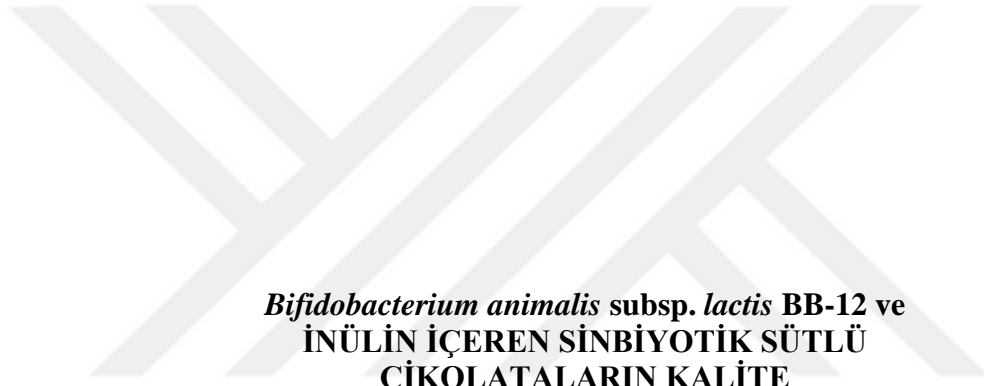




T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN NİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve  
İNÜLİN İÇEREN SİNBIYOTİK SÜTLÜ  
ÇİKOLATALARIN KALİTE  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe AKGÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Ağustos-2018  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL VE ONAYI

Ayşe AKGÜL tarafından hazırlanan “*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve inülin içeren sinbiyotik sütlü çikolataların kalite özelliklerinin belirlenmesi” adlı tez çalışması 27/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

#### Başkan

Prof. Dr. Nihat AKIN



#### Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT

#### Üye

Doç. Dr. Mustafa Kürşat DEMİR

### İmza

  
.....  
  
.....  
  
.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet AVCI  
FBE Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Ayşe AKGÜL

Tarih: 31.08.2018

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### ***Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve İNÜLİN İÇEREN SINBIYOTİK SÜTLÜ ÇİKOLATALARIN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ayşe AKGÜL

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT

2018, 64 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Nihat AKIN

Doç. Dr. M. Kürşat DEMİR

Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT

Bu çalışmada probiyotik bileşen *Bifidobacterium* ve prebiyotik bileşen inülin ile zenginleştirilmiş sütlü çikolataların raf ömrü boyunca bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin ve probiyotik canlılığın yalnız ve sinbiyotik koşullarda incelenmesi amaçlanmıştır. Probiyotik bileşen temperleme öncesi ve sonrası matrikse ilave edilmiştir. Yeni formüle edilen çikolata çeşitleri 18 °C’de 60 gün süre ile depolanmıştır.

Partikül irilik ve dağılımı ölçümüne göre çikolataların span değeri temper sonrası grupta inülinle birlikte artış göstermiştir. İnülin ve *Bifidobacterium* ilavesi çikolataların parlaklığını düşürmüş, a ve b değerleri üzerinde etkisi önemsiz bulunmuştur. Çikolatalarda trans yağ asidi belirlenmemiştir. Örneklerin doymuş yağ asidi içeriği sinbiyotik gruplarda inülin ilavesine bağılı olarak azalmıştır. Çikolatalarda baskın yağ asitleri doymuş grupta palmitik asit, tekli doymuş grupta oleik asit, çoklu doymuş grupta linoleik asit olarak belirlenmiştir. Penetrasyon değeri depolama başlangıcında 91.25-133.83 N.sec, depolamanın 60.gününde 95.31-143.84 N.sec aralığında belirlenmiştir. En yüksek viskozite indeksi % 10 inülin içeren sinbiyotik grupta, en düşük probiyotik örneklerde tespit edilmiştir.

Sütlü çikolataya eklenen probiyotik bileşen *Bifidobacterium*’un yalnız olarak ve farklı oranlardaki prebiyotik bileşen inülin ile desteklendiği sinbiyotik koşulda çikolataların fonksiyonel özelliklerini arttırdığı ve depolama süresince tüketici tarafından beğenildiği tespit edilmiştir. Probiyotik ve sinbiyotik grupların *Bifidobacterium* içeriklerine bakılarak inülin ilaveli sütlü çikolataların iyi bir taşıyıcı matrik olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Çikolata, sinbiyotik gıda, *Bifidobacterium*

## ABSTRACT

### MS THESIS

# DETERMINATION of QUALITY CHARACTERISTICS of SYNBIOTIC MILK CHOCOLATES CONTAINING *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and INULIN

Ayşe AKGÜL

THE GRADUATE SCHOOL of NATURAL and APPLIED SCIENCE of  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
THE DEGREE of MASTER of SCIENCE  
IN FOOD ENGINEERING

Advisor: Assist. Prof. Durmuş SERT

2018, 64 Pages

Jury

Prof. Dr. Nihat AKIN

Assoc. Prof. M. Kürşat DEMİR

Assist. Prof. Durmuş SERT

In this study, it is aimed to investigate some physical, chemical and sensory properties of probiotic component *Bifidobacterium* and dairy chocolates enriched with prebiotic component inulin during shelf life and probiotic vitality alone and in synbiotic conditions. The probiotic component was added to the matrix before and after tempering. The newly formulated chocolate varieties were stored at 18 °C for 60 days.

According to the particle size and distribution measurement, the span value of the chocolates increased with the inulin after the tempering group. The addition of inulin and *Bifidobacterium* reduced the brightness of the chocolates and the effect on the values of a and b was not significant. Trans-fatty acids have not been identified in chocolates. The saturated fatty acid content of the samples decreased with the addition of inulin to the synbiotic groups. In chocolates, dominant fatty acids were palmitic acid in saturated group, oleic acid in mono-saturated group, linoleic acid in poly-saturated group. At the beginning of the penetration value storage, 91.25-133.83 N.sec was determined at 60. day of storage at 95.31-143.84 N.sec. The highest viscosity index was detected in the lowest probiotic samples in the synbiotic group containing 10% inulin.

It has been found that the synbiotic condition in which the probiotic component *Bifidobacterium* added to the milk chocolate is supplemented with the prebiotic component inulin at different ratios alone increases the functional properties of the chocolates and is appreciated by the consumer during storage. *Bifidobacterium* contents of probiotic and synbiotic groups have been found to be a good carrier matrix for inulin-supplemented milky chocolates.

**Keywords:** Chocolate, symbiotic food, *Bifidobacterium*

## ÖNSÖZ

Lisans eğitimimden itibaren her zaman desteğini hissettiğim, yetişmemde ve mesleki hayatımı yönlendirmemde emeği olan ayrıca yüksek lisans eğitimimde danışmanlığımı yaparak bana yol gösteren, çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını gördüğüm ve manevi desteğini hissettiğim sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT'e,

Çalışmamın materyalini oluşturan çikolata üretimini gerçekleştirmemde, depolamamı sağlamamda ve zenginleştirme materyallerinin Ar-Ge Merkezi kapsamında temini konusunda desteklerini gördüğüm Konya Şeker Gıda Sanayi A.Ş.'ye ve bütün ekip arkadaşlarıma,

Hayatımın her döneminde vermiş oldukları sevgi ve destek için annem Hacer TESTİCİ, babam Hüseyin TESTİCİ ve kardeşlerime,

Çalışmalarım boyunca göstermiş olduğu sabır ve desteklerinden dolayı eşim Bekir AKGÜL'e

İçtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe AKGÜL  
KONYA-2018

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>v</b>
<b>ÖNSÖZ .....</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER .....</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>5</b>
2.1. Çikolata.....	5
2.1.1. Kakao tarihçesi ve işlenmesi.....	5
2.1.2. Çikolata hammaddeleri .....	9
2.1.3. Çikolata üretim aşamaları .....	14
2.2. Fonksiyonel Gıdalar.....	20
2.3. Prebiyotikler ve Probiyotikler.....	21
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>31</b>
3.1. Materyal .....	31
3.1.1. Çikolata hamurlarının üretimi.....	31
3.1.2. Temperleme ve kalıplama.....	35
3.2. Yöntem.....	36
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>42</b>
4.1. Çikolataların Fizikokimyasal Özellikleri.....	42
4.2. Çikolataların Yağ Asidi Kompozisyonundaki Değişim .....	45
4.3. Çikolataların Tekstürel Özelliklerindeki Değişim.....	50
4.4. Çikolataların Bifidobacterium sayısında ve Genel Beğeni Puanlarındaki Değişim.....	52
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>54</b>
5.1. Sonuçlar .....	54
5.2. Öneriler .....	55
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>56</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

° : derece

$\alpha$  : alfa

$\mu$  : mikron

$\omega$  : omega

### Kısaltmalar

dk : dakika

g : gram

FOS : fruktooligosakkarit

Pa: Pascal

s: saniye

sec: saniye

N: Newton

kob: koloni birim

## 1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar, insan vücudunun temel besin meddelerini ihtiva etmenin yanında metabolik ve fizyolojik fonksiyonlar üzerine de olumlu etkileri olup, hastalıklardan korunmada da faydası olan gıdalardır (Erdal ve ark., 2016).

Basit şeker tüketiminin zararlarının gündeme gelmesinden sonra daha düşük kalorili ve de sağlıklı gıdalara talep artmıştır. Bu amaçla fruktooligosakkarit (FOS)'lerden faydalanmak için pek çok çalışma yapılmıştır. FOS'lar kalorileri düşük tatlandırıcılar olmalarının yanında lif kaynağı olduğu için prebiyotik özellik de taşımaktadırlar. FOS'ların sindirim sistemi enzimlerine karşı dayanıklı olduğu ve Bifidobakterlerin enerji kaynağı olarak kullandığı ifade edilmektedir (Yun, 1996). Mide-bağırsak problemlerine de mukozal ve epitel dokuları güçlendirerek koruyucu olarak görev yapmaktadırlar (Macfarlane ve Macfarlane, 2011).

Fonksiyonel gıdalar doğal bir gıda olabileceği gibi bir takım çalışma ve yöntemlerle fonksiyonel bir besin ögesi ile zenginleştirilmiş de olabilirler. Birçok besin maddesinin sağlığımız üzerinde faydaları olmakla beraber pek çok hastalığı da önlemede etkilidirler. Fonksiyonel besinlerin düzenli kullanımının kronik hastalıklarda korunmada ve hastalıkları tedavi etmede katkıları olduğu ifade edilmektedir (Coşkun, 2005).

Besinlerde bulunan fonksiyonel bileşenler; omega-3 yağ asitleri, sindirime dirençli nişasta gibi esansiyel makrobesleyiciler olabilirler, oligosakkaritler ve fitokimyasallar gibi fizyolojik faydaları olan nonesansiyel bileşenler de olabilir (Kwak ve Jukes, 2001).

Gıdaların fonksiyonel hale getirilebilmesi için  $\omega$ -3 (Omega 3) çoklu doymamış yağ asitleri, biyoaktif peptitler, probiyotikler, prebiyotikler ilave edilebilirler (Berner ve O'Donnel, 1998).

Probiyotikler genelde süt ürünlerinde kullanılsa da son zamanlarda geliştirilen farklı ürünlerde de kullanılabilir hatta tablet veya kapsül olarak direkt de satışa sunulmaktadır (Vaughan ve Mollet, 1999).

Probiyotikler, laktobasiller, bifidobakteriler ve entrekoklar gibi bağırsak sisteminin florasını koruyan bu sayede sağlığa faydası olan mikroorganizmalardır (Anonymous, 2005; Anonymous, 2006). Probiyotik bakteriler safra tuzlarına ve sindirim sisteminin yüksek asitli ortamlarına karşı dirençli oldukları için bağırsak florasına kadar ulaşabilmektedirler (Anonymous, 2006). *Lactobacillus acidophilus* ve

bifidobakterler asidik ortamlara, enzimlerin antimikrobiyal etkisine, düşük yüzey gerilimine diğer probiyotik özellik gösteren bakterilere karşı daha dirençli olduğu için fermente süt ürünlerinde tercih edilirler (Anonymous, 2005). Bağırsak florasında bulunan probiyotik canlılar patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu ve üremelerini engellediği için bağışıklık sistemini güçlendirirler, bağırsak rahatsızlıklarını engellerler, antikolestremik, antigenotoksik, antimikrobiyal ve antimutajenik etki gösterirler. Laktoz intoleransı rahatsızlığının giderilmesinde de probiyotiklerin etkileri olduğu ifade edilmektedir. Son zamanlarda yapılmış çalışmalar probiyotik bakterilerin çocuklarda alerjik durumların ortaya çıkmasını engellediğini göstermiştir (Anonymous, 2006). Ayrıca; kan serum kolesterol seviyesini azaltıcı etki yaptıkları, kardiyovasküler hastalıkları önlediği, iyi huylu kolesterol (HDL) düzeyini arttırdıkları belirtilmektedir (Çakır ve ark., 2002). Probiyotik gıdalar düzenli tüketildiği takdirde bütün bu olumlu etkileri gösterirler çünkü tüketimin kesilmesiyle birlikte bağırsak florası eski halini almaktadır (Anonymous, 2002).

Probiyotik canlıların etkinliğinin artırılması için bunlara yaşam ortamı hazırlayan prebiyotiklerin kullanımı da yaygınlaşmıştır. Prebiyotikler sindirilmedikleri için bifidobakterilerin kolonda gelişimine destek sağlarlar. Bunlardan yaygın olarak kullanılanları laktuloz, laktitol, farklı oligosakkaritler ve inüldür. Prebiyotikler bağırsak sistemi enfeksiyonlarının önlenmesi, serum trigliserit ve kolesterol niceliğinin düşürülmesi, kolon kanserinin önlenmesinde ve mineral emiliminin desteklenmesinde rol oynamaktadırlar (Anonymous, 2005; Anonymous, 2006).

Oligosakkarit olarak bilinen kompleks karbonhidratların ortamda bulunması probiyotik mikroorganizmaların gelişimine destek verir. Oligosakkaritler (kısa zincirli karbonhidratlar), sindirilmeyen, kalın bağırsakta patojen bakterilerin gelişimini baskılayan bu sayede probiyotiklerin gelişimini destekleyen gıdalardır (Gibson ve Roberfroid, 1995; Chandan, 1997; Roberfroid, 2000; Shah, 2001; Holzapfel ve Schillinger, 2002).

Ticari olarak üretilen fruktooligosakkaritleri kapsayan bazı bifidojenik karbonhidratlar (bifidojenik faktörler); laktuloz, laktitol, galaktooligosakkaritler ve soya oligosakkaritleridir (O'Sullivan, 1996; German ve ark., 1999). Dirençli nişasta ve nişasta olmayan oligosakkaritler barsak gıdaları olarak adlandırılmalarına rağmen prebiyotik özellik göstermezler çünkü bunlar probiyotik canlılar tarafından fermente edilemezler (O'Sullivan, 1996).

Fonksiyonel bileşen olarak prebiyotikler; doğal inülin, enzimatik olarak hidrolize edilmiş inülin ve oligofruktozları kapsayan inülin tipi fruktanlar ve sentetik fruktooligosakkaritler olmak üzere sınıflandırılmıştır (Roberfroid, 2000).

İnülin bir polidispers karbonhidrattır, diğer bir deyişle de bitkilerin depo karbonhidratı formunda olup fruktoz polimerlerinin karışımıdır (Ninesse, 1999). Ticari ismi ‘‘inülin’’, hindiba (güneyik) bitkisinden elde edilir (Roberfroid, 2000).

Prebiyotikler vücutta şu şekilde fonksiyonel faydalar sağlarlar (Holzapfel ve ark., 1998):

1. Sindirilmeyenler ve enerji değerleri düşüktür (<9 kJ/g).
2. Dışkı hacmini artırır.
3. Probiyotik mikroorganizmaların stimülasyonunu sağlar.
4. Patojen bakterileri inhibe ederler.

Fonksiyonel ürün elde etmek maksadıyla probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte kullanıldığı ürünlere simbiyotik denir. Probiyotik bakteri, ortamdaki prebiyotiği kullandığı takdirde ‘‘sinbiyotik’’ etkisi gösterir. Böyle bir ürün tüketildiği zaman hem prebiyotiklerin hem probiyotiklerin fonksiyonel etkilerinden faydalanılır (Holzapfel ve Schillinger, 2002).

Araştırmalardan yola çıkarak probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri Çizelge 1.1’de verilmiştir (Roberfroid, 2000).

**Çizelge 1.1.** Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri

Fonksiyonel ve hastalık riskini azaltıcı etki	Probiyotikler	Prebiyotikler
Laktozun sindirimi	Etkili	Bilinmiyor
Bağışıklık sisteminin geliştirilmesi	Etkili	Bilinmiyor
Antimutajenik etki	Etkili	Bilinmiyor
Kolesterolün düşürülmesi	Etkili	Etkili
Barsak florasına olumlu etki	Etkili	Etkili
Kalsiyum emilimi	Bilinmiyor	Etkili
İshalin giderilmesi	Etkili	Bilinmiyor
Kabızlığın giderilmesi	Bilinmiyor	Etkili
Barsak kanserinin önlenmesi	Etkili	Etkili

Hastanede yatmakta olan rotavirüs kaynaklı ishal geçiren çocuklara laktik asit verilmiş sonuçta ishal süre ve şiddetinin düştüğü görülmüştür. 1966-2000 arasındaki yılları kapsayan bir meta-analizde probiyotik verilen grupta plasebo grubuna göre ishal sıklığında 1.6 kez/gün azalma, süresinde 0.7 gün kısalma olduğu ortaya çıkmıştır (Van ve ark., 2002). Pek çok çalışmada da, probiyotik mikroorganizmaların antibiyotik kaynaklı ishal ve *C. difficile* ishallerinin önlenmesi ve tedavisinde etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Plummer ve ark., 2004; Wullt ve ark., 2003).

Prebiyotik ve probiyotiklerin fonksiyonel gıda katkısı olarak kullanımı, ülkemizde henüz yaygınlaşmamıştır. Oysa ki sağlık açısından pek çok faydası bulunan bu tür gıdalar halkımızın damak tadına uygun hale getirilerek pazara sunulmalıdır (Sağdıç ve ark., 2004).

Üretimi ve tüketimi artık Türkiye’de de yaygınlaşması çikolatanın fonksiyonel ürünler kategorisine nasıl dahil edileceği sorusunu akıllara getirmiştir. Ülkemizde ticari olarak üretimi 1970’li yıllarda kullanılmıştır. 1975-1980 yılları arasında döviz problemlerinin olması üretim kapasitelerini hızlandırmıştır. Bu yıllardan sonra üretimi artmış ve 1980’den sonra gümrüklerin de sıfırlanmasıyla çikolatalı mamuller sektöründe ciddi manada bir gelişme sağlanmıştır (Palacıoğlu, 2003).

Lezzet ve besin değerinin yanında sağlığa faydaları ile bilinen çikolataya fonksiyonel özellik kazandırılması sağlık açısından önem arz etmektedir. Tüketicinin tatlı ihtiyacını giderirken aynı zamanda sindirim sistemine fayda sağlayan bileşenleri de alabilmesi büyük bir avantajdır. Bu nedenle bu çalışmada, prebiyotik ve probiyotik canlıların çikolatanın kalite parametrelerine, raf ömrüne etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmadaki temel amaç, çikolatanın kalite parametrelerini etkilemeden, çikolata üretiminde probiyotik mikroorganizmaların gelişimini ve halk tarafından tüketimini daha zevkli bir gıda ile teşvik etmek, bu canlıların prebiyotiklerle desteklenmesiyle simbiyotik bir ürün elde etmek, aynı zamanda çikolatanın şeker oranını düşürerek fonksiyonel bir gıda elde ederken yüksek enerjili bir ürün sunmaktan da kaçınmaktır. Böylelikle tüketici zevkle yediği bir çikolatadan aynı miktardaki farklı bir çikolataya nazaran daha düşük enerji alırken aynı zamanda da probiyotik ve prebiyotiklerin de fonksiyonel faydalarından da yararlanmış olacaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Çikolata

Çikolata TS 7800 tanımına göre; kakao yağı, şeker ve çikolata tipine göre kakao kitlesi ve/veya toz kakao, süt ve /veya süt tozu ve çeşni maddeleri, ayrıca katı maddeleri yönetmeliğinde müsaade edilen katkı maddelerinin de ilavesi ile tekniğe uygun şekilde hazırlanıp kalıplanarak elde edilen bir mamuldür (Anonim, 2010).

Çikolata, oldukça geniş bir tüketici kitlesine sahiptir ayrıca 2006'da yapılan bir araştırma sonucuna göre dünyada üretilen kakaonun % 50'sinin Avrupa ülkeleri tarafından tüketildiği belirtilmiştir. İlk sırada Almanya olmak üzere sırasıyla Fransa, İngiltere ve İtalya, Avrupa'daki en çok çikolata tüketen ülkelerdir (Monotti, 2008).

#### 2.1.1. Kakao tarihçesi ve işlenmesi

Özel bir iklime ihtiyaç duyan kakaonun başarılı bir şekilde tarımı çoğunlukla Yengeç Dönencesi ve Oğlak Dönencesi' nde yapılmaktadır. Dünya hasadının büyük bölümü ekvatorun 10° kuzeyi ve güneyinde yapılmaktadır. Sıcaklıklar genellikle 18-30°C aralığında olmalıdır (ADM, 2013).

İstenen olgunluk ve şekilde orijinal kakao ağaçları  $\pm 10$  metre boyuna kadar gelişebilmektedir. Modern ıslah metodları, hasadının kolay yapılabilmesi için standart  $\pm 3$  metre boyunda ağaçların yetişmesini sağladı. Çoğu kakao ağacı 7 yılda üretken hale gelirken, bazıları 3-4 yılda gelebilir (ADM, 2013).

Kakao taneleri hasat edildikten sonra fermente edilir. Daha sonra temizlenir, kavrulur ve kakao nibi tohumdan ayrılır. Kakao tanesinin hasadı ile tat habercisi olan biyokimyasal mekanizmalar başlar, fermentasyonu ile aroma gelişimi olup, kavurma ile bu aroma gelişimi hızlanmaktadır. Kavurma sırasında birçok karmaşık esmerleşme reaksiyonları gerçekleşmektedir. Kakao çekirdeğine uygulanan bu işlemler, çikolatanın kendine has duyuusal özelliklerini oluşturmaktadır (Hoskin, 1994).

Fermentasyon için tanelerin olgunlaşmış olması önem taşır. Aksi halde istenilen aromaları hiçbir işlem üretemez (Biehl ve ark., 1985).

Fermentasyon sürecindeki sıcaklık ve asit kombinasyonu tanenin mikrobiyal yükünü düşürür. Hücrenin bütünlüğünün bozulması, alt katmanların karışmasına imkan verir ve enzimler kakao ve çikolata tadının prokürsörlerinin oluşmasına önderlik eder (ADM, 2013).

Fermentasyon sırasında kakao çekirdek özü karışımının periyodik olarak havalandırılması gerekir. Son ürünün bu sayede homojen olması sağlanır. Kurutma süreci iklimsel şartlara bağlı olarak açık havada veya ısı kullanımı ile yürütülür. Kakao çekirdeği fermentasyon ve kurutmadan sonra % 5-7'den fazla nem içermemelidir (Meiners ve ark., 1984).

Sabit kaliteye ulaşmak için tanelerin boyutu homojen olmalıdır. Öncelikle, taneler elenir ve yabancı maddelerden arındırılır (ADM, 2013). Böceklenmiş, kirli, kırılmış ve kabuğundan ayrılmamış taneler uygun bir şekilde temizlenir. Öncelikle, taneler elenir ve taş, tahta parçası, madeni para, tırnak ve toprak parçaları gibi yabancı bileşenler uzaklaştırılır. Güçlü mıknatıslar ilerleyen aşamalara gelmeden niblerden yabancı materyali uzaklaştırmak için kullanılır (Afoakwa, 2010). Daha sonra temiz taneler, kırılarak nibleri ve kabukları birbirinden ayrılır. Savurma boyunca optimum seperasyona ulaşmak için ürün, parçalama-ufalama basamağından sonra birkaç fraksiyona elenir. Bu fraksiyonlar sonra savurma kabinine gider ve kırılan kabuklar buharla uzaklaştırılır. Parçalama ve savurma basamakları, kakao tanesini asıl bileşenlerine ayırır, kabuğundan ayrılan kakao taneleri nib olarak adlandırılır. Güçlü mıknatıslar niblerden yabancı magnetik bileşenleri ayırır. Nibler daha ileriki prosesler için depolanır. Ayrılan kabuklar gübre üreticilere veya tarımsal malç-kuru ot- olarak satılır (ADM, 2013).

Kakao çekirdeğinin en önemli kısmı tanedir, kabuğu çok az değerli bir atık maddedir. Her çikolata üreticisi kabuğu taneden tamamen ayırmayı hedefler (Korkubilmez, 2005).

Fermentasyon sürecini takiben taneler kurutulur ve bu tat prokürsörlerinin gelişimi için faydalıdır. İyi kurutulmuş taneler kaliteli olmanın yanında kahverengi ve düşük seviyede burukluk, acılık sergilerler. Aşırı asitlik ve duman kokusu gibi bozuk tatların olmaması için düzgün bir kurutma gereklidir. Kurutma güneşte, normal havada, gölgede ve fırında yapılabilmektedir. Kakao tanelerinin tat ölçümlerinde güneşte kuruyan örneklerin daha iyi çikolata tadına ve daha az bozuk tatlara sahip olduğu görülmüştür (Selamat ve ark., 1991).

Modern teknoloji, kuruma için güneşe bağımlılığı değiştirip zararı olmayan yapay veya mekanik kuruma süreçlerine imkan vermektedir. Yüksek ısıların kullanıldığı mekanik kurutucular sertleşme durumlarıyla sonuçlanabilir. Aşırı ısıtma ve hızlı kuruma, asetik asit gibi uçucu asitlerin kaybına izin vermeyip kalite üzerinde zararlı etkisi olabilir (Korkubilmez, 2005). Ayrıca yetersiz kurutma veya yağmurda

ıslanma gibi durumlardan ötürü tane içindeki yüksek su aktivitesi küf oluşumu ile sonuçlanır. Fazla küf oluşumundan, yoğun tatta karbonil konsantrasyonları oluşabilir (Hansen ve Keeney, 1970).

Kakao taneleri veya nibleri sterilizasyon prosesinde bütün mikroorganizmaları inaktive etmek için uzun süre yüksek sıcaklığa maruz bırakılır. Fabrikalar, fabrikaya veya kullanılan ekipmana göre bu işlemi kavurma prosesinden önce veya sonra yapabilmektedirler. Hasat, fermentasyon, kurutma, paketleme veya taşıma boyunca kakao niblerine bulaşan bütün mikroorganizmalar buharla ısıtılarak veya ıslatılarak kesikli veya sürekli sistemlerde tahrip edilir. Toplam mezofilik bakteri sayısı gramda 500 veya daha aza düşmeli, bütün patojen bakteriler ise yok edilmelidir. Nibler, dutch prosesi ile kavrulmadan önce direkt kavrulabilir veya alkalize edilebilir. Eğer sterilizasyon işlemi, kavurmadan sonra gerçekleşecekse, ısıya dayanıklı bakteriler ve sporlar 20 saniyelik kavurma periyodunun sonunda kavurma valsinin içine verilen sprey buhar ısı müdahalesi ile tamamen öldürülmelidir (Awua, 2002).

Alkalizasyon prosesi, Dutch proses olarak adlandırılır. Bu prostesten geçen bütün kakao, kitlesi, tanesi ve nibleri alkalize (alkalized=Dutched) olarak isimlendirilir (ADM 2013).

Alkalizasyon, kakao niblerinin potasyum karbonat veya sodyum karbonat gibi alkali çözeltilerle muamele edilmesidir. Bu uygulama kakaonun pH'sını 5.2-5.6'dan 6.8-7.5'e artırır ve hemen hemen nötrleşmiş olur. Kakao tozu veya kakao kitlesi renk ve aroması alkali çözeltinin tipine göre değişiklik gösterebilir. Bu işlem ile, kakao tozu ve kakao kitlesinin suda çözünürlüğü de artar. Alkali çözelti tambur içine püskürtülür, kakao nibleri doldurulur ve sonra yavaşça 100 °C'de kurutulur (Awua, 2002; Afoakwa, 2010). Likör alkalizasyon sıcaklıkları genellikle tane için olandan daha yüksektir ve suyun buharlaşmasını sağlamak için 115 °C (240 °F)'ye çıkabilir (Minifie, 1982).

Vakumdaki, kuruma sürecinden sonra arta kalan nem % 1.5'dan az olmalıdır. Prosesin taneye uygulanması, en iyi sonucu verdiği için en yaygın kullanım yöntemidir. Kavurma, çikolata ya da kakao üretimi için elzem bir başlangıçtır. Lezzeti ve aromayı ortaya çıkaran, nem içeriğini azaltan bir basamaktır (Korkubilmez, 2005).

Isı, eşit miktarda ve kabuğu yakmadan her bir çekirdek içerisine düzenli bir penetrasyon olmaya yeterli bir sürede uygulanmalıdır. Kavurma prosesinde, kullanılan yakıtın yanmasıyla oluşan ürünlerin çekirdekleri kirletmeyecek şekilde olması önemlidir. Uçucu asitler, nem ve diğer çözülme ürünlerinin çekirdeğin kendisinden uzaklaşması için gerekli ortam oluşturulmalıdır. Kavurmanın derecesi çekirdeğin

cinsine ve kavrulmuş çekirdeğin çikolata ve kakao üretimi için istenip istenmeyeceğine göre değişkenlik gösterir (Korkubilmez, 2005).

Kavurma, tanenin fermentasyonu ve kurutulması boyunca oluşan prokürsörlerin orijinal kakao tadını geliştirmesi için uygulanır. Fermente edilen tanelerin kavrulması boyunca bazı fiziksel ve kimyasal değişiklikler meydana gelir. Bunlar; kabuğun uzaklaşması, son tanede % 2 oranında nem kaybı, nib renginin koyulaşması ve daha kırılğan bir yapının oluşmasıdır. Bunların yanında, kakao yağı, kakao kitlesi ve kakao tozu gibi hammaddelerin üretimi için mikroorganizma sayısının azalmasını sağlar. Ayrıca da, kavurma boyunca protein denaturasyonu ve amino asitlerin degradasyonu meydana gelir. Bunlara ek olarak, asitlik ve acılık veren uçucu bileşenler ve diğer maddeler azalır. Uçucu bileşenlerin büyük çoğunluğu alkoller, aldehitler, ketonlar ve prazinlerden oluşur (Minifie, 1999).

Kavurma sıcaklığı, süre ve nem kaybının oranı proses boyunca değişimin derecesini etkiler (Awua, 2002). Kavurmanın tipine göre sıcaklık 90 °C - 170 °C arasında değişir. Kakao proses endüstrisi başlıca üç kavurma tekniği kullanır. Bunlar, bütün tanenin kavrulması, nib kavrulması ve kakao kitlesinin kavrulmasıdır (Afoakwa, 2010). Bütün tanenin kavrulması durumunda kabuğun uzaklaşması için elemenden önce kavurma işlemi yapılır. Bu prosesin dezavantajı, kabuğa yağ migrasyonu olup kakao yağı kaybı olmasıdır. Niblerin kavrulması durumunda, kavurmadan önce kabukların uzaklaştırılması ile bütün tanenin kavrulmasındaki birçok kısıtlama ortadan kaldırılmış olur. Nib kavurma işleminde aroma gelişimi belli tipteki kakaolara alkali veya şeker çözültisi uygulanarak meydana gelir. Kakao kitlesine kavurma işleminde, ön ısıtma uygulanır ve kavurmadan önce nibler kitle formuna öğütülür. Bu işlemin asıl dezavantajı, kabuklar elemenden önce uzaklaşmış olmalı ve bu durum bazı kakao tiplerinde seperasyonun zayıf olmasına neden olur. Çekirdekteki iç nemi, kullanılan nibden uzaklaştırmak için basınç geliştirerek yüksek yüzey sıcaklığı oluşturan makineler kullanılır (Afoakwa, 2010).

Kavurma işleminde, tat oluşumunu sağlayan reaksiyonların en karmaşık ve önemlisi enzimatik olmayan esmerleşme, Maillard reaksiyonu veya karbonil-amin reaksiyonudur. Reaksiyonları başlangıç, orta ve bitiş olmak üzere 3 safha gibi düşünebilir (Korkubilmez, 2005).

Kavurma sürecinde tat oluşumu reaksiyonları belirtilmiştir. Çikolatanın buharlaşan ve buharlaşmayan kısımlarında belirlenen yaklaşık 400-500 bileşik bulunur. Bu bileşikler hidrokarbon, alkol, aldehit, keton, esterler, aminler, oksazoller ve sülfür

bileşikleridir. Birçok farklı aşama (fermantasyon, kuruma, kavurma, arıtma) son ürünü etkilediği için, çikolata gibi bir ürünün tadını incelemek oldukça güçtür. Ayrıca çikolata üretiminde karıştırma, inceltme ve konçlama gibi sonraki proseslerde de ilave tat değişimleri olacaktır (Korkubilmez, 2005).

### 2.1.2. Çikolata hammaddeleri

Kakao kitlesi, kakao çekirdeğinin öğütülmüş partikülleridir ve çekirdek yağı içerisinde süspansiyon halindedir, görünüş ve koku açısından çikolataya benzese de lezzeti gayet acı bir hammaddedir (Yılmaz, 2004).

İyi bir öğütme kakao tozu üretimi için elzemdir. Kakao nibi yaklaşık % 55 kakao yağı içerir ve nib hücreleri 30 µm partikül boyutuna ulaştığında kakao kitlesi içindeki kakao yağı açığa çıkar (Afoakwa, 2010). Çok aşamalı öğütme boyunca, ısı müdahalesi ile kakao kitlesi elde etmek için kakao yağı eritilir. Depolama tanklarında 90-100 °C civarına ısıtılan kakao kitlesinde, olgunlaşma ve mikrobiyal inaktivasyon gerçekleşir, daha sonra satış için paketlenir (Awua, 2002).

Proses boyunca kakao yağının hemen hemen % 78-90'ı açığa çıkar ve kalıntı lipitler süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile uzaklaştırılır (Beckett, 2008).

Kakao kitlesi, sütlü çikolatada % 15 (w/w), bitter çikolatada % 40 (w/w) civarlarında kullanılır (Yılmaz, 2004).

Kakao yağı, 520 kg/cm<sup>2</sup> hidrolik basınç uygulayarak kakao kitlesinden ayrılarak elde edilir (Afoakwa, 2010). Kakao yağı özellikle linoleik, oleik, palmitik ve stearik asitlerin gliserolle oluşturdukları trigliseritlerden oluşur ve bir poliformik yağdır (Yılmaz, 2004). Preseleme süresine ve özelliklerine göre, proses sonunda % 10-24 arasında yağ içeriğine sahip kakao keki elde edilir. Yüksek yağlı kek % 22-24 arasında yağ, düşük yağlı kek ise % 10-12 arasında yağ içerir (Afoakwa, 2010).

Çikolatada bulunan yağlar; kakao yağı, süt yağı ve kakao yağı olmayan bitkisel yağlardır. Bu son grup genellikle kakao yağı eşdeğerleri (cocoa butter equivalents veya CBEs) olarak bilinir (Man ve Jones, 1994).

Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2017/29)'nde Kakao yağının haricinde çikolata mamullerine eklenebilecek bitkisel yağlar listelenmiştir. Liste Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.1.** Kakao yağı dışında çikolata ürünlerine eklenebilecek bitkisel yağ listesi

Bitkisel katı yağların genel isimleri	Bitkisel yağların elde edildiği bitkilerin bilimsel isimleri
Illipe, Borneo tallow veya Tengkawang	<i>Shorea spp.</i>
Palm-oil	<i>Elaeis guineensis, Elaeis olifera</i>
Sal	<i>Shorea robusta</i>
Shea	<i>Butyrospermum parkii</i>
Kokum gurgi	<i>Garcinia indica</i>
Mango kernel	<i>Mangifera indica</i>

Tebliğe göre bu yağlar, bitter çikolata, sütlü çikolata, bol sütlü çikolata ve beyaz çikolata formüllerine eklenebilir. Belirtilen bu bitkisel yağlar, kakao yağı veya toplam kakao kuru maddesinin minimum miktarını azaltmamak şartıyla son üründe % 5'i aşamaz.

Kakao yağının sahip olduğu özellikler başka yağlarca karşılanamaz. Çikolataya özgü tadını veren ve raf ömrünün uzun olmasını sağlayan kakao yağının özelliği, oksidatif dayanıklılığından kaynaklanır. Çikolataya özel tekstürünü veren kakao yağının karakteristik fiziksel özellikleri, sahip olduğu kendine özgü erime özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Kakao yağı, oda sıcaklığında katı haldedir. 28 °C'ye kadar katı halde kalır. 36 °C'de (ağız sıcaklığının altında bir sıcaklıktır) ise tamamen erir. Çikolata üretimindeki tek sürekli faz olan kakao yağı, diğer bileşenlerin dağılımı ve çikolatanın fiziksel davranışlarından sorumlu olan fazdır. Oda sıcaklığındaki kırılmalı yapı göstermesi, vücut sıcaklığında erimesi kakao yağına özgü bir niteliklerdir (Anklam ve Lipp, 1998).

Kakao kitlesi presleme prosesinden elde edilen kek, kakao tozu üretiminde kullanılır. Böylece, kek öğütme prosesinin amacı kakao kekini öğütücülerle daha küçük parçalara ayırmaktır ve ürün 'kabaca öğütülmüş kek (kibbled cake)' olarak tanımlanır. Yüksek kaliteli kakao tozu üretimi için, alkalizasyon derecesi ve yağ içeriğine bağlı olarak pulverize edilmeden önce paçallama işlemi yapılır (Afoakwa, 2010).

Parçalanmış kakao keki partikülleri çekiçli-diskli veya pimli değirmenler kullanılarak istenen kalınlıkta kakao tozu haline getirilir. Paket yığınlarına şekil vermek veya yağ çiçeklenmesi gibi herhangi bir renk değişimini önlemek için toz haline getirildikten sonra kakao tozunun yağı soğutulmuş sabit forma kristalize edilir (ADM, 2013).

Çikolata üretiminde şeker olarak sakkaroz kullanılmaktadır. Kullanılan şeker çok iyi kalitede, rafine edilmiş ve tüm safsızlıklardan arındırılmış olmalıdır. Çikolata çeşidine bağlı olarak % 25-60 oranında şeker kullanılır (Çağındı, 2009)

Şeker, kakao kitlelerinden gelen acılığı dengelemek için kullanılır. Şeker ve süt proteinleri kombinasyonu, Maillard veya esmerleşme reaksiyonları ile karamelize tat oluşumunu sağlayarak lezzet üzerine önemli bir katkı sağlar (Man ve Jones, 1994).

Bitter çikolata ve bileşiklerde kakaonun acılığını baskılamak için şeker eklenir. Ayrıca proses teknikleri de şekerin etkisini değiştirebilir. Özellikle crumb içerikli çikolatalar (süt tozunun kakao kitleleri ve şeker ile birlikte yapıldığı spesifik bir karışım), süt tozu esaslı çikolata formüllerinde; karamelleşmenin bitmiş lezzet üzerinde büyük bir etkisi vardır. Şeker ve süt proteinin ısı ile birleşmesiyle kimyasal bir değişiklik meydana gelir (Campbell ve Pavlasek, 1987).

Çikolatanın tatlılığını azaltmak için, bazen % 5-10'luk şeker yerine daha az tatlı olan eşit miktardaki şeker alkolleri kullanılabilir. Bu uygulama tadı etkilemez (ADM, 2013).

Süt ürünleri çikolataya yumuşak bir tat ve besleyicilik kazandırmaktadır. Üretimde en çok kullanılanlar yağlı ve yağsız sütün ve peynir altı suyu tozudur (Çağındı, 2009).

Süt tozu, çikolatanın önemli hammaddelerinden birisidir. Roller-dried (silindirik kurutma tekniği ile kurutulmuş) süt tozu, içeriğindeki yüksek miktardaki serbest yağdan dolayı spray-dried (püskürtülerek kurutulmuş) tekniği ile elde edilen süt tozuna oranla daha çok tercih edilmektedir (Keogh ve ark., 2002).

Sütün çikolataya katılması için iki farklı proses mevcuttur. Bu iki ayrı proses oldukça farklı tatlarda ürünlerin ortaya çıkmasına neden olur (Man ve Jones, 1994).

- **Kontinental (Avrupa) prosesi:** Bu işlemde süt tozu kullanılarak, kakao likörüne eklenir.
- **Kırıntı prosesi:** Bu işlem, İngiltere'de ve sıklıkla da Amerika'da ve bazı Avrupa ülkelerinde kullanılır. Süt, şeker ve kakao likörü vakum altında koyulaştırılarak daha sonra kakao kitlesine katılacak tozun oluşumuna zemin hazırlanır (Man ve Jones, 1994).

Ayrıca süt yağı, çikolataya tat vermenin yanında çikolatayı yumuşatarak tekstürünü düzenler, çikolatada çiçeklenmeyi inhibe eder ve maliyeti düşürür. Hidrojene edilmiş süt yağı, hidrojene edilmemiş süt yağına kıyasla çikolatanın beyazlaşmasını daha etkili bir şekilde inhibe eder (Campbell ve ark., 1969).

Aroma verici olarak, metil vanilin de etil vanilin de aromasına göre % 0.03-0.12 oranları arasında kullanılan yapay aromalardır. Etil vanilin metil vanilin üç katı daha güçlü aromaya sahiptir (ADM, 2013).

Vanilya hem ekstrakte hali hem de vanilya taneleri şeklinde olmak üzere, en yaygın aroma vericidir. Eşsiz buket aromalı doğal vanilya en üst sınıf şekerlemeler, tatlılar, çikolatalar için kullanılır (ADM, 2013).

Çikolata tuz kullanımı tuzluluk algısı vermek için kullanılmaz, çikolataya özgü diğer aromaların artması için tercih edilir. Tuz, aroma notlarını açık bir şekilde vurgulanmasını sağlar ve acılığı azaltır. Kullanıldığı zaman % 0.06-0.12 oranları arasında kullanılır (ADM, 2013). Ayrıca tuz, tadı tamamlamanın yanında çözeltinin su aktivitesini de düşürür (Drouven ve ark., 1996).

Çikolata isteğe göre katılan bu aromalar portakal aroması, berry aromaları, nane aroması, baharatlar, esansiyel yağlar, fındık ezmesi, Hindistan cevizi, tarçın, kahve aromaları olabilir (ADM, 2013).

Çikolata, sürekli yağ fazı ve şeker içerir. Bu bileşenler lipolitik ve hidrofilik etkiden dolayı birbiri içinde çözünmeyerek yüzeyi sadece yağ ile kaplanır. Bu durum emülgatörler kullanılarak çözülebilir ve çikolatanın yağ bileşimi, emülgatörler yardımı ile istenilen akış özellikleri sağlanırken azaltılabilir (Afoakwa ve ark., 2007).

Emülgatörler, yüzey gerilimini azaltarak gıdaların ince dispers yapıya kavuşmalarını sağlar. Emülgatörler, iki yüzey arasındaki serbest enerjiyi azaltarak stabiliteyi sağlarlar. Bunu da süreksiz fazı oluşturan damlacıkların etrafında adsorbe edilmiş bir film sayesinde yaparlar (Güven ve ark., 2010).

Lesitin, kakao, şeker ve sütün yağsız partikülleri ile kakao yağı arasındaki iç tansiyonu düşüren bir fosfolipit karışımıdır. Katı partiküllerin büyük yüzey alanı kaplaması için gerekli olan kakao yağı miktarını azaltır ve daha çok kakao yağının serbest kalmasını sağlar ve kaplama çikolatanın viskozitesini azaltır. Bu bağlamda lesitin belli bir oranı bu fonksiyonu sağlar (ADM, 2013).

Lesitin; ticari olarak soya fasülyesi ya da ayçiçek tohumundan ekstraksiyon yöntemi ile ve çöktürme ile elde edilir. Açık kahverengi renkte olan sıvı, yaklaşık olarak % 35 soya yağı içerir. Lesitin doğal yüzey aktif özelliği, özellikle hidrofilik şeker kristal yüzeyine etki ederek, çikolata ve kaplamalarda çok iyi bir şekilde viskoziteyi düşürücü etki sağlamaktadır (Hasenhuettl ve Hartel, 2008).

Hem hayvansal hem de bitkisel kökenli olabilen lesitin, hayvansal ürünlerde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Örneğin, taze yumurta sarısı % 8-10 lesitin

içerir. Tereyağın lesitin içeriği de % 1 kadardır. Ancak en önemli lesitin kaynağı, % 1.5-3.0 kadar fosfatid içeren soya fasüyesidir (Altan, 2005).

Lesitin % 0.6-0.8 oranında çikolataya eklenmesi akma noktası ve plastik viskoziteyi düşürmektedir. Ancak reçetede ki yüzde oranı arttıkça çikolatanın viskozitesinin yükselmesi yönünde ters etki göstermeye başlamaktadır (Hasenhuettl ve Hartel, 2008).

Polyglycerol polyricinoleate (PGPR), hint yağı ve gliserolün çoklu kondensasyonu sonucu oluşmuş, di-tri ve tetragliserol bileşiminden oluşan poligliserol ile karıştırılmış bir komplekstir. PGPR'nin plastik viskozite üzerine fazla bir etkisi yoktur. Ancak, % 0.2 oranında kullanımı ile akma noktasını % 50 oranında azaltmakta, % 0.8 oranında kullanımı ile ise yok etmektedir (Peker, 2011).

PGPR, çikolatayı Newtonian akışkan haline getirir. % 35 kakao yağı içeren çikolata ile % 32 kakao yağı, % 0.1 PGPR içeren çikolata benzer akma noktasına sahip olduğu görülmüştür. Lesitin aksine PGPR çikolatada süspansiyon şeklinde yapılaşmaz. Sürekli yağ fazı hacim fraksiyonunu ve bağlı su miktarını artırır (Afoakwa ve ark., 2007).

Çikolatanın akış davranışı plastik viskozite ve akma noktası-yield value ile ifade edilir. Yield value, akışkanın akmaya başlamak için gösterdiği güçtür. Plastik viskozite, akışkanın sabit akışta gösterdiği güçtür. PGPR, çikolatada akma noktasını düşürür. PGPR'nin çikolatada ilk kullanım amacı reçetede gerekli toplam yağ içeriğini azaltmaktır, ikinci bir kullanım amacı ise kaplama, kalıplama ve dekorasyon gibi uygulamalarda prosesle ilgi avantajlar sağlamasıdır (ADM, 2013).

Türk Gıda Kodeksine göre maksimum kullanım oranı % 0.5 tir.

Son yıllarda birçok çikolata üreticisi, istenilen akma noktası ve plastik viskozite değerine ulaşmak, bunun yanında viskoziteyi düşürücü etkenleri dengelemek için lesitin ve PGPR kombinasyonunu kullanmaktadır. % 0.5 lesitin içeren çikolataya PGPR eklenmesiyle akma noktası ileri derecede azalır ve plastik viskozite yavaşça yükselir. Lesitin konsantrasyonunun % 0.5'in üzerinde olması halinde plastik viskozite artışı kontrol edilemez. PGPR eklenmesi akma noktası üzerine azaltıcı etki yapar, çikolatanın akış özelliklerini büyük oranda etkiler. PGPR yağ göçü inhibisyonunda düşük oranda etkilidir (Afoakwa ve ark., 2007).

PGPR, lesitin ile beraber iyi performans gösterir. Genellikle en iyi akma noktası azalımı iki emülgatörün birlikte belirli oranlarda karıştırılmasından elde edilir. En

uygun oran 2-2.5 birim lesitine karşılık 1 birim PGPR kullanımındır ve bu oran % 0.3-0.5 arasında değişim gösterebilir (Martin, 1988).

Optimum lesitin ve PGPR konsantrasyonu, uygulama şartları ve istenen ürün özelliklerine göre değişir. Bu nedenle genel bir sonuç çıkarmak doğru olmaz. Ancak lesitin ve PGPR karışımlarının uygulanması, çikolatanın akma özellikleri ve yağ bazlı dolguların uygulanması noktasında farklı seçenekler sağlar (Schantz ve Rohm, 2005).

### 2.1.3. Çikolata üretim aşamaları

Çikolatanın geleneksel üretim basamakları şu şekilde sıralanabilir; hammaddelerin karıştırılması, inceltmesi, temperlenmesi ve konçlanması (Alamprese ve ark., 2007).

#### 2.1.3.1. Karıştırma

Karıştırma, çikolata üretiminin ilk ve en önemli basamağıdır. Çikolata reçetesinin bileşimini oluşturan hammaddeler mikserde alınarak karıştırılır. Önce sıvı hammaddelerden kakao yağı mikserde alınarak daha sonra mikserde toz hammaddeler alınır. Burada toz hammaddelerin tozumasını engellemek gerekir. Karıştırma işlemindeki önemli parametrelerin başında; mikser sıcaklığı ve karıştırma süresi gelmektedir. Karıştırma yapıldıktan sonra, ürün ön inceltme silindirine aktarılır. Karıştırma işleminde amaç homojen bir karışım elde etmektir. Diğer önemli bir nokta ise, karışıma alınan hammaddelerin doğru oranda mikserde alınmasıdır. Bu nedenle mikserde bağlı olan ağırlık ölçerlerin kalibrasyonunun sıklıkla yapılması gerekmektedir (Peker, 2011).

Bu işlem inceltme için doğru kıvamlı ve homojen bir hamur hazırlamayı hedefler (Heemserk, 1986). Minör bileşenler, lesitin ve PGPR gibi viskozite kontrolörleri ve emülgatörler, aroma bileşeni olan vanilin daha sonra eklenir (Gülbay, 2007).

Karıştırma basamağı, büyük mikserler içinde yapılır. Bu fazda, çikolata kitlesi dilde kumsu bir yapıda hissedilmesine rağmen son ürün tatlarının bir kısmını içerir, burada partiküller çok büyük boyutludur (ADM, 2013).

Karıştırma sebepleri;

- Sıvı bileşenlerle katı partiküllerin yüzeylerinin kaplanmasını sağlar
- Bileşen homojenizasyonunun ilk basamağı
- Nem içeriğinin azalması

- İnceltme için bileşenlerin hazırlanması

Aşağıda verilen karıştırma parametreleri istenen kaliteye göre değişiklik gösterebilir;

- Yağın bir kısmı ve aroma vericiler, tuz, lesitin hariç bütün bileşenlerin karışması
- Cidar sıcaklığı 40 °C (104.4 °F).
- 7-9 dk karıştırma süresi
- 12-14 rpm karıştırma hızı
- Miks hamurunun yağ içeriği genellikle % 23-27

Son üründe daha küçük partikül bayoutu için mikserdeki karışım daha yüksek yağa ihtiyaç duyar (ADM,2013).

### 2.1.3.2. Ön inceltme (Pre-refining)

Özellikle büyük partiküller olmak üzere çikolata içinde yayılmış olan partiküllerin, çikolata yendiğinde ağızda kum gibi bir his bırakmaması için yeterince küçük boyuta indirgenmesi gerekir (Jackson, 1994). Bu nedenle mikserden çıkan ürün, incelticilere gelmeden önce ön bir boyut azaltma ve homojenizasyona yardımcı olmak amacıyla pre-refiner adı verilen makineler kullanılır. Silindirlerin yer çekimi kuvvetine dik ve yan yana yerleştirildiği makinelerdir. Burada hedef mikron boyutunun 120-180  $\mu$  dur (Peker, 2011).

### 2.1.3.3. İnceltme (Refining)

Pre-refinerdan çıkan karışım, konveyörlerle refiner adı verilen silindir sisteminin bulunduğu basamağa gelir. Silindir sistemi 5 adet silindirden oluşmaktadır. Döner her silindir farklı hızda döner ve silindir toplarının farklı sıcaklıklarda olmasından dolayı aşağıdan yapılan beslemenin yukarı doğru çıkması sağlanır. Silindirlerin farklı sıcaklıkta olmaları da ürünün silindirlere tutunmasını sağlar, böylece ürün aşağı dökülmez. Bu işlemden sonra çikolata tozu çelik bantlar vasıtasıyla konçlara aktarılır (Peker, 2011).

Son inceltme olarak da adlandırılan bu işlemde kullanılan silindirler 75 cm den 2.5 m genişliğe kadar değişen boyut ve kapasitelerdedir. Silindirlerden toz formda çıkan ürün boyutu 15-35  $\mu$  arasında değişiklik gösterir. Bu mikron boyutu yapılan ürüne göre değişmektedir. Mikron boyutu; ürünün likit olarak akışına, tekstürüne ve ağızda dağılmasına kadar bir çok özelliğini etkilemektedir (Beckett, 2008).

#### 2.1.3.4. Konçlama (Conching)

İsviçre’de 1878 yılında Rudi Lindt tarafından icat edilen konç, ismini de şeklinin kabuğa benzemesinden almıştır. Lindt; konçlanmış çikolatanın daha yumuşak daha pürüzsüz olduğunu ve koncun çikolata tadını geliştirdiğini fark etmiştir. Ayrıca, konçlamanın diğer bir önemi de çikolatanın son üründe kullanılmadan önce viskozitesinin belirlendiği nokta olmasıdır (Beckett, 2008).

19. yüzyıldan günümüze kadar, çikolata üreticileri konçlama süresini azaltmaya çalışarak bu pahalı prosesi daha verimli hale getirmeye çalışmıştır. Sütlü çikolata için ortalama 7 gün gibi bir konçlama süresi 5-12 saatler arasına kadar düşürülmüştür (Bolenz ve ark., 2005).

Çikolatada istenilen lezzetin ve akış özelliklerinin sağlanmasında için kritik bir işlem olarak görev almaktadır. Fiziksel, reolojik ve kimyasal işlemlerin birbiriyle bağlantılı olduğu ve aynı anda meydana geldiği bir kademedir (Ziegleder, 2004; Prawira, 2008).

Konçlama prosesinin öncelikli amacı, yağ fazı içerisinde olan şeker ve kakao partiküllerini diğer hammaddelerin içinde homojen bir dispersiyon haline getirmek ve bunun sonucunda çikolata süspansiyonunun viskozitesini düşürmektir. Bu amaçla lesitin ve PGPR gibi emülgatörler konçlama prosesinde ilave edilirler (Zieger ve ark., 2003).

Konçlama adımları şu şekilde sıralanabilir; dolum, düşük yağlı konçlama (kuru konçlama, plastik konçlama), geri kalan yağın ve lesitinin eklenmesi (sıvı konçlama ve boşaltma)’dır. Konçlama işlemi üç ayrı fazdan oluşmaktadır (Schumacher, 2009).

Konçlama prosesi, 3 basamaktan oluşmaktadır:

- 1- Kuru konçlama
- 2- Plastik konçlama
- 3- Sıvı konçlama

Konçlamanın ilk basamağı olan kuru konçlamada, konç makinası en düşük devirde çalıştırılarak nem atma işlemi yapılmaktadır (Peker, 2011). Bu fazda çikolatanın yavaş yavaş hamurumsu bir hale gelmesi ve kitle üzerinde 1-4 cm boyutlu küçük toparların oluşması görülür. Çikolata kitleleri daha hamurumsu hale gelmeye başladığında sıcaklık ve yağ içeriği iyi ayarlanmadığı takdirde hamurun büyük parçaları konç çapalarına yapışarak etkin bir karışımın sağlanmasına engel olabilir (Korkubilmez, 2005).

Bazı konçlarda güç arttıkça motorlar çalışmaya devam edecek kadar güçlü olmadığından erken yağ ve emülgatör ilaveleri ile kitleyi daha ince, sıvı bir hale getirmek mümkündür. Fakat bu durumda kuru konçlama tam anlamıyla gerçekleştiremeyeceği için oldukça yüksek viskoziteli çikolata oluşumuna neden olur (Beckett, 1999).

Plastik konçlamada; kuru konçlamanın sonlarına doğru ve plastik konçlamanın başında karıştırma işleminin etkisiyle sıcaklık hızlı bir şekilde artar. Bu yüzden cidar su sıcaklığı, istenilen konçlama sıcaklığında sabit bir artış sağlamak adına çikolatadan birkaç derece daha az olmalıdır. Bunun son çikolata lezzetinde büyük etkisi vardır. Bu, ani sıcaklık değişikliklerine tepki verebilen termostatik cidar suyu kontrolörlerinin kullanılması gerekir (Korkubilmez, 2005).

Sıvı konçlama; bu basamak kısadır ve reçetede ilave edilmesi gereken son bileşenler eklenerek karıştırılır. Viskozitenin dengeye ulaşması için en uygun süre belirlenir. Fakat, lezzette büyük değişikliğe neden olmadığından bu süreyi çok da uzatmanın anlamı yoktur. Yüksek sıcaklıkta konçlama yapılırken emülgatör beslemesinden önce çikolatanın soğuması için süreye ihtiyaç olabilir, çünkü bazı yazarlar (Bartusch, 1974) 60 °C'nin üzerinde eklenen lesitin daha az etkili olduğunu açıklamışlardır (Korkubilmez, 2005).

Konçlama boyunca meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler şunlardır:

- Nem içeriğinin düşürülmesi
- İstenmeyen uçucu bileşenlerin uzaklaştırılması
- Homojenizasyon
- Aroma gelişimi

Konçlama boyunca nem oranı % 1.6 civarlarından % 0.6 civarlarına düşürülür. Nem, çikolatada viskoziteyi arttırıcı etkiye sahiptir. Nem içeriği, istenen viskoziteyi sağlamak için ilave edilmesi gereken kakao yağı miktarını arttırmaktadır (Koca, 2011). Çikolata bünyesinde kalan % 0.3'lük nem için (% 1 üzerinde) viskozite uygunluğunu sağlamak adına % 1 oranında yağ ilavesi gereklidir. Maliyeti artırması da bu sebepten dolayıdır. Bu bağlamda nemin uçurulması ekonomik olarak şarttır. Fakat % 1 nemin altındaki nemin kaynağı bileşenlerden örneğin laktoz kristallerinden açığa çıkan su olabileceği için akış özelliklerine etki etmesi azdır (Korkubilmez, 2005).

Ayrıca, nem istenmeyen pek çok lezzete de neden olur. Nemin çikolata kitlesinden uzaklaştırılma oranı kitlenin sıcaklığına bağlıdır.

Konçlamada verilecek maksimum sıcaklığı kullanılan malzemeler ve son üründe istenen tat belirler. Karamelize (Maillard) lezzet isteniyorsa 100 °C'nin üzerine çıkılabilir. Lezzeti esas belirleyen faktör zaman ve sıcaklığın birbiriyle kombinasyonudur. Bu kombinasyon, daha kısa sürede daha yüksek sıcaklık kullanımı veya bunun tam tersi şeklinde olabilir. Crumb çikolatalar için kurutma prosesinden gelen bazı aromaları muhafaza etmek adına daha kısa konçlama zamanları kullanılabilir. Daha sütlü çikolatalarda karamelize lezzetlerin oluşumunu önlemek için sıcaklık 50 °C'nin altında tutulmalıdır. Ayrıca şeker alkollerini içeren şekerli reçeteler, pratiküllerin topaklaşmasını ve erimeyi önlemek için düşük sıcaklıklara gereksinim duyarlar (Korkubilmez, 2005).

Konçlama işlemindeki yeterli havalandırma, nem ve istenmeyen uçucu bileşenlerin çikolata kitlesinden uzaklaşması için önemlidir. Aldehitler ve asetik asit düşük kaynama noktasına sahiptir ve nemin uzaklaşması ile ayrılırlar (Koca, 2011).

Nemin çoğunluğu süt bileşenlerinden geldiği için ve de bu bileşenler yağla kaplandıktan sonra su moleküllerinin kitle yüzeyine ulaşarak konçlamadan uzaklaşması zor olduğundan nemin çoğunluğu konçlama döngüsünde erkenden uzaklaşır. Ancak asidik bileşenler konçlama boyunca düşmeye devam ederler (Korkubilmez, 2005).

Kakao yağı çikolata kitlesindeki diğer bileşenleri kaplar. Böylelikle daha pürüzsüz bir lezzetle birlikte yumuşak bir yapı gelişir.

Hedeflenen akış parametresine ulaşana kadar konçlama işlemine devam edilir. Çikolataya lesitin gibi emülgatörler eklenerek viskozitesi düşürülür (Gülbay, 2007; Koca, 2011).

Konçlama, üreticinin çikolata lezzetini belirlemek için son basamaktır. Ancak yine de hammadde kaynaklı bazı olumsuzlukları gideremediği gibi proses kaynaklı bazı hataları da düzeltemeyebilir. Kakao çekirdekleri fermente olsa bile doğru bir şekilde kurutulup kavruktan sonra kakao yığınının çoğu kişinin pek beğenmediği çok asidik bir lezzeti vardır. Tattaki istenmeyen lezzetleri ortadan kaldırmak ve de beğenilenleri muhafaza etmek konçlamanın görevidir. Konçlamaya aşırı şekilde yapıp lezzeti az bir çikolata elde etmek de olasıdır. Konçlama zamanı ve istenilen son hoş koku profili kakaonun başlangıçtaki lezzet yoğunluğuna ve kullanılacağı ürüne göre değişir (Korkubilmez, 2005).

Konçlama asıl amacı, istenmeyen lezzetleri uzaklaştırıp istenen bir takım lezzetlerin de gelişmesini sağlamaktır. Bu durum bitter çikolata da özellikle önemlidir ve konçlama havalandırmasına ve konçlama zamanına bağlıdır. Sütlü çikolatalarda, süt

tozlarından daha karamelize bir lezzet elde etmek için konçlamada sıcaklığa maruz bırakılır (Korkubilmez, 2005).

Konçlama işleminden sonra stoklama tanklarına alınan çikolata, üretimde kullanılacağı zaman temperleme işlemi uygulanarak üretim hattına pompalar ile gönderilir. Stoklama tankları değişik kapasitelerde olabilmektedir. Genel olarak çikolata işletmelerinde 10-20 ton kapasiteli, paslanmaz çelikten imal edilmiş, cidarlı yapıda stoklama tankları kullanılmaktadır. Cidarlarında ise tankların sıcaklık ayarlaması için su bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 45 °C'lik cidar suyu bulunan stok tanklarında çikolata stoklanır (Peker, 2011).

### 2.1.3.5. Temperleme

Temperleme, kakao yağı kristalizasyonunu termodinamik olarak stabil olan poliformik formunu oluşturmak için kontrollü sıcaklıklarda çikolata kitlesine kesme kuvveti uygulayarak yapılan ön kristalizasyondur. Çikolata üretiminde temperleme, erime sıcaklığı 32-34 °C olan kakao yağının stabil formu olan form V nin elde edilmesidir. Ayrıca bu form çikolataya iyi bir kırılmalık, parlak bir görüntü, çiçeklenmeye karşı direnç verir ve çikolatanın daralıp büzülmesini sağlar. Ayrıca raf ömrünü artırır. Bu işlem trigliseritlerin küçük bir kısmının, geriye kalan lipitlerin doğru forma gelmesi için kristal çekirdekleri oluşturduğu ön kristalizasyondur (Kayışlı, 2012).

Yapısında altı değişik kristal yapısı bulunan kakao yağının sadece bir kristal yapısı çikolataya parlaklık ve iyi kırılma özellikleri vererek, tüketicinin beğenisini sağlamaktadır (Beckett, 2008). Bu kristal yapısı beşinci kristal yapısıdır ve temperleme prosesinde hedef bu kristalin tutulmasıdır. Kakao yağının kristal yapıları ve erime sıcaklıkları Çizelge 2.2'de verilmiştir. Kakao yağının beşinci kristali; çikolataya parlak bir yüzey, düzgün kırılma özelliği ve nispeten daha yüksek bir erime noktası sağlamaktadır. Böylelikle, elde erimeyip ağza atıldığında erimeye başlayan bir çikolata elde edilmesini sağlamaktadır (Svenstrup ve ark., 2005).

Çizelge 2.2'de Kakao yağının kristal formları verilmiştir (Alenden ve ark., 2007a).

Çizelge 2.2. Kakao yağının kristal formları

Kristaller*		Erime Noktaları (°C)	
$\gamma$	I	17	Highly unstable
$\alpha$	II	23	↓
$\beta_2 -2$	III	26	
$\beta_1 -2$	IV	27	
$\beta_2 -3$	V	34	
$\beta_1 -2$	VI	36	

\*Her iki isim de kullanılır.

Temperleme makinası, çikolatayı makina girişinde 45 °C'ye çıkartarak içeriğindeki kakao yağı kristallerinin tamamını eritir. Daha sonrasında kademeli olarak soğutma ve ısıtma işlemleri yaparak beşinci kristal yapısının elde edilmesine olanak verir. Çıkış sıcaklığı yaklaşık 28-30 °C civarına olup kalıplama ve kaplama işlemleri için uygun bir sıcaklıktır (Peker, 2011).

## 2.2. Fonksiyonel Gıdalar

Doğru ve dengeli beslenme, sağlıklı bir vücuda sahip olmanın ve hastalıklara karşı dirençli olmanın, yaşlanmanın geciktirilmesi için çok önemlidir. Aneobezite, kabızlık, ateroskleroz, hiperkolesterolemi, kanser, şeker hastalığı ve diş hastalıkları gibi birçok hastalık beslenme hatalarından kaynaklanmaktadır. Hayat şartlarındaki değişim, ailelerin ekonomik durumları ve kültürel alışkanlıkların değişimi, beslenme biçimindeki değişiklikleri de beraberinde getirmiştir (Baysal, 2002).

Vücut için gerekli besin öğeleri içerirken aynı zamanda fizyolojik ve metabolik fonksiyonlar üzerine de faydası olan gıdalar geliştirilmiştir. Fonksiyonel gıdalar ilk kez 1984 yılında Japonya'da gündeme gelmiştir (Özçelik, 2003).

Gıdaların zenginleştirilmesi işlemi de fonksiyel gıda sınıfındandır. Codex-Alimentarius'a göre "gıda zenginleştirme (food fortification)", bir grup insanın vücudundaki herhangi bir bileşenin eksikliğini gidermek için gıdaya eklenmesi işlemidir. Bu bileşen gıdanın içeriğinde doğal olarak bulunan bir bileşen de olabilir bulunmayan bir bileşen de olabilir. Bu uygulamanın amacı belli bir gruba yönelik besin ögesi gereksinimini karşılamaktır. Orta ve uzun dönemde etki göstermesi beklenir (Özçelik, 2003). Aynı zamanda çeşitli sebeplerle gıdalardan kaybedilen besin bileşenlerinin yeniden kazandırılması veya daha fazla besin ögesi eklenmesiyle beslenme sorunlarını ortadan kaldırmayı hedeflemektedir (Yücecan, 1991). Gıda

güçlendirmesi ile gıda zenginleştirme işlemi aynı manada kullanılmaktadır (FAO/WHO, 1994).

Besinlerdeki fonksiyonel bileşenlere örnek olarak şunlar verilebilir;

- Esansiyel makrobesleyicilerden sindirime dayanıklı nişasta ve omega-3 yağ asitleri
- Esansiyel mikrobesleyiciler
- Fizyolojik olarak faydaları kanıtlanan non(esansiyel) bileşenler: Fitokimyasallar ve oligosakkaritler (Kwak ve Jukes, 2001).

### 2.3. Prebiyotikler ve Probiyotikler

Prebiyotikler, ince bağırsakta sindirime uğramazlar ve direkt kalın bağırsağa geçerek faydalı bakterilerin çoğalmasını sağlayan ve konağa sağlık faydaları bulunan besin öğeleridir (Kutlu, 2011). Prebiyotik özellikteki bileşiklere örnek olarak:

- inülin
- laktuloz
- frukto-oligosakkaritler
- galakto-oligosakkaritler
- soya oligosakkaritleri
- izomalto-oligosakkaritler
- gluko-oligosakkaritler verilebilir.

İnülinin sentezlendiği bitkilerden bazıları sarımsak, buğday, pırasa, muzdur (Gülmez ve Güven, 2002). Probiyotik ve prebiyotiklerin birarada bulunduğu komplekslere sinbiyotik denir. Probiyotikler de, probiyotik canlıların biyolojik olarak etkin yan ürünleridir, gıdalara eklendiklerinde sağlık üzerine faydaları olan kısa zincirli yağ asitleri gibi bileşenlerdir (Kutlu, 2011).

1992 yılında inülin ve oligofruktozlar GRAS statüsüne alınmış ve bu sınıflandırmaya uygun oldukları kanıtlarla desteklenmiştir. Bu kanıtlar şunlardır;

- insanlar tarafından yıllardır doğal olarak alınmaları,
- sindirilemeyen fermente ürünler oldukları için bağırsaktaki yararlı bakteriler tarafından kullanılarak vücuda fayda sağladıkları,
- kimyasal yapılarının iyi bilinmesi ve toksik yapıda olmadıkları,
- yapılan uzun çalışmalar sonucunda halk sağlığına zararlı bir etkileri olmadığı gibi özelliklerdir (Pascal, 2008).

Toksisite değerlendirmesi; akut toksisite açısından- fareler üzerine yapılan çalışmalarda 0, 3, 6, 9 g/kg oligofruktoz verilmiş ve etkileri araştırılmıştır. Populasyonda ölüm oranının etkilenmediği ve LD50 değerinin 9 g/kg'dan daha fazla olduğu görölmüştür (Pascal, 2008).

Yarı akut toksisiteyi belirlemek amacıyla farelere 1.5, 3, 4.5 g/kg oranlarında FOS verilerek denenmiştir. 6 haftalık test sonucunda organlarda herhangi bir sorun çıkmamış, ölüm oranlarında değişim görölmemiştir.

FOS ve inülinin farklı dozajlarda yine fareler üzerinde yapılan çalışmalar ile 104 hafta boyunca incelemeye alınmıştır, çalışmada dişi ve erkek farelerin günlük besinlerine eklenmiştir. Gebe farelerin günlük besin alımlarının % 20'i kadarı FOS ile değiştirilmiş ve 1. günden 21. güne kadar gözlenmiştir. Gebe farelerin sadece vücut ağırlığında düşüş görölmüştür. Fetüslerde ve yeni doğan yavrularda olumsuz bir etki meydana gelmemiştir sadece erkek yavruların emzirilme döneminde gelişmede gecikme olmuştur. Bunun sebebi olarak da FOS'ların düşük kalori değerleri, ishale neden olmaları veya besin alımını azaltmaları gösterilmiştir (Pascal, 2008).

Prebiyotiklerin sindirilmemesi ve fermente olması sebebiyle vücutta oluşan etkilere sindirim semptomları denilmektedir. Gaz sıkıntısı, mide gurultusu ve rahatsızlık hisleri bu etkilerdendir ve meyve sebze tüketiminden sonra meydana gelen belirtilerle benzerlik gösterirler. Oluşan bu semptomlara dayanıklılığa göre 3 sınıfa ayrılmıştır;

abuk etkilenmeyen bünyeler: Bu kişiler günlük 30 gr ya da daha fazla prebiyotiği sorunsuz olarak tüketebilirler.

Hassas bünyeler: Günlük 10 gr kadar sorunsuz tüketebilirken, 20 gr ya da daha fazla tüketim sonucu rahatsızlık hissederler.

Çok hassas bünyeler: 10 gr ya da daha az tüketimde bile rahatsızlık yaşarlar (Pascal, 2008).

Probiyotik kelimesi ilk defa 1965 yılında Lily ve Stillwell tarafından tanımlanmıştır ve Latince'deki "pro" ve "bios" kelimelerinden türetilmiştir ve "yaşam için" manasındadır. Probiyotikler ağız yoluyla yeterli düzeyde alındığı zaman konakladığı canlıya fayda sağlayan sindirim sistemi mikroorganizmalarıdır (Ceyhan ve Alı, 2012).

Fermente süt ürünlerinin insan sağlığını olumlu yönde etkileyerek yaşam ömrünü uzattığı Elie Metchnikoff'ün 1845-1916 yıllarında yaptığı çalışmalarla ortaya konmuştur. Bunu da fermente süt ürünlerindeki mikroorganizmalar sayesinde olabileceğini vurgulamıştır. Bu öngörüye göre bağırsak floramız yararlı

mikroorganizmalar olan probiyotiklerden etkilenebilmektedir (Doillet ve Langdon, 1994). Probiyotikler ile alakalı birçok araştırma ve ticari çalışmalar Metchnikoff'tan sonra yapılmıştır. Bu ilginin esas sebebi mikroorganizmaların sağlığa faydalı olmasındaki ilginçlik ve bu canlıların ticari formunun yapılabilmesidir.

Probiyotik mikroorganizmaların hastalık riskini azalttığı bilimsel olarak da desteklendikten sonra probiyotik içerikli çeşitli ürünler üretilmiş ve pazara sunulmuştur. Bunlar mandıra ürünleri (süt, yoğurt ve peynir gibi) olabildiği gibi et ürünleri, meyve suları ve çikolata da olabilmektedir (Palüzar, 2009).

Probiyotik bakterilerin bağırsaklara kadar canlı kalabilmesi; mide asitliğine diğer bakterilerden daha dayanıklı olması ile, safra tuzuna ve lizozim enzimine daha dirençli olması ile açıklanır. Bağırsaklarda ise antimikrobiyal maddeler üreterek (laktik asit, asetik asit, bakteriyosin gibi) zararlı mikroorganizmaların çoğalmasına engelleyerek doğal mikrofloranın korunmasını sağlarlar. Probiyotik bakteriler bağırsak yüzeyine tutunabildikleri için patojen mikroorganizmaların tutunmalarına engel olurlar. Bu özellikleri biyolojik etki gösterebilmeleri için çok önemlidir (İnanç ve ark., 2005).

Ayrıca bağırsıklık sisteminin güçlenmesini ve vücudun direnç kazanmasını da sağlarlar bunu da ince ve kalın bağırsaklardaki zararlı bakterilerin yerine geçerek yaparlar. Sindirim için gerekli bazı enzimleri üretirler, laktoz ve proteinin sindirilmesine yardımcı olurlar (Bozdoğan, 2006).

Laktik asit bakterileri probiyotik özelliktedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda probiyotik özelliğe sahip mayalara da rastlanmıştır (Oh ve ark., 1995).

Probiyotik özellikte olup faydalanılan mikroorganizmalar Çizelge 2.3'de gösterilmektedir (Bozdoğan, 2006).

Çizelge 2.3. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler:

<b>Lactobacillus Türleri</b>	<b>Bifidobacterium Türleri</b>	<b>Bacillus Türleri</b>	<b>Pediococcus Türleri</b>	<b>Streptococcus Türleri</b>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>
<i>Lactobacillus cellebiosus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Bacillus lentus</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>		<i>Streptococcus lactis</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bacillus coagulans</i>		<i>Streptococcus diacetilactis</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>			
<i>Lactobacillus casei</i>				
<i>Lactobacillus curvatus</i>				
<i>Lactobacillus fermentum</i>				
<i>Lactobacillus plantarum</i>				
<i>Lactobacillus johsonli</i>				
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>				
<i>Lactobacillus helveticus</i>				
<i>Lactobacillus salivarius</i>				
<i>Lactobacillus gasseri</i>				

<b>Bacteriodes Türleri</b>	<b>Propionibacterium Türleri</b>	<b>Leuconostoc Türleri</b>	<b>Küfler</b>	<b>Mayalar</b>
<i>Bacteriodes capillus</i>	<i>Propionibacterium shermanii</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacteriodes suis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>		<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Candida torulopsis</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>				
<i>Bacteriodes amylophilus</i>				

### 2.3.1. Prebiyotik ve probiyotiklerin sağlığa etkileri

Günümüzde tüketici tercihleri gıdalar için sadece lezzet ve besin içerikleri açısından değil özel faydalar da sağlayıp sağlamaması konusunda değerlendirmeler yapmaktadırlar. Besin değerlerinin ötesinde, sağlık veya teknolojik açıdan fayda sağlayan gıdalara veya gıda bileşenlerine probiyotikler, prebiyotikler ve simbiyotik grupları örnek olarak verilebilir (Karagözlü ve ark., 2006).

İnulin gibi fruktanlar prebiyotik özellik gösterip sindirim sistemin üst kısımlarındaki sindirim enzimlerinden etkilenmeyip, bifidobakteriler için besin görevi görür ve çoğalmalarını seçici olarak uyarır ayrıca patojen mikroorganizmaların azalmasına sağlar. Prebiyotikler bağırsaklarda fermentasyona uğrarlar ve kalsiyum gibi minerallerin emilimi açısından önem arz ederler (Van Loo, 2004; Manning ve Gibson, 2004).

Prebiyotikler inülin, frukto- ve galaktooligosakkarit gibi kısa zincirli karbohidratlardır ve kolon bakterilerine substrat olurlar. Prebiyotiklerin en büyük faydaları kolonik mikroflorada yer alan laktobasiller ve bifidobakterilerin üremesini seçici olarak uyarmalarıdır (Haschke ve ark., 2001; Hasler, 2002).

Prebiyotikler kalın bağırsaklarda fermentasyona uğrayarak bir takım bileşenler meydana çıkarırlar. Bunlar; hidrojen gazı, laktat, kısa zincirli yağ asitleri (asetik, bütirik ve propiyonik asitler), karbondioksit ve metandır. Böylelikle bağırsak pH'sını düşürürler. Bağırsakta pH değerinin düşmesi zararlı mikroorganizmaları inhibisyona uğratar, sekonder safra asitlerini azaltır, kalsiyum, magnezyum, demir ve çinko gibi minerallerin çözünürlüğünü ve absorpsiyonunu artırır (Lidestri ve ark., 2003). Ayrıca prebiyotik fitaz aktivitesini tetikleyerek lif içinde bulunan kalsiyum ve diğer mineralleri bağlayan fitik asitin mikroflora tarafından parçalanmasını sağlar. Yapılan bir çalışmada, sıçanlara % 5 fruktooligosakkarit içerikli bir beslenme programı hazırlanmış sonuçta kalsiyum emiliminin % 60-65 oranında arttığı görülmüştür. Ayrıca sıçanların kemiklerindeki mineral yoğunluğunun azalması da kontrollü hale getirilmiştir (Morohashi ve ark., 1998).

Anne sütündeki karbohidratların dikkate değer bir bölümü oligosakkaritlerden meydana gelir, bu da bebekleri diyareden, solunum sistemi ve orta kulakta oluşan enfeksiyonlardan korur (Coppa ve ark., 2004).

Probiyotik süt ürünlerinin kullanımı gelişmiş ülkelerde hızla artmaktadır. Ülkemizde de bu tip ürünlerin kullanılması özellikle de çocukluk çağında tüketilmesi gelecek nesillerin sağlığı açısından oldukça önemlidir (Özden, 2005).

Probiyotiklerin etkin olabilmesi için günde  $10^9$ - $10^{10}$  bakteri alınmalıdır. İnsanlarda enfeksiyona neden olduğu hususunda da herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Isolauri ve ark., 2002).

Probiyotik gıdaların, kronik gastrit ve peptik ülser patogeneğinde çok önemli bir rol oynayan *Helicobacter pylori*'nin tedavisinde faydaları olduğu klinik olarak ispatlanmıştır. Ayrıca sindirim sistemi sorunlarını da azalttığı belirtilmiştir (Vomero ve ark, 2014).

Konuyla ilgili çalışmalardan birinde, 20-27 yaş aralığındaki yetişkinlere farklı probiyotik türleri içeren 200 ml kefir günlük olarak verilmiş ve sonuçta tüketen grupta diş çürüklerine neden olan *Streptococcus mutans* miktarının önemli düzeyde azaldığı görülmüştür (Çoğulu ve ark, 2010).

Yine diş çürümelerine probiyotiklerin etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalarda da;

-Kakao tozunun suda çözünen özütü kullanılarak *S.sobrinus* (diş çürüğüne neden olan patojenik bir bakteri) ile enfekte edilmiş ratlarda diş çürüklerini azalttığı (Strålfors, 1967),

-Kakaonun *S.mutans* ve *S.sanguinis*'den asit üretimini önemli ölçüde azalttığı (Pervical ve ark, 2006),

-Kakaolu bir gargara hazırlanarak yapılan çalışmada, *S.mutans* sayısının % 20.9, plak skorlarında ise % 49.6 azalma ile sonuçlandığı (Srikanth ve ark, 2008)

Yine çocuklarda yapılan bir çalışmada, klorheksidinli ve kakao içerikli gargaraların antimikrobiyal etkinliği kıyaslanmıştır. Her iki gruptaki çocukların tükürüklerindeki *S.mutans* değerlerinde azalma olduğu, ancak aralarındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür (Venkatesh ve ark, 2011).

### **2.3.2. Fonksiyel gıda olarak probiyotik ve prebiyotik ürün geliştirmek için yapılan çalışmalar**

Prebiyotik bir bileşenin probiyotik canlı sayısına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, prebiyotik life sahip olan Stevia (Hindiba Kökü Ekstresi, Stevia Yaprağı Ekstresi) eklenmesiyle yapılan dondurmalarda duyuşal özelliklerin kötü etkilenmediği, dondurmaların fiziksel özelliklerinde olumlu gelişmeler olduğu, Stevia ilavesinin % 50'ye kadarki oranının probiyotik canlı miktarlarını negatif yönde etkilemediği görülmüştür. Fakat, Stevia oranının artması kurumadde ve viskozite değerlerinde düşüşe neden olmuştur. Bu nedenle dondurma yapımında şeker ikamesi olarak % 50'ye varan oranlarda Stevia eklenebileceği kanısına varılmıştır (Kırmacı ve ark., 2014).

Yenilebilir film ve kaplamalar için probiyotik içeriğinin denendiği bir çalışmada; unlu mamuller *Lactobacillus rhamnosus* GG eklenerek probiyotik özellik kazandırılan peynir altı suyu konsantratu ve sodyum-aljiant bazlı yenilebilir filmlerle kaplanmıştır ve *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin raf ömrünü nasıl etkileyeceğine bakılmıştır. Sonuçta, probiyotik filmlerle kaplanan unlu mamulelerde bayatlamının ciddi ölçüde geciktiği, raf ömrünün uzadığı görülmüştür. Ayrıca, probiyotik bakteri eklenmesinin ürünlerin tekstürel özelliklerinde de iyileşmeye neden olduğu ortaya konulmuştur (Soukoulis ve ark, 2014).

Yapılan bir çalışmanın birinde lordan 3 koloni lactobasillus türü elde edilmiştir. Bu kolonilerden biri *Lactobasillus asidofilus* ile % 100 benzerlik göstermiştir. Bu koloni gram boyama testi, hareketlilik ve katalaz testi yapıldıktan sonra liyofilize edilmiştir. Daha sonra çikolata formülasyonuna katılmıştır. Çikolata hazırlığında; 200 mg süt tozu ve 80 mg çikolata küpleri ısıtılarak eritilmiş ve bir miktar süt ilave edilmiştir. Normal sıcaklığa düşünce dondurularak kurutulmuş bakteri eklenmiştir. Çikolata katılaştığında parçalara bölünüp alüminyum folyo ile paketlenmiştir. Probiyotik çikolata hazırlanmıştır. Bu uygulamada probiyotik özellikli canlı, çikolata ile çok kolay bir şekilde asimile edilmiştir ve böylelikle probiyotik almak için tıbbi bir tablet yutmaktansa çikolata ile daha cazip hale getirilmiştir (Kale, 2014).

Barry Callebaut markası ortağı Lal'food ile birlikte uzun bir araştırma dönemi sonunda endüstriyel ölçekte ilk probiyotik çikolatayı 2007 yılında üretebilmiştir. Bunun için özel bir proses geliştirilmiş ve üretilen probiyotik çikolata klinik olarak belgelenmiştir. Ayrıca patentli bir koruma teknolojisi ile yapılan mikroenkapsülasyon yöntemi kullanılmıştır, Probiocap™. Günlük sadece 13.5 g probiyotik çikolata dengeli bir bağırsak florası sağlamaya yeterlidir.

Çikolatanın probiyotik taşıyıcısı olarak değerlendirildiği diğer bir çalışmada, *Lactobacillus helveticus* CNCM I-1722 ve *Bifidobacterium longum* CNCM I-3470 mikroenkapsüle karışımı kullanılmıştır. Bu çalışmada, probiyotikler bitter çikolata, sütlü çikolata ve süte eklenip, karın ve ince bağırsak boyunca korunduğunun değerlendirilmesi için dizisel bir in vitro düzeneği kullanılmıştır. Her iki çikolata da yüksek koruma sağlamıştır (sütlü çikolatada *L. helveticus* and *B. longum* için sırasıyla % 91 ve % 80, sütte % 20 ve % 31). Uzun vadeli bir uygulama için, Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME) kullanılmış ve yapılan sayımlar iki probiyotiğin de başarılı bir şekilde simüle kolon bölümlerine ulaştığını göstermiştir. Sindirim sistemimizin simülasyonu, spesifik bir gıda matrisinin kalın bağırsağa

bakterilerin ulaşması için probiyotik zincire üstün bir koruma sunduğunu göstermiştir (Possemiers ve ark., 2010).

Çikolata musuna probiyotik ve prebiyotik bileşenler ekleyip duyuşal kabul görmüş ve tüketici sağlığı için potansiyel ürün perspektifini çeşitlendirmeyi hedefleyen bir çalışma daha yapılmıştır. Çalışmada *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (P) veya prebiyotik bileşen inülin ile birlikte hazırlanarak katkılandırılmış probiyotik ve sinbiyotik çikolata musu ve kontrol musu hazırlanmıştır. *L. paracasei* miktarı ve toplam sayım, duyuşal performans testleri 28 gün boyunca 4 °C’de depolanırken yapılmıştır. Depolama denemeleri, 28 gün sonunda probiyotik canlılığının devam ettiğini göstermiş ve atık bileşenler gözlenmemiştir. Çalışma sonunda *L. paracasei* ve inulinin çikolata musunda başarılı bir birleşme gösterdiği görülmüştür. İnulin, *L. paracasei* canlılığını engellememiştir. Ayrıca bu çalışmanın prebiyotik kaynağı olarak soya-oligofructosaccharide, galacto-oligosaccharide, xylo-oligosaccharide; probiyotik kaynağı olarak da *L. bulgaricus*, *L. case*, *L. acidophilus* veya *bifidobacterium* kullanılarak da denenebileceği ifade edilmiştir (Patel ve ark., 2008).

Enkapsüle *Lactobacillus casei* NCDC 298 ve inülin ile ve de bunların eklenmediği sütlü çikolatalar hazırlanmıştır. Buzdolabı şartlarında 60 gün boyunca *Lactobacillus* miktarları 8.0 log cfu/g’ın üzerinde olmuştur. Depolama boyunca ürünlerde maya, küf ve koliform tespit edilmiştir. Enkapsule lactobasilli ile hazırlanan sütlü çikolatalar panelistler tarafından beğenilmiştir. Sinbiyotik sütlü çikolata ile beslenen farelerde fekal laktobasilli artış gösterirken, fekal koliformlar ve b-glucuronidase aktivitesi azalmıştır. Böylelikle, probiyotik laktobasilli için sütlü çikolatanın çok iyi bir taşıyıcı gıda olduğu görülmüştür. Dahası, enkapsule lactobasilli ve inülin eklenmesinin ürünün duyuşal kalitesini etkilemediği de belirtilmiştir. Üstelik insanda yapılan in vivo çalışmalar çikolata ile canlı probiyotik hücrelerin sindirim sistemine taşınmasının mümkün olduğunu göstermiştir (Mandal ve ark., 2012).

Prebiyotik ve probiyotik ilişkisinin çikolatalı ürünlerde denendiği diğer bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus*’un dondurarak kurutulması, bu formda depolanma sürecinde ve sonrasında stabilitesini ve canlılığını koruması için farklı lif preparatlarının kabiliyeti araştırılmıştır. Bunun için taşıyıcı olarak elma suyu ve çikolata kaplamalı kahvaltılık tahıllar kullanılmıştır. Dondurarak kurutma deneyinde buğday dekstirini ve polidekstrozun *L.rhamnosus* için umut verici taşıyıcılar olduğu kanıtlanmıştır. Hem dondurarak kurutma şartlarında hem de 37 °C’de depolamadaki stabilitesi kontrol grubuyla (sükroz) kıyaslanmıştır. Elma lifi ve inülin taşıyıcılarını kullanmak dondurarak

kurutma şartlarında oldukça iyi sonuçlar vermiş fakat 37 °C’de daha zayıf stabilite göstermiştir. Canlı *L. rhamnosus* hücreleri % 20 β-Glukan içeren yulaf unuyla birlikte (pH 3.5) elma suyuna eklendiğinde, hücrelerin canlılığı 4 °C ve 20 °C’de sükrözlu, buğday dekstrinli ve polidekstrozludan çok daha iyi olmuş, fakat dondurarak kurutulmuş hücrelerde yulaf unun koruyucu etkisi görülmemiştir. 20 °C’deki dondurarak kurutulmuş *L.rhamnosus* hücrelerinin stabilitesi çikolata kaplamalı kahvaltılık tahıllarda, düşük pH’lı elma suyuna kıyasla daha yüksek olmuştur. Buğday dekstrini ve polidekstroz, çikolata kaplamalı kahvaltılık tahıllarda yulaf ununa göre daha iyi taşıyıcılar olduğu kanıtlanmıştır. Farklı taşıyıcılarla stabilite çalışmalarında lif preparatlarına bağlanmış 2 *L. rhamnosus* suşunun farklı kabiliyetlerine bakılmaksızın çalışıldığı deneyde paralel sonuçlar elde edilmiştir (Saarela ve ark., 2006). Sonuçta bu çalışmada gıda matrislerinde proses ve depolama esnasında probiyotiklerin canlılığını ve stabilitesini korumada teknolojik uygulamalarla bazı lif preparatlarının potansiyeli ortaya konulmuştur. % 20 β-glukanlı yulaf unu düşük pH’lı meyve suyunda depolanma esnasında canlı hücreleri koruyabilmesine karşın buğday dekstrini ve özellikle polidekstroz dondurarak kurutma taşıyıcıları (probiyotik hücreler için) olabileceği kanıtlanmıştır. Sonuçlar; probiyotiklerin canlılığını ve stabilitesini devam ettirmek için liflerle probiyotik-lif çiftleri geliştirmenin mümkün olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bu fonksiyonlar kısmen uygulamaya bağlıdır (probiyotik ürünün su aktivitesi, pH ve kompozisyonu gibi) (Saarela ve ark., 2006).

Sağlık ihtiyaçlarını karşılayacak lezzetli gıdaların tüketiciler tarafından arzulamasıyla birlikte popülaritesi artan fonksiyonel gıdaların geliştirilmesine yönelik daha pek çok çalışma mevcuttur. Bunlarda probiyotik gıdaların faydalı olabilmeleri için tüketim zamanında canlı ve aktif olmaları gerekmektedir. Konuyla ilgili yapılan başka bir çalışmanın amacı, yaklaşık  $10^9$  CFU/gün konsantrasyonlu *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501® ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502® karışımı 1:1 (SYNBIO®) olan olgunlaştırılmış peynirler, salam, çikolata ve dondurma gibi yeni probiotik gıda ürünleri geliştirmektir. Probiyotiklerin hayatta kalması ve canlılığı gıdaların raf ömrü boyunca incelenmiştir. Raf ömrü sonunda tüm süt ve süt dışı gıdalardaki canlı probiyotik bakterilerin değerleri  $10^7$ - $10^9$  CFU/g olmuştur ve bazıları son kullanma tarihinden sonra bile değerlerini korumuştur. Çalışmanın sonuçlarına dayanarak, bütün süt ürünleri ("Caciotta" peyniri, "Pecorino" peyniri, "Büscion" İsviçre peyniri ve "Fiordilatte" dondurma) ve çalışılan diğer gıdalar ("Ciauscolo" salam, Larded salam, İsviçre küçük salamı, sütlü çikolata, bitter çikolata, organik reçel ve çikolatalı köpük-çikolata mus) raf

ömürleri boyunca ve bazı durumlarda raf ömrü sonunda da yüksek canlılık göstermeleri nedeniyle probiyotik sağlık etkilerini sunmak için mükemmel taşıyıcılar olduğu görülmüştür.

Sonuçta, probiyotik kombinasyon gıdaların raf ömrü boyunca güçlü ve normal bir şekilde yüksek canlılık gösterirken test edilen gıdaların duyuşal özelliklerini değiştirmemiştir. Ayrıca, raf ömründen sonra da probiyotik suşların canlılık testi, bütün gıdalarda yüksek değerler (CFU/g) vermiştir. Üstelik, SYN BIO®'nun varlığı, probiyotikçe zengin gıdalara orijinal gıdalara göre daha uzun raf ömrü vermeye de imkan vermiştir. Tüketici, kaliteli bir gıda talep eder ve bu ancak ürünün raf ömrünü optimize etmekle en uygun hale getirmekle mümkündür, bundan dolayı biyolojik aktivite ve duyuşal profil bozulmuyorsa, probiyotikçe zenginleştirilmiş gıda ürünü tüketici beklentilerini karşılamada başarılı olmuştur. Çalışmanın esas amacının probiyotiklerin ilaç olarak alınmasını ortadan kaldırarak, yemeklerden hoşnut ederken sağlık savunmasını sağlamak için normal beslenmenin bir kısmı olan gıdalara ve içeceklere probiyotik suşlarını katmak ve bu gibi fonksiyonel ürünleri kapsül veya toz gibi mevcut konsantre edilmiş probiyotik preparatlarından ayırmak olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca, insanların günlük rutinlerine hap olarak girmesinden gıdalara probiyotik eklemek daha iyidir. Probiyotikçe zengin gıdalar normal günlük bir diyeti karakterize eden tüm besin maddeleri ve bileşenlerini ihtiva ederken, probiyotik diyet takviyeleri ise yalnızca iyi bakterileri içermektedir (Coman ve ark., 2012).

Son yıllardaki bir çok çalışma, probiyotiklerin alınmasından elde edilen faydaları ve laktobasilleri ve bifidobakterileri içeren birçok ürünün formüle edildiğini göstermiştir. Buna yönelik başka bir çalışmada sadece *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* LBC 82, eklenerek (P) ve prebiyotik bileşen inülin eklenerek (S) probiyotik ve sinbiyotik çikolata musları ve aynı şekilde kontrol musu (C) da hazırlanmıştır. Bu ürünler, *L. paracasei* ve bileşenlerin popülasyonu için 5 °C'de 28 gün boyunca izlenmiştir ve duyuşal açıdan da test edilmiştir. Depolama denemeleri probiyotik canlılığın 28 günden uzun sürdüğünü göstermiş fakat maya ve küf gelişimini ürünün raf ömrünü sınırlayabileceği ifade edilmiştir. Çikolata musu, *L. paracasei* için mükemmel bir taşıyıcı olduğunu göstermiş ve prebiyotik bileşen-inülin eklenmesinin canlılığı engellemediği görülmüştür. Dahası, probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotik bileşen eklenmesi ürünün duyuşal durumunu etkilememiştir (Aragon-Alegroa ve ark., 2007).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çikolata hammaddeleri Çumra Şeker A.Ş. çikolata fabrikasında Ar-Ge Merkezi projeleri kapsamında karşılanmıştır. Prebiyotik olarak kullanılan inülin Beneo firmasının Orafiti GR adlı ürünüdür. Bu ürün, hindiba kökünden elde edilen inülinidir ve granüle toz formundadır. Hindiba inülini fruktoz üniteleri üzerine  $\beta(2-1)$  bağlarıyla bağlı oligo- ve polisakkaritleri içermektedir. Hemen her molekül glukoz birimi ile bitirilmiştir. Hindiba inülininin fruktoz veya glukoz birimlerinin (polimerizasyon derecesi veya DP) toplam sayısı genellikle 2 ile 60 arasında değişmektedir. Probiyotik olarak CHR-Hansen markasına ait Probiotic Culture nu-trish BB-12 ürünü kullanılmıştır. Çikolataların üretimi için Çumra Şeker Entegre Tesisleri Çikolata ve Şekerli Ürünler Fabrikasına ait Ar-Ge Merkezi laboratuvarlarındaki Bühler simülatif üretim tesisi kullanılmıştır.

##### 3.1.1. Çikolata hamurlarının üretimi

Öncelikle aşağıda formülasyonları verilen çikolata hamurları elde edilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Çikolata formülasyonları

Çikolata Bileşenleri (g 100 g <sup>-1</sup> )	K*	P	S6	S8	S10
Şeker	38.59	38.59	32.59	30.59	28.59
Kakao Yağı	26.7	26.7			
Kakao Kitlesi	11	11	11	11	11
Vals tipi Yağlı Süttozu	13	13	13	13	13
Yağsız Süttozu	8	8	8	8	8
DPST*	2	2	2	2	2
Lesitin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
PGPR	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Aroma	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
İnülin	-	-	6	8	10
Bifidobacterium animalis subsp lactis BB-12	-	0.01	0.01	0.01	0.01
Toplam	100	100	100	100	100

K\*=Kontrol: Probiyotik mikroorganizma ve prebiyotik ingredient ilave edilmeyen

P=Probiyotik: Probiyotik mikroorganizma (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, Chr-Hansen, Hoersholm, Denmark) ilave edilen

S=Sinbiyotik: Probiyotik mikroorganizma (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) ve prebiyotik ingredient inülin(Raftiline GR, Orafiti, Oreya, Belgium) ilave edilen

S6=%6 İnülin içeren sinbiyotik, S8=%8 inülin içeren sinbiyotik, S10=%10 inülin içeren sinbiyotik

\*DPST: Demineralize peyniraltı suyu tozu, PGPR: Polyglycerol polyricinoleate

Bileşenler Alexanderwerk 5kg lık mikserde karıştırılmıştır.



Şekil 3.1. Mikser

Daha sonra karışım simülatif çikolata hamur hattına alınıp 3'lü silindirde (Buhler SDY 200, Uzwil, Switzerland) öğütülerek toz haline getirilmiştir. Burada bileşenlerin partikül boyutu 700-800  $\mu$ 'lardan 18-22  $\mu$ 'lara kadar düşürülmüştür. Böylelikle hem nihai üründe pürüzsüz bir lezzet hissedilmesi sağlanmıştır hem de bileşenlerin içeriğindeki yağın konçlama esnasında açığa çıkması için zemin hazırlanmıştır.



**Şekil 3.2.** 3'lü Silindir

Toz haline getirilen karışım konçlama aşaması için Bühler 5 kg kapasiteli konca (ELK'olino single-shaft conche, Bühler AG, Switzerland) aktarılmıştır.



Buhler ELK'olino



Şekil 3.3. Buhler konçlama ünitesi

Konçlama işleminin plastik faza geçmesi sırasında mikserle katılmayan yağın bir kısmı (toplam yağın % 25'i) ve toplam lesitinin % 12'si ilave edilmiştir. Bu işlem sayesinde toz halindeki yarı mamul viskoz bir yapı kazanmıştır. Konçlamanın son adımında sıvı fazda ise kalan yağın ve lesitini tamamı ve PGPR ilave edilmiştir. Konçlama ile çikolata hamuru hem işlenebilen sıvı bir form kazanmış hem de lezzet gelişimi tamamlanmıştır. Böylece çikolata hamuru elde edilmiştir.

### 3.1.2. Temperleme ve kalıplama

Belirtilen formülasyonlarda hazırlanan çikolata hamurları iki spatula yardımıyla elde temperlenmiştir. Temperleme sırasında çikolatalar öncelikle 40 °C'ye ısıtılmış ve 27 °C'ye kadar düşürülmüştür, daha sonra da 30 °C'ye ısıtılmıştır. Temperlenmesi tamamlanan hamurlar 30 °C'ye ısıtılan kalıplarda kalıplanmış, 10 °C'de soğutulmuştur. Bu aşamada formülü probiyotik içeren hamurlara temperleme öncesi ve sonrası olmak üzere probiyotik canlılar ilave edilerek etiketlenmiştir.



Şekil 3.4. Temperleme ve kalıplama

Çikolatalar üretimleri sonrasında 18 °C’de depolanmıştır. Ürünlerin ilk gün ve 60 gün depolama sonunda fizikokimyasal, tekstürel, yağ asidi kompozisyonları ve duyuusal değerlendirmeleri yapılmıştır.

### **3.2. Yöntem**

Çalışmanın analizleri Torqu Çikolata Ar-ge Merkezi Laboratuvarları (Akredite) ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü laboratuvarlarında yapılmıştır.

#### **3.2.1. Nem (Etüv)**

Çikolata örneklerinde nem tayini; TS 7800’e göre yapılmıştır. Standart yöntemde örneklerden 4 g alınarak darası alınmış, kurutulmuş nem kaplarına koyularak etüvde nemi 102 °C’de 5 saat süre ile uçurulmuştur. İlk ağırlık ile son ağırlık farkı % hesaplama ile nem değeri elde edilmiştir.

#### **3.2.2. Su aktivitesi (aw)**

Bu tayin Novasına cihazı ile 25 °C’de yapılmıştır. Ürün homojen hale getirildikten sonra cihazın numune kaplarına kabın alt yüzeyini kaplayacak şekilde numuneyi sıkıştırmadan ya da kabı taşırmadan konulmuştur. Bu sırada kapları kapağı açılırken eldiven kullanılmıştır. Kapak kapatılmış ve start tuşuna basılmıştır. Analiz bittiğinde sonuç ekrandan okunmuştur.

#### **3.2.3. pH değeri**

Eritilmiş çikolataların pH değeri pH metre (WTW, Weilheim, Germany) kullanılarak ölçülmüştür.

#### **3.2.4. Viskozite**

Çikolata örneklerinde viskozite tayini Haake VT-550 marka viskozimetre ile 40 °C’de yapılmıştır. Analiz metodu olarak; International Office of Cocoa, Chocolate and Sugar Confectionary (IOCCC), “Viscosity of Cocoa and Chocolate Products”, kullanılmıştır. Örnek haznesinin üst çizgisine kadar çikolata doldurulup hazne yerine yerleştirilmiştir ve çikolata analizlerinde kullanılan SV DIN rotoru takılarak viskozimetre çalıştırılmıştır. Analiz sonuçları, viskozimetrenin led ekranından okunmuştur.

### 3.2.5. Toplam yağ tayini

Çikolata örneklerinde yağ tayini; TS 7800:2010'a göre yapılmıştır. Behere 10 gr civarında numune tartılıp, tartılan miktar hesaplamada kullanılmak üzere not edilmiştir. Numune üzerine 5N'lik HCl dökülerek ısıtıcı ile yakılmıştır. Siyah renk oluşumu gözlenene kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Yanmış çözelti filtre kağıdı ile süzülüp filtre kağıdı üzerindeki süzüntüde HCl kalmayınca kadar 70 °C'lik su ile yıkanır. AgNO<sub>3</sub>, HCl bulunan ortamda beyaz renk vermektedir. Yıkama esnasında süzülen suya AgNO<sub>3</sub> damlatılır, beyazlaşırsa yıkamaya devam etmek gerekir. Yıkamadan sonra filtre kağıdı ile içinde kalan numune Soxhelet kartuşlarına yerleştirilmiştir. Kartuşlar içindeki numunenin kuruması için ve Soxhelet beherleri de sabit tartıma getirilmesi için etüve 105 °C'ye konulmuştur. Kuruyan beherlerin darası hassas terazi yardımı ile alınarak not edilmiş ve içerlerine 125 ml petrol eteri doldurulup Soxhelet cihazına yerleştirilmiştir. Kartuşlarda Soxhelet'teki yerlerine bağlanmış ve cihaz çalıştırılmıştır. Cihaz 8 döngü ile numune içindeki yağı petrol eteri ile çözerek beherlere çıkarır ve en son beherdeki eteri uçurur, beherde sadece numuneden ekstrakte edilen yağ kalır. Yağ da içerisinde kalması muhtemel az miktardaki eterin uçması için 1.5-2 saat etüvde bekletilmiştir ve hassas terazide tartımları yapılmıştır.

- Yağ(%)=  $\frac{\text{Beher son ağırlığı}(\text{gr}) - \text{beher darası}(\text{gr})}{\text{ilk numune ağırlığı}(\text{gr})} \times 100$

### 3.2.6. Peroksit sayısı

Bu tayin EN ISO 27107:2018 metoduna göre yapılmıştır. Numunedeki yağ ekstrakte edildikten sonra 2 gr civarında yağ tartılmış, tartılan miktar hesaplamada kullanılmak üzere not edilmiştir. Üzerine 10 ml kloroform eklenip çalkalanmıştır, 15 ml asetik asit ve 0.6 ml KI eklenmiştir. Reaksiyonun başlaması için 30 ml saf su ilave edilmiştir. 1 ml nişasta ayırıcı (5g/1000 ml'lik indikatörlü nişasta çözeltisi) eklenmiş renkte koyulaşma oluyorsa peroksit var yorumu yapılarak miktarını bulmak için 0.1 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (sodyum tiyosülfat) ile titre edilmiştir. Yapılan harcama not alınmış formüle göre hesaplama yapılmıştır. .

$$\text{Perosit sayısı} = N \times V \times F \times 1000 / m \text{ ( meq O}_2\text{/kg )}$$

N: Sodyum tiyosülfat normal

V : Sodyum tiyosülfat sarfiyatı, mL

F: Sodyum tiyosülfatın faktörü

m : Örnek Miktarı , g

### 3.2.7. Serbest yağ asitliği

Bu tayin EN ISO 660:2009 metoduna göre yapılmıştır. Numunedeki yağ ekstrakte edildikten sonra 2 gr numune yağın üzerine 50 ml etanol-dietileter karışımı (1:1 V/V) ve indikatör olarak 1 ml fenolfitalein çözeltisi katılmıştır. Kuvvetle çalkalandıktan sonra 0.1 N etanollü KOH ile kalıcı pembeliğin ilk tespit edildiği ana kadar titre edilmiştir. Harcanan her ml KOH 0.028gr oleik aside eşdeğerdir.

V= titrasyonda harcanan 0.1 N KOH hacmi (ml)

m= numunenin ağırlığı (gr)

N= etanollü KOH normalitesi

$$\text{FFA (oleik asit cinsinden)} = (V \times N \times 28.2)/m$$

### 3.2.8. Protein tayini

Protein tayini Kjeldahl yöntemi uygulanarak TS 7800:2010'e göre yapılmıştır. Protein miktarı % azot miktarından hesaplanmıştır. Çikolata numunelerinden 0.4 gr numune tartılmıştır. Tüpün içine tartılan numune ve 2 adet Kjeldahl tableti konup üzerine de 15 ml derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiştir. 45 dk hidroliz ünitesinde yakılmıştır. Çözelti soğutulup destilasyon ünitesine bağlanmıştır. Destilasyon süresi 4 dakikadır. 50 ml Borik asit (pH:4.5)'e indikatör eklenerek (brom fenol mavisi+brom krozol yeşili) destilasyona bağlanmıştır. Analiz boyunca yakılıp serbest bırakılan N, NaOH'la birleşerek buharlaşır ve yoğunlaşarak Borik asit tarafından tutulur. 0.1 N'lik HCl ile titre edilmiş ve hesaplanmıştır. Protein miktarı azot miktarının 6.25 katsayısı ile çarpılmasıyla bulunmuştur.

$$\text{N(Azot) miktarı} = \frac{(\text{harcanan HCl(ml)} - \text{blank için harcanan HCl(ml)}) \times N (\text{HCl normalitesi})}{\text{numune ağırlığı (g)}}$$

### 3.2.9. Toplam şeker tayini

Şeker tayini yöntemlerinde şekerlerin indirgen özelliğinden faydalanılır. Bütün monosakkaritler indirgen özelliğe sahiptir. Fakat sakkaroz indirgen özellik taşımaz. Bundan dolayı kimyasal olarak şeker miktarının belirlenmesinde sakkaroz başlangıçta invert şekerle dönüştürülür sonrasında glikoz ve fruktozla birlikte invert şeker olarak belirlenir. Bu yöntemde, invert şekerin fehling çözeltisinde bulunan Bakır-2 Oksiti, suda çözünmeyen Bakır-1 Oksite indirgemesi prensibinden yola çıkılmıştır.

Toplam şeker tayini (Lane-Eynon) TS 7780: 2018 metoduna göre yapılmıştır.

**Carez I (Çinko asetat çözeltisi):** 21.9 g çinko asetat saf suda çözdürülüp üzerine 3 ml glacial asetik asit ekledikten sonra 100 ml'ye tamamlanmıştır.

**Carez II (potasyum ferrosiyanit çözeltisi):** 10.6 gr potasyum ferrosiyanit saf suda çözdürülüp 100 ml ye tamamlanmıştır.

**Fehling A:** 34.64  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  saf suda çözdürüp 500 ml'ye tamamlanmış, süzülükten sonra renkli şişede saklanmıştır.

**Fehling B:** 173 gr sodyum potasyum tartarat ve 50 gr NaOH birlikte saf suda çözülerek ve 500 ml ye tamamlanmıştır. 2 gün kendi haline bırakıldıktan sonra süzümüştür.

**Fenol fitaleyn:** 1 g toz fenol fitaleyn indikatörü alkolde çözüp 100 ml'ye tamamlanmıştır.

**Metilen mavisi:** 1 gr metilen mavisi saf suda çözülmüş ve 100 ml'ye tamamlanmıştır.

**5 N NaOH çözeltisi:** 40 gr NaOH saf suda çözülmüş 200 ml'ye tamamlanmıştır.

**Stok İvert Şeker Çözeltisi :** 9.5 gr saf sakkaroz 1 lt'lik balonda yaklaşık 50 ml saf su ile çözdürülüp üzerine 5 ml derişik HCl konulduktan sonra 3 gün 20-25 °C'de inversiyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda balon çizgisine saf su ile tamamlanmıştır.

**Standart İvert Şeker Çözeltisi:** Stok invert şeker çözeltisinden 50 ml alınmış, 5 N NaOH ile nötrledikten sonra 200 ml'ye tamamlanmıştır. Bunun 1 ml'sinde 2.5 mg invert şeker bulunmaktadır.

10 g civarında numune tartılıp miktar not edilmiştir. Numune 100 ml'lik suda çözdürülmüştür. 10 ml Carez I ve 10 ml Carez II eklenmiş 1 dk karıştırılmıştır. 200 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. Çözelti 15-20 dk bekletilip çökelti oluştuğunda süzgeç kağıdı ile süzümüştür. Süzüntüden 50 ml alınmış, 100 ml'lik balon jojeye konulmuştur. ve 5 ml derişik HCl eklenip çalkalanmıştır. Çözelti 67 °C'ye ısıtılmıştır. 5 dakika aynı sıcaklıkta tutulmuş ve soğuk su altında hızlı bir şekilde 20 °C'ye gelene kadar soğutulmuştur. Daha sonra çözelti bir erlene aktarılıp 2-3 damla fenolfitalein eklenmiştir. 5 N'lik NaOH ile pembe renk olana kadar titre edilip nötrleştirilmiştir. 100 ml'ye tamamlandıktan sonra bu çözelti titrant olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan çözelti bürete aktarılmıştır, erlene 5 ml Fehling A, 5 ml Fehling B ve 10 ml kadar saf su konulmuştur. Erlen bir bek üzerinde 2 dakika kaynatılmış, kaynamaya başladıktan sonra 2-3 metilen mavisi damlatılmıştır. Kaynama devam ederken üzerine titrant damlatılarak titrasyona devam edilmiştir. Kiremit rengi oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Sarfiyat kaydedilmiştir. Formül ile sonuç hesaplanmıştır.

$$\text{Faktör} = \frac{\text{Sarfiyat (ml)} \times 2,5}{1000}$$

$$\text{İnver şeker (\%)} = \frac{200 \times \text{Fehling Faktörü} \times 100}{\text{Numune Mik. (gr)} \times \text{Sarfiyat (ml)}}$$

$$\text{Toplam şeker (\%)} = \frac{200 \times 100 \times \text{fehling Faktörü} \times 100}{\text{Numune mik (gr)} \times 50 \times \text{Sarfiyat (ml)}}$$

### 3.2.10. Kül tayini

Çikolata örneklerinde kül tayini; TS 7800:2010'e göre yapılmıştır. Numune desikatörde soğutulan krozelere 3 g civarı tatrılmıştır, 16 saat süre ile yakılmış, yakma işleminden sonra soğutularak tartılıp, ilk ağırlık ile son ağırlık farkı hesaplanmış ve % kül miktarı elde edilmiştir.

### 3.2.11. Yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi

Numuneler, AOCS (1993)'nin Ce 2-66 nolu metoduna göre BF3-metanol ile yağ asiti metil esterlerine dönüştürülmüştür (Anonim, 1993). Yağ asiti metil esterleri kapiler gaz kromatografisi cihazına 0.5 µl enjekte edilerek yağ asiti bileşimlerini gösteren kromatogramlar elde edilmiştir. Kapiler gaz kromatografisinin özellikleri ile seçilecek parametreler şu şekildedir:

Kapiler gaz kromatografisi : Perkin-Elmer 8320B

Dedektör : Alev iyonizasyon dedektörü (FID)

Kolon : % 100 sianopropil polisiloksan ile kaplanmış, silika kapiler kolon (CP Sil 88, 50 m x 250 µm i.d., 0.20 µm film; Chrompack, Middelburg, Hollanda)

Sıcaklıklar : Dedektör : 250 °C; Kolon : 177 °C; Enjeksiyon bloku : 250°C

Gazlar : Taşıyıcı gaz, Helyum : 1 ml/dk; Hava : 250 ml/dk; Hidrojen : 35 ml/dk.

Elde edilen pikler çıkış zamanlarına göre tanımlanmış, alanları ise integratör vasıtasıyla her yağ asidinin bütün içindeki oransal niceliğine göre hesaplanmıştır (Hışıl, 1988).

### 3.2.12. Renk ölçümleri

Çikolata renkleri spektrofotometre ile Konica Minolta metoduna göre belirlenmiştir. CIELAB sisteminde renkleri ifade etmek için SCE modu (Specular light excluded) kullanılmıştır. Burada L, 0 (siyah)'dan 100 (beyaz)'e kadar olan parlaklık; a, yeşil-kırmızı ve mavi-sarı renklerini ifade etmektedir. Ölçümler 5 kez tekrarlanmış ve sapmalar hesaplanmıştır.

### 3.2.13. Partikül irilik ve dağılımı

Çikolata örnekleri ortam sıcaklığında (22 °C) iso-bütanol (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) ile çözündürülmüş, partikül irilik ve dağılımları Malver MasterSizer 3000 cihazı ile ölçülmüştür.

### 3.2.14. Tekstür ölçümleri

Erimiş çikolataların viskozite indeksi TA.XT Plus Tekstür Analiz Cihazı (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK) ile back extrusion rig donanımı kullanılarak belirlenmiştir. Katı çikolataların sertlik değerleri penetrasyon probu kullanılarak ölçülmüştür.

### 3.2.15. Bifidobacterium sayımı

Bifidobacterium sayımları için % 10 Cysteine hydrochloride içeren çözeltiden MRS agara (Merck) 5 ml ilave edilmiştir. Uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra agar anaerobik şartlarda 37 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonu koloniler sayılarak koloni oluşturan birimin logaritması (log kob/g) alınarak verilmiştir (Chr Hansen, 2007).

### 3.2.16. Genel beğeni

Örneklerin duyuusal değerlendirmeleri yapılırken yaklaşık 2.5 g çikolata üç basamaklı sayılarla kodlanmış kaplarda oda sıcaklığında (22 °C) servis edilmiştir. Örnekler arasında filtrelenmiş su kullanımı önerilmiştir. Çikolatalar on panelist tarafından genel beğeni yönünden 9 puan üzerinden değerlendirilmiştir.

### 3.2.17. İstatistiksel değerlendirme

İstatistiki değerlendirmeler SPSS for Windows (version 16) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Çikolataların Fizikokimyasal Özellikleri

Çikolataların fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çikolatalar hedeflenen parametreler baz alınarak hazırlanmıştır. Temperleme öncesi *Bifidobacterium* eklemesi yapıp gerekli analizler için numune ayrılıp temperleme sonrasında da *Bifidobacterium* eklemesi yapıp analiz numuneleri ayrılmıştır. Temperleme işlemi manuel yapılmış olup bütün çikolatalarda temper indeksi 4-7 aralığında olacak şekilde prosese devam edilmiştir. Çikolatanın işlenmesi açısından temper indeksinin 4-7 aralığında olması gerekmektedir. Aksi halde çikolata hamurunun son ürüne işlenmesi mümkün olmamaktadır. Bu değerler altında kaldığı süre çikolatanın kalıptan çıkması problemlili olup, bu değerler üzerinde ise raf ömrü açısından erken beyazlaşma sorunları görülebilmektedir.

Bunu şu şekilde açıklamak da mümkündür; çikolata yeterince temperlenmezse veya hiç temperlenmezse, soğutma esnasında kristalizasyon sıcaklığı açığa çıkacaktır. Çünkü sıvı fazda olan yağ katı forma geçmek zorundadır. Sıcaklıktaki belli bir artış kristalizasyonun başlangıcında gözlenebilir. Maksimuma ulaştıktan sonra tekrar sapacaktır. Yetersiz temperlenmiş çikolatadaki bu durum şekil verme problemi, yağ çiçeklenmesi gibi problemlere neden olur. Çünkü son ürünün soğutulması esnasında yeterince stabil olmayan kristaller mevcuttur.

Çikolata fazla temperlendiğinde çok fazla stabil kristal tohumları içerebilir. Bu, çikolatanın reolojisinden anlaşılabilir. Çünkü sıvı yağın belli bir kısmı çikolatanın sürekli fazından geri çekildiği için ve şimdi katı forma geçeceğinden, pompalanan üründe daha az sıvı yağ mevcuttur. Çikolata kalıba ulaşmadan önce katılaştır, kalıpta daha az büzülmeye ve kalıptan çıkma problemlerine neden olur.

Sonuç olarak elde edilen örneklerin hepsinin temper indeksi proses gereği olarak 4-7 aralığında çalışılmıştır.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda çikolataların nem değerleri kontrol grubu ile ciddi fark oluşturacak bir değişime uğramamıştır.

Protein miktarları temper öncesi grupta kontrol grubuna nazaran artan inülin miktarı ile birlikte düzenli bir artış göstermiştir, temper sonrasındaki grupta da genel manada bir artış görülmüştür.

Toplam yağ oranlarına bakıldığında, temper öncesi grupta ve temper sonrası grupta inülsiz numunelerde daha az olmak kaydıyla azalmalar göze çarpmaktadır, artan inülin miktarı ile her iki grupta da toplam yağ miktarında azalmalar gözlenmiştir. Bu durumda *Bifidobacterium* 'un yaşamsal aktivitesinde yağ kullanımından bahsetmek mümkündür.

Kül oranları, temper öncesi grupta daha hızlı bir düşüş göstermektedir. Bu durumun da canlı aktivitesi kaynaklı olduğunu düşünülebilir.

Toplam şeker ve su aktivitesi sonuçlarında değişen parametrelere rağmen örnekler arasında önemli farklılıklar ortaya konulamamıştır.

pH değerleri kıyaslandığında, temper öncesi grupta kontrole göre inülin artışıyla birlikte düzenli bir düşüş görülmektedir. Bu da canlılık faaliyetlerinin bir göstergesidir.

Yapılan örneklerin hiçbirinde peroksitide rastlanmadığı görülmüştür, dolayısıyla örneklerde herhangi bir bozulma olmamıştır.

Oleik asit cinsinden serbest yağ asitliği, temper öncesi grupta kontrole göre inülinle birlikte artış göstermiştir.

Renk analizine bakıldığında, hem inülin hem de *Bifidobacterium* eklenmesinin parlaklığı düşürdüğü a ve b değerlerinin durumdan etkilenmediği söylenilebilir.

Partikül iriliği ve dağılımı sonuçları göz önüne alındığında span değeri, temper sonrası grupta inülinle birlikte artış göstermiş fakat inülinin en fazla olduğu örnekte kontrol değerinin de altına düşmüştür. d(0.1) değeri ve d(0.5) değeri kontrol grubuna göre hem temper öncesi hem temper sonrası grupta genel artış göstermiştir. d(0.9) değeri, temper sonrası grupta oldukça yüksek sonuçlar vermiştir.

Çizelge 4.1. Çikolataların fizikokimyasal özellikleri

	K	TÖ				TS				
		P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10	
<b>Nem</b>	1.00±0.03	1.03±0.01	1.03±0.01	1.02±0.06	1.03±0.05	1.01±0.01	1.02±0.06	1.06±0.01	1.04±0.07	
<b>Protein</b>	8.90±0.06	8.96±0.00	9.03±0.01	9.04±0.02	9.04±0.03	8.92±0.14	9.01±0.05	8.97±0.01	9.00±0.02	
<b>Toplam yağ</b>	35.55±0.38	35.15±0.07	35.05±0.49	34.80±0.85	34.75±0.64	35.00±0.28	34.90±0.14	34.60±0.14	34.50±0.14	
<b>Kül</b>	1.61±0.02	1.58±0.04	1.56±0.02	1.55±0.01	1.54±0.01	1.57±0.02	1.59±0.06	1.56±0.06	1.56±0.06	
<b>Toplam şeker</b>	40.46±0.30	40.85±0.52	40.08±1.24	40.48±0.37	41.06±0.28	40.25±0.14	40.35±0.30	40.42±0.05	40.51±0.33	
<b>Su aktivitesi</b>	0.181±0.001	0.180±0.000	0.181±0.004	0.183±0.004	0.186±0.009	0.177±0.001	0.181±0.001	0.181±0.002	0.180±0.006	
<b>pH</b>	6.51±0.01	6.50±0.01	6.47±0.01	6.45±0.05	6.40±0.08	6.51±0.01	6.52±0.03	6.48±0.01	6.41±0.04	
<b>Peroksit</b>	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	
<b>Serbest yağ asitliği (oleik)</b>	0.66±0.04	0.67±0.02	0.72±0.03	0.83±0.06	0.89±0.04	0.58±0.06	0.60±0.01	0.63±0.07	0.69±0.06	
<b>Renk analizi</b>	<b>L* değeri</b>	46.11±0.08	44.37±0.74	45.79±0.37	43.78±0.71	43.86±0.92	43.29±2.20	44.89±0.42	43.67±2.09	45.93±0.69
	<b>a* değeri</b>	10.68±0.10	10.83±0.43	10.77±0.23	11.31±0.31	11.32±0.40	11.21±0.48	11.11±0.23	11.18±0.71	10.70±0.32
	<b>b* değeri</b>	14.80±0.09	14.31±0.75	14.59±0.40	15.09±0.58	15.29±0.30	15.31±1.14	15.38±0.37	14.74±1.16	14.42±0.43
<b>Partikül iriliği ve dağılımı</b>	<b>Span</b>	2.67±0.27	2.61±0.07	2.71±0.04	2.30±0.19	2.35±0.04	2.69±0.02	2.87±0.03	2.74±0.02	2.41±0.01
	<b>D[4,3]</b>	10.73±0.22	12.88±0.25	17.97±1.02	9.26±0.23	11.06±0.12	15.11±0.67	15.19±0.05	16.02±0.03	11.80±0.80
	<b>D[3,2]</b>	3.95±0.47	4.74±0.15	5.42±0.02	4.04±0.39	4.44±0.11	5.13±0.23	4.74±0.05	4.86±0.04	4.42±0.10
	<b>d(0.1)</b>	1.68±0.30	2.07±0.08	2.42±0.01	1.77±0.24	1.93±0.06	2.24±0.13	1.97±0.04	2.05±0.02	1.90±0.06
	<b>d(0.5)</b>	8.15±0.55	9.84±0.29	12.82±0.13	7.59±0.47	8.93±0.16	11.38±0.46	10.76±0.13	11.74±0.11	9.12±0.22
	<b>d(0.9)</b>	23.38±0.43	27.69±0.18	37.11±0.94	19.21±0.20	22.92±0.05	32.86±1.10	32.83±0.05	34.20±0.14	23.91±0.50

## 4.2. Çikolataların Yağ Asidi Kompozisyonundaki Değişim

Çikolata örneklerinin yağ asidi kompozisyonundaki değişim Çizelge 4.2-4.5’de verilmiştir. Örneklerdeki doymuş yağ asitlerinden butirik asit (C 4:0), kaproik asit (C 6:0) miktarları temper öncesi ve temper sonrası gruplarında kontrole göre artmıştır fakat kendi aralarında düzenli bir artıştan bahsedilememektedir. Tekli doymuş yağ asitlerinden palmitoleik asit (C 16:1) miktarı, kontrole nazaran diğer örneklerde artmasına rağmen inülinin en fazla eklendiği her iki örnekte de kontrol değerinin altına düşmüştür. Çoklu doymuş yağ asitlerinde belirgin bir değişim olmamıştır.

Doymuş yağ asitlerinin toplamına bakılırsa temper öncesi grupta kontrol örneğine göre en yüksek artış inüliniz çikolatada olmuştur. Temper öncesi grupta P, S6, S8 örneklerinde artış olsa da S10 örneğinde ciddi miktarda bir düşüş gözlenmiştir. Aynı şekilde temper sonrası grupta da P, S6, S8 örneklerinde artış olurken S10 örneğinde düşüş göze çarpmaktadır. İnülinin en fazla eklendiği bu örneklerdeki toplam doymuş yağ asidi oranının düşmesi canlılık aktivitesinin S10 örneğinde artması ile ilişkilendirilebilir.

Örneklerin 60 gün depolanması sonucunda, butirik asit (C 4:0) ve kaproik asit (C 6:0) değerinde kontrol örneğinde artış olurken temper öncesi grupta nispeten düşüşler olması dikkat çekmektedir. Burada inülin ve canlılık faaliyetlerinin etkileşiminden söz etmek mümkündür. Gadoleik asit (C 20:1) değerinde depolama sonucunda kontrol örneğinde ve diğer çikolatalarda genel bir düşüş gözlenmektedir.

Çikolatalarda trans yağ asidi belirlenmemiştir. Örneklerin doymuş yağ asidi içeriği sinbiyotik gruplarda inülin ilavesine bağlı olarak azalmıştır. Depolama periyodunun başlangıcında doymuş yağ asidi oranı en fazla temperleme öncesi grupta P kodlu örnekte tespit edilmiştir. tekli doymuş yağ asitleri üretim başlangıcında probiyotik canlı ve inülin ilavesine bağlı olarak artmıştır. Çikolatalarda baskın yağ asitleri doymuş grupta palmitik asit, tekli doymuş grupta oleik asit, çoklu doymuş grupta linoleik asit olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Depolama periyodunun başlangıcında çikolataların yağ asidi kompozisyonundaki değişim

	K	TÖ				TS				
		P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10	
<b>Doymuş yağ asitleri</b>	C 4:0	0.18	0.24	0.20	0.23	0.21	0.20	0.19	0.20	0.21
	C 6:0	0.12	0.15	0.13	0.14	0.13	0.13	0.12	0.13	0.13
	C 8:0	0.08	0.10	0.08	0.08	0.07	0.07	0.08	0.07	0.08
	C 10:0	0.24	0.25	0.22	0.20	0.22	0.20	0.23	0.20	0.28
	C 12:0	0.24	0.31	0.24	0.25	0.25	0.24	0.25	0.24	0.24
	C 13:0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C 14:0	0.92	1.14	0.91	0.94	0.79	0.90	0.92	0.91	0.85
	C 15:0	0.13	0.14	0.11	0.13	N/A	0.14	0.11	0.14	N/A
	C 16:0	25.87	32.30	25.73	26.00	21.82	25.83	25.70	25.88	24.03
	C 17:0	0.24	0.31	0.24	0.25	0.20	0.24	0.24	N/A	N/A
	C 18:0	33.72	42.31	34.14	34.06	14.86	34.05	34.11	34.43	32.87
	C 19:0									
	C 20:0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C 22:0	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02
	C 24:0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C 11:0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C 21:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
C 23:0	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	
<b>Tekli Doymuş yağ asitleri</b>	C 14:1	0.08	0.10	0.09	0.08	N/A	0.08	0.08	0.08	0.08
	C 15:1	0.02	N/A	N/A	0.02	N/A	N/A	0.02	N/A	N/A
	C 16:1	0.34	0.47	0.37	0.36	0.25	0.37	0.36	0.38	0.28
	C 16:1 c									
	C 16:1 t									
	C 17:1	0.03	N/A	N/A	0.04	N/A	N/A	0.03	N/A	N/A
	C 18:1	32.78	16.33	32.95	32.76	49.28	32.94	32.85	32.90	34.61
	C 18:1c									
	C 18:1t	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C 20:1	1.11	1.39	1.11	1.12	1.85	1.11	1.13	1.13	1.27
	C 22:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	C 22:1c									
	C 22:1t									
C 24:1c	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Çizelge 4.3 Depolama periyodunun başlangıcında çikolataların yağ asidi kompozisyonundaki değişim 1.gün devamı

	K	TÖ				TS			
		P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10
<b>C 16:2</b>									
<b>C 18:2</b>	3.54	4.05	3.22	2.97	9.78	3.22	3.24	2.99	4.61
<b>C 18:2 n-6 c,c</b>									
<b>C 18:2 c,t</b>									
<b>C 18:2 t,c</b>									
<b>C 18:2 t,t</b>									
<b>C 18:2 i</b>									
<b>C 18:2 t</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>C 18:3</b>									
<b>C 18:3 n-3 c,c,c</b>	0.04	N/A	N/A	0.02	0.21	N/A	0.04	N/A	N/A
<b>C 18:3 n-6 c,c,c</b>	0.21	0.26	0.20	0.21	N/A	0.20	0.21	0.21	0.28
<b>C 18:4</b>									
<b>C 20:2 n-6 c,c</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>C 20:3</b>									
<b>C 20:3 n-3</b>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.04
<b>C 20:3 n-6</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>C 20:4</b>									
<b>C 20:4 n-3</b>	0.05	0.09	0.01	0.10	0.02	0.02	0.04	0.06	0.07
<b>C 20:4 n-6</b>									
<b>C 20:5 n-3</b>	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00
<b>C 22:2</b>	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.03
<b>C 22:5 n-3</b>									
<b>C 22:6 n-3</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Doymuş Y</b>	61.75	77.26	62.02	62.30	38.59	62.01	61.97	62.22	58.73
<b>Tekli Doymuş Y</b>	34.36	18.29	34.52	34.38	51.38	34.50	34.47	34.49	36.24
<b>Çoklu Doymuş Y</b>	3.87	4.43	3.47	3.32	10.04	3.47	3.57	3.28	5.03
<b>Trans Yağ</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Çizelge 4.4. Depolama periyodunun 60. gününde çikolataların yağ asidi kompozisyonundaki değişim

	K	TÖ				TS				
		P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10	
<b>Doymuş yağ asitleri</b>	<b>C 4:0</b>	0.23	0.16	0.18	0.21	0.20	0.21	0.30	0.21	0.21
	<b>C 6:0</b>	0.14	0.11	0.12	0.13	0.13	0.13	0.19	0.14	0.14
	<b>C 8:0</b>	0.09	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.12	0.09	0.08
	<b>C 10:0</b>	0.22	0.17	0.20	0.20	0.20	0.19	0.52	0.21	0.20
	<b>C 12:0</b>	0.26	0.23	0.25	0.26	0.25	0.24	0.39	0.26	0.25
	<b>C 13:0</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	<b>C 14:0</b>	0.97	0.86	0.93	0.91	0.95	0.91	1.15	0.95	0.95
	<b>C 15:0</b>	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	N/A	0.11	0.13
	<b>C 16:0</b>	26.37	25.27	25.78	25.78	25.93	25.74	37.29	26.03	25.93
	<b>C 17:0</b>	0.24	0.25	0.25	0.24	0.25	0.26	0.31	0.25	0.25
	<b>C 18:0</b>	33.12	34.48	33.78	34.24	33.71	34.00	28.04	33.78	33.90
	<b>C 19:0</b>									
	<b>C 20:0</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	<b>C 22:0</b>	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	<b>C 24:0</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	<b>C 11:0</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>C 21:0</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	
<b>C 23:0</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
<b>Tekli Doymuş yağ asitleri</b>	<b>C 14:1</b>	0.09	0.08	0.09	0.08	0.09	0.09	N/A	0.09	0.09
	<b>C 15:1</b>	N/A	0.02	0.02	N/A	0.02	0.02	N/A	N/A	0.02
	<b>C 16:1</b>	0.36	0.34	0.37	0.34	0.36	0.36	0.51	0.36	0.36
	<b>C 16:1 c</b>									
	<b>C 16:1 t</b>									
	<b>C 17:1</b>	N/A	0.03	0.04	N/A	N/A	0.03	N/A	N/A	N/A
	<b>C 18:1</b>	32.93	33.14	33.18	33.05	33.25	32.99	23.09	33.14	33.11
	<b>C 18:1c</b>									
	<b>C 18:1t</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	<b>C 20:1</b>	1.04	1.17	1.13	1.08	1.14	1.11	2.31	1.09	1.13
	<b>C 22:1</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>C 22:1c</b>									
<b>C 22:1t</b>										
<b>C 24:1c</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Çizelge 4.5. Depolama periyodunun başlangıcında çikolataların yağ asidi kompozisyonundaki değişim 60. gün devamı

	K	TÖ				TS			
		P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10
<b>C 16:2</b>									
<b>C 18:2</b>	3.56	3.18	3.18	2.98	3.00	3.20	5.13	2.98	2.99
<b>C 18:2 n-6 c,c</b>									
<b>C 18:2 c,t</b>									
<b>C 18:2 t,c</b>									
<b>C 18:2 t,t</b>									
<b>C 18:2 i</b>									
<b>C 18:2 t</b>	N/A	N/A	N/A	0.03	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>C 18:3</b>									
<b>C 18:3 n-3 c,c,c</b>	N/A	0.03	0.03	N/A	0.03	0.06	0.22	N/A	N/A
<b>C 18:3 n-6 c,c,c</b>	0.20	0.20	0.21	0.20	0.20	0.21	0.26	0.20	0.20
<b>C 18:4</b>									
<b>C 20:2 n-6 c,c</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>C 20:3</b>									
<b>C 20:3 n-3</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
<b>C 20:3 n-6</b>	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>C 20:4</b>									
<b>C 20:4 n-3</b>	0.05	0.08	0.05	0.07	0.07	0.07	0.11	0.05	0.05
<b>C 20:4 n-6</b>									
<b>C 20:5 n-3</b>	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.04	0.00
<b>C 22:2</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
<b>C 22:5 n-3</b>									
<b>C 22:6 n-3</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Doymuş Y</b>	61.75	61.71	61.69	62.17	61.81	61.87	68.33	62.03	62.04
<b>Tekli Doymuş Y</b>	34.42	34.78	34.83	34.55	34.86	34.60	25.91	34.68	34.71
<b>Çoklu Doymuş Y</b>	3.82	3.49	3.48	3.29	3.30	3.54	5.75	3.27	3.24
<b>Trans Yağ</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

### 4.3. Çikolataların Tekstürel Özelliklerindeki Değişim

Çikolataların tekstürel özelliklerindeki değişim Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çikolata üretiminde iyi tekstüre sahip yüksek kaliteli ürünlerin üretilmesinde reolojik karakter önemlidir. Yüksek viskoziteye sahip çikolatalar ağızda hamur gibi tadın oluşmasına neden olmaktadır. Viskoziteyi bileşim, üretim metodu ve partikül iriliği ve dağılımı etkilemektedir. Mutlak viskozite ağızda çözülmüş aromayı etkilerken tüketim sırasındaki tat yoğunluğunu da etkilemektedir. Reolojik ölçümler çikolatanın duyuşal karakteristiği ile ilgili önemli ipuçları vermektedir.

Çikolataların viskozite değerleri kontrol grubunda depolamanın 1. ve 60. gününde sırasıyla 2.08-2.10 Pa.s olarak ölçülmüştür. Probiyotik canlı ilavesi örneklerin viskozite değerlerini artırmıştır. Çikolataların tekstürel özelliklerindeki değişime bakıldığında, viskozitenin kontrole göre inülin eklendikçe arttığı görülmektedir. 60. gün sonunda da viskozite artışı yine inülinle birlikte olmaktadır fakat belirli herhangi bir numunenin viskozitesinde depolamaya yönelik anlamlı bir değişim görülmemiştir. Temper öncesindeki örneklerde ilk güne göre azalma olurken kontrol örneği ve temper sonrası grupta ilk güne göre artışlar olmuştur. Buradan depolamanın viskozite üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı sonucu çıkmaktadır.

Viskozite indeksi, temper öncesi grupta P örneği hariç diğer bütün numunelerde inülinin artmasıyla beraber azalma göstermiştir. Depolama sonrası kontrole göre bütün örneklerde düzenli bir azalma görülmektedir. En yüksek viskozite indeksi temperleme öncesi ve sonrası S10 grubu örneklerde, en düşük P grubu örneklerde tespit edilmiştir.

Penetrasyon değerleri incelendiğinde, kontrole göre temper öncesi örneklerde temper sonrası örneklere nazaran inülin ile doğru orantılı olarak daha fazla artışlar gözlenmiştir. Depolama sonunda ise her örneğin depolamayla birlikte kendi içinde artış göstermesi dikkat çekmektedir. Temper öncesindeki S10 örneği istisna olarak görülmektedir. Penetrasyon değeri depolama başlangıcında 91.25-133.83 N.sec, depolamanın 60.gününde 95.31-143.84 N.sec aralığında belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Çikolataların tekstürel özelliklerindeki değişim

	Gün	K	TÖ				TS			
			P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10
<b>Viskozite (Pa.s)</b>	1	2.08±0.07	2.84±0.08	3.95±0.07	5.46±0.01	7.40±0.20	2.54±0.03	2.93±0.06	3.44±0.02	3.70±0.01
	60	2.10±0.03	2.73±0.07	3.23±0.04	3.90±0.01	4.18±0.04	2.78±0.04	3.17±0.06	3.54±0.00	3.91±0.01
<b>Viskozite indeksi (g.sec)</b>	1	-90.27±0.05	-90.09±0.01	-97.18±1.49	-129.21±1.29	-165.25±0.28	-97.68±0.68	-104.01±1.92	-114.31±2.76	-173.93±2.40
	60	-89.78±0.63	-92.11±0.69	-94.26±0.99	-145.62±0.55	-185.41±1.71	-104.97±0.96	-115.54±1.01	-122.96±3.07	-189.20±2.13
<b>Penetrasyon (N.sec)</b>	1	107.68±3.61	115.84±0.86	121.29±1.40	129.44±1.12	133.83±1.99	91.25±1.39	98.00±0.92	114.98±0.63	126.93±1.84
	60	113.40±1.19	116.61±1.34	121.87±2.35	131.32±0.98	133.59±2.13	95.31±1.27	104.88±0.50	126.43±1.14	143.84±1.96

#### 4.4. Çikolataların *Bifidobacterium* sayısında ve Genel Beğeni Puanlarındaki Değişim

Çikolataların *Bifidobacterium* sayısında ve genel beğeni puanlarındaki değişim Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çikolataların probiyotik canlı sayısında depolama süresince temperleme öncesi grupta yaklaşık % 7, temperleme sonrası grupta % 4 oranında azalma belirlenmiştir. En yüksek probiyotik bakteri sayısı sinbiyotik S10 grubu örneklerde tespit edilmiştir. Örneklerin *Bifidobacterium* sayıları beklenildiği üzere inülin artışı ile beraber hem temper öncesi grupta hem temper sonrası grupta artmıştır. Fakat canlı kültürün temper sonrasında eklenmesi miktarlarının daha yüksek seviyelerde kalmasını sağlamıştır. İnülin ilavesi probiyotik örneğe göre S6, S8 ve S10 kodlu örneklerde temperleme öncesi ve sonrası gruplarda sırasıyla % 4.65-5.50-7.33 ve 2.61-3.52-5.35 oranlarında artış oluşturmuştur. Depolamanın etkisine gelince, her örnekte zamanla azalmalar olmuştur. Probiyotik ve sinbiyotik grupların *Bifidobacterium* içeriklerine bakılarak inülin ilaveli sütlü çikolataların iyi bir taşıyıcı matris olabileceği düşünülebilir.

Çikolata küçük yaşlardan itibaren çoğu kişinin zevkle tükettiği bir besin maddesidir. Farklı lezzeti gıda sektöründe çikolatanın tüketimini diğer ürünler arasında ayrı bir yere konmasına neden olmuştur. Özellikle son dönemlerde çikolata sektöründe yaşanan gelişmeler, çikolata profilinin giderek zenginleşmesi, çikolata sektöründe yaşanan yoğun rekabet insanların tercihlerinin de değişmesine ve seçiciliklerinin artmasına neden olmuştur. Çikolata tüketiminde duyuşal tercihler etken olmaktadır ve bu tercihler çikolata sektörüne yön vermektedir. Duyusal açıdan yapılan değerlendirmede, kontrole göre örnek puanlarında düşüş görüldüğü 9 puan üzerinden yapılan bir değerlendirme için en düşük puanlı numunenin (S10) 8.15 ile yine de beğenildiği görülmektedir. Depolamanın duyuşal beğeni puanlarını artırdığı gözlenmiştir. Temperleme sonrası grupların descriptive olarak daha düşük puanlar aldığı görülmektedir. inülin ilaveli grupların kontrol grubuna göre daha düşük puan alması tatlılık derecesinin düşüklüğü ile açıklanabilir.

**Çizelge 4.7.** Çikolataların *Bifidobacterium* sayısında ve genel beğeni puanlarındaki değişim

	Gün	K	TÖ				TS			
			P	S6	S8	S10	P	S6	S8	S10
<i>Bifidobacterium</i> (log kob/g)	1	-	7.63±0.02	7.78±0.03	7.86±0.05	7.93±0.04	7.65±0.07	7.85±0.01	7.92±0.03	8.06±0.05
	60	-	7.09±0.04	7.42±0.05	7.48±0.04	7.61±0.04	7.28±0.04	7.42±0.05	7.58±0.08	7.76±0.11
Genel beğeni	1	8.70±0.14	8.60±0.10	8.45±0.07	8.25±0.09	8.15±0.21	8.40±0.04	8.30±0.14	8.35±0.07	8.20±0.02
	60	8.90±0.23	8.75±0.07	8.60±0.05	8.55±0.13	8.60±0.02	8.55±0.07	8.40±0.05	8.40±0.03	8.25±0.09

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Çikolataların temper indeksi proses gereği olarak 4-7 aralığında çalışılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda çikolataların nem değerleri kontrol grubu ile ciddi fark oluşturacak bir değişime uğramamıştır. Protein miktarları temper öncesi grupta kontrol grubuna nazaran artan inülin miktarı ile birlikte düzenli bir artış göstermiştir. Artan inülin miktarı ile her iki grupta da toplam yağ miktarında azalmalar gözlenmiştir. Kül oranları, temper öncesi grupta daha hızlı bir düşüş göstermiştir. Yapılan örneklerin hiçbirinde perokside rastlanmadığı görülmüştür, dolayısıyla örneklerde herhangi bir bozulma olmamıştır. Renk analizine bakıldığında, hem inülin hem de *Bifidobacterium* eklenmesinin parlaklığı düşürdüğü a ve b değerlerinin durumdan etkilenmediği söylenebilir. Partikül iriliği ve dağılımı sonuçları göz önüne alındığında span değeri, temper sonrası grupta inülinle birlikte artış göstermiş fakat inülinin en fazla olduğu örnekte kontrol değerinin de altına düşmüştür.

Tekli doymuş yağ asitlerinden palmitoleik asit (C 16:1) miktarı, kontrole nazaran diğer örneklerde artmasına rağmen inülinin en fazla eklendiği her iki örnekte de kontrol değerinin altına düşmüştür. Doymuş yağ asitlerinin toplamına bakılırsa temper öncesi grupta kontrol örneğine göre en yüksek artış inülinle çikolatada olmuştur. Çikolatalarda trans yağ asidi belirlenmemiştir. Örneklerin doymuş yağ asidi içeriği sinbiyotik gruplarda inülin ilavesine bağlı olarak azalmıştır. Çikolatalarda baskın yağ asitleri doymuş grupta palmitik asit, tekli doymuş grupta oleik asit, çoklu doymuş grupta linoleik asit olarak belirlenmiştir.

Çikolataların viskozite değerleri kontrol grubunda depolamanın 1. ve 60. gününde sırasıyla 2.08-2.10 Pa.s olarak ölçülmüştür. Probiyotik canlı ilavesi örneklerin viskozite değerlerini artırmıştır. En yüksek viskozite indeksi temperleme öncesi ve sonrası S10 grubu örneklerde, en düşük P grubu örneklerde tespit edilmiştir. Penetrasyon değeri depolama başlangıcında 91.25-133.83 N.sec, depolamanın 60.gününde 95.31-143.84 N.sec aralığında belirlenmiştir.

Çikolataların probiyotik canlı sayısında depolama süresince temperleme öncesi grupta yaklaşık % 7, temperleme sonrası grupta % 4 oranında azalma belirlenmiştir. En yüksek probiyotik bakteri sayısı sinbiyotik S10 grubu örneklerde tespit edilmiştir. Örneklerin *Bifidobacterium* sayıları beklenildiği üzere inülin artışı ile beraber hem temper öncesi grupta hem temper sonrası grupta artmıştır. Probiyotik ve sinbiyotik

grupların *Bifidobacterium* içeriklerine bakılarak inülin ilaveli sütlü çikolataların iyi bir taşıyıcı matrik olabileceği düşünülebilir.

Duyusal açıdan yapılan değerlendirmede, kontrole göre örnek puanlarında düşüş görülsede 9 puan üzerinden yapılan bir değerlendirme için en düşük puanlı numunenin (S10) 8.15 ile yine de beğenildiği görülmektedir. Depolamanın duyusal beğeni puanlarını artırdığı gözlenmiştir.

## 5.2. Öneriler

Keyif verici gıdalar arasında olan çikolatanın şeker oranının düşürülüp ayrıca çalışmada ayrıntılı olarak ifade edilen pek çok faydalarının bulunduğu probiyotik canlı ile desteklenerek sinbiyotik bir ürün haline getirilmesi kalite kriterleri yönünden ve de tüketici beğenisi açısından geçerli puanlar almıştır. Hem sağlık faydaları bulunan hem de keyif veren bir gıdanın ticari anlamda da çalışılması piyasaya sunulması tüketiciyi de memnun edecektir.

## KAYNAKLAR

- ADM Cocoa&Chocolate Manual, 2013, Dezaan, 9-18, 23-25, 140-147.
- Afoakwa, E. O., 2010, Industrial chocolate manufacture-process and factors influencing quality, in *Chocolate Science and Technology*. 1st edn. Oxford: Blackwell Science, 35-57.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A. and Fowler, M., 2007, Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate - a review, *Trends in Food Science and Technology*, 18, 290-298.
- Afoakwa, O. E., Paterson, A., Fowler, M. and Vieira, J. 2007, Relationship between rheological, textural and melting properties of dark chocolate as influenced by particle size distribution and composition. *European Food Research and Technology*, 227 (4), 1215–1223.
- Alenden, J., Andersson, A. C., Bagge, C., Bringsarve, K., Hjorth, M., Johansson, M., Granroth, B., Norberg, S., Pedersen, M., Persson, M., Wennermark, B. and Wennermark, M., 2007, *Chocolate and confectionery*. In "Handbook: Vegetable oils and fats" Ed. Liddefelt, J-O., 2nd ed. Karlshamn: Alfaprint, pp.115-136.
- Altan, A., 2005, Özel Gıdalar Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Adana, 251 s.
- Anklam, E. and Lipp, M., 1998, Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-Part A. Compositional data, *Food Chemistry*, 62 (1), 73-97.
- Anonymous, 1993, AOCS, Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society, 3rd edn., method Ce.2-66.
- Anonymous, 2002, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics.
- Anonymous, 2005, Probiotics Basics. [www.usprobiotics.org](http://www.usprobiotics.org)
- Anonymous, 2006, Probiotics. [www.fda.gov](http://www.fda.gov)
- Aragon-Alegroa L. C., Alegrob J. H. A., Cardarellib, H. R., Chiub, M. C. and Saadb S. M. I., 2007, Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse, *LWT- Food Science and Technology*, 40, 669-675.
- Awua, P. K., 2002, Cocoa Processing and Chocolate Manufacture in Ghana. Essex, UK: David Jamieson and Associates Press Inc.
- Baysal, A., 2002, Beslenme, Hatiboğlu Yayınevi, 9. Baskı, Ankara

- Bartusch, W., 1974, First international congress on cocoa and chocolate research, Munich, 153-162.
- Barry, C., 2007, <https://www.barry-callebaut.com/news/2007/11/barry-callebaut-launches-first-probiotic-chocolate-industrial-scale-partnership-lalfood>
- Beckett, S. T., 2008, The Science of Chocolate. Nestle Product Technology Center, York, UK, 240.
- Beckett, S. T., 1999, Industrial chocolate manufacture and use, Third edition, Nestle R&D Centre, York, UK, 471.
- Berner, L. and O'Donnell, J., 1998, Functional foods and health claims legislation: Applications to dairy foods. *International Dairy Journal*, 8, 355-362.
- Biehl, B., Brunner, E., Passern, D., Quesnel, V. C. and Adomako, D., 1985, Acidification, proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 583-598.
- Bolenz, S., Amtsberg, K. and Lipp, E., 2005, New concept for cast continuous conching of milk chocolate. *European Food Research and Technology*, 220, 47-54.
- Bozdogan, D., 2006, Probiyotikler, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Campbell, L. B. and Pavlasek, S. J., 1987, Dairy products as ingredients in chocolate and confections, *Food Technology*, 41, 78-85.
- Ceyhan, N. ve Aliç H., 2012, Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler, Muğla Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 48170, Muğla
- Chandan, R., 1997, Dairy-Based ingredients. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. pp.96-99.
- Coman, M. M., Cecchini C., Verdenelli, M. C. and Silvi, S., 2012, Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination, *International Journal of Food Microbiology*, 157, 346-352
- Coşkun, T., 2005, Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Bölümü, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 48, 69-84.
- Çağındı, Ö., 2009, Ayçiçek, Ketan Tohumu, Yulaf ve Mürdüm Eriği Kuru ile Zenginleştirilmiş Süt, Acı(Bitter) ve Beyaz Çikolataların Raf Ömrü Boyunca Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 21-29.
- Çakır, İ., Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 2002, Probiyotikler ve etki mekanizmaları, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 6(12), 15-19.

- Çogulu, D, Ak, A. T, Caglar, E., Sandalli, N., Karagozlu, C., Ersin, N. and Yerlikaya, O., 2010, Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp., *Journal of Dental Sciences*, 5, 144-9.
- Davis, C. R., Wibowo D., Eschenbruch R., Lee, T. H. and Fleet, G. M., 1985, Practical implications of malolactic fermentation: a Review, *American Journal of Enology and Viticultur*, 36, 290-300.
- EN ISO 660:2009, Animal and vegetable fats and oils, Determination of acid value and acidity.
- EN ISO 27107:2018, Animal and vegetable fats and oils, Determination of peroxide value, Potentiometric end-point determination.
- Erdal, Ö., Döner, F., Kaplan-Türköz, B. ve Göksungur, Y., 2016, Mikrobiyel yolla üretilen levansükrazlar ve sentezlediği biyopolimerler, *Gıda*, 41 (4), 283-290.
- FAO/WHO, 1994, Codex Alimentarius, Volume 4.
- German, B., Schiffrin, E. J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A. and Neeser; J. R. 1999, The development of functional foods: lessons from the gut, *Tibtech* December 17, 492-499.
- Gibson, G. R. and Roberfroid, M., 1995, Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics, *The Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gülbay, S., 2007, The Effects of storage and process conditions on fat bloom formation in chocolate, MSc. Thesis, Gaziantep University, Gaziantep. 5-7.
- Gülmez, M. ve Güven, A., 2002, Probiyotik prebiyotik ve sinbiyotikler, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8, 83-89
- Hansen, A. P. and Keeney, P. G., 1970, Comparison of carbonyl compounds in moldy and non-moldy cocoa beans, *Journal of Food Science*, 35, 37-39.
- Hasenhuettl, L. G. and Hartel, W. R., 2008, Food Emulsifiers and Their Applications. Springer-Verlag New York Inc., USA, 433.
- Hışıl, Y., 1988, Enstrumental Analiz Teknikleri. E. Ü. Müh. Fak., çoğaltma yayın, 55, İzmir.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U. and Huis in't Veld, J. H. J., 1998, Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.

- Holzappel, W. H. and Schillinger, U., 2002, Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*, 35, 109-116.
- Hoskin, J. C., 1994, Sensory properties of chocolate and their development, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 6.
- Hoskin, J. C. and Dimick, P. S., 1982, Proceeding of the 36 th annual production conference of PMCA, Pennsylvania manufacturing confectioners' association, Hershey, 23-31.
- ICA, 1988, Determination of moisture content of Cocoa and Chocolate products, Analytical method 26. CAOBISCO, rue Defacqz 1, B-1000 Bruxelles, Belgium.
- İnanç, N., Sahin, H. ve Çiçek B., 2005, Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri, *Erciyes Tıp Dergisi*, 27(3), 122-127.
- Kale, P. S., 2014, Isolation and identification of bacteria from curd and its application in probiotic chocolate, *European Journal of Experimental Biology*, 4(6), 95-97.
- Karagozlu, C. ve Yerlikaya, O., 2006, Fonksiyonel süt ürünlerinin tanımlanması ve yasal düzenlemeler, *Standard Dergisi* 45(538), 72-76.
- Kayışlı, M., 2012, Effects of different vegetable fats on chocolate properties, Gaziantep University, Food Engineering, Master Thesis, 10-12.
- Kırmacı, H. A., Kuşçu, H. ve Atasoy, F., 2014, Farklı oranlarda prebiyotik lif içeren stevia özü ilavesinin prebiyotik dondurmanın kalite özellikleri etkisi, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18 (3), 48-59.
- Koca, S., 2011, Bitter Çokolatanın Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Konçlama Şartlarının Etkisi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 51-54.
- Korkubilmez, M., 2005, Farklı orijinli kakao çekirdeklerinden elde edilen kakao likörlerinin çokolatanın lezzetine olan etkisi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 29-62.
- Kutlu, T., 2011, Pre ve Probiyotikler, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı, İstanbul, 46, 59-64.
- Kwak, N.S. and Jukes, D. J., 2001, Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept, *Food Control*, 12, 99-107
- Lidestri, M., Agosti, M., Marini, A. and Boehm, G., 2003, Oligosaccharides might stimulate calcium absorption in formula-fed preterm infants, *Acta Paediatrica Suppl*, 91, 91-92.

- Macfarlane, G. T. and Macfarlane, S., 2011, Fermentation in the human large intestine: Its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45 (3), 120-127.
- Man, C. M. D. and Jones, A. A., 1994, Shelf Life Evaluation of Foods, Springer-Science+Business Media, B. V, 217-218.
- Mandal, S., Hati, S., Puniya, A. K., Singh, R. and Singh, K., 2012, Development of synbiotic milk chocolate using encapsulated *Lactobacillus casei* NCDC 298, *Journal of Food Processing and Preservation*, 1031-1036.
- Maga, J. A., 1982, Amines in foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 16-19.
- Martin, R. A. Jr., 1988. Chocolate. *Advances In Food Research*, 31, 211-342.
- Meiners, A., Kreiten, K. and Joike, H., 1984, Silesia confiserie manual, 3, 628.
- Minifie, B. W., 1982, Chocolate, cocoa and confectionary science and technology, second edition, Chicago, U.S.A, 49, 30-35.
- Minifie, B. W., 1999. Chocolate, Cocoa and Confectionery—Science and Technology. London: Chapman & Hall.
- Monotti, C., 2008, Future chocolate market growth in four EU countries, *British Food Journal*, 110 (7), 671-690.
- Morohashi, T., Sano, T., Ohta, A. and Yamada, S., 1998, True calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide feeding in rats, *The Journal of Nutrition*, 128, 1815-1818.
- Ninessse, K., 1999, Inulin and oligofructose: What are they?, *The Journal of Nutrition*, 129 (7supplement), 1402S-1406S.
- Oh, S., Rheem, S., Sim, J., Kim, S. and Baek, Y., 1995, Optimizing conditions for the growth of *Lactobacillus casei* YIT 9018 in tryptone-yeast extract-glucose medium by using response surface methodology, *Applied and Environmental Microbiology*, (61), 3809-3814.
- O'Sullivan, M. G., 1996, Metabolism of bifidogenic factors by gut flora—An overview. IDF Bull. 313, p. 23. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Özçelik, B., 2003, Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlık: Yeni Ürün Tasarımları. İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, [http://www.food.itu.edu.tr/Fonksiyonel\\_gida\\_BO.pdf](http://www.food.itu.edu.tr/Fonksiyonel_gida_BO.pdf) (16.10.2003)

- Özden, A., 2005, Gastrointestinal Sistem ve Probiyotik, Prebiyotik Synbiyotik, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı Başkanı, Ankara, 9(3), 124-133.
- Palacıoğlu, S., 2003. Çikolata Sektör Profili. İstanbul Ticaret Odası, İstanbul.
- Palüzar, H., 2009, Bazı Organik Bileşiklerin Tayini için Mikrobiyal Esaslı Biyosensör Geliştirilmesi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi
- Peker, B. B., 2011, Çikolata Üretiminde Lesitin ve Polyglycerol Polyricinoleate (PGPR) Kullanımının Ürün Kalitesine Etkisi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi
- Pascal, G., 2008, Prebiotics and Food Safety. In Glenn R. Gibson and Marcel B. Roberfroid (Eds.), Handbook of Prebiotics, Taylor&Francis group, LLC, / [http://www.foodnetbase.com/ejournals/search/searchquery.asp?cmd=search&request=handbook+of+prebiotics&Idx=1025&appName=FOODnetBASE&AltSearchResult=True&selectAll=True&stemming=True&phonic=False&natlang=False&maxfiles=500&sort=Hits&sort\\_type=&chkShowAbstract=0&perpage=25&startat=1&onpage=1](http://www.foodnetbase.com/ejournals/search/searchquery.asp?cmd=search&request=handbook+of+prebiotics&Idx=1025&appName=FOODnetBASE&AltSearchResult=True&selectAll=True&stemming=True&phonic=False&natlang=False&maxfiles=500&sort=Hits&sort_type=&chkShowAbstract=0&perpage=25&startat=1&onpage=1)
- Patel, P., Parekh T. ve Subhash, R., 2008, Development of probiotic and synbiotic chocolate mousse: A functional food, *Biotechnology*, 7 (4), 769-774.
- Percival, R. S., Devine, D. A., Duggal, M. S., Chartron, S. and Marsh, P. D., 2006, The effect of cocoa polyphenols on the growth, metabolism, and biofilm formation by *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*, *Journal of Oral Science*, 114, 343-8.
- Plummer, S., Weaver, M. A., Harris, J. C., Dee, P. and Hunter, J., 2004, *Clostridium difficile* pilot study: effects of probiotic supplementation on the incidence of *C. difficile* diarrhoea, *International Microbiology*, 7, 59-62.
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W. and Van de Wiele, T., 2010, Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery, *International Journal of Food Microbiology*, 141, 97-103.
- Prawira, M. and Barringer, S. A., 2008, Effects of conching time and ingredients on preference of milk chocolate, *Journal of Food Processing and Preservation*, 33 (5), 571-589.
- Roberfroid, M. B., 2000, Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1682S-1687S.

- Saarela, M., Virkajärvi, I., Nohynek L., Vaari A., Mattö, J., 2006, Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals, *International Journal of Food Microbiology*, 112 (2), 171-178.
- Sağdıç, O., Küçüköner, E. ve Özçelik, S., 2004, Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4), 221-228.
- Schantz, B. and Rohm, H., 2005, Influence of lecithin–PGPR blends on the rheological properties of chocolate. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38, 41-45.
- Schumacher, A. B., Brandelli, A., Schumacher, E. W., Macedo, F. C., Pieta, L., Klug, T. V. and Jong, E. V., 2009, Development and evaluation of a laboratory scale conch for chocolate production, *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (3), 616-622.
- Selamat, J., Thien, J. and Yap, T. N., 1991, Proceedings of the 45 th annual production conference of PMCA, Pennsylvania manufacturing confectioners' association, Hershey, 71-78.
- Shah, N. P., 2001, Functional foods from probiotics and prebiotics, *Food Technology*, 55 (11), 46-53.
- Soukoulis, C., Yonekura, L., Gan, H. H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C. and Fisk, I., 2014, Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread, *Food Hydrocolloids*, 39, 231-242.
- Srikanth, R. K., Shashikiran, N. D., Subba Reddy, V. V., 2008, Chocolate mouth rinse: Effect on plaque accumulation and mutans streptococci counts when used by children, *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 26, 67-70.
- Strålfors, A., 1967, Inhibition of hamster caries by substances in chocolate, *Archives of Oral Biology*, 12, 959-62.
- Svenstrup, G., Heimdal, H. and Nørgaard, L., 2005, Rapid instrumental methods and chemometrics for the determination of pre-crystallization in chocolate, *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 953-962.
- Tannock, G. W., 1999, Probiotics: A Critical Review, Horizon Scientific Press, *Trends in Food Science and Technology*, (10), 113.
- TS 7800 Çikolata Standardı, 24.06.2010.

- Türk Gıda Kodeksi, 2017, Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2017/29, Resmi Gazete Tarihi: 03.11.2017 Resmi Gazete Sayısı: 30229.
- Türk Gıda Kodeksi, 2017, Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği, Resmi Gazete Tarihi: 26.01.2017 Resmi Gazete Sayısı: 29960 Mükerrer.
- Van Niel, C. W, Feudtner, C., Garrison, M. M. and Christakis, D. A., 2002, Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*, 109, 678-684.
- Vaughan, E. E. and Mollet, B., 1999, Probiotics in the new millennium, *Nahrung*, 43 (3), 148-153.
- Venkatesh Babu, N. S., Vivek, D. K., Ambika, G., 2011, Comparative evaluation of chlorhexidine mouthrinse versus cacao bean husk extract mouthrinse as antimicrobial agents in children, *European Archives of Paediatric Dentistry*, 12, 245-9.
- Vomero, Nd. and Colpo, E., 2014, Nutritional care in peptic Ulcer. *ABCD - Brazilian Archives of Digestive Surgery*, 27(4), 298-302.
- Wullt, M., Hagslatt, M. L. and Odenholt, I., 2003, *Lactobacillus plantarum* 299v for the treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a doubleblind, placebo-controlled trial, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35, 365-367.
- Yılmaz, Ö., 2004, Cacao and Chocolate Processing, Nestle Türkiye Gıda A.Ş. Ar-Ge Dökümanları, Karacabey.
- Yun, J. W., 1996, Fructooligosaccharides- Occurence, preparation, and application, *Enzyme and Microbial Technology*, V 19 (2), 107-117.
- Yücecan, S., 1991, Besinlerin zenginleştirilmesi, *Gıda*, 16(4), 269-275.

**ÖZGEÇMİŞ****KİŞİSEL BİLGİLER**

**Adı Soyadı** : Ayşe Akgül  
**Uyruğu** : Türkiye  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Karatay/11.01.1990  
**Telefon** : 0536 283 63 50  
**Faks** :  
**e-mail** : aysetestici@hotmail.com

**EĞİTİM**

<b>Derece</b>	<b>Adı, İlçe, İl</b>	<b>Bitirme Yılı</b>
Lise	: Selçuklu Anadolu Lisesi Selçuklu/Konya	2008
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi Selçuklu/Konya	2012
Yüksek Lisans	:	
Doktora	:	

**İŞ DENEYİMLERİ**

<b>Yıl</b>	<b>Kurum</b>	<b>Görevi</b>
2013-2017	Anadolu Birlik Holding Çumra Şeker A.Ş.	Ar-Ge Mühendisi, Toplam Kalite Mühendisi

**UZMANLIK ALANI****YABANCI DİLLER****BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER****YAYINLAR**