitkisinden elde edilir ve Borneo orjinlidir. Aralıklı sürelerde bulunabilir. Yüksek oranda POSt ve StOSt, düşük oranda POP triaçilgliserollerini içerir. Shea yağı ise, *Butyrospermum*

parkii bitkisinden edilir. Batı afrika orjinlidir ve bulunabilirliği değişkendir. Yüksek oranda StOSt, düşük oranlarda POP ve POSt triaçilgliserollerini içerir (Talbot, 1999).

Laboratuvar ölçeğinde yapılan bazı çalışmalarda, palm olein, kokum yağı, phulwara yağı ve mahua yağı gibi yağlarla kakao yağı ikamesi üretimi amacıyla fraksiyonlama işlemi kullanılmıştır (Chong ve diğ.,1992; Reddy ve Prabhakar, 1994; Jeyarani ve Reddy, 1999).

2.3.2 İnteresterifikasyon

İnteresterifikasyon, önemli yağ modifikasyon tekniklerinden biridir. Hidrojenasyondan farklı olarak yağ asidi bileşimi değişmeden kalırken triaçilgliserol üzerindeki yağ asidi dağılımı değişir. Bu değişim modifiye edilen yağda erime ve kristalizasyon gibi önemli fiziko kimyasal değişimlere öncülük eder (Rozendaal, 1990).

İnteresterifikasyon, triaçilgliserol üzerindeki açil gruplarının ya ester ve alkol arasında (alkolizis), ya ester ve asit arasında (asidolizis) ya da iki ester arasında değiştirilmesidir (Bernarski ve Adamczak, 2003).

İnteresterifiye yağ uygulamaları, özellikle besinsel olarak değerli margarinlerin ve şorteningler olarak adlandırılan özel amaçlı şekerleme yağları üretimininde kullanılmaktadır (Bernarski ve Adamczak, 2003).

İnteresterifikasyon işleminin ticari amaçla kullanıldığı alanlar, şekerleme veya kaplama yağları, margarin, pişirme yağları, kızartma yağları, şorteningler, ve diğer özel uygulama ürünleridir. İnteresterifikasyon işleminde tüketilebilir katı ve sıvı yağlar bu amaçlar için hammadde olarak kullanılır (O'Brien, 2004).

İnteresterifikasyon, kimyasal interesterifikasyon ve enzimatik interesterifikasyon olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.3.2.1 Kimyasal interesterifikasyon

Interesterifikasyon herhangi bir katalist olmadan yaklaşık 300 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir. Bununla birlikte bu sıcaklıklarda gerçekleştirilen reaksiyondan istenilen sonuçlar alınamayabilir. Katalist eklenmesiyle reaksiyon sıcaklığı ve süresi dikkate değer bir şekilde azaltılır (Rousseau ve Marangoni, 2002).

Kimyasal interesterifikasyonun gerçekleştirilebilmesi amacıyla kullanılan katalistler, asitler, bazlar ve bunların tuz ve metalleri olmak üzere üç gruba ayrılır. Ayrıca düşük ve yüksek sıcaklık grupları olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. En yaygın olarak kullanılan katalistler, sodyum alkilatları (metilat ve etilat) ve sodyum/potasyum metal alaşımları gibi düşük sıcaklık katalistleridir. Sodyumun alkilatları kullanım kolaylığı, ucuz olması ve kullanım miktarının az olması gibi avantajlara sahiptir (Rousseau ve Marangoni, 2002).

Kimyasal interesterifikasyon trans yağ asitleri oluşumuna neden olmaması dolayısıyla hidrojenasyona göre avantaja sahiptir. Bununla birlikte kimyasal interesterifikasyonda, kahverengileşme gibi bazı istenmeyen değişimler gözlenebilmektedir (Rousseau ve Marangoni, 2002; O'Brien, 2004).

Kimyasal ve enzimatik interesterifikasyonun her ikisinin de avantaj ve dezavantajları vardır. Kimyasal interesterifikasyonun enzimatik yöntemlerle karşılaştırıldığında en önemli avantajı kuruluş ve işletme maliyetleri dikkate alındığında daha ekonomik olmasıdır. Ayrıca uzun süredir kullanılan bir teknik olduğu için bazı avantajlara sahiptir. (Rousseau ve Marangoni, 2002).

Kimyasal interesterifikasyon yöntemi, bu avantajları nedeniyle margarin ve şorteninglerin üretimi için kullanışlı olsa da, gliserit üzerindeki açil gruplarının rastgele düzenlenmesine neden olur ve ürünler kakao yağı eşdeğerinde olması beklenenden farklı erime davranışına sahip olurlar. Bu nedenle bu yöntem kakao yağı ikameleri, düşük kalorili, zenginleştirilmiş ve yapılandırılmış yağlar gibi yağlar için uygun değildir (Willis ve Marangoni, 2002, Gunstone, 2004).

2.3.2.2 Enzimatik interesterifikasyon

Enzimler uzun zamandır gıdaların yapı ve bileşimini modifiye etmek için kullanılmaktadır, bununla birlikte, endüstriyel uygulamalar için yeterli ölçekte elde edilebilir hale gelmesi son yıllarda gerçekleşmiştir (O'Brien, 2004).

Lipazların (triacylglycerol acylhydrolase, EC 3.1.1.3) kullanıldığı enzimatik interesterifikasyon yöntemleri, son yıllarda oldukça ilgi görmektedir, çünkü kimyasal interesterifikasyonla ilgili geleneksel yöntemlere göre önemli avantajlara sahiptirler. Kimyasal interesterifikasyonla karşılaştırıldığında, lipazların kullanılmasının başlıca avantajı, spesifikliktir, bunun yanında, daha yumuşak reaksiyon koşullarına ihtiyaç duyulması, daha az atık üretimi, izomerizasyon yan ürünlerinin bulunmaması, daha

düşük enerji tüketimi, daha düşük tepkime sıcaklıkları, kakao yağına yakından benzeyen bir ürün dağılımı ve ürünlerin daha iyi kontrolü diğer avantajları arasında sayılabilir (Willis ve Marangoni, 2002; Chang ve diğ., 1990; Undurraga ve diğ., 2001).

Lipazlarla gerçekleştirilen yağ modifikasyonu, susuz koşullarda ve 160°F (70°C) ye kadar olan sıcaklılarda gerçekleştirilir. Reaksiyonun solventsiz olarak gerçekleştirilmesi avantajlıdır. Reaksiyon sıcaklığının 70°C olması reaksiyon ürünleri ve reaksiyona giren malzemenin sıvı hale getirilmesi için yeterlidir (O'Brien, 2004; Rozendaal ve Macrae, 1997).

Lipazlar genellikle üç gruba ayrılır, Gliserit üzerindeki üç pozisyonun hepsinde tepkimeleri gelişigüzel katalize eden, rastgele hareket eden, spesifik olmayan lipazlar; tepkimeleri yalnızca gliseritlerin dıştaki 1- ve 3- pozisyonlarında katalize eden 1,3-spesifik lipazlar ve özel yağ asitleri için tercih edilen lipazlar (Kellens, 1999; O'Brien, 2004).

Spesifik olmayan lipazların kullanıldığı interesterifikasyon yöntemi, kimyasal tekniklerle karşılaştırıldığında fazla avantaja sahip değildir. Spesifik olmayan tepkimelerle elde edilen ürünlerle, kimyasal interesterifikasyonla elde edilen ürünler birbirine benzerdir. Bununla beraber 1,3- spesifik lipazların kullanıldığı yöntemde, yağ asidi hareketi, kimyasal interesterifikasyonla mümkün olmayan 1- ve 3- pozisyonlarına sınırlandırılır ve kimyasal interesterifikasyon yöntemiyle elde edilemeyen gliseritler, lipazların kullanılmasıyla elde edilebilir (O'Brien, 2004).

Rhizopus, Humicola, Rhizomucor ve Aspergillus türlerinin ürettiği 1,3-spesifik lipazlar genellikle interesterifikasyon için kullanışlı lipazlardır. Bu tür lipazların kullanılmasıyla *sn*-2 pozisyonundaki açil grupları değişmeden kalırken, açil değişimi *sn*-1 ve 3 pozisyonlarıyla sınırlandırılır (Rozendaal ve Macrae, 1997).

Bu amaçla yaygın olarak *Mucor miehei*'den elde edilen 1,3 spesifik lipaz kullanılmaktadır. Liu ve diğ. (1997) nin yaptığı çalışmada kakao yağı eşdeğerinin interesterifikasyonla sentezinde, çalışmanın yürütüldüğü beş lipaz arasında, *Mucor miehei* den lipaz IM-20 nin en etkili ve spesifik olduğu gösterilmiştir.

Enzimatik interesterifikasyonun kakao yağı ikameleri üretimi dışında yaygın olarak kullanıldığı ürünlerden bazıları, bebek mamalarında anne sütündeki yağların ikame edildiği yağlar, çikolatada çiçeklenme sorununun engellenmesi amacıyla kullanılan

BOB (Glycerol 1,3-behenate 2-oleate) üretimi, obeziteyi engellemek için kullanılan diaçilgliserollerin bulunduğu yağlar ve bitkisel yağların besinsel açıdan yararlı bazı yağ asitleriyle zenginleştirildiği, yağların besinsel özelliklerinin ve enerji değerlerinin değiştirildiği yağlardır (Gunstone, 2004).

Loders-Croklaan tarafından üretilen Betapol isimli ürün, bebek mamalarında anne sütü yağını ikame eder ve çoğunlukla UPU tipinde triaçilgliseroller içerir. İnsan sütü yağında palmitik asitinin önemli bir bölümü *sn*-2 pozisyonunda bulunur ve bu bitkisel yağlarda bulunan bir özellik değildir. Betapol tripalmitin ve oleik asit kullanılarak *Mucor miehei* orjinli 1,3-spesifik lipaz kullanılarak üretilir (Gunstone, 2004).

Çikolataya eklendiğinde çiçeklenmeyi engelleyen ve Bohenin olarak adlandırılan glycerol 1,3-behenate 2-oleate (BOB), Japonya'da triolein ve behenik asit (22:0) veya ester kullanılarak 1,3-spesifik lipazla enzimatik interesterifikasyon yoluyla üretilir (Gunstone, 2004).

Obeziteyi kontrol etmede yararlı etkileri nedeniyle kullanılan diaçilgliseroller Japonya'da 1999 dan beri yemeklik yağlara enzimatik yollarla eklenmekte ve artan oranlarda üretilip, kullanılmaktadır (Gunstone, 2004).

Bunların dışında enzimatik interseterifikasyon yöntemi bitkisel yağların, çoklu doymamış yağ asitleri gibi besinsel açıdan yararlı olan bazı yağ asitleriyle zenginleştirilmesinde, yağların besinsel özelliklerinin ve enerji değerlerinin değiştirilmesinde kullanılmaktadır (Gunstone, 2004).

2.4 Kakao Yağı İkamelerinin Enzimatik İnteresterifikasyon Yöntemiyle Üretilmesiyle İlgili Yapılan Literatür Çalışmaları

Laboratuvar ölçeğinde enzimatik interesterifikasyon yoluyla kakao yağı ikameleri üretimi amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Chang ve diğ. (1990) nin yaptığı çalışmada hidrojene pamuk tohumu yağı ve zeytinyağı kullanılarak 3 farklı oran denenmiş, *Mucor miehei* orijinli lipazla enzimatik interesterifikasyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ortamı olarak herhangi bir çözgen kullanılmamıştır. Elde edilen ürünler triaçilgliserol bileşimi ve erime profili açısından değerlendirilmiş, triaçilgliserol bileşimi kakao yağına en yakın ürünün kakao yağına göre daha az miktarda POSt ve daha fazla StOSt trigliseiti

içerdiği bulunmuştur. Bununla birlikte ürünün erime profili kakao yağına benzer dar bir aralık ve dik bir özellik göstermiştir (Chang ve diğ., 1990).

Abigor ve diğ. (2003) nin yaptığı çalışmada, kakao yağı ikamesi üretimi için, rafine edilmiş, ağartılmış ve deodorize edilmiş palm yağı ve tamamen hidrojenize edilmiş soya yağı kullanılmıştır. *Rhizomucor miehei* orijinli lipaz kullanılarak enzimatik interesterifikasyon yoluyla substratın çeşitli ağırlık oranlarıyla çalışma yapılmış ve reaksiyon ortamı olarak herhangi bir çözgen kullanılmamıştır. Çalışmada elde edilen ürünler yağ asidi bileşimi, triaçilgliserol bileşimi ve erime özellikleri açısından değerlendirilmiş, sonuçta karşılaştırılan beş farklı formülasyondan kakao yağına en benzer olanın kakao yağına oranla biraz düşük POP triaçilgliserolü içeriğine rağmen yağ asidi bileşimi, triaçilgliserol bileşimi ve erime profili açısından benzer ürünler elde edilmiştir (Abigor ve diğ., 2003).

Osborn ve Akoh (2002) yaptıkları çalışmada, kakao yağına benzer bir yapısal lipid üretmek için sığır iç yağını enzimatik olarak modifiye etmeyi amaçlamışlardır. Enzimatik olarak modifiye edilmiş sığır iç yağının, kısmi bir kakao yağı yerini tutan (CBR) olarak şekerleme endüstrisinde kullanışlı olabileceği belirtilmiştir. Çalışmada *Candida antarctica* ve *Rhizomucor miehei* orijinli lipazlar ve reaksiyon ortamı olarak hekzan kullanılmıştır. Elde edilen ürünlere yağ asidi bileşimi, sn-2 pozisyon analizi yapılmış, ve ürünler çikolata içinde formülasyonda kullanılarak çikolatanın özelliklerine etkisi incelenmiştir. Sonuçta ürünler erime özellikleri açısından kakao yağına benzemese de çikolata kaplamalarında kısmi kakao yağı yerini tutan (CBR) olarak kullanışlı olabileceği ve ekonomik olabilecek hayvansal bir yan ürünün kullanımı açısından potansiyel oluşturabileceği bildirilmiştir (Osborn ve Akoh, 2002).

Liu ve diğ. (1997) nin yaptığı çalışmada, reaksiyon ortamı olarak süperkritik karbon dioksit kullanılmış, çeşitli lipazlarla interesterifikasyon yoluyla kakao yağı eşdeğeri sentezi incelenmiştir. *Mucor miehei* orijinli lipazın en etkili ve spesifik olduğu gösterilmiştir. Çalışmada, her defasında koşullardan biri değiştirilerek enzim çeşidi, substrat olarak kullanılacak yağ, reaksiyon süresi, açil verici, reaksiyon sıcaklığı, basınç, palm yağı/tristearin oranı, su oranı, reaksiyon sistemi, kosolventin etkisi, metal iyonlarının etkisi, pH hafızası parametreleri incelenmiştir. Sonuçlar triaçilgliserol bileşimi ve erime özellikleri açısından değerlendirilmiş. Bulunan en

uygun parametrelerle üretilen kakao yağı ikamesinin kakao yağına benzer erime özelliği gösterdiği tespit edilmiştir (Liu ve diğ., 1997).

Sridhar ve diğ. (1991) nin yaptığı çalışmada Hindistan orjinli sal (*Shorea robusta*), kokum (*Garcinia indica*), mahua (*Madhuca latifolia*), dhupa (*Vateria indica*) ve mango (*Mangifera indica*) isimli birkaç ağacın katı ve yarı katı yağları, metil palmitat ve/veya stearat kullanılmış *Mucor miehei* orijinli lipazla enzimatik interesterifikasyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ortamı olarak hekzan kullanılmıştır. Sonuç olarak kullanılan yağlardan kokum yağıyla üretilen ürünün fiziksel ve kimyasal özellikler açısından kakao yağına benzer bir özellik gösterdiği belirtilmiştir (Sridhar ve diğ., 1991).

Undurraga ve diğ. (2001) nin yaptığı araştırmada, CBE üretimi için palm yağı orta fraksiyonu (POMF) ve stearik asit kullanılarak solventsiz bir sistemde Lipozyme™ ile enzimatik interesterifikasyon yoluyla CBE üretimi yapılmış, farklı parametrelerin verimlilik üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Üretilen kakao yağı ikamesi, triaçilgliserol bileşimi açısından kakao yağına benzer özellik gösterirken erime profilinde digliseritlerden kaynaklanmış olabileceği vurgulanan kakao yağından farklı pikler gözlenmiştir (Undurraga ve diğ., 2001).

Khumalo ve diğ. (2002) nin yaptığı çalışmada, *Strychnos madagascariensis*, *Trichelia emetica* ve *Ximenia caffra* bitkilerinin oleik asit içeren çekirdek ve kabuk yağları, *Rhizomucor miehei* orijinli lipaz kullanılarak enzimatik yollarla kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılmış ve yaygın olarak kullanılmayan bu yağların kakao yağı ikamesi üretimi açısından potansiyeli değerlendirilmiştir. Ürünler yağ asidi bileşimi ve sn-2 pozisyonundaki yağ asidi açısından değerlendirilmiştir. Sn-2 pozisyonunda oleik asit içeren bu yağların kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılabilirlik açısından potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Khumalo ve diğ., 2002).

Liu ve diğ. (2007), nin yaptığı çalışmada, domuz yağı ve tristearin kullanarak *Mucor miehei* orijinli lipazla enzimatik interesterifikasyon yoluyla kakao yağı benzeri üretimi için optimum parametreler incelenmiştir. Optimum parametrelerde üretilen ürünün erime noktası açısından kakao yağına benzer olduğu, yapılan önceki literatür çalışmalarından daha iyi bir verime sahip olduğu bulunmuştur.

Laboratuvar ölçeğinde yapılan çalışmalar Tablo 2.5'te özetlenmiştir.

Tablo 2.5: Enzimatik Yöntemler Kullanılarak Kakao Yağı İkamesi Üretimi Amacıyla Laboratuvar Ölçeğinde Yapılan Çalışmalar

Kullanılan substrat	**Enzim**	**Reaksiyon koşulları**	**Kaynak**
Palm yağı ve hidrojenize soya yağı	*Rhizomucor miehei* orijinli lipaz	70°C-4 saat-solventsiz ortam	Abigor ve diğ., 2003
Sığır iç yağı ve stearik asit	*Candida antarctica* ve *Rhizomucor miehei* orijinli lipazlar	58±2°C - 24 saat-kullanılan solvent hekzan	Osborn ve Akoh, 2002
Palm yağı ve tristearin	*Mucor miehei* orijinli lipaz	50°C - 3 saat-reaksiyon ortamı süperkritik karbonsioksit	Liu ve diğ., 1997
Hidrojenize pamuk tohumu yağı ve zeytinyağı	*Mucor miehei* orijinli lipaz	70°C-4 saat-solventsiz ortam	Chang ve diğ., 1990
Sal, kokum, mahua, dhupa, mango yağları ve metil palmitat ve/veya stearat	*Mucor miehei* orijinli lipaz	60°C-4 saat-reaksiyon ortamı hekzan	Sridhar ve diğ., 1991
Palm yağı orta fraksiyonu ve stearik asit	Lipozyme™ (Novo-Nordisk)	65°C-12 saat-solventsiz ortam	Undurraga ve diğ., 2001
Domuz yağı ve tristearin	*Mucor miehei* orijinli lipaz	50°C-3 saat-reaksiyon ortamı süperkritik karbonsioksit	Liu ve diğ., 2007
S.madagascariensis, *T.emetica* ve *X.caffra* bitkilerinin çekirdek ve kabuk yağları ve stearik ve/veya palmitik asit	*Rhizomucor miehei* orijinli lipaz	60°C-4 saat-reaksiyon ortamı 2,2,4-trimetilpentan	Khumalo ve diğ., 2002

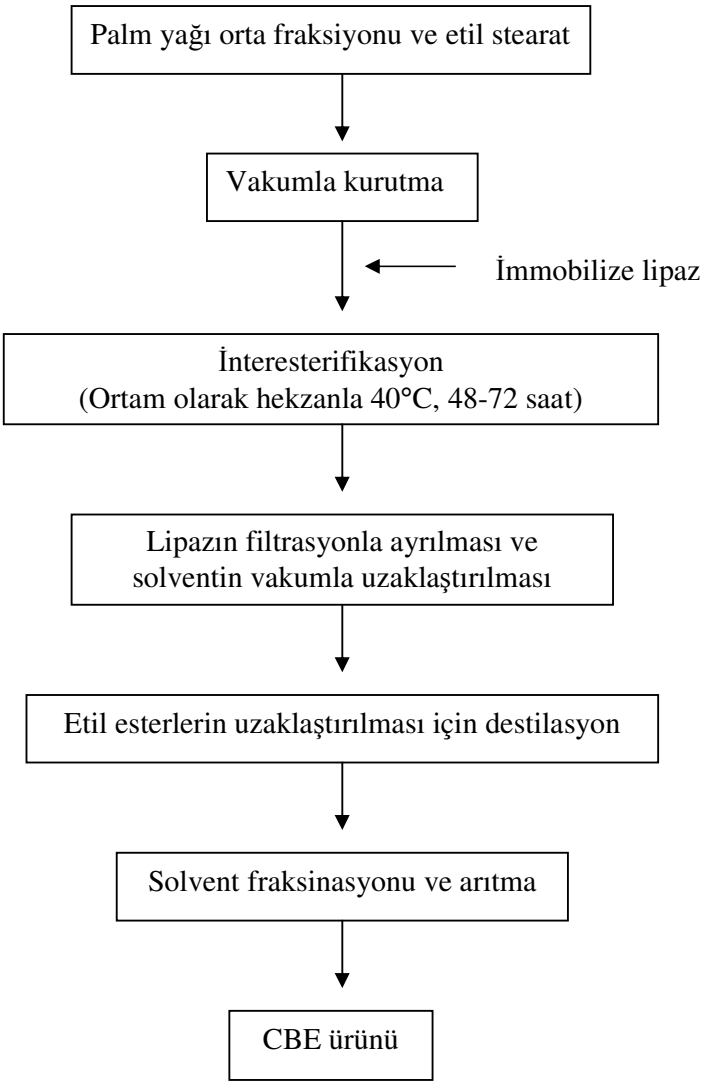
2.5 Kakao Yağı İkamelerinin Ticari Olarak Üretim Prosesleri

Laboratuvar ölçeğinde enzimatik yöntemlerle kakao yağı ikamesi üretimiyle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da yalnızca birkaç tanesi, sadece yüksek değerli ürünler için ticarileştirilebilmiştir (Gunstone, 2004).

Unilever tarafından geliştirilen ticari yöntemde, bazı uygulamalarda kakao yağı ikamesi olarak kullanılan palm yağı orta fraksiyonu kullanılmaktadır. Palm yağı orta fraksiyonunun kakao yağı ikamesi olarak kalitesini yükseltmek amacıyla enzimatik interesterifikasyon yöntemi kullanılmıştır. Palm yağı orta fraksiyonu, POP triaçilgliserolü ve palmitik asitce zengindir ve kakao yağını ikame etmesi için çok az stearik asite sahiptir. Unilever tarafından geliştirilen yöntemde bu eksiklik stearik asitle gerçekleştirilen enzim-katalize asidoliziz yoluyla giderilmiştir (Gunstone, 2004).

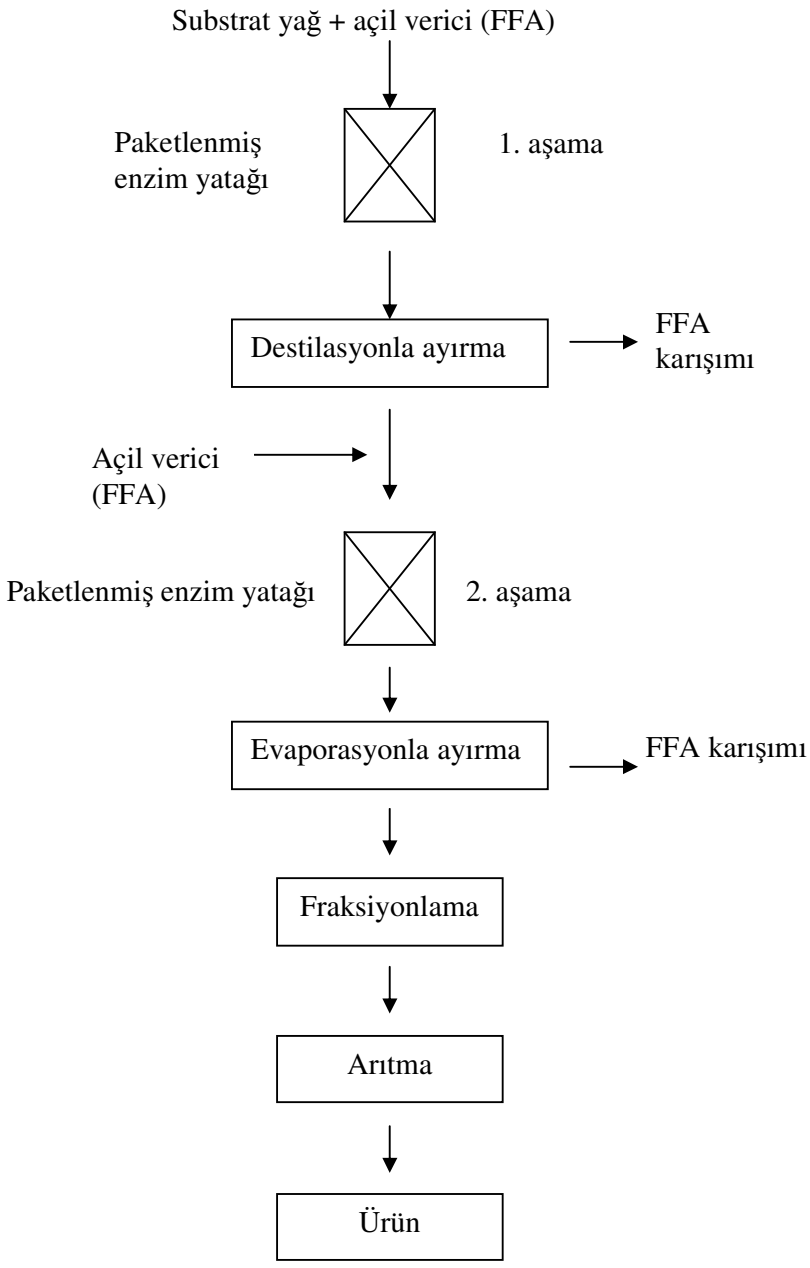
Metil esterlerle açil değişimini kullanan benzer bir tepkime de Fuji yağ şirketi tarafından uygulanmıştır. Büyük ölçekler için prosesin ticarileştirilmesi, Loders Croklaan (Unilever'in bir bölümü, Hollanda) ve Fuji yağ şirketi (Japonya) tarafından gerçekleştirilmiştir (McNeill, 1998).

Fuji Oil tarafından CBE'nin lipaz-katalize interesterifikasyonla geniş ölçekli üretimi için kullanılan proses Şekil 2.5'de gösterilmektedir. Bu yöntemde reaksiyon sistemi için karıştırıcılı tank reaktör (STR-stirred-tank reaktor) ve ortam olarak hekzan kullanılmıştır. Erime noktasını ve kaynama noktasını düşürmek için açil verici olarak etil stearat kullanılmıştır. Etil stearat ayrıca hekzanda stearik asitten daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Bu nedenle, sistemin viskozitesi daha düşük olur ve saflaştırma için destilasyon sıcaklığı düşürülebilir (Xu, 2000).



Şekil 2.5: Enzimatik İnteresterifikasyon Yoluyla Karıştırıcılı Bir Tank Reaktörde Kakao Yağı Eşdeğerlerinin (CBE) Üretimi için Proses Şeması (Xu, 2000).

Unilever tarafından CBE üretimi için geliştirilen, iki-aşamalı proses Şekil 2.6'da gösterilmiştir (Xu, 2000).



Şekil 2.6 : Enzimatik Interesterifikasyon Yoluyla Paketlenmiş-Yatak Reaktörler Kullanılarak Kakao Yağı Eşdeğerlerinin (CBE) Üretimi için Endüstriyel Proses (CBE üretimi için substrat olarak yüksek oleik ayçiçeği yağı ve açil verici olarak stearik asit kullanılmıştır) (Xu, 2000).

2.5 Polimorfizm

Polimorfizm, en basit tanımıyla bir molekülün birkaç değişik kristal paketleme biçiminde kristalize olma yeteneğidir. Kristalizasyon, katılaşmanın bir altkümesi olarak düşünülebilir ve katılar kristal, yarı kristal, ve amorf olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (Talbot, 1994; Lawler ve Dimick, 2002).

Polimorfizm ve kristalizasyona öncülük eden triaçilgliserollerin spesifik yapısı ve kakao yağının özel bileşimidir (Smith, 2001).

Kakao yağının kristalizasyonu, çikolata üretiminde, özellikle proses kontrolü ve son ürün kalitesi açısından oldukça önemlidir. Kakao yağları, bileşimdeki çeşitlilikten kaynaklandığı düşünülen farklı katılaşma oranlarına ve polimorfik geçişlere sahiptirler (Chaiseri ve Dimick, 1995b).

Uzun-zincirli bileşenler genellikle katı haldeyken birden fazla kristal form içinde bulunur ve bu nedenle birden fazla erime noktasına sahip olabilirler. Bilimsel ve teknik açıdan oldukça ilgi çekici olan polimorfizmin bu özelliği ve polimorfizmin anlaşılması yemeklik yağlar ve şekerleme yağları gibi yağ içeren malzemeler açısından önemlidir (Gunstone, 1999).

2.6.1 Terminoloji ve polimorfik formlar

Kakao yağı kristalizasyonu ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış olsa da, kakao yağının çeşitli fazları için tekdüze bir terminoloji yoktur (Schenk ve Peschar, 2004).

Konuyla ilgili çeşitli tartışmalar bulunmakla birlikte genel olarak kakao yağı için biri roma rakamlarıyla diğeri yunan harfleriyle ifade edilen iki farklı terminoloji kullanılır ve altı değişik polimorfik form tanımlanır. Şekerleme endüstrisinde genel olarak, Form I ile Form VI arasında isimlendirilen terminoloji kullanılır. Katı ve sıvı yağ endüstrisinde ise, yunan harfleriyle ifade edilen terminolojinin kullanımı daha yaygındır (Talbot, 1994).

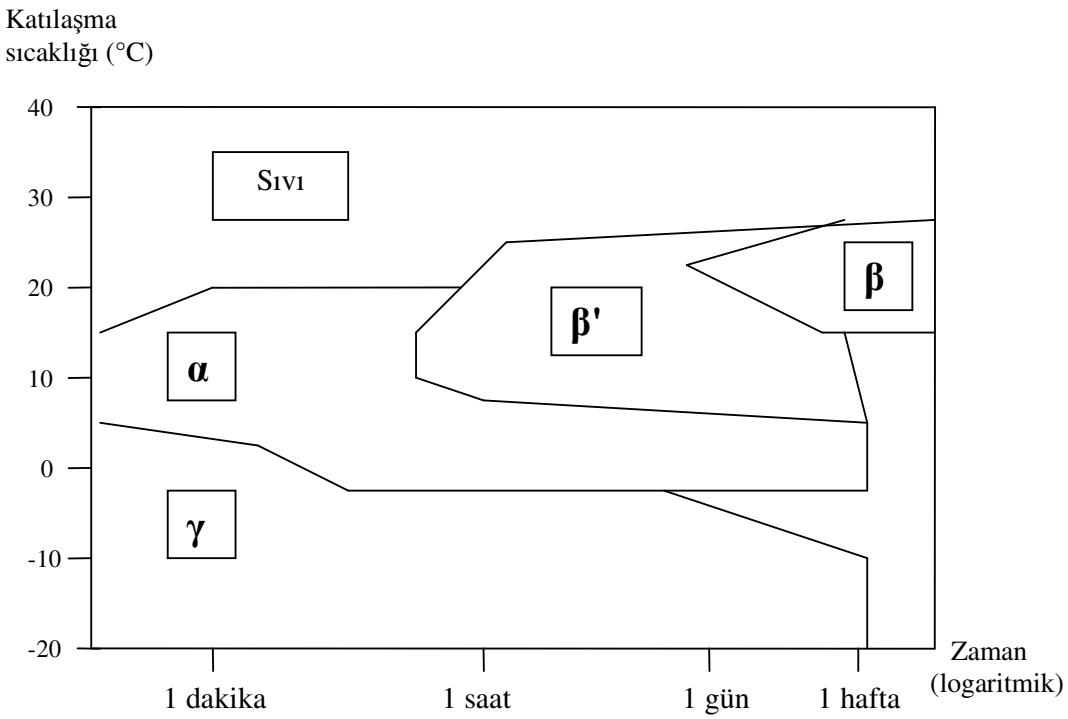
Kakao yağı çeşitli triaçilgliserollerden oluşur fakat kakao yağının büyük bir bölümü StOSt, POP ve POSt tipi triaçilgliseroller içerir ve kakao yağının her polimorfu kendine özgü erime noktası ve kristal yapı özellikleri gösterir. Bu farklı erime noktası ve kristal yapı özellikleri, kakao yağının bu başlıca üç triaçilgliserolünün ortak etkileşimlerinden kaynaklanır (Sato ve Koyano, 2001).

Sato ve diğ. (1989) tarafından yapılan çalışmada POP ve SOS un polimorfik modifikasyonları saf örnekler kullanılarak XRD, DSC ve Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. Arishima ve diğ. (1991) tarafından yapılan çalışmada ise saf POS un polimorfik davranışı XRD, DSC, çözünürlük ölçümleri ve optik mikroskopi ile incelenmiştir. Yapılan bu iki çalışmada POSt için α, δ, pseudo- β' ve β olmak üzere 4, POP için α, γ, pseudo- β'_2, pseudo- β'_1, β_2 ve β_1 olmak üzere 6, StOSt için α, γ, pseudo- β', β_2 ve β_1 olmak üzere 5 polimorf elde edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre POSt, POP ve StOSt triaçilgliserolleri için polimorfik formlar ve bu formların erime noktaları Tablo 2.6'da gösterilmiştir (Sato ve diğ., 1989; Arishima ve diğ., 1991).

Tablo 2.6: POSt, POP ve StOSt Triaçilgliserolleri için Polimorfik Formlar ve Bu Formların Erime Noktaları (Sato ve diğ., 1989; Arishima ve diğ., 1991).

POSt	
Polimorf	Erime noktası (°C)
α	19.5
δ	28.3
pseudo- β'	31.6
β	35.5
POP	
Polimorf	Erime noktası (°C)
α	15.2
γ	27.0
pseudo- β'_2	30.3
pseudo- β'_1	33.5
β_2	35.1
β_1	36.7
StOSt	
Polimorf	Erime noktası (°C)
α	23.5
γ	35.4
pseudo- β'	36.5
β_2	41.0
β_1	43.0

İzotermal kristalizasyon öncesi 60 saniye 60°C'ye ısıtılan ve doğrusal olarak 120 saniye katılaşma sıcaklığına soğutulan kakao yağının kristalizasyon davranışı Şekil 2.7'de gösterilmiştir (van Malssen ve diğ., 1999).



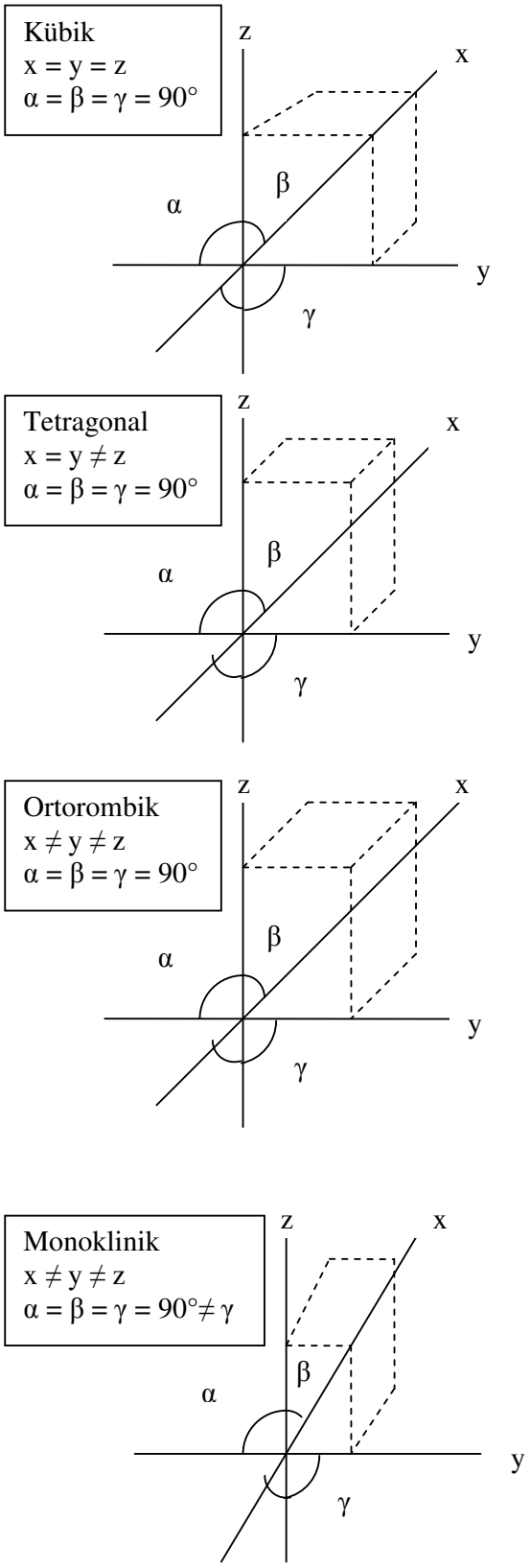
Şekil 2.7: Kakao Yağının İzotermal Faz Geçiş Şeması (van Malssen ve diğ., 1999).

Değişik polimorflar için çekirdeklenme (nucleation) oranları $\alpha > \beta' > \beta$ şeklindedir bu nedenle β polimorfu en kararlı olduğu ve termodinamik olarak tercih edildiği halde, α ve β´ kristalleri daha kolaylıkla oluşur (Gunstone, 1999).

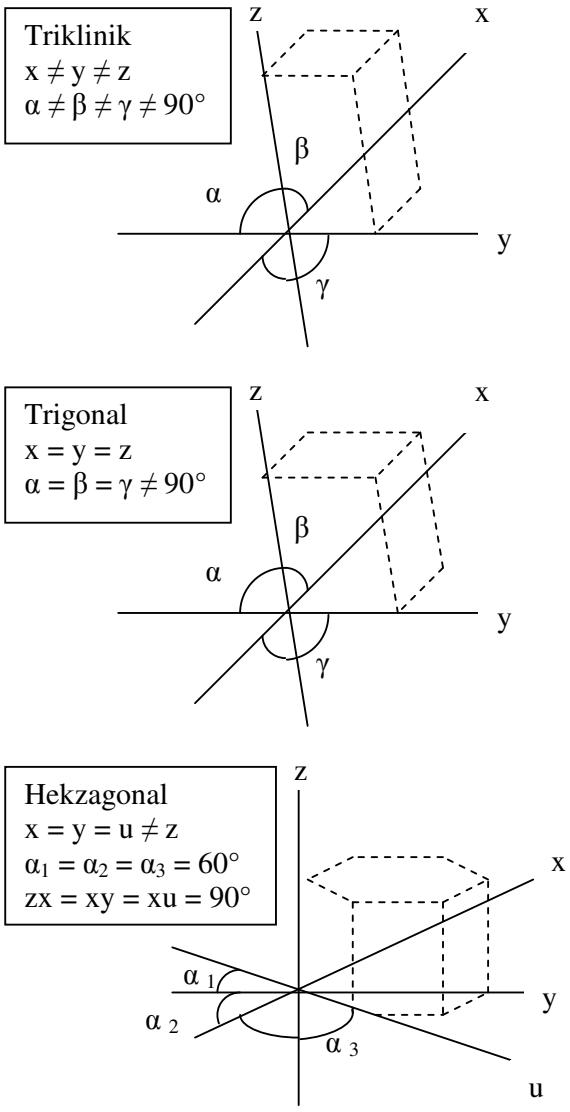
2.6.2 Kristal geometrisi

α polimorfunda açil zincirlerdeki zigzaglar rastgele yönlendirilmiştir ve zincirler hekzagonal bir düzen içinde paketlenmiştir. β' polimorfunda açil zincir zigzagları dikeydir ve ortorombik şekilde paketlenmiştir. β polimorfunda ise zigzaglar birbirleriyle paraleldir ve zincirler triklinik şekilde paketlenmiştir (Smith, 2001).

Şekil 2.8'de yedi kristal sistem için kristalografik eksenler ve birim hücreler gösterilmiştir (Hartel, 2001).



Şekil 2.8: Yedi Kristal Sistem için Kristalografik Eksenler ve Birim Hücreler (Hartel, 2001).



Şekil 2.8: Yedi Kristal Sistem için Kristalografik Eksenler ve Birim Hücreler (devamı) (Hartel, 2001).

Tablo 2.7'de ise bu yedi kristalografik sistem için bazı örnekler gösterilmiştir (Hartel, 2001).

Tablo 2.7: Yedi Kristalografik Sistem için Örnekler (Hartel, 2001)

Kristal sistem	**Örnek**
Kübik	Sodyum klorid Potasyum klorid Elmas
Tetragonal	Nikel sülfat Üre
Ortorombik	Triaçilgliseroller (β'-polimorf) Diaçilgliseroller, asimetrik Monoaçilgliseroller (β'-polimorf) Gümüş nitrat Sitrik asit D- fruktoz Glukoz Rafinoz D- mannitol
Monoklinik	Sukroz Laktoz Okzalik asit Tartarik asit Monoaçilgliseroller (β-polimorf) Nişastanın A formu
Triklinik	Triaçilgliseroller (β-polimorf) Simetrik diaçilgliseroller
Trigonal	Sodyum nitrat Kalsiyum karbonat Kalsiyum klorit
Hekzagonal	Buz Potasyum nitrat Gümüş iyodür Triaçilgliseroller (α-polimorf) Monoaçilgliseroller (α -polimorf) Nişastanın B formu

2.6.3 Kristalizasyon ve polimorfizmin çikolata ve şekerleme endüstrisi açısından önemi

Kristalizasyon, çikolata ve şekerlemelerin yapımında oldukça kritik bir basamaktır ve kakao yağı kristalleri çikolata ürünlerinin kalitesi açısından oldukça önemli olan parlaklık, gevreklik, ısı direnci ve yağ çiçeklenme stabilitesi gibi özellikleri yakından etkiler (Schenk ve Peschar, 2004; Sato ve Koyano, 2001).

Kakao yağı kristalleri, form V veya β_2 olarak adlandırılan polimorfik formda optimal fiziksel özellikleri devam ettirir. Depolama sırasında Form β_2-V'den form β_1-VI'ya (en stabil β polimorfu) dönüşme çikolata yüzeyinde grimsi-beyaz ince tabaka şeklinde gözlemlenen ve yağ çiçeklenmesi olarak adlandırılan bir dizi bozulmaya neden olur (Sato ve Koyano, 2001; Smith, 2001; Schenk ve Peschar, 2004).

Bu dönüşüm çikolatanın yağ olmayan bileşenlerine bağlı olarak çiçeklenme oluşumu gerçekleşmeden de meydana gelebilir. Konuyla ilgili başka bir görüş de kakao yağında βVI polimorfu oluşumu başlamasının, görülebilir çiçeklenme oluşumunun nedeni olmadığı, aksine sonuçlardan biri olduğudur. Bricknell ve Hartel (1998) tarafından yapılan çalışmada, önemli miktarlarda βVI polimorfu içeren çikolatalarda görsel olarak çiçeklenmenin olmadığı gözlenmiştir. (Smith, 2001; Bricknell ve Hartel, 1998).

Yanlış koşullar altında depolama da yağ çiçeklenmesine neden olabilecek durumlardan biridir. Çiçeklenmiş çikolata yalnızca kötü bir görüntü oluşturmaz ayrıca damakta hoş olmayan bir his uyandırır (Schenk ve Peschar, 2004).

Çiçeklenmiş olsun veya olmasın uzun süre depolanmış çikolataların daha yavaş eriyerek ağızda mumsu gibi algılanmasının nedeni β_1-VI polimorfunun erime aralığının β_2-V den yaklaşık 1-2 °C daha yüksek olmasıdır. Oldukça küçük olmasına karşın bu artış, erime aralığının sonunu ağız sıcaklığından hafifçe daha yüksek bir noktaya getirebilir ve böylece ürün ağızda hoş olmayan mumsu bir his uyandırır (Smith, 2001).

Vizkozitedeki değişimler de kristalizasyon açısından önemlidir. Şekerleme yağlarının viskozitesini etkileyen başlıca faktörler formülasyon, yağ içeriği, nem içeriği, kütle içinde dağılan katıların parçacık büyüklüğü dağılımı, konçlamanın durumu ve kullanılan emülsifiyerlerin çeşidi ve miktarıdır. (Sato ve Koyano, 2001).

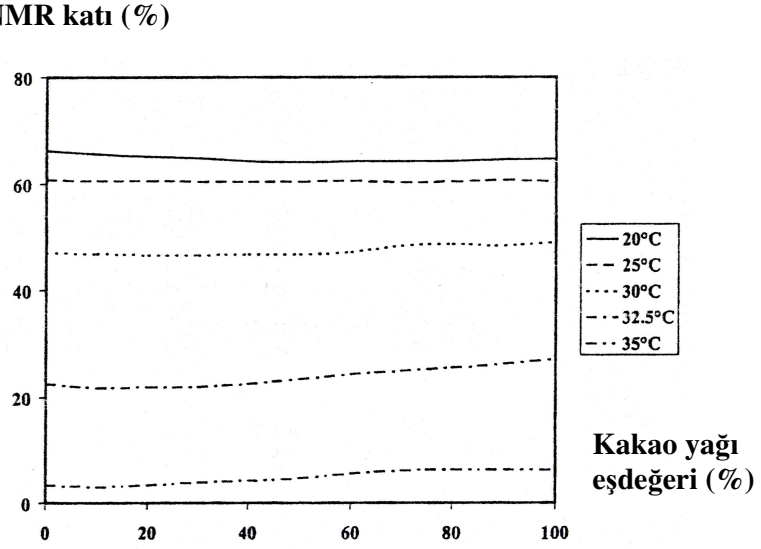
2.6.4 Kakao yağı ikameleri ve polimorfizm

Kakao yağıyla tam uyumluluğu sağlamak açısından bir yağın yalnızca kakao yağına benzer bir erime profiline sahip olması yeterli değildir. Bu yağın kakao yağıyla tam uyum sağlayabilmesi için benzer bir moleküler büyüklük ve polimorfizme de sahip olması gerekir. Bunu sağlamak için de moleküler bileşim taklit edilir ve kakao yağı eşdeğerleri, kakao yağına mümkün olduğunca yakın triaçilgliserol bileşimine sahip bir ürün elde etmek için tasarlanır. Kakao yağı eşdeğerleri üretimi için yaygın olarak POP açısından zengin palm yağı kullanılır. Sat-O-Sat bakımından zengin diğer yağlar St-O-St açısından zengin shea stearin, St-O-St açısından zengin sal stearin, POSt ve St-O-St açısından zengin illipe yağı, St-O-St açısından zengin kokum yağı, POSt ve St-O-St açısından zengin mango çekirdek stearindir (Smith, 2001).

Şekil 2.9'da Kakao yağı ve kakao yağı eşdeğerinin izotermal ikili diyagramında görüldüğü gibi kakao yağı ve kakao yağı eşdeğeri arasında tam karışabilirlik ve uyum vardır (Smith, 2001).

Kakao yağı eşdeğerleri, kakao yağının özelliğini değiştirmeden her oranda kakao yağıyla karıştırılabilirler (Lipp ve Anklam, 1998).

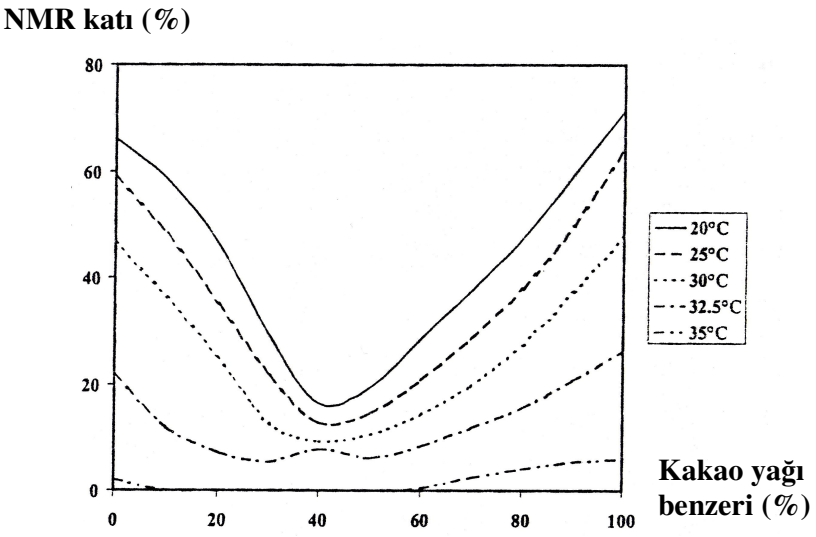
Bu yağlar, kakao yağına benzer yağ asidi ve triaçilgliserol bileşimi gösterdikleri için kakao yağına benzer polimorfizm sergilerler ve bu nedenle temperlenirler (Lawler ve Dimick, 2002).



Şekil 2.9: Kakao Yağı ve Kakao Yağı Eşdeğeri Karışımının İzotermal Diyagramı (Smith, 2001).

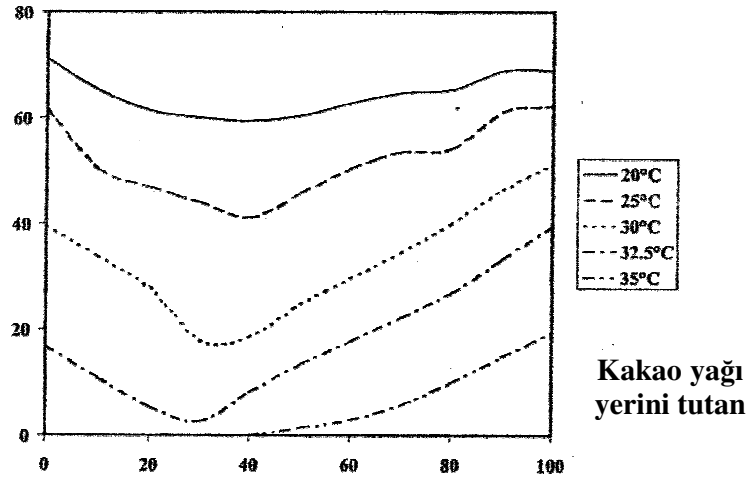
Kakao yağı benzerleri (CBS), kakao yağına kimyasal olarak benzemezler kakao yağının yalnızca katılık ve erime özelliklerini taklit etmek amacıyla geliştirilmiş yağlardır (Lawler ve Dimick, 2002).

Genellikle palm çekirdeği yağı gibi yağlardan elde edilen kakao yağı benzerleri, kakao yağına benzer bir erime profiline, bununla beraber β' polimorfunda kararlı olan oldukça farklı polimorfik davranışa sahiptirler. Bu durum kakao yağından farklı olarak, kakao yağı benzerlerindeki triaçilgliserollerin yapısında bulunan laurik asitten (12:0) kaynaklanır. Kakao yağının hepsi bir çikolata veya şekerleme formülasyonu içinde bir kakao yağı benzeriyle tamamen yer değiştirilebilir. Fakat moleküler büyüklük ve şekil farkı nedeniyle kakao yağı benzeri içeren formülde az da olsa kakao yağı bulunması, ya da kakao yağı içeren formülde kakao yağı benzeri bulunması, katıda kakao yağı triaçilgliserolleri ve bu laurik benzerler arasında bir faz ayrımına neden olur. Şekil 2.10'da kakao yağı ve kakao yağı benzerinin ötektik yumuşaması açıkça görülmektedir. Eğer kakao yağı benzeriyle çikolata yapılacaksa ve kullanılan kakao tozu önemli miktarlarda (>%10) kakao yağı içeriyorsa, Sat-O-Sat ve laurik triaçilgliserollerin faz ayrımı nedeniyle çikolata yüzeyinde yağ çiçeklenmesi gerçekleşebilir. Bu nedenle, kakao yağı benzeri içeren formüllerde düşük yağlı kakao tozları kullanılmaktadır (Smith, 2001).



Şekil 2.10: Kakao Yağı ve Kakao Yağı Benzeri Karışımının İzotermal Diyagramı (Smith, 2001).

Laurik olmayan kakao yağı yerini tutanlar (CBR) ise, kakao yağıyla kakao yağı benzerlerinden daha fazla uyum gösterirler ve bu yağlar genellikle kısmi olarak hidrojenize edilmiş yumuşak veya sıvı yağlardan oluşurlar. Erime davranışları kakao yağınınkine benzer olan bu yağlar diğer yağlara oranla yüksek düzeyde trans çift bağ içerirler. Kakao yağı yerini tutanlardaki (CBR) triaçilgliserollerin açil zincir uzunlukları kakao yağında bulunanlarla benzerdir fakat yapı açısından çok farklıdırlar. Bu yağlar, laurik benzerler gibi, β' polimorfunda kararlıdırlar ve bu nedenle kakao yağıyla uyuşmazlar. Bununla birlikte, açil gruplarının zincir uzunlukları ve moleküler büyüklük kakao yağınınkine daha yakın olduğu için kakao yağı yerini tutanın (CBR) bileşimine bağlı olmakla birlikte, yağ fazında muhtemelen % 10-15 e kadar, iki yağ birbirlerine göre daha büyük toleransa sahiptir. Şekil 2.11'de görüldüğü gibi kakao yağı ve kakao yağı yerini tutanı (CBR) izotermal ikili diyagramda daha az göze çarpan bir ötektik etki gösterir (Smith, 2001).



Şekil 2.11: Kakao Yağı ve Kakao Yağı Yerini Tutan (CBR) Karışımının İzotermal Diyagramı (Smith, 2001).

2.6.5 Kristalizasyonun kontrolü

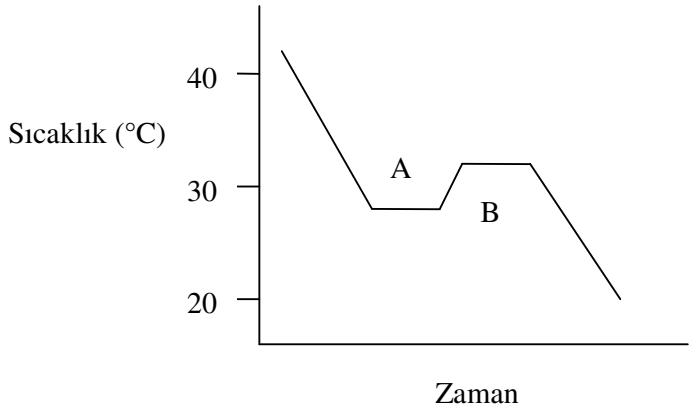
Kristal formlarından, çikolata için tercih edilen form V (β_2), iyi şekillendirilebilme özellikleri verir ve oda sıcaklığında kararlı bir parlaklığa ve hoşa giden ısırma efekti etkisine sahiptir. Tercih edilen bu kristal formun oluşmasını sağlamak amacıyla kullanılabilecek üç yöntem vardır. En yaygın olarak kullanılan yöntem, erimiş

çikolatanın bir takım soğutma ve eritme işlemlerine tabi tutulduğu, uygun polimorfun üretimini optimize eden temperleme işlemidir (Gunstone, 1999).

Temperleme genellikle tam erime, kristalizasyon noktasına soğuma, kristalizasyon ve kararsız kristallerin erimesi olmak üzere temelde 4 basamaktan oluşur (Talbot, 1994).

Temperleme işleminde önce yağın tam erimesini sağlanmak amacıyla çikolata yaklaşık 50°C ye ısıtılır. Erimiş çikolata daha sonra kararlı ve kararsız polimorfların her ikisinin de kristalizasyonunu teşvik etmek için soğutulur ve karıştırılır. Daha sonra sıcaklık, yalnızca polimorfik olarak kararlı kristalleri bırakarak kararsız polimorfların eridiği bir noktaya yükseltilir. Kalan bu kararlı kristaller kristalizasyonu çekirdeklendirmede kullanılır (Talbot, 1994).

Temperleme işlemi boyunca sıcaklık değişimi Şekil 2.12'de gösterilmiştir (Sato ve Koyano, 2001).



Şekil 2.12: Temperleme İşlemi Boyunca Sıcaklık Değişimi (°C) (Sato ve Koyano, 2001).

Çikolatanın temperlenmesi için gerekli olan sıcaklıklar, kullanılan ekipmana ve çikolatanın yağ fazı bileşimine bağlı olarak değişir, örneğin, sütlü çikolatada bitter çikolataya göre daha düşük temperleme sıcaklıkları kullanılır (Talbot, 1994).

Temperleme boyunca kesin sıcaklıklar, çikolatanın formülüne göre belirlenir. Bu nedenle temperleme prosesi boyunca sıcaklığın doğru olarak kontrol edilmesi oldukça önemlidir. Temperleme işleminde, çikolata önce 26-28 °C'ye soğutulur (Şekil 2.12'de A), daha sonra 30-31 °C'ye tekrar ısıtılır (Şekil 2.12'de B).

Temperleme işlemi boyunca çikolata kütlesindeki sıvı yağ azalır ve çekirdek kristalleri oluşur böylece çikolatanın viskozitesi artar. Çikolatanın viskozitesi çok yüksek olursa ısının difüzyonu viskoz durumlarda mümkün olduğunca azaldığı için sıcaklığı tekdüze şekilde kontrol etmek zorlaşır. Ayrıca, yüksek viskoziteli çikolatada, kesme kuvveti sıcaklığın doğru ölçülmesini engelleyen sürtünme ısısı meydana getirir. Çikolatanın viskozitesi çok düşük olduğunda ise, çikolata bazen ısı değiştiricide en kısa yola akar, bu durumda da sıcaklık iyi kontrol edilemez. Temperleme koşulları ve çikolatanın viskozite özelliklerini koordine etmek oldukça önemlidir (Sato ve Koyano, 2001).

İstenilen polimorfik formun elde edilmesinde alternatif bir yöntem, erimiş çikolatanın, daha önce form V (β_2) veya VI (β_1) da hazırlanmış kakao yağıyla çekirdeklendirilmesidir. Fakat bu yöntem bu kristal formların yeterli miktarlarda elde edilmesinin zorluğu nedeniyle kullanışlı değildir (Gunstone, 1999).

Bir diğer yöntem de sentetik gliserol esteri, 2-oleo-1,3-dibehenin (BOB, O=18:1, B=22:0) in, 30°C nin üzerindeki sıcaklıklarda form V kristallerini koruyarak çiçeklenme oluşumunu önlemesi için kakao yağına eklenmesidir (Gunstone, 1999).

Kakao yağından başka çekirdek materyallerinin daha geniş kullanım olanağını incelemek amacıyla, Hachiya ve diğ. (1989a) tarafından yapılan çalışmada, StOSt, BOB, ve StStSt (St:stearoyl, O:oleoyl, B:behenoyl) incelenmiştir. Sonuçta kakao yağı ve bitter çikolatanın kristalizasyon kinetikleri, StOSt ve BOB'un çekirdeklendirmesiyle dikkati çekecek derecede hızlanmıştır. Hachiya ve diğ. (1989b) tarafından yapılan devam çalışmasında, bu tekniğin çikolata endüstrisinde kullanılabilirliği açısından son ürünün fiziksel özellikleri üzerine etkisi araştırılmış, BOB (β_2) un yağ çiçeklenmesi oluşumunu önleyen ve aynı zamanda bitter çikolatanın katılaşma kinetiklerini artıran en iyi çekirdek materyali olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca çekirdeklendirme tekniğinde, temperleme makinesine ihtiyaç duyulmamaktadır (Hachiya ve diğ., 1989a; Hachiya ve diğ., 1989b).

Kullanılan çeşitli şekerleme yağlarından, yalnızca kakao yağı ve kakao yağı eşdeğerleri bu karmaşık polimorfik davranışı gösterir ve bu nedenle temperlemeye ihtiyaç duyar. Kakao yağı ikamesi kullanılan çikolatalardaki diğer yağlar, esas olarak kararlı olan bir β' formuna kristalize olurlar ve temperlemeye ihtiyaç duymazlar (Padley, 1997).

2.6.6 Erime ve kristalizasyonun ölçülmesi

Erime ve kristalizasyonu incelemek için yaygın şekilde kullanılan deneysel yöntemler, dilatometre (dilatometry), düşük-çözünürlük puls ^{1}H nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi (low-resolution pulsed ^{1}H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy), diferansiyel taramalı kalorimetre (differantial scanning calorimetry), kızılötesi spektroskopi (infrared spectroscopy) ve x-ışını difraksiyonu (x-ray diffraction) dur (Gunstone, 1999).

X-ışını toz difraksiyon (x-ray powder diffraction) (XRPD) kakao yağı fazlarını tanımlamak amacıyla kullanılan çok uygun bir tekniktir (Schenk ve Peschar, 2004). Van Malssen ve diğ. (1999), statik koşullar altında, kakao yağının genişletilmiş faz şeması ve faz davranışının incelenmesinde gerçek-zamanlı x-ışını toz difraksiyonunu (real-time x-ray powder diffraction) kullanmışlardır.

Arishima ve diğ. (1996) nin yaptığı çalışmada, kakao yağının başlıca triaçilgliserolleri POP, POS, ve StOSt un polimorfik formlarının analiz edilmesinde çapraz-polarizasyon (cross-polarization) ve açılı dönen nükleer manyetik rezonans (magic-angle spinning nuclear magnetic resonance) (CP/MAS-NMR) tekniği kullanılmıştır.

Bolliger ve diğ. (1999) tarafından yapılan çalışmada ise kristalizasyon özelliklerinin incelenmesinde yakın-kızılötesi (NIR) spektroskopisi (near-infrared spectroscopy) kullanılmıştır.

Tamamen eritilmiş bir yağla başlayan ve belirli sıcaklık koşulları altında zamanla değişimi gözlemlemeyi temel alan Shukoff soğutma eğrisi ve Jensen soğutma eğrisi gibi yararlı bilgiler sağlayan başka yöntemler de vardır. Shukoff yönteminde kristalizasyon oranı üzerine bazı bilgiler de elde edilir. Bu yöntemlerin kullanımında yaklaşımın tutarlılığı ve verinin yorumlanması önemlidir (Hammond, 1999).

Yağlarda fiziksel özelliklerin ölçülmesinde kristalizasyon ve erimenin dinamik özellikler olduğu dikkate alınmalıdır. Ölçülen sonuçlar yağın önişlemlerine, analiz yöntemine, bu yöntemin nasıl uygulandığına ve sonuçların yorumlanmasında kullanılan ustalığa bağlıdır (Hammond, 1999).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Çalışmada, yerel marketlerden temin edilen Çotanak marka fındık yağı, Altınmarka firmasından temin edilen kakao yağı, palm olein ve palm stearin kullanılmıştır. Reaksiyonların gerçekleştirilmesinde kullanılan *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM ve *Thermomyces lanuginosus* orjinli Lipozyme ® TL IM enzimleri, Novozymes (Danbury, CT) firmasından temin edilmiştir. Yağ asidi analizinde kullanılan yağ asidi metil esteri standardı (GLC Reference mixture A20), Nu-Check prep. (A.B.D.) firmasının ürünüdür. Çalışmada kullanılan tristearin ve stearik asit Fluka ve Merck firmalarından temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan çözgen ve kimyasal maddeler Merck (Darmstadt, Almanya) ve Riedel (Seelze, Almanya) firmalarının ürünleridir.

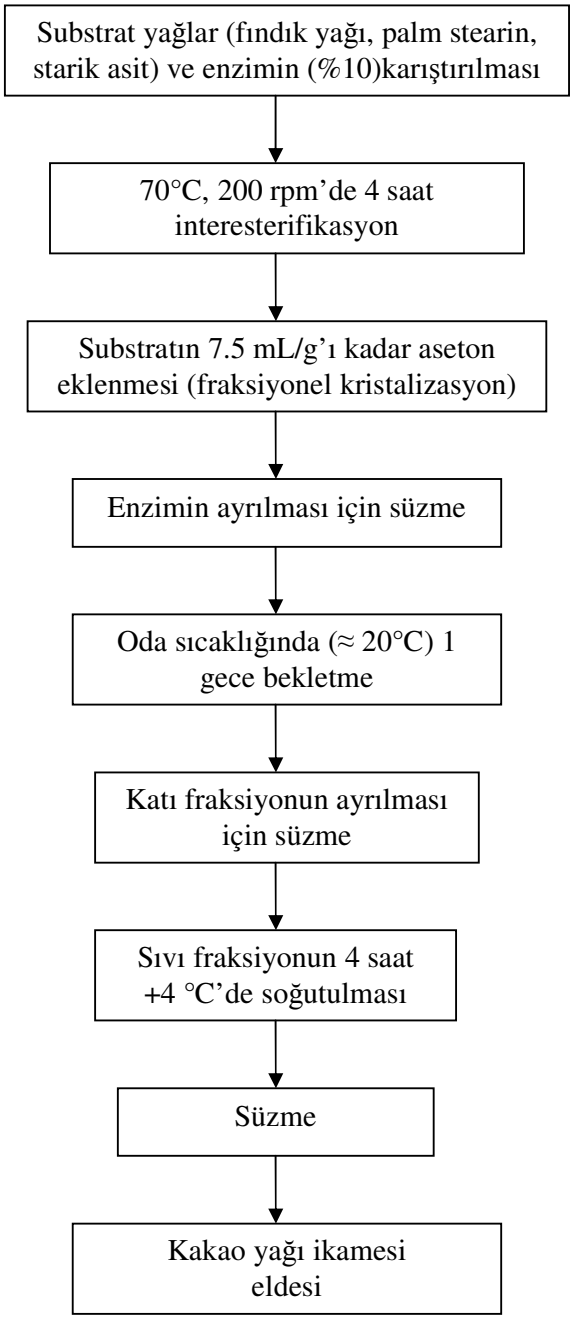
3.2 Metot

3.2.1 İnteresterifikasyon reaksiyonu

Kakao yağı ikamesi üretimi amacıyla kullanılan interesterifikasyon reaksiyonunda Chang ve diğ. (1990) ve Abigor ve diğ. (2003) nin uyguladığı yöntem kullanılmıştır. Reaksiyonlar 50 mL'lik vidalı kapaklı cam kaplarda gerçekleştirilmiş, çeşitli oranlarda fındık yağı, palm stearin ve stearik asit ayrıca toplam substratın %10'u kadar Lipozyme ® RM IM eklenerek 70 °C'deki su banyosunda (New Brunswick Scientific,C 76 Water Bath Shaker, NJ/USA), 4 saat, 200 rpm'de karıştırılmıştır.

Reaksiyon sonunda örneklere aseton kullanılarak fraksiyonel kristalizasyon işlemi uygulanmıştır. Örnekler analiz edilene kadar +4°C'de saklanmıştır.

Reaksiyonun gerçeklestirilmesinde kullanılan yöntem Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: İnteresterifikasyonun Gerçekleştirilmesi için Kullanılan Yöntem

3.2.2 Ürünlerin analizi

Çalışmada elde edilen yağlar yüksek oranda serbest yağ asidi içerdiği için yağ asidi analizi ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizinden önce serbest yağ asitlerinin ayrılması işlemi uygulanmıştır. Bunun için örneklere 5 mL hekzan ve 5 mL etil alkol eklenmiş, fenolftalein eşliğinde 0.5 N sodyum hidroksit çözeltisi ile

titre edilmiştir. Böylece ortamda bulunan serbest yağ asitlerinin sodyum tuzları haline geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra 30 mL su ve 30 mL hekzanla birlikte ayırma hunisine alınıp, triaçilgliserolleri ve digliseritleri içeren hekzan fazı alınarak döner buharlaştırıcıda hekzan uçurulmuştur.

3.2.2.1 Triaçilgliserol bileşimi analizi

Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile triaçilgliserol bileşimi analizi AOCS'nin Ce 5b-89 sayılı resmi yöntemine göre yapılmıştır (AOCS, 1992).

Triaçilgliserollerin ayrımları alıkonma sürelerine göre yapılmıştır ve triaçilgliserollerin miktarları göreceli yüzdesel olarak verilmiştir.

Çalışmada ACS 750/12 model UV dedektör, ACS 351 model izokratik pompa ve PLDG 802 model degazörle donatılmış GBC marka HPLC cihazı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kolon 250x4,60 mm uzunluğunda 5µ Phenomenex marka Ultracard 5 ODS (20) model HPLC kolonudur. Hareketli faz olarak isopropil alkol kullanılmıştır.

Triaçilgliserollerin standart kullanılmaksızın tanımlanmaları için AOCS'nin Ce 5b-89 sayılı resmi metodundaki gibi "eşdeğer karbon sayıları" temel alınmıştır. Bu amaçla Eşitlik 3.1 kullanılmıştır (AOCS, 1992).

ECN = CN-2n

(3.1)

Bu eşitlikte; ECN = eşdeğer karbon sayısı, CN = karbon sayısı, n = çift bağ sayısı'dır.

Bu eşitliğe göre yapılan hesaplamalar sonucunda triaçilgliserollerin kolondan ayrılma sırasının POP, POSt ve StOSt olduğu bulunmuştur.

3.2.2.2 Erime özelliklerinin tespiti amacıyla kullanılan DSC metodu

Erime özelliklerinin tespiti amacıyla ürünler diferansiyel tarama kalorimetresiyle (DSC) analiz edilmiştir. Bu amaçla DSC Q10 (TA Instruments, A.B.D.) diferansiyel tarama kalorimetresi cihazı kullanılmıştır. Analizden önce cihaz indiumla kalibre edilmiş, örnekler küçük alüminyum tavalarda örnek miktarı 10±1 mg olacak şekilde tartılmış ve hermetik olarak kapatılmıştır. Boş bir tava referans olarak kullanılmıştır. Örnekler 10 dakika 0°C'de tutulmuş, dakikada 10°C ısıtılarak 50°C'ye getirilmiş ve

bu sıcaklıkta 10 dk. tutulmuştur. Sonuçların analizlenmesi Universal Analysis 2000 yazılımıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.3 Yağ asidi analizinde kullanılan gaz kromatografisi metodu

Çalışmada substrat olarak kullanılan yağlar, karşılaştırma amacıyla kullanılan kakao yağı ve reaksiyon ürünleri yağ asidi bileşimlerinin tespit edilmesi amacıyla gaz kromatografisi (GC) kullanılmıştır. Bu amaçla Thermo Quest marka Trace-GC 2000 model gaz kromatografi cihazı ve J&W (Agilent Technologies) DB-Wax model 30 m uzunluğa, 0.32 mm iç çapa ve 0.25 µm film kalınlığına sahip kolon kullanılmıştır. Örneklerin metil esterleri AOAC 969.33 no'lu yönteme göre hazırlanmıştır (AOAC, 2003). Kullanılan sıcaklık programı; 150°C'de 3 dakika bekletme, sıcaklığın kademeli olarak dakikada 10°C artacak şekilde 225°C'ye getirilmesi ve bu sıcaklıkta 10 dakika bekletme şeklindedir. Dedektör sıcaklığı 260 °C'dir ve taşıyıcı gazın hızı dakikada 5 mL olacak şekilde sabit tutulmuştur. Kullanılan taşıyıcı gaz helyumdur ve splitless çalışma yapılmıştır.

3.2.3 Deneysel tasarım

Yapılan çalışmada fındık yağı, palm stearin ve stearik asit için en uygun miktarların belirlenmesi amacıyla ön denemelerde elde edilen sonuçlar ve literatür verilerinden yola çıkılarak Tablo 3.1'deki oranlar kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen kakao yağı ikameleri, yazımda kolaylık sağlamak amacıyla numaralandırılarak ifade edilmiştir. Bu numaralar ve kullanılan hammaddelerin oranları Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Tüm denemeler iki tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1: Elde Edilen Kakao Yağı İkamelerinin Kodları ve Çalışmada Kullanılan Palm Stearin, Fındık Yağı ve Stearik Asit Oranları

Elde edilen kakao yağı ikamelerinin kodları	**PS : FY : SA oranı**
1	1:1:1
2	1:2:1
3	2:1:1
4	2:2:1
5	1:1:2
6	1:2:2
7	2:1:2
8	1:1:3
9	1:2:3
10	2:1:3
11	2:2:3
12	1:1:4
13	1:2:4
14	2:1:4

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

3.2.4 İstatistiksel analiz

Elde edilen kakao yağı ikameleri ve kakao yağı arasındaki farklılıklar Minitab 14 (Minitab Inc., A.B.D.) programı kullanılarak ANOVA, General Linear Model ile incelenmiş ve farklılıklar aynı yazılım kullanılarak Tukey testi ile karşılaştırılmıştır ($P<0.01$). Varyans analizi tabloları Ek A bölümünde verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Hammaddelerin Yağ Asidi Bileşimleri

Substrat olarak kullanılan fındık yağı, palm olein ve palm stearinin gaz kromatografisiyle tespit edilen % yağ asidi bileşimleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Substrat Olarak Kullanılan Yağların Yağ Asidi Bileşimleri (%)

	C 14:0 (M)	C 16:0 (P)	C 18:0 (St)	C 18:1 (O)	C 18:2 (L)
Fındık yağı	0	5.72	1.69	79.15	13.60
Palm olein	1.00	41.66	2.17	44.00	11.02
Palm stearin	1.31	59.83	5.07	27.54	6.03

Tablodaki değerler iki tekrarın ortalamasını temsil etmektedir.

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, substrat olarak kullanılan yağlara ait, C14:0, miristik asit, C16:0, palmitik asit, C 18:0, stearik asit, C 18:1, oleik asit ve C 18:2, linoleik asit olmak üzere beş yağ asidi tespit edilmiştir. Fındık yağı oleik asit (%79) açısından, palm stearin palmitik asit (%60) açısından, palm olein ise palmitik (%42) ve oleik asit (%44) açısından zengindir. Elde edilen sonuçların literatür veriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Che-Man ve diğ., 2001; Alaşalvar ve diğ., 2003; Crews ve diğ., 2005). Sonuçlar dikkate alındığında palm stearinin palmitik asit kaynağı olarak daha kullanışlı bir hammadde olduğu görülmektedir.

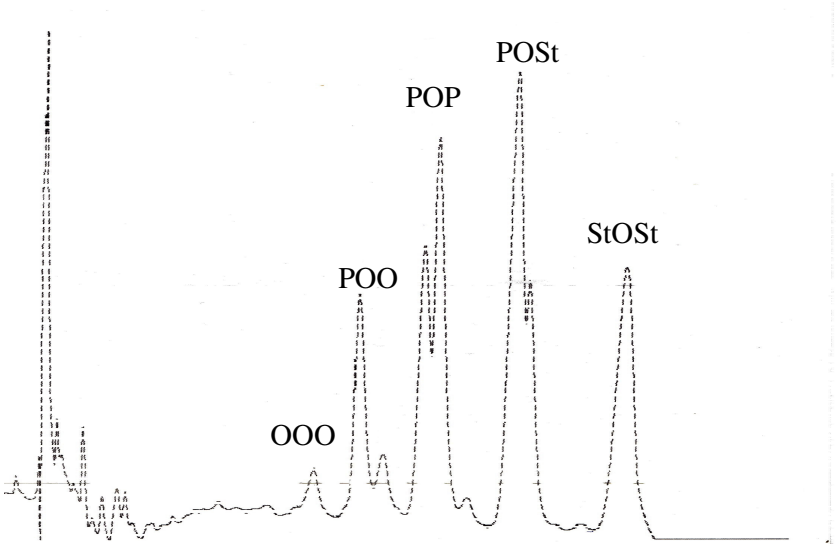
4.2 Ön Denemeler

Yapılan ön denemelerde, çalışmada palmitik asit kaynağı olarak kullanılacak substrat yağın belirlenmesi açısından öncelikle palm olein ve palm stearin yağları karşılaştırılmıştır. Daha sonra *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM ve *Thermomyces lanuginosus* orjinli Lipozyme ® TL IM enzimleri karşılaştırılmıştır. Stearik asit kaynağı olarak kullanılacak hammaddenin tespiti için de tristearin ve stearik asit arasında bir karşılaştırma yapılmıştır. Tüm bu ön denemelerde kullanılan yağ, enzim ve stearik asit kaynakları, triaçilgliserol kompozisyonlarına bakılmaksızın, düşük miktarlarda kakao yağı ikamesi eldesine neden olmuşlardır, bu nedenle çalışmanın devamında kullanımları tercih edilmemiştir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, elde edilen yağın verimi dikkate alınarak palmitik asit kaynağı olarak palm stearin, stearik asit kaynağı olarak stearik asit ve enzim olarak *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM'nin kullanılmasına karar verilmiştir.

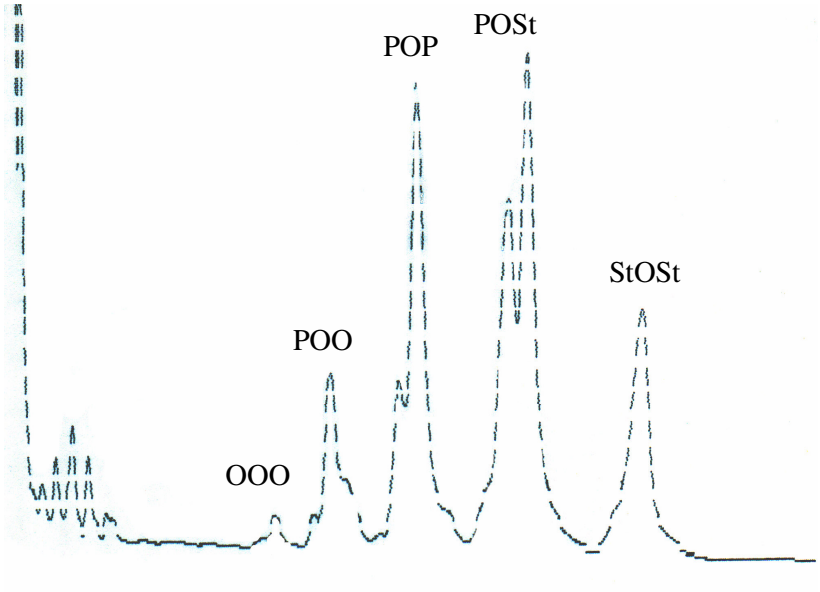
4.3 Triaçilgliserol Bileşimi Analizi Sonuçları

Yapılan tüm ön denemeler dikkate alınarak çalışmada palm stearin, fındık yağı, stearik asit ve *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM kullanılmasına karar verilmiştir ve bu malzemelerin kullanım aralıklarını belirlemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır.

HPLC ile yapılan triaçilgliserol analizi sonucunda elde edilen kakao yağına ait HPLC kromatogramı Şekil 4.1'de, üretilen kakao yağı ikamelerinden 14 numarayla kodlanan ürüne ait HPLC kromatogramı Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1: Kakao Yağına Ait HPLC Kromatogramı



Şekil 4.2: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinden 14 Numarayla Kodlanan Ürüne Ait HPLC Kromatogramı

Triaçilgliserol analizi sonucunda kakao yağının ve üretilen kakao yağı ikamelerinin göreceli yüzdesel triaçilgliserol bileşimleri Tablo 4.2 'de verilmiştir.

Tablo 4.2: Kakao Yağı ve Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin Göreceli Yüzdesel Triaçilgliserol Bileşimi

	Triaçilgliseroller (%)					PS:FY:SA Oranı
	OOO	POO	POP	POSt	StOSt	
Kakao yağı	2.5	8.7	27.7	40.0	21.1	
1	5.0	25.4	38.7	25.9	5.6	1:1:1
2	5.8	25.6	35.1	25.6	8.0	1:2:1
3	5.3	26.9	40.8	23.5	3.6	2:1:1
4	7.0	31.7	38.1	19.9	3.4	2:2:1
5	2.4	14.5	30.2	37.2	15.7	1:1:2
6	4.2	18.7	32.4	32.1	12.7	1:2:2
7	3.7	16.9	33.5	33.4	12.6	2:1:2
8	1.7	11.9	27.9	42.0	16.5	1:1:3
9	2.9	15.4	30.4	38.2	11.6	1:2:3
10	3.9	18.2	32.9	33.0	12.2	2:1:3
11	2.9	18.2	35.0	33.9	10.1	2:2:3
12	1.8	7.5	24.4	46.9	19.5	1:1:4
13	1.8	10.6	28.9	40.7	18.1	1:2:4
14	2.0	8.7	29.2	44.3	15.9	2:1:4

Tablodaki değerler iki tekrarın ortalamasını temsil etmektedir. PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit.

Kakao yağı %40 POSt, %27.7 POP, 21.1 StOSt, %8.7 POO ve %2.5 OOO içermektedir. Bu bulgular dikkate alındığında, kakao yağının triaçilgliserol bileşiminin POP değeri biraz yüksek olmakla birlikte literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Lipp ve diğ. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada analizi yapılan 42 kakao yağı örneğinin triaçilgliserol bileşimi %38.0-43.8 POSt, %16.8-19.0 POP, %22.8-30.0 StOSt, %3.1-9.5 POO ve %1.0-1.5 OOO olarak bulunmuştur. Undurraga ve diğ. (2001) nin yaptığı çalışmada ise kakao yağının triaçilgliserol bileşimi %42.8 POSt, %23.4 POP, %27.5 StOSt şeklindedir. Vazquez ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada, kakao yağındaki triaçilgliserol bileşimini %41.8 POSt, %15.7 POP, %28.5 StOSt olarak bulmuşlardır. Chaiseri ve Dimick (1989) in yaptığı bir çalışmada ise Bolivya orjinli kakao yağı için triaçilgliserol bileşimi %40.4 POSt, %22.6 POP, %22.8 StOSt dir.

Kakao yağının başlıca triaçilgliserolü POSt dur. Üretilen kakao yağı ikamelerinden stearik asit miktarının düşük olduğu 1,2,3 ve 4 numaralarıyla kodlanan örnekler dışında, diğer kakao yağı ikamelerinde başlıca triaçilgliserolün POSt olduğu görülmektedir. Stearik asit miktarı düşük olan 1,2,3 ve 4 numaralarıyla kodlanan ürünlerde ayrıca StOSt triaçilgliserolünün miktarları da düşüktür.

Chang ve diğ. (1990), hidrojenize edilmiş pamuk tohumu yağı ve zeytinyağı kullanarak, 3 farklı oranı karşılaştırdıkları çalışmada, kakao yağına en benzer özellikteki ürünlerinin %23 POSt ve %28 StOSt içerdiğini bildirmişler ve elde edilen ürünü diğer triaçilgliseroller açısından değerlendirmemişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuca göre her iki triaçilgliserol kakao yağıyla karşılaştırıldığında POSt oranının kakao yağındakinden düşük, StOSt oranının ise yüksek olduğu görülmektedir.

Abigor ve diğ. (2003) beş farklı oranla yaptıkları çalışmada, kakao yağının triaçilgliserol bileşimine en yakın ürünlerinin %11 POP, %39 POSt ve %23 StOSt içerdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca saflaştırılmamış ürünlerin önemli miktarda monogliserit ve digliserit içerdiğini belirtmişlerdir. Çalışmada POP oranı literatür verilerinden biraz düşük olmakla birlikte kakao yağına benzer triaçilgliserol bileşiminde ürünler elde edilmiştir.

Liu ve diğ. (1997) nin yaptığı çalışmada ise, palm yağı ve tristearin kullanılarak yapılan interesterifikasyon reaksiyonu sonucu %21.6 POP, %38.7 POSt, %14.1 StOSt ve %16.7 POO içeren bir ürün elde edilmiştir. Ürünlerin StOSt içeriği kakao yağına oranla düşükken, POO içeriği kakao yağından yüksektir.

Undurraga ve diğ. (2001) tarafından palm yağı orta farksiyonu ve stearik asit kullanılarak yapılan çalışmada elde edilen ürün %23.4 POP, %38.5 POSt ve %20.2 StOSt içermektedir. Çalışmada kakao yağı için bildirilen literatür verilerine uygun sonuçlar elde edilmiştir.

Liu ve diğ. (2007) nin domuz yağı ve tristearin kullanarak yaptıkları interesterifikasyon reaksiyonu sonucunda elde ettikleri üründe ise triaçilgliserol oranları %23.0 POP, %39.9 POSt ve %14.1 StOSt ve % 20.3 POO dur. Çalışmada

elde edilen ürünlerin StOSt içeriği kakao yağına oranla düşükken, POO içeriği kakao yağından yüksektir.

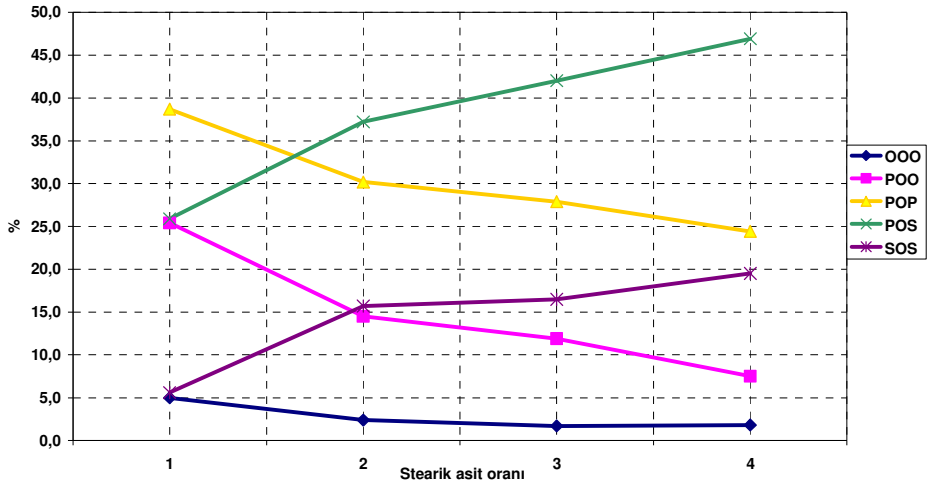
Çalışmamızda elde ettiğimiz ürünlerden triaçilgliserol bileşimi açısından kakao yağına en yakın örneğin triaçilgliserol bileşimi ise %28.9 POP, %40.7 POSt ve %18.1 StOSt ve %10.6 POO ve %1.8 OOO şeklindedir. Bulgular kakao yağının triaçilgliserol bileşimiyle karşılaştırıldığında literatür verilerine oldukça yakın sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Tablo 4.2'de gösterilen veriler dikkate alındığında hammadde olarak kullanılan stearik asit miktarı arttıkça stearik asit içeren POSt ve StOSt triaçilgliserollerinin de miktarlarının arttığı gözlenmiştir. Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'te palm stearin, fındık yağı oranı 1:1 olduğunda stearik asit miktarı artırıldığında POSt ve StOSt gibi stearik asit içeren triaçilgliserollerin miktarının arttığı görülmektedir.

Tablo 4.3: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	Triaçilgliseroller				
	OOO	POO	POP	POSt	StOSt
1:1:1	5.0	25.4	38.7	25.9	5.6
1:1:2	2.4	14.5	30.2	37.2	15.7
1:1:3	1.7	11.9	27.9	42.0	16.5
1:1:4	1.8	7.5	24.4	46.9	19.5

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit



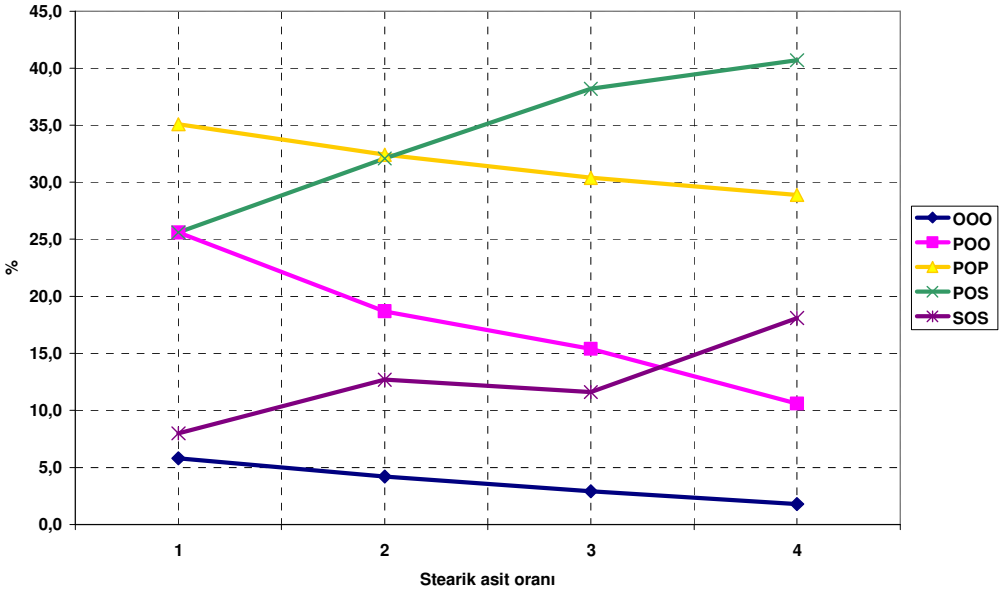
Şekil 4.3: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

Tablo 4.4 ve Şekil 4.4'te palm stearin, fındık yağı oranı 1:2 olduğunda stearik asit miktarı artırıldığında POSt ve StOSt gibi stearik asit içeren triaçilgliserollerin miktarının arttığı görülmektedir.

Tablo 4.4: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	Triaçilgliseroller				
	OOO	POO	POP	POSt	StOSt
1:2:1	5.8	25.6	35.1	25.6	8.0
1:2:2	4.2	18.7	32.4	32.1	12.7
1:2:3	2.9	15.4	30.4	38.2	11.6
1:2:4	1.8	10.6	28.9	40.7	18.1

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit



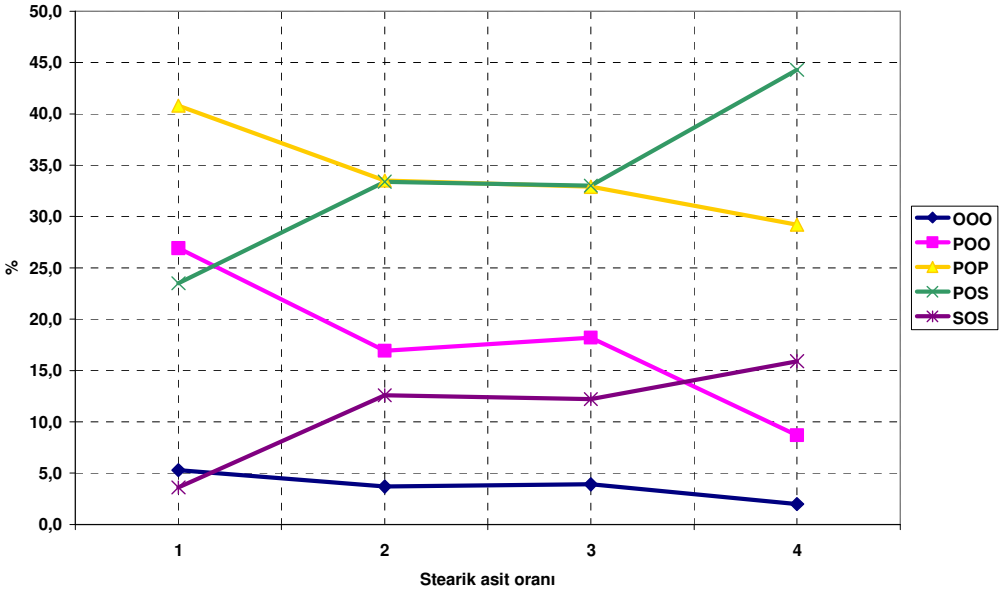
Şekil 4.4: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

Tablo 4.5 ve Şekil 4.5'de palm stearin, fındık yağı oranı 2:1 olduğunda stearik asit miktarı artırıldığında POSt ve StOSt gibi stearik asit içeren triaçilgliserollerin miktarının arttığı görülmektedir.

Tablo 4.5: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	Triaçilgliseroller				
	OOO	POO	POP	POSt	StOSt
2:1:1	5.3	26.9	40.8	23.5	3.6
2:1:2	3.7	16.9	33.5	33.4	12.6
2:1:3	3.9	18.2	32.9	33.0	12.2
2:1:4	2.0	8.7	29.2	44.3	15.9

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit



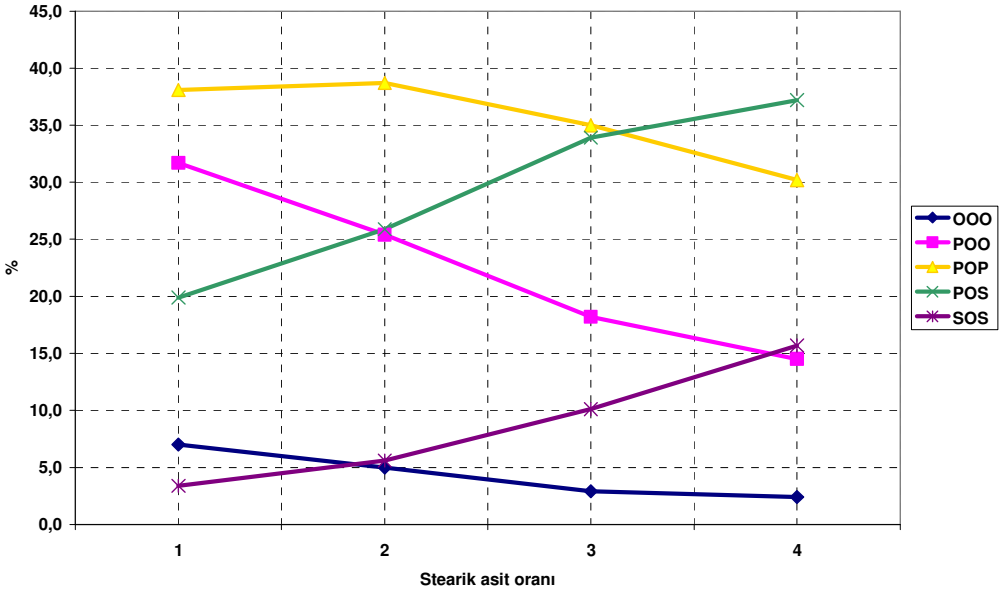
Şekil 4.5: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

Tablo 4.6 ve Şekil 4.6'da palm stearin, fındık yağı oranı 2:2 olduğunda stearik asit miktarı artırıldığında POSt ve StOSt gibi stearik asit içeren triaçilgliserollerin miktarının arttığı görülmektedir.

Tablo 4.6: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	Triaçilgliseroller				
	OOO	POO	POP	POSt	StOSt
2:2:1	7.0	31.7	38.1	19.9	3.4
2:2:2	5.0	25.4	38.7	25.9	5.6
2:2:3	2.9	18.2	35.0	33.9	10.1
2:2:4	2.4	14.5	30.2	37.2	15.7

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit



Şekil 4.6: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça Triaçilgliserol Miktarlarındaki Değişim

Tablo 4.2'deki veriler dikkate alındığında, üretilen kakao yağı ikamelerinde genel olarak StOSt triaçilgliserolünün kakao yağına göre düşük olduğu görülmektedir. Stearik asit oranının yükseltilmesiyle kakao yağına benzer oranda POSt ve StOSt içeriğine sahip ürünler elde edilmiştir. Stearik asit oranının yüksek olduğu ürünler triaçilgliserol bileşimi açısından kakao yağına benzer özellik göstermiştir.

4.4 Erime Profili Analizi Sonuçları

Diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ile yapılan erime profili analizi sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7: DSC Analizi Sonucunda Piklerin Gözlendiği Sıcaklıklar

	Erime sıcaklıkları (°C)	PS:FY:SA Oranı
Kakao yağı	21.27	
1	14.47	1:1:1
2	13.66	1:2:1
3	14.65	2:1:1
4	11.87	2:2:1
5	17.01	1:1:2
6	14.76	1:2:2
7	16.05	2:1:2
8	19.45	1:1:3
9	16.31	1:2:3
10	17.49	2:1:3
11	15.64	2:2:3
12	20.63	1:1:4
13	17.53	1:2:4
14	18.62	2:1:4

Tablodaki değerler iki tekrarın ortalamasını temsil etmektedir. PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit.

Tablodaki veriler dikkate alındığında temperleme işlemi yapılmamış kakao yağının erime sıcakılığının 21.7 °C olduğu görülmektedir. Stapley ve diğ. (1999) tarafından yapılan çalışmada temperlenmemiş çikolata için elde edilen DSC verilerinin 15-25°C arasında olduğu görülmektedir.

Kristal formlarından, çikolata için tercih edilen form V (β_2) unun oluşmasını sağlamak amacıyla erimiş çikolatanın bir takım soğutma ve eritme işlemlerine tabi tutulduğu, uygun polimorfun üretimini optimize eden temperleme işlemi uygulanr (Gunstone, 1999).

Değişik polimorflar için çekirdeklenme oranları $\alpha > \beta' > \beta$ şeklindedir bu nedenle β polimorfu en kararlı olduğu ve termodinamik olarak tercih edildiği halde, α ve β' kristalleri daha kolaylıkla oluşur (Gunstone, 1999).

POP, POSt ve StOSt triaçilgliserolleri için Cebula ve Smith (1991) tarafından yapılan araştırmada α polimorfu için erime sıcaklıkları 15.4°C ile 24.5°C arasında

değişmektedir. Sato ve diğ. (1989) ve Arishima ve diğ. (1991) nin yaptığı çalışmalarda da POP, POSt ve StOSt triaçilgliserollerinin α polimorfu için erime sıcaklıkları 15.2°C ile 23.5°C arasında değişmektedir.

Kakao yağının her polimorfu kendine özgü erime noktası ve kristal yapı özellikleri gösterir. Bu farklı erime noktası ve kristal yapı özellikleri, kakao yağının bu başlıca üç triaçilgliserolünün ortak etkileşimlerinden kaynaklanır (Sato ve Koyano, 2001).

Elde edilen kakao yağı ikameleri 11.87°C ile 20.63 °C arasındaki sıcaklıklarda erimişlerdir. Tablo 4.8'de görüldüğü gibi Coberine, Choclin ve Akomax R gibi bazı ticari kakao yağı ikamelerinin de erime sıcaklıkları ise sırasıyla 19.65°C, 17.77°C ve 19.74°C'dir.

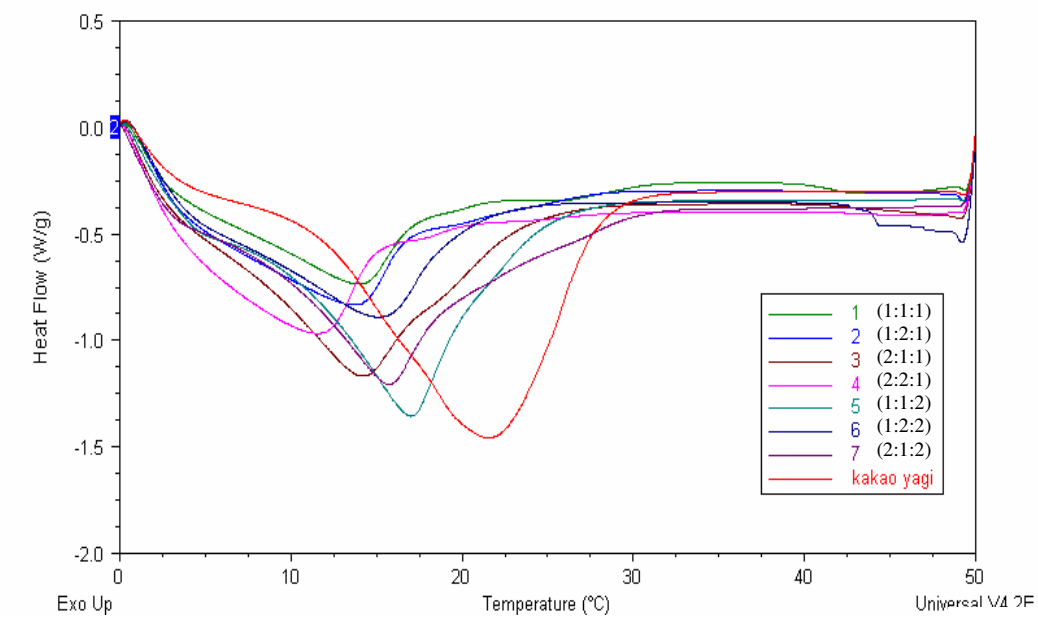
Tablo 4.8: DSC Analizi Sonucunda Bazı Ticari Kakao Yağı İkamelerinin Erime Sıcaklıkları

	Erime sıcaklıkları (°C)
Kakao yağı	21.27
Coberine	19.65
Choclin	17.77
Akomax R	19.74

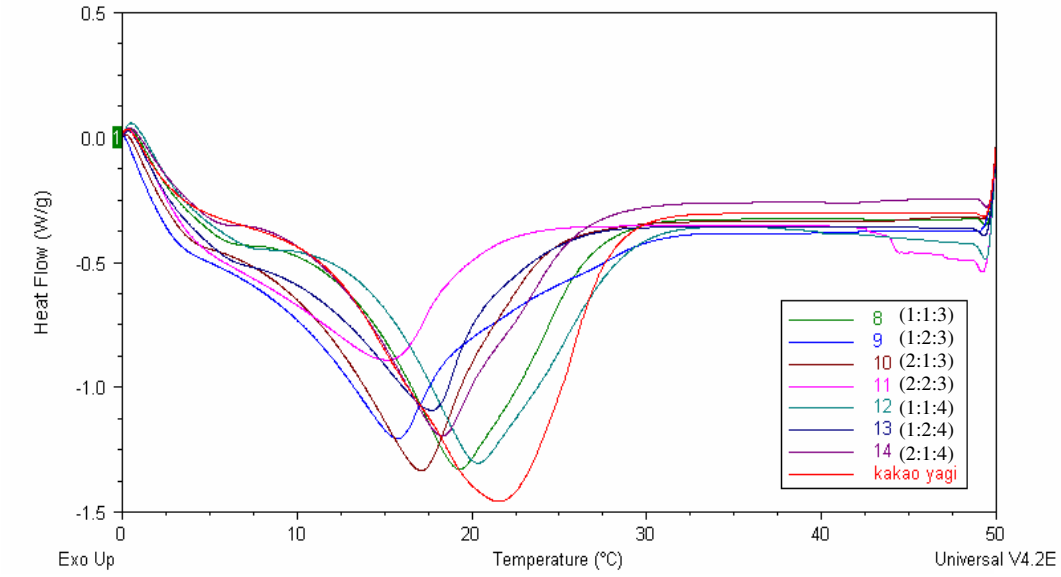
Tablodaki değerler iki tekrarın ortalamasını temsil etmektedir.

Kakao yağının çikolata ve şekerleme endüstrisinde tercih edilmesindeki en önemli nedenlerden biri, kakao yağının keskin ve dar bir aralıkta erime özelliği göstermesidir. Bu keskin erime özelliği DSC termogramında açık şekilde gözlenmektedir. Şekil 4.7 ve 4.8'de görüldüğü gibi kakao yağı ve üretilen kakao yağı ikameleri dik bir erime profili göstermektedir.

Şekil 4.7'de bu çalışmada üretilen kakao yağı ikamelerinden 1-7 numaralarıyla kodlananların, Şekil 4.8'de ise 8-14 numaralarıyla kodlananların DSC termogramlarının, kakao yağının DSC termogramıyla karşılaştırılması görülmektedir.



Şekil 4.7: 1-7 Numaralarıyla Kodlanan Kakao Yağı İkamelerinin DSC Termogramlarının Kakao Yağı DSC Termogramıyla Karşılaştırılması. (Parantez içindeki değerler, sırasıyla palm stearin, fındık yağı ve stearik asit oranlarını temsil etmektedir.)



Şekil 4.8: 8-14 Numaralarıyla Kodlanan Kakao Yağı İkamelerinin DSC Termogramlarının Kakao Yağı DSC Termogramıyla Karşılaştırılması (Parantez içindeki değerler, sırasıyla palm stearin, fındık yağı ve stearik asit oranlarını temsil etmektedir.)

Şekil 4.7 ve 4.8'de görüldüğü gibi 1,2,3,4,6 ve 11 numaralarıyla kodlanan örnekler dışındakiler, erime profili açısından kakao yağına benzer, keskin bir erime özelliği göstermektedir.

Chang ve diğ. (1990), hidrojenize edilmiş pamuk tohumu yağı ve zeytinyağı kullanarak, 3 farklı oranı karşılaştırdıkları çalışmada, triaçilgliserol bileşimi açısından kakao yağına en benzer özellikteki ürünlerinin kakao yağına benzer dik bir erime profili gösterdiğini bulmuşlardır.

Abigor ve diğ. (2003) de beş farklı oranla yaptıkları çalışmada, kakao yağının triaçilgliserol bileşimine en yakın ürünlerinin DSC kromatogramının kakao yağına benzer bir erime profili sergilediğini göstermişlerdir.

Osborn ve Akoh (2002) tarafından yapılan, sığır iç yağının enzimatik olarak modifiye edildiği çalışmada elde edilen ürünler kakao yağına benzer dik bir erime profili göstermemiş, erime noktası kakao yağından yüksek ürünler elde edilmiştir. Bununla birlikte ürünün çikolata kaplamalarında kısmi kakao yağı yerini tutan (CBR) olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Undurraga ve diğ. (2001) tarafından palm yağı orta fraksiyonu ve stearik asit kullanılarak yapılan çalışmada elde edilen ve triaçilgliserol bileşimi açısından kakao yağıyla karşılaştırıldığında literatür verilerine uygun sonuçlar elde edilen üründe, kakao yağının DSC kromatogramında olmayan pikler tespit edilmiştir. Bu piklerin nedeninin üründe digliserit varlığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Veriler dikkate alındığında, yaptığımız çalışmada kullanılan stearik asit miktarı ve üründe stearik asit içeren POSt ve StOSt gibi triaçilgliserollerin miktarı arttıkça erime sıcaklıklarında da artış meydana gelmektedir. Palm stearin, fındık yağı oranı 1:1 olacak şekilde sabit tutulduğunda POSt ve SOSt triaçilgliserollerindeki ve erime sıcaklığındaki artış Tablo 4.9'da gösterilmektedir.

Tablo 4.9: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	POSt	StOSt	Sıcaklık (°C)
1:1:1	25.9	5.6	14.04
1:1:2	37.2	15.7	17.06
1:1:3	42.0	16.5	19.35
1:1:4	46.9	19.5	20.39

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

Palm stearin, fındık yağı oranı 1:2 olacak şekilde sabit tutulduğunda POSt ve SOSt triaçilgliserollerindeki ve erime sıcaklığındaki artış Tablo 4.10'da gösterilmektedir.

Tablo 4.10: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 1:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	POSt	StOSt	Sıcaklık (°C)
1:2:1	25.6	8.0	13.59
1:2:2	32.1	12.7	14.47
1:2:3	38.2	11.6	16.50
1:2:4	40.7	18.1	17.74

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

Palm stearin, fındık yağı oranı 2:1 olacak şekilde sabit tutulduğunda POSt ve SOSt triaçilgliserollerindeki ve erime sıcaklığındaki artış Tablo 4.11'de gösterilmektedir.

Tablo 4.11: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:1 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	POSt	StOSt	Sıcaklık (°C)
2:1:1	23.5	3.6	14.28
2:1:2	33.4	12.6	15.77
2:1:3	33.0	12.2	17.12
2:1:4	44.3	15.9	18.33

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

Palm stearin, fındık yağı oranı 2:2 olacak şekilde sabit tutulduğunda POSt ve SOSt triaçilgliserollerindeki ve erime sıcaklığındaki artış Tablo 4.12'de gösterilmektedir.

Tablo 4.12: Palm Stearin, Fındık Yağı Oranı 2:2 Olduğunda, Stearik Asit Miktarı Arttıkça POSt, StOSt Triaçilgliserollerindeki Artış ve Erime Sıcaklığındaki Değişim

PS:FY:SA Oranı	POSt	StOSt	Sıcaklık (°C)
2:2:1	19.9	3.4	11.48
2:2:2	25.9	5.6	14.04
2:2:3	33.9	10.1	15.26
2:2:4	37.2	15.7	17.06

PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

Bu durum literatür verileriyle uyuşmaktadır. Cebula ve Smith (1992) tarafından yapılan çalışmada, StOSt miktarı arttıkça DSC ile tespit edilen sıcaklıkların da arttığı belirtilmiştir.

4.5 Ürünlerin ve Kakao Yağının Yağ Asidi Bileşimi Sonuçları

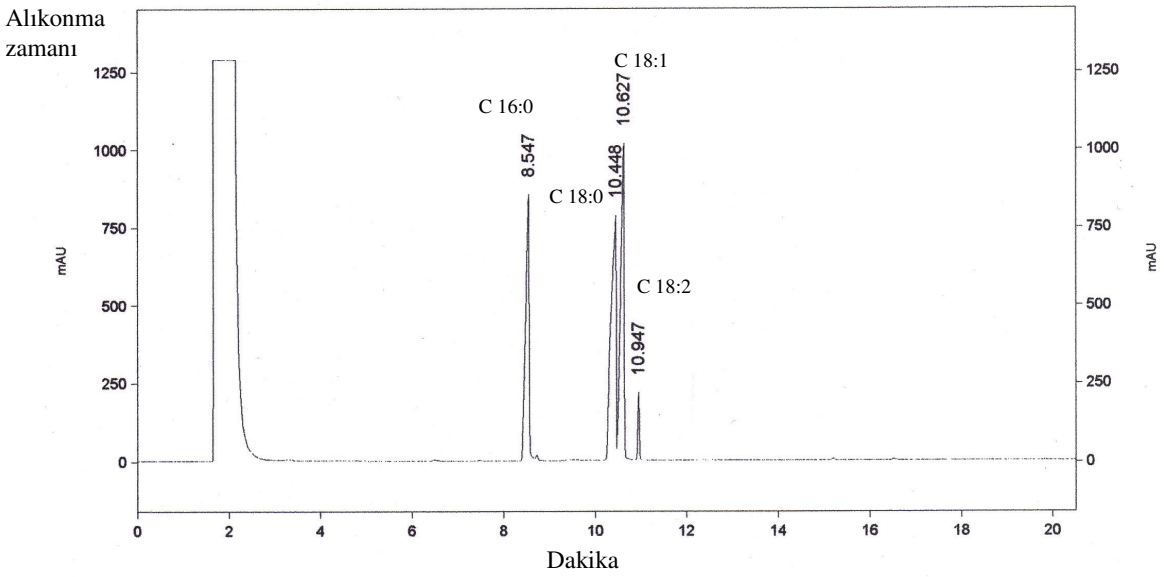
Yapılan çalışma sonucunda elde edilen yağların % yağ asidi bileşimleri Tablo 4.13'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13: Kakao Yağı ve Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin Yağ Asidi Bileşimi (%)

	C 16:0	C18:0	C 18:1	C 18:2	PS:FY:SA Oranı
Kakao yağı	25.3	36.8	34.0	3.9	
1	20.0	30.6	42.4	7.1	1:1:1
2	19.6	32.0	42.5	6.0	1:2:1
3	28.1	25.4	39.6	6.9	2:1:1
4	25.1	21.7	45.4	8.0	2:2:1
5	16.7	37.9	37.0	9.5	1:1:2
6	15.2	37.0	41.2	6.7	1:2:2
7	22.4	35.0	35.3	7.4	2:1:2
8	13.8	46.9	34.2	5.2	1:1:3
9	12.6	43.2	38.5	5.8	1:2:3
10	19.9	37.8	35.7	6.7	2:1:3
11	18.3	35.6	38.7	7.2	2:2:3
12	13.2	46.9	32.9	7.1	1:1:4
13	11.3	47.0	36.1	5.7	1:2:4
14	17.1	43.3	34.1	5.6	2:1:4

Tablodaki değerler iki tekrarın ortalamasını temsil etmektedir. PS: palm stearin, FY: fındık yağı, SA: stearik asit

Kakao yağının GC kromatogramı Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9: Kakao Yağına Ait GC Kromatogramı

Tablo 4.13'de görüldüğü gibi, kakao yağı ve üretilen kakao yağı ikamelerine ait C16:0, palmitik asit, C 18:0, stearik asit, C 18:1, oleik asit ve C 18:2, linoleik asit olmak üzere dört yağ asidi tespit edilmiştir. Kakao yağındaki yağ asidi oranlarının %25.3 palmitik asit, %36.8 stearik asit, %34.0 oleik asit ve %3.9 linoleik asit şeklinde olduğu ve bu değerlerin literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Vazquez ve diğ. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada kakao yağının %25.8 palmitik asit, %34.5 stearik asit, %34.9 oleik asit ve %3 linoleik asit içerdiği bulunmuştur. Van Malssen ve diğ. (1996) nin 12 farklı kakao yağıyla yaptıkları çalışmada örnekler %20.04-23.75 palmitik asit, %29.37-34.08 stearik asit, %29.40-34.69 oleik asit ve %2.16-3.67 linoleik asit içermektedir. Foubert ve diğ. (2004) nin 20 farklı kakao yağıyla yaptıkları çalışmada ise örnekler %24.9-27.6 palmitik asit, %32.9-37.7 stearik asit, %32.7-37.6 oleik asit ve %2.26-3.71 linoleik asit içermektedir.

Üretilen kakao yağı ikamelerinden triaçilgliserol bileşimi açısından istatistiksel olarak kakao yağından farksız bulunan 5,7,8,9,12,13 ve 14 numarayla kodlanan örneklerin yağ asidi bileşimi dikkate alındığında, 7 numarayla kodlanan ürünün literatür verileri göz önünde bulundurulduğunda kakao yağına en yakın yağ asidi bileşimi gösterdiği bulunmuştur. 5 numarayla kodlanan ürünün palmitik asit oranının

düşük olduğu, diğer örneklerde ise stearik asit miktarının yüksek olduğu gözlenmiştir. Triaçilgliserol analizi sonuçları dikkate alındığında, serbest yağ asitleri, monogliseritler ve digliseritlerin etkin şekilde uzaklaştırılabileceği etkili saflaştırma yöntemlerinin gerekli olduğu görülmektedir.

4.6 İstatistiksel Analiz Sonuçları

Palm stearin, fındık yağı ve stearik asit kullanılarak enzimatik interesterifikasyon yöntemiyle elde edilen kakao yağı ikamelerinin kakao yağından istatistiksel açıdan farklı olup olmadığının anlaşılması amacıyla Minitab 14 programı ANOVA, General Linear Model uygulanmıştır. Farklılıklar aynı yazılım kullanılarak Tukey testi ile karşılaştırılmıştır ($P<0.01$). Elde edilen kakao yağı ikamelerinden 5, 7, 8, 9, 12, 13 ve 14 numaralarıyla kodlanan örneklerin OOO, POO, POP, POSt ve StOSt triaçilgliserolleri açısından istatistiksel olarak kakao yağından farklı olmadığı görülmüştür. DSC ile gerçekleştirilen erime profili analizi sonuçları dikkate alındığında ise 8 ve 12 numara ile kodlanan örneklerin istatistiksel olarak 0,01 önem düzeyinde kakao yağından farklı olmadığı bulunmuştur. İstatistiksel analiz sonuçları Ek A'da verilmiştir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, ülkemize özgü bir ürün olan fındık yağı, enzimatik interesterifikasyon yöntemiyle kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılabilme potansiyeli açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmada fındık yağı dışında palmitik asit kaynağı olarak palm stearin, stearik asit kaynağı olarak stearik asit kullanılmıştır. Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonu için *Rhizomucor miehei* orijinli Lipozyme ® RM IM enzimi kullanılmıştır.

Kakao yağı ikamesinin kakao yağına benzerliğinin belirlenmesi açısından triaçilgliserol bileşimi oldukça önemlidir ve elde edilen kakao yağı ikamelerinin AOCS Ce 5b-89 metoduna göre triaçilgliserol bileşimleri tespit edilmiştir. Triaçilgliserol bileşimi sonuçlarına göre stearik asit oranının yüksek tutulduğu örnekler kakao yağına oldukça yakın bir triaçilgliserol bileşimi göstermiştir. 5,7,8,9,12,13 ve 14 numaralarıyla kodlanan kakao yağı ikamelerinin istatistiksel açıdan 0,01 önem düzeyinde kakao yağından farksız olduğu bulunmuştur.

Kakao yağı ikamesinin kakao yağına benzerliğinin tespiti açısından kritik olan bir diğer önemli özellik erime profilidir. Bu amaçla karşılaştırma amacıyla kullanılan kakao yağı ve çalışma sonucunda elde edilen kakao yağı ikamelerine diferansiyel taramalı kalorimetreyle erime profili analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar dikkate alındığında istatistiksel açıdan yalnızca 8 ve 12 numarayla kodlanan kakao yağı ikameleri kakao yağıyla karşılaştırıldığında farksız bulunmuş olsa da ayrıca 5,10,13 ve 14 numaralarıyla kodlanan kakao yağı ikamelerinin de DSC de belirlenen erime özellikleri açısından dik bir erime profiline sahip olduğu ve kakao yağına benzer bir erime profili gösterdiği görülmüştür.

Gaz kromatografisiyle belirlenen kakao yağı ve kakao yağı ikamelerinin yağ asidi bileşimleri dikkate alındığında ise triaçilgliserol ve erime profili açısından kakao yağına benzeyen ürünlerde 5 ve 7 numarayla kodlananlar dışındaki ürünlerin stearik asit miktarının yüksek olduğu görülmüş, üretilen kakao yağı ikamelerinde daha etkili saflaştırma yöntemlerinin kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Özetle bu çalışmada fındık yağı, palm stearin ve stearik asit kullanılarak enzimatik yollarla kakao yağı ikamesi üretilmiş ve fındık yağı kakao yağı ikamesi üretiminde kullanılabilirliği açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen yağlara HPLC ile triaçilgliserol analizi, DSC ile erime profili analizi ve GC ile yağ asidi analizi uygulanmış, bu analizler sonucundaki veriler dikkate alınarak fındık yağı kullanılarak triaçilgliserol bileşimi ve erime özellikleri açısından kakao yağına oldukça benzeyen ürünler elde edilmiştir. Bununla birlikte, daha etkili saflaştırma yöntemlerinin geliştirilmesi için çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca çalışma daha büyük ölçekte tekrar edilerek, elde edilen kakao yağı ikamesinin çikolata ve şekerlemeler gibi farklı ürünler içerisinde ingredient olarak kullanılabilirliğine ve son üründeki etkilerine ilişkin çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

Abigor, R.D., Marmer, W.N., Foglia, T.A., Jones, K.C., Diciccio, R.J., Ashby, R. and Uadia, P.O., 2003. Production of cocoa butter-like fats by the lipase-catalyzed interesterification of palm oil and hydrogenated soybean oil, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **80,** 12, 1193-1196.

Anon., 2005. http://www.icco.org/facts.htm

AOAC, 2003. Fatty Acids in Oils and Fats, Preparation of Methyl Esters Boron Trifluoride Method: Method 969.33, Ch. 40, in *Official Methods of Analysis,* 17 th ed. AOAC International, USA.

AOCS, 1992. Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC: Method Ce 5b-89, in *Official Methods and Recommended Practises of the American Oil Chemists' Society,* American Oil Chemists' Society, Champaign, USA.

Alaşalvar, C., Shahidi, F., Ohshima, T., Wanasundara, U., Yurtdaş, H.C., Liyanapathirana, C.M. and Rodrigues F.B., 2003. Turkish Tombul Hazelnut (*Corylus avellana* L.). 2.Lipid Characteristics and Oxidative Stability, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **51**, 3797-3805.

Apgar, J.L. and Stanley, M.T.Jr., 1998. Methylxanthine Composition and Consumption Patterns of Cocoa and Chocolate Products, in *Caffeine*, Eds. Spiller, G.A., CRC Press.

Arishima, T., Sagi, N., Mori, H., Sato, K., 1991. Polymorphism of POS. I. Occurance and polymorphic transformation. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **68**, 10, 710-715.

Arishima, T., Sugimoto, K., Kiwata, R., Mori, H. and Sato, K., 1996. ^{13}C Cross-Polarization and Magic-Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance of Polymorphic Forms of Three Triacylglycerols. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **73**, 10, 1231-1236.

Beckett, S.T., 1999. Traditional Chocolate Making, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use,* third edition, pp. 1-7, Eds. Beckett, S.T., Blackwell Science, Oxford.

Bernarski, W. and Adamczak, M., 2003. Modified Lipids and Fat Mimetics, in *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, Eds. Sikorski, Z.E. and Kołakowska, A., CRC Press.

Bolliger, S., Zeng, Y. and Windhab, E.J., 1999. In-line Measurement of Tempered Cocoa Butter and Chocolate by Means of Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **76,** 6, 659-667.

Bricknell, J. and Hartel, R.W., 1998. Relation of Fat Bloom in Chocolate to Polymorphic Transition of Cocoa Butter. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **75,** 11, 1609-1615.

Cebula, D.J. and Smith, K.W., 1991. Differential Scanning Calorimetry of Confectionery Fats. Pure Triglycerides : Effects of Cooling and Heating Rate Variation. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **68,** 8, 591-595.

Cebula, D.J. and Smith, K.W., 1992. Differential Scanning Calorimetry of Confectionery Fats: Part II-Effects of Blends and Minor Components. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **69,** 10, 992-998.

Chaiseri, S. and Dimick, P.S., 1989. Lipid and Hardness Characteristics of Cocoa Butters from Different Geographic Regions. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **66,** 11, 1771-1776.

Chaiseri, S. and Dimick, P.S., 1995b. Dynamic Crystallization of Cocoa Butter. II. Morphological, Thermal, and Chemical Characteristics During Crystal Growth. *Journal of American Oil Chemists' Society*, **72,** 12, 1497-1504.

Chang, M.K., Abraham, G. and John, V.T., 1990. Production of Cocoa Butter-Like Fat from Interesterification of Vegetables Oils, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **67**, 11, 832-834.

Che Man, Y.B., Haryati, T., Ghazali, H.M. and Asbi, B.A., 1999. Composition and Thermal Profile of Crude Palm Oil and Its Products, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **76**, 2, 237-242.

Chong, C.N., Hoh, Y.M. and Wang C.W., 1992. Fractionation Procedures for Obtaining Cocoa Butter-like Fat from Enzymatically Interesterified Palm Olein, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **69,** 2, 137-140.

Crews, C., Hough, P., Godward, J., Brereton, P., Lees, M., Guiet, S. and Winkelmann, W., 2005. Study of the Main Constituents of Some Authentic Hazelnut Oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **53**, 4843-4852.

Foubert, I., Vanrolleghem, P.A., Thas, O. and Dewettinck, K., 2004. Influence of Chemical Composition on the Isothermal Cocoa Butter Crystallization, *Journal of Food Science,* **69**, 9, 478-487.

Fowler, M. S., 1999. Cocoa Beans: From Tree to Factory, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use,* third edition*,* pp. 8-35, Eds. Beckett, S.T., Blackwell Science, Oxford.

Gunstone, F. D., 1999. Composition and Properties of Edible Oils, in *Edible Oil Processing,* pp. 1-33*,* Eds. Hamm, W. and Hamilton, R. J., Sheffield Academic Pres, UK.

Gunstone, F. D., 2004. Extraction, Refining and Processing, in *The Chemistry of Oils and Fats, Sources, Composition, Properties and Uses*, pp. 36-49, Blackwell Publishing, UK.

Hachiya, I., Koyano, T. and Sato, K., 1989a. Seeding Effects on Solidification Behavior of Cocoa Butter and Dark Chocolate. I. Kinetics of

Solidification. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **66,** 1757-1762.

Hachiya, I., Koyano, T. and Sato, K., 1989b. Seeding Effects on Solidification Behavior of Cocoa Butter and Dark Chocolate. II. Physical Properties of Dark Chocolate. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **66,** 1763-1770.

Hammond, E. W., 1999. Quality Control, in *Edible Oil Processing,* pp. 174-189*,* Eds. Hamm, W. and Hamilton, R. J., Sheffield Academic Press, UK.

Hancock, B. L. and revised by Fowler, M. S., 1994. Cocoa Bean Production and Transport, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, second edition, pp. 8-24, Eds. Beckett, S. T., Blackie Academic & Professional, Glasgow.

Hartel, R. W., 2001. Structure in Solid State, in *Crystallization in Foods*, pp. 10-33, An Aspen Publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.

Jeyarani, T. and Reddy S.Y., 1999. Heat-resistant cocoa butter extenders from mahua (*Madhuca latifolia*) and kokum (*Garcinia indica*) fats, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **76,** 12, 1431-1436.

Kellens, M., 1999. Oil Modification Processes, in *Edible Oil Processing,* pp. 129-173, Eds. Hamm, W., and Hamilton, R.J., Sheffield Academic Press, UK.

Khumalo, L. W., Majoko, L., Read, J. S. and Ncube, I., 2002. Characterization of Some Underutilised Vegetable Oils and Their evaluation as Starting materials for Lipase-Catalised production of Cocoa Butter Equivalents. *Industrial Crops and Products,* **16**, 237-244.

Lawler, P.J. and Dimick, P.S., 2002. Crystallization and Polymorphism of Fats, in *Food Lipids:Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* pp. 275-300, Eds. Akoh, C.C. and Min, D.B., Marcel Dekker Inc., New York.

Lipp, M. and Anklam, E., 1998. Review of Cocoa Butter and Alternative Fats for Use in Chocolate-Part A. Compositional Data. *Food Chemistry,* **62**, 1, 73-97.

Lipp, M., Simoneau, C., Ulberth, F., Anklam, E., Crews, C., Brereton, P., Greyt, W. de, Schwack, W. and Wiedmaier, C., 2001. Composition of Genuine Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents. *Journal of Food Composition and Analysis,* **14**, 399-408.

Liu, K.J., Cheng, H.M., Chang, R.C. and Shaw, J.F., 1997. Synthesis of Cocoa Butter Equivalent by Lipase-Catalyzed Interesterification in Supercritical Carbon Dioxide, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **74,** 11, 1477-1482.

Liu, K.J., Chang, H.M., and Liu, K.M., 2007. Enzymatic Synthesis of Cocoa Butter Analog through Interesterification of Lard and Tristearin in Supercritical Carbon Dioxide by Lipase, *Food Chemistry,* **100,** 1303-1311.

McNeill, G.P., 1998. Enzymic Processes, in *Lipid Synthesis and Manufacture,* Eds. Gunstone, F.D., Sheffield Academic Press.

Minifie, B. W., 1989. History and Development, in *Chocolate, Cocoa and Confectionery: Science and Technology*, third edition, pp. 3-33, Van Nostrand Reinhold, New York.

O'Brien R.D., 2004. Fats and Oils Processing, in *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications, second edition,* CRC Press.

Osborn, H.T. and Akoh C.C., 2002. Enzymatically Modified Beef Tallow as A Substitute for Cocoa Butter, *Journal of Food Science,* **67,** 7, 2480-2485.

Padley, F.B., 1997. Chocolate and Confectionery Fats, in *Lipid Technologies and Applications,* pp. 391-432, Eds. Gunstone, F.D. and Padley, F.B., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Pritchard, J. L. R., 1991. Analysis and Properties of Oilseeds, in *Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods,* Eds. Rossell, J. B. and Pritchard, J. L. R., Elsevier Applied Science, London and New York.

Reddy, S.Y. and Prabhakar, J.V., 1994. Cococa Butter Extenders from Kokum (*Garcinia indica*) and Phulwara (*Madhuca butyracea*) Butter, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **71,** 2, 217-219.

Rousseau, D. and Marangoni, A.G., 2002. Chemical Interesterification of Food Lipids: Theory and Practice, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* second edition, pp. 301-333, Eds. Akoh, C.C. and Min, D.B., Marcel Dekker Inc., New York.

Rozendaal, A., 1990. Interesterification of Oils and Fats, in *Edible Fats and Oil Processing: Basic Principles and Modern Practices,* pp. 152-157, Eds. Erickson, D.R., American Oil Chemists' Society, Illinois.

Rozendaal, A. and Macrae, A.R., 1997. Interesterification of Oils and Fats, in *Lipid Technologies and Applications,* pp. 223-263*,* Eds. Gunstone, F.D. and Padley, F.B., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Sato, K. and Koyano, T., 2001. Crystallization Properties of Cocoa Butter, in *Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems,* pp. 429-456, Eds. Garti, N. and Sato, K., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Sato, K., Arishima, T., Wang, Z.H., Ojima, K., Sagi, N., Mori, H., 1989. Polymorphism of POP and SOS. I. Occurance and polymorphic transformation. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **66,** 5, 664-674.

Schenk, H. and Peschar, R., 2004. Understanding the Structure of Chocolate. *Radiation Physics and Chemistry* **71**, 829-835.

Shukla, V.K.S., 1990. Confectionery Fats, in *Edible Fats and Oil Processing: Basic Principles and Modern Practices,* pp. 228-232, Eds. Erickson, D.R., American Oil Chemists' Society, Illinois.

Smith, K.W., 2001. Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalents, in *Structured and Modified Lipids,* pp.401-422, Eds. Gunstone, F.D., Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Sridhar, R., Lakshminarayana, G. and Kaimal, T.N.B., 1991. Modification of Selected Indian Vegetable Fats into Cocoa Butter Substitutes by

Lipase-Catalyzed Ester Interchange, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **68**, 10, 726-730.

Stapley, A.G.F, Tewkesbury, H. and Fryer, P.J., 1999. The Effects of Shear and Temperature History on the Crystallization of Chocolate, *Journal of American Oil Chemists' Society,* **76**, 6, 677-685.

Talbot, G., 1999. Vegetable fats, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use,* Third edition, pp. 307-322, Eds. Beckett, S.T., Blackwell Science.

Talbot, G., 1994. Chocolate Temper, in *Industrial Chocolate Manufacture and Use,* second edition, pp. 156-166, Eds. Beckett, S.T., Blackie Academic&Professional.

Undurraga, D., Markovitz, A. and Erazo, S., 2001. Cocoa Butter Equivalent Through Enzymic Interesterification of Palm Oil Midfraction, *Process Biochemistry,* **36**, 933-939.

Van Malssen, K., Peschar, R., Schenk, H., 1996. Real-Time X-Ray Powder Diffraction Investigations on Cocoa Butter. II. The Relationship Between Melting Behavior and Composition of β-Cocoa Butter. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **73,** 10, 1217-1223.

Van Malssen, K., Van Langevelde, A., Peschar, R., and Schenk, H., 1999. Phase Behavior and Extended Phase Scheme of Statik Cocoa Butter Investigated with Real-Time X-Ray Powder Diffraction. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **76,** 6, 669-676.

Vazquez, J. F. T., Martínez, D. P., Alvarado, E. D., Alonso, M. C., and Hernández, J. R., 2004. Rheometry and Polymorphism of Cocoa Butter During Crystallization Under Static and Stirring Conditions. *Journal of American Oil Chemists' Society,* **81,** 2, 195-202.

Willis, W.M. and Marangoni, A.G., 2002. Enzymatic Interesterification, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* second edition, pp. 839-875. Marcel Dekker Inc., New York.

Xu, X., 2000. Modification of Oils and Fats by Lipase-catalyzed Interesterification: Aspects of Process Engineering, in *Enzymes in Lipid Modification,* Edt. Uwe, T.B., Wiley-VCH, Germany.

EK A. İSTATİSTİK HESAPLAMA TABLOLARI

Tablo A.1: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin OOO Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	76.0547	5.4325	10.58	0.000
Hata	15	7.7000	0.5133		
Toplam	29	83.7547			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.2: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin OOO Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	2.5500	0.7165	3.559	0.1056
2	3.3500	0.7165	4.676	0.0149
3	2.8500	0.7165	3.978	0.0515
4	4.5500	0.7165	6.351	0.0008
5	-0.0500	0.7165	-0.070	1.0000
6	1.7500	0.7165	2.443	0.5220
7	1.2000	0.7165	1.675	0.9120
8	-0.7500	0.7165	-1.047	0.9980
9	0.4500	0.7165	0.628	1.0000
10	1.4000	0.7165	1.954	0.7960
11	0.4000	0.7165	0.558	1.0000
12	-0.6500	0.7165	-0.907	0.9995
13	-0.6500	0.7165	-0.907	0.9995
14	-0.4500	0.7165	-0.628	1.0000

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 2 ile kodlanan ürün dışındakiler OOO triaçilgliserolü açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

Tablo A.3: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POO Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	1531.44	109.39	33.48	0.000
Hata	15	49.01	3.27		
Toplam	29	1580.45			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.4: Üretilen Kakao Yağı Ikamelerinin POO Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	16.700	1.808	9.2389	0.0001
2	16.950	1.808	9.3772	0.0001
3	18.200	1.808	10.0687	0.0000
4	23.000	1.808	12.7242	0.0000
5	5.850	1.808	3.2364	0.1780
6	10.050	1.808	5.5599	0.0031
7	8.250	1.808	4.5641	0.0182
8	3.250	1.808	1.7980	0.8670
9	6.750	1.808	3.7343	0.0785
10	9.500	1.808	5.2557	0.0053
11	9.550	1.808	5.2833	0.0051
12	-1.200	1.808	-0.6639	1.0000
13	1.950	1.808	1.0788	0.9973
14	0.050	1.808	0.0277	1.0000

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 5,7,8,9,12,13 ve 14 ile kodlanan ürünler POO triaçilgliserolü açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

Tablo A.5: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POP Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	590.649	42.189	8.38	0.000
Hata	15	75.530	5.035		
Toplam	29	666.179			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.6: Üretilen Kakao Yağı Ikamelerinin POP Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	11.050	2.244	4.924	0.0096
2	7.400	2.244	3.298	0.1616
3	13.150	2.244	5.860	0.0019
4	10.400	2.244	4.635	0.0161
5	2.550	2.244	1.136	0.9956
6	4.700	2.244	2.095	0.7218
7	5.800	2.244	2.585	0.4436
8	0.250	2.244	0.111	1.0000
9	2.750	2.244	1.226	0.9914
10	5.200	2.244	2.317	0.5940
11	7.350	2.244	3.275	0.1674
12	-3.250	2.244	-1.448	0.9671
13	1.250	2.244	0.557	1.0000
14	1.550	2.244	0.691	1.0000

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 1 ve 3 ile kodlanan ürünlerin dışındakiler POP triaçilgliserolü açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

Tablo A.7: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin POS Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	1783.41	127.39	34.88	0.000
Hata	15	54.79	3.65		
Toplam	29	1838.19			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.8: Üretilen Kakao Yağı Ikamelerinin POS Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	-14.10	1.911	-7.38	0.0002
2	-14.45	1.911	-7.56	0.0002
3	-16.55	1.911	-8.66	0.0001
4	-20.10	1.911	-10.52	0.0000
5	-2.80	1.911	-1.47	0.9642
6	-7.90	1.911	-4.13	0.0392
7	-6.60	1.911	-3.45	0.1257
8	2.00	1.911	1.05	0.9980
9	-1.80	1.911	-0.94	0.9993
10	-7.00	1.911	-3.66	0.0887
11	-6.10	1.911	-3.19	0.1908
12	6.85	1.911	3.58	0.1012
13	0.65	1.911	0.34	1.0000
14	4.25	1.911	2.22	0.6483

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 1,2,3 ve 4 ile kodlanan ürünlerin dışındakiler POS triaçilgliserolü açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

Tablo A.9: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin SOS Triaçilgliserolü için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	869.307	62.093	12.32	0.000
Hata	15	75.615	5.041		
Toplam	29	944.922			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.10: Üretilen Kakao Yağı Ikamelerinin SOS Triaçilgliserolü Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	-16.00	2.245	-7.126	0.0003
2	-13.05	2.245	-5.812	0.0020
3	-17.45	2.245	-7.772	0.0001
4	-17.65	2.245	-7.861	0.0001
5	-5.35	2.245	-2.383	0.5561
6	-8.40	2.245	-3.741	0.0776
7	-8.45	2.245	-3.764	0.0747
8	-4.55	2.245	-2.027	0.7587
9	-7.95	2.245	-3.541	0.1088
10	-8.90	2.245	-3.964	0.0528
11	-11.00	2.245	-4.899	0.0100
12	-1.55	2.245	-0.690	1.0000
13	-3.00	2.245	-1.336	0.9823
14	-5.20	2.245	-2.316	0.5948

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 1,2,3 ve 4 ile kodlanan ürünlerin dışındakiler SOS triaçilgliserolü açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

Tablo A.11: Üretilen Kakao Yağı İkamelerinin DSC ile Tesbit Edilen Erime Sıcaklığı için Tek Yollu Varyans Analizi Tablosu

VK	S.D.	KT	KO	F	P
Kakao yağı ikamesi	14	192.202	13.729	82.89	0.000
Hata	15	2.484	0.166		
Toplam	29	194.686			

VK: Varyasyon kaynağı, SD: serbestlik derecesi, KT: kareler toplamı, KO: kareler ortalaması

Tablo A.12: Üretilen Kakao Yağı Ikamelerinin Erime Sıcaklığı Açısından Kakao Yağından Farklılığının Tukey Testiyle Değerlendirilmesi

Kakao yağı ikamelerinin kodları	Ortalamaların farkı	Farkların standart hatası	T-değeri	Düzeltilmiş P-değeri
1	-6.795	0.4070	-16.70	0.0000
2	-7.610	0.4070	-18.70	0.0000
3	-6.615	0.4070	-16.25	0.0000
4	-9.400	0.4070	-23.10	0.0000
5	-4.260	0.4070	-10.47	0.0000
6	-6.510	0.4070	-16.00	0.0000
7	-5.220	0.4070	-12.83	0.0000
8	-1.820	0.4070	-4.47	0.0215
9	-4.955	0.4070	-12.18	0.0000
10	-3.780	0.4070	-9.29	0.0001
11	-5.630	0.4070	-13.83	0.0000
12	-0.640	0.4070	-1.57	0.9412
13	-3.735	0.4070	-9.18	0.0001
14	-2.645	0.4070	-6.50	0.0007

Üretilen kakao yağı ikamelerinden 8 ve 12 ile kodlanan ürünler erime sıcaklığı açısından 0.01 önem düzeyinde kakao yağından farksızdır.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kütahya'da doğdu. 1999-2003 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programına başladı.