



**ÇİKOLATADAKİ OLEİK, PALMITİK, STEARİK ASİDİN TAYİNİ İÇİN
VOLTAMETRİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ**

Nermin YILDIZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nermin YILDIZ

10/07/2025

ÇİKOLATADAKİ OLEİK, PALMITİK, STEARİK ASİDİN TAYİNİ İÇİN VOLTAMETRİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Nermin YILDIZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2025

ÖZET

Bu çalışmada, çikolatada bulunan oleik asit (OA), palmitik asit (PA) ve stearik asidin (SA) voltametik yöntemle tayini amacıyla bir analiz yöntemi geliştirilmiştir. Öncelikle çikolatada ester formunda bulunan bu bileşikler, uygun kimyasal işlemlerle serbest yağ asitlerine dönüştürülmüştür. Voltametik analizlerde destek elektrolit olarak tetrabütülamonyum tetrafloroboratın alkoldeki çözeltisi, referans elektrot olarak ise Ag/AgCl elektrot, çalışma elektrodu olarak altın elektrot kullanılmıştır. Analizlerde kare dalga katodik sıyırma voltametrisi (SWCSV) yöntemi uygulanmış ve pH, sıcaklık, biriktirme süresi ve biriktirme potansiyeli gibi parametreler optimize edilmiştir. Optimizasyon sonucunda; ortam sıcaklığı her üç analit için 60 °C, ortam pH'ı ise 2,0 olarak belirlenmiştir. Biriktirme potansiyeli OA için -1,1 V, PA ve SA için -1,2 V olarak saptanmıştır. Biriktirme süresi ise OA için 50 s, PA ve SA için 60 s olarak optimize edilmiştir. Yöntemin duyarlılığı değerlendirildiğinde; gözlenebilme sınırları PA için 0,15 mM, OA için 0,12 mM ve SA için 0,51 mM; tayin sınırları ise sırasıyla 0,51 mM, 0,40 mM ve 1,71 mM olarak bulunmuştur. Ayrıca, çikolatadaki yağ asitlerinin oranları Fityk programı kullanılarak çakışan voltametik piklerin ayrıştırılmasıyla belirlenmiş; OA, PA ve SA yüzdeleri sırasıyla %28,19, %24,31 ve %38,37 olarak hesaplanmıştır.

Bilim Kodu : 20102
Anahtar Kelimeler : Voltametri, kare dalga sıyırma, çikolata, palmitik asit, stearik asit, oleik asit
Sayfa Adedi : 83
Danışman : Dr. Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN

DEVELOPMENT OF VOLTAMMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF
OLEIC, PALMITIC, STEARIC ACID IN CHOCOLATE

(M. Sc. Thesis)

Nermin YILDIZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2025

ABSTRACT

In this study, an analytical method was developed for the voltammetric determination of oleic acid (OA), palmitic acid (PA), and stearic acid (SA) present in chocolate. Initially, the compounds, which are found in esterified forms in chocolate, were converted into free fatty acids through appropriate chemical treatments. In the voltammetric analyses, a solution of tetrabutylammonium tetrafluoroborate in alcohol was used as the supporting electrolyte, an Ag/AgCl electrode as the reference electrode, and a gold electrode as the working electrode. Square wave cathodic stripping voltammetry (SWCSV) was employed in the analyses, and parameters such as pH, temperature, deposition time, and deposition potential were optimized. As a result of the optimization, the optimal temperature for all three analytes was determined to be 60 °C, and the optimal pH was set at 2,0. The deposition potential was found to be -1.1 V for OA, and -1.2 V for both PA and SA. The deposition time was optimized as 50 s for OA and 60 s for PA and SA. Regarding the sensitivity of the method, the limits of detection (LOD) were determined as 0.15 mM for PA, 0.12 mM for OA, and 0.51 mM for SA; while the limits of quantification (LOQ) were calculated as 0.51 mM, 0.40 mM, and 1.71 mM, respectively. In addition, the percentages of OA, PA, and SA in chocolate were determined as 28.19%, 24.31%, and 38.37%, respectively, by deconvoluting overlapping voltammetric peaks using the Fityk program.

Science Code : 20102

Key Words : Voltammetry, square wave stripping, chocolate, palmitic acid, stearic acid, oleic acid)

Page Number : 83

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her aşamada bana rehberlik eden değerli tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda desteğini her zaman yanımda hissettiğim Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Selva BİLGE YÜCEL'e, Dr. Öğr. Üyesi Sevda AKAY SAZAKLIOĞLU'na ve Arş. Gör. Hande AKAR'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecim boyunca farklı bakış açıları kazanmamı sağlayan, bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan tüm değerli hocalarıma ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, desteğini her zaman hissettiğim kıymetli arkadaşlarıma gönülden teşekkür ederim.

Bu süreçte sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan, bana güç veren ve ilham kaynağım olan sevgili kızlarım M. Sc. Beyza Merve YILDIZ ve Dr. Dilara Berna YILDIZ'a; sabrı ve anlayışı ile bu süreçte yanımda olan eşim M. A. Mesut YILDIZ'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana yol gösteren, sevgileri ve emekleriyle her zaman yanımda olan rahmetli babam Orhan KARABAĞ ve rahmetli annem Meliha KARABAĞ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Çikolata	3
2.1.1. Çikolatanın tarihi.....	3
2.1.2. Çikolatanın bileşenleri	4
2.1.3. Çikolata çeşitleri.....	5
2.1.4. Çikolatanın üretim süreçleri.....	7
2.1.5. Çikolatanın sağlığa etkisi	12
2.1.6. Çikolatanın kullanım alanları	14
2.1.7. Çikolatanın kimyasal bileşimi.....	15
2.1.8. Çikolatada yağ asitleri, lipitler ve trigliseritler	15
2.2. Elektrokimyasal Yöntemler	21
2.2.1. Voltametri	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	31
3.1. Kullanılan Cihazlar	31
3.1.1. Elektrokimyasal analizör (Voltametri cihazı, potansiyostat cihazı)	31

	Sayfa
3.1.2. Analitik terazi.....	31
3.1.3. Elektrotlar.....	32
3.1.4. pH metre.....	33
3.1.5. Ultra saf su cihazı.....	34
3.1.6. Ultrasonik su banyosu.....	34
3.1.7. Isıtıcı.....	34
3.1.8. Elektrokimyasal hücre.....	35
3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	35
3.3. Örnekler, Reaktifler ve Çözeltilerin Hazırlanması.....	36
3.3.1. 1,0 M NaOH çözeltisi	36
3.3.2. 1,0 M H ₂ SO ₄ çözeltisi	36
3.3.3. 0,01 M Destek elektrolit çözeltisi	37
3.3.4. 0,1000 M Palmitik asit	37
3.3.5. 0,1000 M Oleik asit.....	37
3.3.6. 0,1000 M Stearik asit	37
3.3.7. Çikolata numunesinin hazırlanması	37
3.3.8. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi için potansiyostat cihazının çalışma değerleri	38
3.3.9. Fityk programıyla çakışan piklerin ayrılması	38
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. Kare Dalga Katodik Sıyırma Voltametrisi Yöntemiyle Oleik Asit Tayini	41
4.1.1. Oleik asidin dönüşümlü voltamogramı	41
4.1.2. Oleik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu	42
4.1.3. Oleik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu	43
4.1.4. Oleik asit tayini için biriktirme potansiyelinin optimizasyonu	45
4.1.5. Oleik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu	46

	Sayfa
4.1.6. Oleik asit tayini için pH'nın optimizasyonu	47
4.1.7. Kalibrasyon grafiği ile oleik asit tayini	49
4.1.8. Oleik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi	50
4.2. Kare Dalga Katodik Sıyırma Voltametriyle Palmitik Asit Tayini	51
4.2.1. Palmitik asidin dönüşümlü voltamogramı	51
4.2.2. Palmitik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu	52
4.2.3. Palmitik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu	53
4.2.4. Palmitik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu	56
4.2.5. Palmitik asit tayini için pH'nın optimizasyonu.....	58
4.2.6. Kalibrasyon grafiği yöntemi ile palmitik asit tayini	59
4.2.7. Palmitik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi	61
4.3. Kare Dalga Katodik Sıyırma Voltametriyle Stearik Asit Tayini.....	62
4.3.1. Stearik asidin dönüşümlü voltamogramı.....	62
4.3.2. Stearik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu.....	63
4.3.3. Stearik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu.....	64
4.3.4. Stearik asit tayini için biriktirme potansiyelinin optimizasyonu	66
4.3.5. Stearik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu.....	67
4.3.6. Stearik asit tayini için pH'nın optimizasyonu	69
4.3.7. Kalibrasyon grafiği yöntemi ile stearik asit tayini	71
4.3.8. Stearik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi	72
4.4. Çikolata Numunesinde PA, SA ve OA Tayini	73
4.4.1. OA, PA ve SA voltamogramlarındaki çakışmanın Fityk programı ile giderilmesi.....	74
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
KAYNAKLAR.....	81

ÖZGEÇMİŞ	83
----------------	----



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bazı çikolata türlerinin içeriklerinin karşılaştırılması	7
Çizelge 2.2. Çikolatadaki yağ asitleri	17
Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddelerin listesi	36
Çizelge 3.2. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinin cihaz parametreleri	38
Çizelge 3.3. Dönüşümlü voltametri cihaz parametreleri	38
Çizelge 4.1. 5,66 mM OA'nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60 °C'de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri.....	43
Çizelge 4.2. 3,23 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın elektrot ile farklı sıcaklıklardaki akım değerleri	44
Çizelge 4.3. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de farklı biriktirme potansiyellerindeki akım değerleri	45
Çizelge 4.4. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri	47
Çizelge 4.5. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerindeki akım değerleri.....	48
Çizelge 4.6. OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri	50
Çizelge 4.7. 1,1 mM OA için kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması	51
Çizelge 4.8. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60 °C'de, -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri.....	53
Çizelge 4.9. 3,23 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde farklı sıcaklıklardaki akım değerleri.....	54
Çizelge 4.10. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrodu ile 60 °C'de farklı biriktirme potansiyeline karşı akım değerleri	56

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme süresine karşı akım değerleri	57
Çizelge 4.12. 5,66 mM PA 'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerindeki akım değerleri.....	59
Çizelge 4.13. PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri	60
Çizelge 4.14. 1,1 mM PA için kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması	62
Çizelge 4.15. 5,66 mM stearik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametrisi ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60 °C'de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri	64
Çizelge 4.16. 3,23 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde farklı sıcaklıklardaki akım değerleri.....	65
Çizelge 4.17. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de farklı biriktirme potansiyelindeki akım değerleri	67
Çizelge 4.18. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme süresine karşı akım değerleri	68
Çizelge 4.19. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerindeki akım değerleri	70
Çizelge 4.20. SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri	72
Çizelge 4.21. 1,1 mM SA için kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması	73
Çizelge 4.22. Yağ asidi çözeltilerinin voltamogramlarından Gauss eğrileri ile elde edilen parametreler.....	76
Çizelge 4.23. Eş molar OA, PA ve SA içeren model sistem için fit sonrası elde edilen yükseklik değerleri ve yağ asitlerinin yüzde bileşimleri.....	77

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.24. Çikolata çözeltisindeki OA, PA ve SA içeren model sistem için fit sonrası elde edilen yükseklik değerleri, yağ asitlerinin yüzde bileşimleri ve literatürde raporlanan yağ asidi yüzde bileşimleri	78



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Çikolata üretimi akış şeması.....	8
Şekil 2.2. Oleik asidin kimyasal gösterimi	18
Şekil 2.3. Palmitik asidin kimyasal gösterimi.....	19
Şekil 2.4. Stearik asidin kimyasal gösterimi	20
Şekil 2.5. Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması	22
Şekil 2.6. Bir SWV yönteminde uyarma potansiyelinin oluşumu	27
Şekil 2.7. CV’de uygulanan potansiyelin zamanla değişimi	29
Şekil 4.1. 3,23 mM OA’nın 60 °C’deki dönüşümlü voltamogramı.....	41
Şekil 4.2. 5,66 mM OA’nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60 °C’de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları	43
Şekil 4.3. 3,23 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen voltamogramları	44
Şekil 4.4. 3,23 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri	44
Şekil 4.5. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrot ile 60 °C’de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyel değerlerinde elde edilen voltamogramları	45
Şekil 4.6. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri	46
Şekil 4.7. 5,66 mM OA’nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları.....	46
Şekil 4.8. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerinde elde edilen akım değerleri	47
Şekil 4.9. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları.....	48

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 50 s biriktirme süresinde, farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri	49
Şekil 4.11. OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerde elde edilen voltamogramları	49
Şekil 4.12. OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğı	50
Şekil 4.13. 3,23 mM PA'nın 60 °C'deki dönüşümlü voltamogramı	52
Şekil 4.14. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60 °C'de, -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları.....	53
Şekil 4.15. 3,23 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen voltamogramları.....	54
Şekil 4.16. 3,23 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri	55
Şekil 4.17. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrodu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen voltamogramları.....	55
Şekil 4.18. 5,66 mM PA'nın, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri	56
Şekil 4.19. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları.....	57
Şekil 4.20. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerinde elde edilen akım değerleri	58
Şekil 4.21. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları....	58
Şekil 4.22. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri	59
Şekil 4.23. PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki artan derişim değerlerinde elde edilen voltamogramları	60

Şekil	Sayfa
Şekil 4.24. PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği	61
Şekil 4.25. 3,23 mM SA'nın 60 °C'deki dönüşümlü voltamogramı	63
Şekil 4.26. 5,66 mM SA'nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60 °C'de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları	64
Şekil 4.27. 3,23 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklık değerlerinde elde edilen voltamogramları	65
Şekil 4.28. 5,66 mM SA ait kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri	66
Şekil 4.29. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrot ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen voltamogramları	66
Şekil 4.30. 5,66 mM SA'nın, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri	67
Şekil 4.31. 5,66 mM SA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları	68
Şekil 4.32. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme süre değerlerinde elde edilen akım değerleri	69
Şekil 4.33. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları	70
Şekil 4.34. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri	70
Şekil 4.35. SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki artan derişim değerlerinde elde edilen voltamogramları	71
Şekil 4.36. SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde ile elde edilen kalibrasyon grafiği	72

Şekil	Sayfa
Şekil 4.37. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 0,3 mL çikolata numunesinin voltamogramı	74
Şekil 4.38. 5,26 mM OA’nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali ...	75
Şekil 4.39. 5,26 mM PA’nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali	75
Şekil 4.40. 5,26 mM SA’nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali	76
Şekil 4.41. Eş molar (3,03 mM) OA, (3,03 mM) PA ve (3,03 mM) SA içeren model sistemin voltamogramı ile eklenen Gauss parametreleri (sol) ve fit edilmiş Gauss eğrileri (sağ)	77
Şekil 4.42. Çikolata numunesinin voltamogramı ile eklenen Gauss parametreleri (sol) ve fit edilmiş Gauss eğrileri (sağ).....	78

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Voltametri cihazı	31
Resim 3.2. Analitik terazi	31
Resim 3.3. Sırayla platin elektrot, camısı karbon elektrot ve altın elektrot.....	32
Resim 3.4. Ag/AgCl referans elektrot.....	32
Resim 3.5. Platin tel	33
Resim 3.6. pH metre	33
Resim 3.7. Ultrasonik su banyosu.....	34
Resim 3.8. Su banyosu.....	34
Resim 3.9. Kapaklı ceketli elektrokimyasal hücre.....	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrat
C_0	Derişim (mol/cm^3)
D	Difüzyon katsayısı (cm^2/s)
$E_{p/2}$	Yarı dalga potansiyeli (V)
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli (V)
E_{pk}	Katodik pik potansiyeli (V)
Hz	Hertz
I_d	Difüzyon akımı (μA)
I_{pa}	Anodik pik akımı (μA)
I_{pk}	Katodik pik akımı (μA)
M	Molarite
mA	Miliamper
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mV	Milivolt
n	Aktarılan elektron (mol)
nA	Nanoamper
s	Saniye
V	Potansiyel
w	Dalga yüksekliği (cm)
μA	Mikroamper
μL	Mikrolitre
v	Tarama hızı (mV/s)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ASV	Anodik sıyırma voltametrisi
CSV	Katodik sıyırma voltametrisi
CV	Dönüşümlü voltametri
ÇE	Çalışma elektrotu
DMSO	Dimetil sülfoksit
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
LSV	Doğrusal Sıyırma voltametrisi
MUFA	Tekli doymamış yağ asitleri
OA	Oleik asit
PA	Palmitik asit
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
RSD	Bağıl standart sapma
SA	Stearik asit
SFA	Doymuş yağ asitleri
SPCE	Ekran baskılı karbon elektrot
SV	Sıyırma voltametrisi
SWSV	Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
TAG	Trigliserit (triacilgliserol)
TBA TFB	Tetrabütilamonyum tetrafloraborat

1. GİRİŞ

Çikolata, her yaştan insan tarafından sevilerek tüketilen, dünya genelinde yaygın bir gıdadır [1]. Tat profili, dokusu ve tüketim alışkanlıkları açısından kültürel çeşitlilik gösterse de temel bileşenleri genellikle benzerdir: kakao, kakao yağı ve şeker [2]. Bunlara ek olarak, süt tozu, emülgatörler ve aroma vericiler gibi yardımcı maddeler de ürünün türüne bağlı olarak formülasyonda yer alabilmektedir.

Son yıllarda, özellikle kakao çekirdeklerinde doğal olarak bulunan biyolojik olarak aktif bileşenler üzerine yapılan araştırmalar artış göstermiştir. Bu bileşenlerin antioksidan, anti inflamatuvar ve kardiyovasküler sistem üzerinde olumlu etkileri olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur [3]. Bu durum, çikolatanın yalnızca bir tatlı ürünü değil, aynı zamanda potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmesine de olanak tanımaktadır.

Bu doğrultuda, çikolatada bulunan polifenoller, metilksantinler (örneğin kafein ve teobromin) ve flavonoidler gibi bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının doğru bir şekilde tayini büyük önem taşımaktadır. Son teknolojilerle donatılmış analitik cihazlar, özellikle sıvı kromatografisi (LC), gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrometrisi (MS) gibi yöntemler, bu bileşiklerin hem niteliksel hem de niceliksel analizlerinde yüksek hassasiyet sağlamaktadır [4].

Elde edilen bilimsel veriler yalnızca akademik literatüre katkı sunmakla kalmayıp, aynı zamanda çikolata ve kakao çekirdeği üreticileri açısından da yol gösterici niteliktedir. Bu bilgiler ışığında, üreticiler belirli bileşenlerin içeriğini artırmak veya istenmeyen maddeleri azaltmak amacıyla ham madde seçimi, fermantasyon süreci, kavurma sıcaklığı gibi üretim parametrelerini optimize edebilmektedir. Böylece hem ürünün besinsel değeri artırılmakta hem de duyu kalitesi geliştirilerek tüketici memnuniyeti sağlanmaktadır [4].

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çikolata

Çikolata, kendine özgü tat, doku ve aroma özelliklerinin yanı sıra, yüksek besin ve enerji içeriği sayesinde tüm yaş grupları tarafından yaygın olarak tüketilen bir üründür. İçeriğinde protein, karbonhidrat, yağ, mineral ve vitaminler bulunması, besleyici değerini artıran başlıca etkenlerdendir.

2.1.1. Çikolatanın tarihi

Kakao çekirdekleri, çikolata üretiminde kullanılan temel hammadde olup *Theobroma cacao* adlı bitki türünün meyvesinden elde edilmektedir. Farklı kakao türleri bulunsada, ticari çikolata üretiminde yaygın olarak kullanılan tür yalnızca *T. cacao*'dur. Bu türün adı, Yunanca kökenli “theos” (tanrı) ve “bromos” (yiyecek) kelimelerinden türetilmiş olup, “tanrıların yiyeceği” anlamına gelmektedir [4–6].

Günümüzde yetiştirilen kakao bitkisi, yaklaşık 35.000 yıl önce başlayan doğal çaprazlama ve seleksiyon süreçlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. *T. cacao*'yu ilk olarak kültüre alan topluluklar, günümüz Orta Amerika ve Güney Meksika bölgelerinde yaşamış yerli halklardır. Bu topluluklar, kakao çekirdeklerinden genellikle biber gibi baharatlarla tatlandırılmış acı içecekler hazırlamışlardır [5, 7].

Kakao çekirdeklerinin insanlar tarafından tüketimine ilişkin bulgular, MS 400 yılına kadar uzanmaktadır. Çikolatanın kökeni büyük olasılıkla, kakao bitkisini ilk olarak ehlileştirdiği düşünülen Maya uygarlığına dayanmaktadır. Bu dönemde kakao çekirdekleri yüksek değer görmüş; para birimi olarak kullanılmış ve altın ile değerli taşlarla birlikte kasalarda saklanarak korunmuştur [7-8].

Kakao ve çikolata, yalnızca bir besin kaynağı olarak değil, aynı zamanda birincil ilaç ya da diğer ilaçların taşıyıcısı olarak da kullanılmıştır. Bu tıbbi kullanım biçimi, ilk olarak Orta Amerika ve Güney Meksika'nın yerli halkları arasında ortaya çıkmış, 16. yüzyılın ortalarında ise Avrupa'ya aktarılmıştır [8].

16. yüzyılda İspanyollar tarafından Avrupa'ya ihraç edilmeye başlanan kakao çekirdekleri, zamanla çeşitli işlemlerden geçirilmiş; çikolatadan elde edilen ürünler tatlandırılarak yaygın biçimde tüketilen bir gıda haline gelmiştir [5].

2.1.2. Çikolatanın bileşenleri

Çikolatanın temel bileşenleri kakao kitlesi, kakao yağı ve şekerdir. Sütü çikolata üretiminde ise bu bileşenlere ek olarak süt türevleri de formülasyona dahil edilmektedir [9].

Kakao kitlesi, literatürde kakao likörü olarak da adlandırılmaktadır. Fermente edilmiş, kavrulmuş ve öğütülmüş kakao çekirdeklerinden elde edilen, kompleks yapıda bir gıdadır ve çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir [4]. Hem yağsız kakao katılarını hem de kakao yağını bünyesinde barındırır. Gıda ambalajlarında sıkça karşılaşılan “% kakao” ifadesi, genellikle bu içeriği tanımlamak için kullanılmaktadır [8].

Ham kakao, kendine özgü acımsı ve keskin bir tada sahiptir. Bu karakteristik tat, başta metilksantin türevleri olan kafein, teobromin ve teofilin gibi alkaloid bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Çikolatanın nihai aroma ve lezzet profili ise; kakao çekirdeklerinin genetik yapısı ve coğrafi kökeni, kimyasal bileşimi, uygulanan üretim süreçleri ve kullanılan formülasyona bağlı olarak önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir [10].

Kakao yağı, kakao kitlesinin preslenmesiyle elde edilir ve çikolata üretiminde en kritik bileşenlerden biri olarak kabul edilmektedir [4]. Tekli doymamış ve doymuş yağ asitlerinden oluşan bir yağ karışımıdır. Doymuş yağ asitleri arasında başlıca palmitik ve stearik asit bulunurken; doymamış yağ asitleri oleik ve linoleik asitleri içermektedir [2, 5]. Kakao yağı, sahip olduğu fiziksel (reolojik ve dokuya ilişkin), kimyasal ve organoleptik (tat, koku, görünüm) özellikleri sayesinde, gıda endüstrisinde en değerli kakao türevlerinden biri olarak değerlendirilmektedir [11].

Şeker, çikolatanın lezzetini, dokusunu ve reolojik özelliklerini belirleyen temel bileşenlerden biridir. Amorf yapıda kullanılan şeker, özellikle konçlama işlemi sırasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları (çikolatanın kavrulması esnasında şekerler ve amino asitlerin bir seri tepkimeye girerek kavrulmuş tadı kokusu ve aromasını oluşturduğu

kimyasal süreçlerdir) açısından kritik bir rol oynamaktadır. Bu reaksiyonlar, çikolatanın kompleks aromatik profilinin oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunur [10].

2.1.3. Çikolata çeşitleri

Çikolata, temel olarak sütlü, bitter ve beyaz olmak üzere üç ana kategoriye ayrılmaktadır. Ayrıca farklı katkıları ve farklı işlemlerle rengini değişmesi nedeniyle pralin ve de ruby çikolata da yaygın kullanıma sahiptir. Bununla birlikte, kakao ve tatlandırıcı oranlarının yanı sıra kuruyemiş, meyve gibi ilave bileşenlerin farklı kombinasyonlarıyla ürün çeşitliliği sağlanabilmektedir [1-2]. Bazı çikolata türlerine ait bileşenlerin karşılaştırmalı içeriği Çizelge 2.1’de sunulmuştur.

Bitter çikolata

Yarı tatlı veya acı tatlı çikolata olarak da adlandırılan bitter çikolata, üretiminde süt ürünleri kullanılmayan bir çikolata türüdür. Ayrıca çeşitli Genellikle %15–%35 oranında kakao kitlesi içermesinin yanı sıra, kakao yağı, vanilin, tatlandırıcılar ve emülgatör olarak sıklıkla lesitin içermektedir [1].

Çikolatadaki kakao oranı arttıkça karbonhidrat içeriği azalma eğilimi gösterirken, yağ ve protein miktarları artış göstermektedir. Kakao kitlesi oranı daha yüksek olan çikolatalar, daha yüksek yağ içeriğine sahip olduklarından dolayı kalori değerleri de daha yüksektir [3-4].

Sütlü çikolata

Sütlü çikolata, çikolata karışımına yoğunlaştırılmış süt veya süt tozu eklenmesiyle üretilmektedir [5]. Formülasyonunda kakao yağı, şeker, süt türevleri ve lesitine ek olarak en az %20–25 oranında kakao içeriği bulunmaktadır [6].

Beyaz çikolata

Beyaz çikolata, kakao kitlesi içermemekte olup, formülasyonunda şeker, süt türevleri ve vanilin gibi isteğe bağlı aroma bileşenlerine ek olarak en az %20 oranında kakao yağı bulunmaktadır [1].

Pralinli ikolata

Pralin, şeker ile fındık veya badem gibi kuruyemişlerin ütölerek bir araya getirilmesiyle hazırlanan; kakao oranı %25 civarında olan pastacılık ürünleri ve çeşitli tatlılarda yaygın olarak kullanılan bir dolgu ve tatlandırıcıdır. Avrupa kökenli bu ürün hem geleneksel tatlı mutfağında hem de endüstriyel gıda üretiminde önemli bir yere sahiptir. Pralinin besin değeri, içeriğinde kullanılan bileşenlere bağlı olarak değışkenlik göstermektedir. Genel olarak yüksek enerji içeriğine sahip olup, sağlıklı yağlar, E vitamini gibi vitaminler ve magnezyum gibi mineraller içermektedir. Ancak yüksek şeker içeriği nedeniyle aşırı tüketiminden kaçınılması önerilmektedir.

Pralin, mutfakta oldukça geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir; özellikle tatlılar, çikolata üretimi, pastacılık ürünleri, dondurma ve soğuk tatlılarda yaygın biçimde tercih edilmektedir [7].

Ruby ikolata

Ruby ikolata, klasik çikolatalarda olduğu gibi kakao çekirdeklerinden üretilmekle birlikte, uygulanan özel işleme teknikleri sayesinde kendine özgü renk ve aroma özellikleri kazanmaktadır. Ruby ikolatanın en ayırt edici özelliği, tamamen doğal bir süreçle elde edilen ruby kakao çekirdeklerinden kaynaklanan kırmızımsı pembe renk tonudur. Tat profili açısından, beyaz çikolatanın tatlılığına, bitter çikolatanın yoğunluğuna ve sütlü çikolatanın kremsiliğine benzer özellikler taşısa da kendine özgü aromatik karakteri ile diğer çikolata türlerinden ayrılmaktadır.

Çizelge 2.1. Bazı çikolata türlerinin içeriklerinin karşılaştırılması

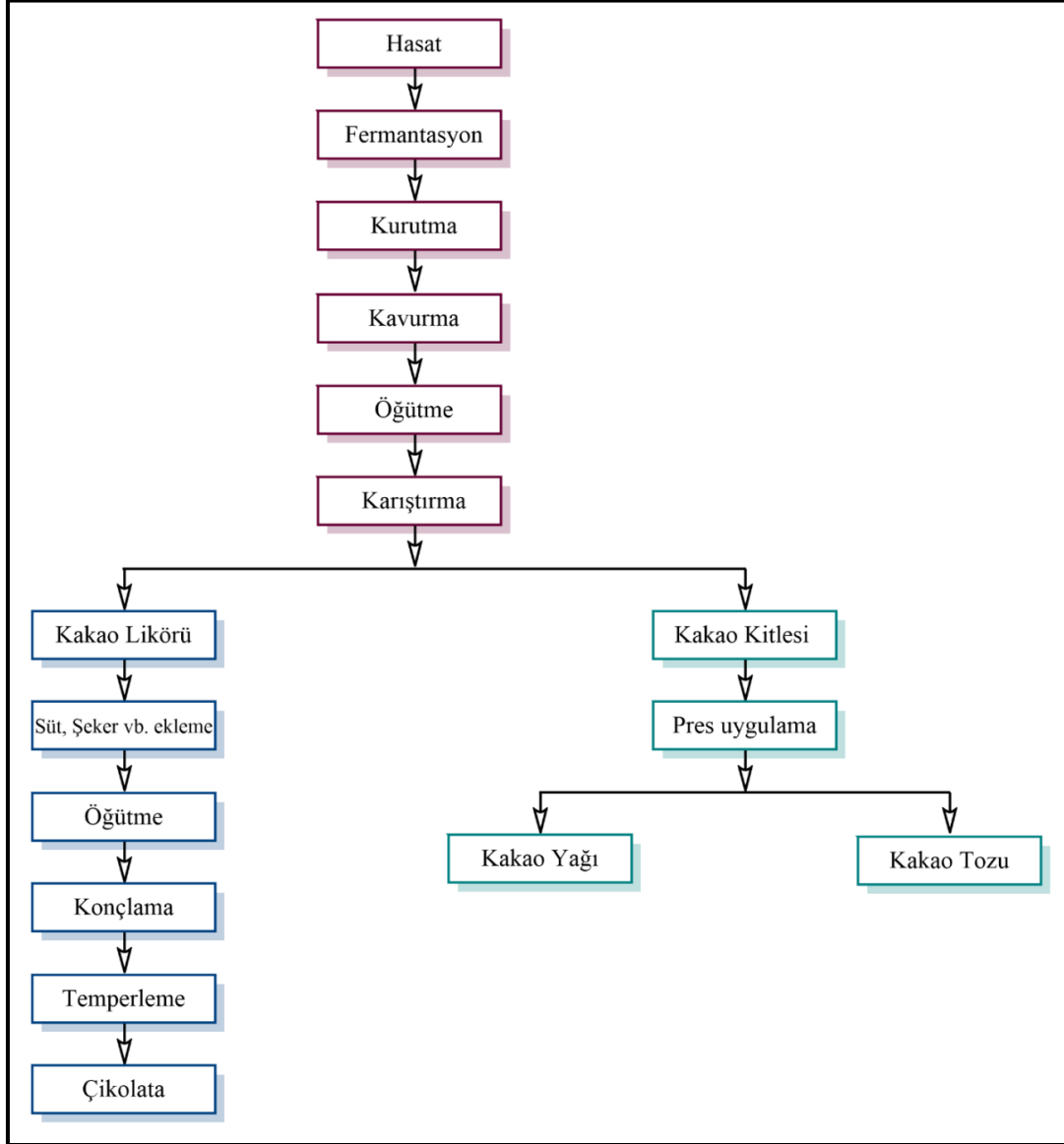
Çikolata tipleri* (100g)	Yağ (g)	Protein (g)	Şeker (g)	Enerji değeri (kcal)
Beyaz çikolata	35	9,3	48	550
Pralinli çikolata	34,7	9,8	33,2	545
%80 kakaolu bitter çikolata	43,6	11,2	18	141
%70 kakaolu bitter çikolata	36	11	31	534
%54 kakaolu bitter çikolata	32	7,2	44	531
%45 kakaolu bitter çikolata	34	8	39	245
Sütlü çikolata	32	9,1	52	542
Şeker ilavesiz çikolata	32,3	6,9	11,8	481
Kuvertür çikolata	34,5	5,6	42,2	558
Ruby çikolata	42	12	35	534

2.1.4. Çikolatanın üretim süreçleri

Çikolata üretimi, çok sayıda kimyasal reaksiyonun meydana geldiği karmaşık ve çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreç; fermantasyon, kurutma, kavurma, kakao çekirdeklerinin öğütülmesi, kakao kitlesi, şeker, kakao yağı, emülgatörler, aroma vericiler ve gerektiğinde süt türevlerinin karıştırılması, ardından konçlama ve temperleme işlemlerinden oluşmaktadır (Şekil 2.1) [8].

Fermantasyon, kurutma, kakao çekirdeklerinin kavrulması ve çikolata kitlesinin konçlanması sırasında, çikolatanın duyuşal özelliklerini belirleyen çeşitli kimyasal reaksiyonlar meydana gelmektedir. Bu reaksiyonlar, özellikle lezzet ve aroma gelişimi açısından en kritik aşamaları oluşturmaktadır [8].

Fermantasyon sürecinde oluşan serbest amino asitler, kısa zincirli peptitler ve indirgen şekerler gibi aroma öncüsü bileşikler, kavurma aşamasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları yoluyla karakteristik kakao aromasının oluşumuna katkı sağlamaktadır [8].



Şekil 2.1. Çikolata üretimi akış şeması

Hasat

Kakao bitkisinin hasadı, çikolata üretim zincirinin ilk adımını oluşturur ve nihai ürünün kimyasal kalitesini doğrudan etkileyen tarımsal bir süreçtir. Kakao meyveleri (kabuklu kapsüller), döllemeden yaklaşık 5–6 ay sonra olgunlaşır ve genellikle elle, keskin bıçak veya özel hasat orakları kullanılarak dikkatlice toplanır. Hasat zamanlaması, çekirdeklerin

içeriğinde bulunan şeker, organik asit, polifenol ve lipid bileşimleri açısından kritik öneme sahiptir. Olgunlaşmamış meyvelerin erken hasadı, düşük yağ içeriği ve yetersiz aromatik öncüllerle sonuçlanırken; aşırı olgunlaşmış meyveler, mikrobiyal kontaminasyon riskini artırarak fermantasyon sürecini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, hasatta fizyolojik olgunluk, yani meyve kabuğunun rengine, sertliğine ve meyve suyunun şeker asit oranına göre değerlendirme yapılması gereklidir.

Hasat edilen kapsüller genellikle 24 saat içinde kırılır ve içerisindeki kakao çekirdekleri jelatin kıvamında öz suyuyla birlikte fermantasyon için hazırlanır. Bu aşamada çevresel koşullar (sıcaklık, nem) ve hasat sonrası bekleme süresi, çekirdeklerdeki enzimatik ve oksidatif süreçlerin başlaması açısından önem taşır. Özellikle lipid bileşenleri (kakao yağı) ve polifenol içeriği hem fermantasyonun seyrini hem de sonraki kavurma adımında oluşacak tat ve aroma bileşiklerini belirleyici faktörlerdir. Dolayısıyla, kakao hasadı yalnızca bir tarımsal faaliyet değil, aynı zamanda çikolata üretiminin öncül kimyasal kalitesini belirleyen temel bir basamaktır.

Fermantasyon

Fermantasyon, çikolata üretiminin sonraki aşamalarında gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar için gerekli olan aroma öncüllerinin oluşmasında kritik öneme sahip bir anahtar basamaktır [8-9].

Bu süreç, başta mayalar, ardından asetik asit bakterileri ve son olarak laktik asit bakterilerinin ardışık mikrobiyal faaliyetleriyle gerçekleşir [10].

Fermantasyon sırasında, kakaoya acımsı tadı veren alkaloidlerin miktarı kademeli olarak azalırken, çekirdeği çevreleyen tabaka ve şeker bileşenleri parçalanır. Organik asitlerin sentezi, proteinlerin parçalanması, çözünmeyen bileşiklerin oluşumu ve glikozitlerin hidrolizi gibi çok sayıda kimyasal dönüşüm, bu sürecin temel bileşenlerini oluşturmaktadır [10].

Kakao çekirdeğinin kurutulması

Fermantasyonun ardından gerçekleştirilen kurutma işlemi, kakao çekirdeklerinin nem içeriğini düşürmek ve fermantasyon sırasında başlatılan oksidatif süreçlerin tamamlanmasını

sağlamak amacıyla uygulanır. Bu işlem, çekirdeklerin taşıma ve depolama sırasında mikrobiyal bozulmalara karşı daha stabil hale gelmesini sağlar [8].

Kurutma süreci, çekirdeklerin nem oranı %8'in altına düşene kadar sürdürülür. Düşük nem içeriği, özellikle küf oluşumunu önleyerek mikrobiyal kaliteyi korur. Bu aşamada yeni aroma bileşikleri oluşurken, uçucu yağ asitleri—özellikle propiyonik, asetik, bütirik ve izobütirik asitlerin—derişiminde azalma gözlenir. Etkili bir şekilde kurutulmuş kakao çekirdekleri, karakteristik kahverengi renkleriyle birlikte daha az acımsı ve nahoş bir tada sahip olur [10].

Kakao çekirdeğinin kavrulması

Kavrulma işlemi sırasında kakao çekirdeklerinin kabukları kırılarak iç kısımlarından ayrıştırılır. Ardından, kavrulmuş çekirdekler ısı altında ezilerek kakao kitlesi hâline getirilir [1].

Bu işlem, çikolatanın karakteristik aroma ve lezzet profiline katkı sağlayan en kritik adımlardan biridir. Kavurma işlemi sırasında istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması sağlanırken, aynı zamanda çikolataya özgü aroma bileşikleri de gelişir. Genellikle 120–140 °C arasında gerçekleştirilen bu yüksek sıcaklıklı işlem, Maillard reaksiyonlarının meydana gelmesi açısından önemlidir [8-10].

Fermantasyon ve kurutma gibi önceki aşamalarda oluşan amino asitler, kısa zincirli peptitler ve indirgen şekerler kavurma sırasında reaksiyona girerek çok sayıda aromatik bileşiğin oluşumunu sağlar. Maillard reaksiyonları sayesinde çikolataya özgü lezzet bileşenleri gelişirken, uçucu asitlerden özellikle asetik asit gibi bileşiklerin derişimi azalır; böylece kakao çekirdeklerinin asiditesi düşürülmüş olur. Buna karşın, laktik, tartarik, süksinik, oksalik ve sitrik asit gibi uçucu olmayan organik asitler kavurma işleminden etkilenmez [10].

Ayrıca kavurma, Salmonella gibi potansiyel patojenlerin etkisiz hâle getirilmesini sağlayarak toplam mikrobiyal yükü azaltır ve gıda güvenliği açısından önemli katkılar sunar.

Kakao çekirdeklerinin öğütülmesi

Çikolata üretiminde, kakao çekirdeklerinin öğütülmesi işlemi; kakao kitlesi, şeker, süt bileşenleri ve diğer katkı maddelerinin uygun partikül boyutuna getirilerek homojen bir karışım elde edilmesi açısından kritik öneme sahiptir.[8]. Bu aşamada, kakao kitlesinde bulunan yağın bir kısmı (kakao yağı), presleme yöntemiyle ayrıştırılarak geriye kalan katı kısım kakao tozu hâline dönüştürülebilir [1].

Bileşenlerin karıştırılması

Çikolata üretiminde, kakao kitlesi; sütlü çikolata üretimi durumunda süt türevleri, emülgatörler (örneğin lesitin, poligliserol polirisinoleat) ve tatlandırıcılar ile birlikte homojen bir karışım oluşturacak şekilde karıştırılmaktadır [1].

Çikolatanın konçlanması

Konçlama, çikolata üretiminde lezzet gelişimi açısından kritik öneme sahip bir aşamadır. Bu işlem, çikolatanın uygun viskoziteye ulaşmasını, fazla nemin giderilmesini, uçucu asitlerin buharlaştırılarak istenmeyen asiditenin azaltılmasını ve arzu edilen renk ile doku özelliklerinin geliştirilmesini sağlar. Aynı zamanda tüm katı partiküllerin kakao yağı ile kaplanarak homojen bir sıvı çikolata yapısının elde edilmesine olanak tanır. Konçlama işlemi, kontrollü sıcaklık altında uzun süreli karıştırma ve ısıtma yoluyla gerçekleştirilir [8].

Çikolatanın temperlemesi

Temperleme, çikolatanın fiziksel ve duyuşal özelliklerinin istenen düzeyde olmasını sağlamak amacıyla uygulanan ve ürün stabilitesi açısından kritik öneme sahip bir işlemdir. Bu işlem, çikolatanın dokusu üzerinde doğrudan etkili olup, düzgün bir kristal yapı oluşumunu teşvik eder. Mükemmel şekilde temperlenmiş çikolata; parlak görünüme, homojen bir dokuya ve süspansiyondaki aroma bileşiklerini koruyabilen düzenli bir mikroyapıya sahiptir [10].

Temperleme işlemi, termal olarak kontrollü bir şekilde gerçekleştirilir ve bu sayede kakao yağının kararlı ve tutarlı boyutlarda kristaller oluşturması sağlanır. Bu kristaller, soğutma

aşamasında kararlı bir kristal ağının oluşumunu destekleyerek ürünün istenen fiziksel özelliklerini kazandırır [8].

2.1.5. Çikolatanın sağlığa etkisi

Çikolata, uzun yıllar boyunca yüksek yağ ve şeker içeriği nedeniyle sağlıksız bir gıda olarak değerlendirilmiş ve bu nedenle genellikle beslenme amacıyla değil, keyif ve tat alma amacıyla tüketilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan diyet araştırmaları, özellikle bitter çikolata tüketiminin, içerdiği flavonoidler gibi belirli kakao bileşenleri aracılığıyla çeşitli potansiyel sağlık yararları sağlayabileceğini ortaya koymuştur [11].

16. ve 20. yüzyıllar arasında, kakao ve çikolatanın tıbbi amaçlarla 100'den fazla farklı kullanım alanı belgelenmiştir. Bu kullanımlar arasında en yaygın olan üç uygulama; zayıf ve güçsüz hastalarda kilo alımını teşvik etmek, sinir sistemini uyarmak ve sindirim fonksiyonlarını iyileştirmek şeklinde öne çıkmaktadır [5].

Yapılan araştırmalar, orta düzeyde kakao ya da özellikle bitter çikolata tüketiminin potansiyel sağlık risklerinden ziyade daha fazla fayda sağladığını ortaya koymaktadır [5]. Çikolatanın sağlık üzerindeki olumlu etkileri büyük ölçüde içerdiği flavonoidler ve teobrominden kaynaklanmaktadır. Bu doğrultuda, yüksek kakao oranına ve düşük şeker içeriğine sahip bitter çikolatanın; sütlü ya da klasik çikolata türlerine kıyasla çok daha belirgin ve olumlu biyolojik etkiler gösterdiği bildirilmektedir [4].

Birçok epidemiyolojik çalışma, kakao ve çikolata tüketiminin kronik hastalık riskinde azalma ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu olumlu etkiler, büyük ölçüde kakao bileşiklerinin sahip olduğu antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere dayandırılmaktadır [2, 12].

Kakaoda bulunan bileşiklerin antioksidan etkileri, insülin direncini doğrudan etkileyerek antidiabetik ve antiobezite etkiler göstermektedir. Ayrıca, prebiyotik özellikleri sayesinde bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu olumlu yönde etkileyerek mikrobiyal çeşitliliğin artmasına ve bağırsak sağlığının iyileştirilmesine katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte hem doğuştan gelen hem de sonradan kazanılmış bağışıklık sistemlerinde rol alan immün hücrelerinin düzenlenmesinde de etkili olduğu gösterilmiştir.

Kakao bileşenleri, bağırsakta karbonhidratların sindirimini ve emilimini yavaşlatarak glikoz dengesinin korunmasına katkıda bulunur. Bununla birlikte, bazı çalışmalar kakao tüketiminin kanserin önlenmesi ve destekleyici tedavisinde potansiyel faydalar sağlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, stres hormonlarının düzeyini azaltarak bilişsel işlevler ve ruh hali üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu da bildirilmektedir [4-6].

Kakao bileşenlerinin, cilt kanseri, sedef hastalığı, akne ve yara iyileşmesi gibi dermatolojik durumların tedavisinde potansiyel uygulama alanlarına sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, glokom ve katarakt gibi oküler hastalıkların semptomlarını hafifletici etkiler göstermekte; karaciğer fonksiyonlarını iyileştirici özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. Kan basıncının düzenlenmesine katkı sağlayarak kardiyoprotektif etkiler sunmasının yanı sıra, merkezi sinir sistemi ve nörolojik işlevler üzerinde de nöroprotektif özellikler göstermektedir [4, 12].

Bu kapsamlı biyolojik etkileri nedeniyle çikolata, besleyici ve terapötik özelliklerini bir arada barındıran bir “fonksiyonel gıda” olarak değerlendirilmektedir [4].

Genel kabul gören bulgulara göre, doymamış yağ asitlerinin kan kolesterol düzeylerini düşürücü etkisi bulunmaktadır; buna karşılık, doymuş yağ asitleri toplam kolesterol seviyelerini artırma eğilimindedir [3].

Çikolatanın enerji yoğun bir gıda olması nedeniyle, aşırı tüketimi kilo alımı riskinin artması da dâhil olmak üzere çeşitli olumsuz sağlık etkilerine yol açabilmektedir. Özellikle doymuş yağ alımının artması, serum kolesterol düzeylerinin yükselmesine ve buna bağlı olarak kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalık risklerinin artmasına neden olabilmektedir [5-6].

Bununla birlikte çikolata, aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yol açabilen başlıca potansiyel alerjenik gıdalardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu reaksiyonlar; yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, baş ağrısı ve astım gibi çeşitli klinik semptomlarla kendini gösterebilmektedir [4].

Sütlü çikolata, içerdği yüksek şeker miktarı ve lezzet profilini iyileştirmek amacıyla eklenen diğer yüksek yağlı bileşenler nedeniyle; obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türleri gibi olumsuz sağlık etkileriyle ilişkilendirilebilmektedir [4].

2.1.6. Çikolatanın kullanım alanları

Çikolata, geniş bir kullanım yelpazesine sahip, popüler ve çok yönlü bir gıda bileşenidir. Tatlı ve fırıncılık ürünlerinde; kek, pasta, kurabiye, dondurma, muhallebi ve puding gibi çeşitli gıdalarda lezzet artırıcı bir unsur olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Şekerleme kategorisinde ise çikolata barları, çikolatalı drajeler, trüfler ile çikolata kaplamalı kuru meyve ve çerezler, en sık karşılaşılan ürünler arasında yer almaktadır.

Çikolata, içecek endüstrisinde de önemli bir bileşen olarak yer almaktadır. Sıcak çikolata, özellikle kış aylarında tüketimi artan geleneksel bir içecek olarak öne çıkarken; çikolatalı milkshake ve smoothie gibi soğuk içeceklerde de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca mocha gibi kahve bazlı içeceklerde, çikolatanın kahveyle harmanlanması sonucu özgün ve zengin aromatik profiller elde edilmektedir.

Çikolata, sağlık ve kozmetik alanlarında da yaygın olarak kullanılan bir bileşendir. Özellikle kakao türevlerinin sahip olduğu güçlü antioksidan özellikler sayesinde, çikolata ekstraktları birçok cilt bakım ürününün formülasyonunda yer almaktadır. Bu bileşenler; cildi nemlendiren, canlandıran ve yenileyici etkilere sahip maske, losyon ve krem gibi ürünlerde kullanılmaktadır. Ayrıca çikolata yağı, masaj yağları ve cilt bakım kremlerinde sıkça tercih edilen fonksiyonel bir içerik olarak öne çıkmaktadır [6].

Çikolata, dekoratif amaçlı kullanımıyla da pastacılık ve tatlı sunumlarında önemli bir rol üstlenmektedir. Pasta ve kek süslemelerinde estetik görünüm sağlamak amacıyla çeşitli çikolata şekilleri, çikolatalı kaplamalar ve çikolata şelaleleri yaygın olarak tercih edilmektedir. Görsel çekiciliğinin yanı sıra, özel günlerde hediyelik olarak sunulan ürünlerde de çikolata önemli bir yer tutmaktadır.

Endüstriyel gıda üretiminde ise çikolata; başta bisküvi ve gofret olmak üzere birçok ürünün kaplamasında kullanılmaktadır. Ayrıca çikolata tozu ve parçacıkları, tat ve doku özelliklerini geliştirmek amacıyla çeşitli işlenmiş gıda ürünlerinin formülasyonuna dahil edilmektedir.

2.1.7. ikolatanın kimyasal bileşimi

Kakao rnleri ve çikolata, içerdiği lipidler, şekerler, mineraller (rneğin potasyum, magnezyum, bakır ve demir) ve polifenoller aracılığıyla insan beslenmesine önemli katkılarda bulunmaktadır [13]. Kakao ekirdeğinin işlenmesinden son ürün olan çikolataya kadar uzanan üretim süreci, istenen aroma ve besin bileşiklerinin oluşumunu sağlamak ve istenmeyen bileşenleri uzaklaştırmak üzere dikkatle tasarlanmıştır.

Kakao rnleri; özellikle kakao kitlesi, kakao tozu ve kakao yağı ile çikolata, oldukça karmaşık bir aromatik yapıya sahiptir. Yapılan araştırmalar, kakao ve çikolata ürünlerinde 600'n üzerinde farklı bileşik bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu bileşikler arasında özellikle aldehitler, pirazinler, alkoller, karboksilik asitler, esterler, ketonlar, furanlar, aminler, amidler, fenolik bileşikler, terpenler ve hidrokarbonlar yer almaktadır. Bu uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin türü ve miktarı, çikolatanın duysal özelliklerini ve özellikle aroma profilini belirlemede temel rol oynamaktadır [9-10].

2.1.8. ikolatada yağ asitleri, lipidler ve trigliseritler

Yağ asitleri

Yağ asitleri, kimyasal yapılarına göre doymuş yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri olarak iki gruba ayrılmaktadır: Genel olarak, hayvansal kaynaklı yağlar daha yüksek oranda doymuş yağ asitleri içerirken; bitkisel kökenli yağlar, çoğunlukla doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Beslenme biliminde, doymuş yağ asitleri ve özellikle endüstriyel olarak üretilen trans yağ asitleri, kardiyometabolik sağlık üzerinde olumsuz etkileri nedeniyle zararlı olarak değerlendirilirken; tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri, kalp sağlığını destekleyen ve genel metabolik dengeye katkıda bulunan bileşikler olarak kabul edilmektedir [14].

Doymamış yağ asitleri, kimyasal yapılarına göre geleneksel olarak iki gruba ayrılmaktadır: bir adet çift bağ içeren tekli doymamış yağ asitleri ve birden fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitleri [14].

Doymamış yağ asitleri, ilk çift bağın metil ucuna olan konumuna göre de sınıflandırılmaktadır. Eğer ilk çift bağ metil ucundan itibaren üçüncü karbon atomunda yer alıyorsa, bu yağ asidi n-3 (omega-3) yağ asidi olarak adlandırılır; altıncı karbon atomunda yer alıyorsa n-6 (omega-6) yağ asidi olarak sınıflandırılır [14].

Çoğu diyet yağı hem doymuş hem de doymamış yağ asitlerini içeren 18 karbonlu yağ asitleri dizisinin tamamını veya bir kısmını bünyesinde barındırmaktadır. Doymuş yağ asitleri grubuna ait başlıca bileşikler arasında palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) yer alırken; doymamış yağ asitleri arasında oleik asit (C18:1n-9) tekli doymamış yağ asidi olarak sınıflandırılmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) grubunda ise linoleik asit (C18:2n-6; omega-6) ve α -linolenik asit (C18:3n-3; omega-3) öne çıkan temel bileşiklerdir [14].

Kakao çekirdekleri, %50–58 oranında yağ içeriğine sahip olup, bu yağın yaklaşık %97–98'i trigliserit formundadır. Kakao yağı içerisinde bulunan başlıca yağ asitleri; palmitik asit (%25,56 $\pm$ 2,06), stearik asit (%39,33 $\pm$ 5,25), oleik asit (%25,99 $\pm$ 6,89) ve daha düşük oranda linoleik asit (%3,34 $\pm$ 1,28) şeklindedir. Yağ asidi bileşimi; kakao çekirdeklerinin genetik çeşidine, coğrafi kökenine, yetiştirme mevsimine ve uygulanan tarımsal üretim yöntemlerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir [1-2, 8].

Yapılan bir çalışmada, kakao çekirdekleri ve çikolata ürünlerinde bulunan yağ asitlerinin türleri ve miktarları incelenmiştir [3]. Araştırma bulgularına göre, kakao çekirdeklerinin yağ asidi bileşimi coğrafi kökenlerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Aynı şekilde, çikolatalardaki karbonhidrat ve toplam yağ içeriği de bu coğrafi kökenden anlamlı düzeyde etkilenmektedir. Ancak, üretim sürecindeki işleme koşullarının çikolata bileşimi üzerindeki etkisi belirgin bir değişiklik göstermemiştir.

Bir çalışmada, palm yağındaki serbest yağ asidini (palmitik asit) belirlemek için indirgenmiş grafen oksit ile modifiye edilmiş ekran baskılı karbon elektrot (rGO-SPCE) geliştirilmiştir. Yapılan voltametrik ölçümlerde, doğrusal çalışma aralığı 0,192–0,833 mM aralığında elde edilmiş, gözlenebilme sınırı ise 0,079 mM bulunmuştur [15].

Literatürde, Türkiye’de yaygın olarak tüketilen çikolatalarda gaz kromatografi yöntemiyle yapılan analizler sonucunda, toplam yağ asitleri içinde stearik asidin %39,33 $\pm$ 5,25; oleik

asidin $25,99 \pm 6,89$; palmitik asidin ise $25,56 \pm 2,06$ oranında olduğu raporlanmıştır (Çizelge 2.2) [16]. Bir başka çalışmada yine gaz kromatografi yöntemi ile yapılan analizlerde, beş farklı markaya ait bitter çikolata numunesi incelenmiş ve yağ asitlerinin ortalama oranları raporlanmıştır: stearik asit $33,11 \pm 0,66$; oleik asit $33,71 \pm 0,89$; palmitik asit ise $25,94 \pm 0,43$ oranlarındadır [13].

Çizelge 2.2. Çikolatadaki yağ asitleri

Yağ Asidi	Karbon Zinciri	Yapı	Ortalama (%)
Oleik asit	C18:1 (n-9)	Tekli doymamış	$25,99 \pm 6,89$
Stearik asit	C18:0	Doymuş	$39,33 \pm 5,25$
Palmitik asit	C16:0	Doymuş	$25,56 \pm 2,06$
Linoleik asit	C18:2 (n-6)	Çoklu doymamış	$3,34 \pm 1,28$
Arakidik asit	C20:0	Doymuş (uzun zincirli)	$1,22 \pm 0,28$
Miristik asit	C14:0	Doymuş (kısa zincirli)	$0,03 \pm 0,04$

Oleik asit ($C_{17}H_{33}COOH$)

Oleik asit, 18 karbon atomu içeren, doğada yaygın olarak bulunan tekli doymamış bir yağ asididir. Kimyasal formülü $C_{17}H_{33}COOH$ olan oleik asit, doymamış yapısı nedeniyle sıvı halde bulunan ve birçok bitkisel ve hayvansal yağda doğal olarak yer alan bir bileşiktir. Molekül kütlesi 282,46 g/mol olup, bu özelliği onu organik bileşikler arasında orta büyüklükte bir molekül olarak sınıflandırır.

Oleik asidin erime noktası yaklaşık 13–14 °C olup, bu özelliği onun oda sıcaklığında sıvı halde bulunmasını sağlar. Kaynama noktası ise oldukça yüksektir ve yaklaşık 360 °C civarındadır. Bu termal özellikler, oleik asidin hem endüstriyel hem de biyolojik uygulamalarda geniş sıcaklık aralıklarında kararlı bir bileşik olarak kullanılmasına olanak tanır. Yaklaşık 0,895 g/cm³ olan yoğunluğu da oleik aside özgü karakteristik fiziksel özelliklerden biridir.

Oleik asit, özellikle alkol, eter ve kloroform gibi apolar organik çözücülerde yüksek çözünürlük gösteren tekli doymamış bir yağ asididir. Bu çözünürlük özellikleri, oleik asidin hem kimyasal analizlerde hem de çeşitli endüstriyel uygulamalarda sıkça tercih edilmesini sağlamaktadır.

Doğada yaygın olarak bulunan oleik asit, birçok bitkisel ve hayvansal yağın önemli bir bileşenidir. Özellikle kakao yağında yaklaşık %33 oranında yer almakta olup, bu yönüyle çikolata üretiminde önemli bir lipid bileşimidir. Çikolata ürünlerinde ise formülasyona bağlı olarak oleik asit oranı genellikle %5 ila %10 arasında değişiklik göstermektedir. Bu durum, oleik asidin gıda endüstrisinde öne çıkan değerli yağ asitlerinden biri olmasına katkıda bulunmaktadır.

Kakaoda bulunan tekli doymamış yağ asitleri fraksiyonunda oleik asit, tıpkı zeytinyağında olduğu gibi baskın bileşen konumundadır [5]. Genel olarak, oleik asit; zeytinyağı, ayçiçek yağı ve kanola yağı gibi bitkisel yağların yanı sıra, donyağı ve domuz yağı gibi hayvansal yağlarda da önemli oranlarda bulunur [14].

Kimyasal olarak oleik asit, n-9 pozisyonunda bir çift bağ içeren bir yapı sergiler (Şekil 2.2) [14].



Şekil 2.2. Oleik asidin kimyasal gösterimi

Palmitik asit ($C_{15}H_{31}COOH$)

Palmitik asit, 16 karbon atomu içeren, doymuş bir yağ asidi olup, doğal yağlar ve yağlı maddeler içerisinde yaygın olarak bulunan bir bileşiktir. Kimyasal formülü $C_{16}H_{32}O_2$ olan palmitik asidin molekül kütlesi 256,42 g/mol'dür. Bu özellikleri, palmitik asidi organik bileşikler arasında orta moleküler büyüklüğe sahip doymuş yağ asitlerinden biri olarak sınıflandırılmasını sağlar. Erime noktası yaklaşık 62,9 °C olup, bu özelliği nedeniyle oda sıcaklığında katı formda bulunur. Kaynama noktası ise yaklaşık 351,5 °C düzeyindedir ve bu yüksek değer, palmitik asidin çeşitli kimyasal ve endüstriyel uygulamalarda termal olarak kararlı bir bileşik olmasını sağlamaktadır. Yaklaşık 0,853 g/cm³ yoğunluğa sahiptir.

Çözünürlük açısından palmitik asit, suda çözünmeyen; ancak alkol, eter ve benzeri organik çözücülerde çözünebilen bir yapıya sahiptir. Bu çözünürlük profili, onu çözünürlük temelli uygulamalarda ve analitik çalışmalarda tercih edilen bir yağ asidi hâline getirmektedir.

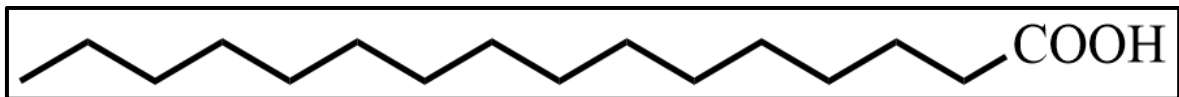
Doğada hem bitkisel hem de hayvansal yağlarda yaygın olarak bulunan palmitik asit, özellikle kakao yağında %24–30 oranında bulunur. Çikolata ürünlerinde ise formülasyona bağlı olarak toplam palmitik asit oranı genellikle %5 ila %10 arasında değişmektedir. Bu yönüyle palmitik asit, çikolatanın dokusal özellikleri, erime davranışı ve raf ömrü gibi teknolojik parametreleri üzerinde belirleyici rol oynayan bir bileşen konumundadır.

Palmitik asit hem serbest formda hem de trigliserit yapılarının bir parçası olarak bulunabilir. Özellikle kakao yağında yaygın olarak yer alması, çikolatanın sertlik, erime noktası ve fiziksel stabilitesi gibi özelliklerine doğrudan katkı sağlamaktadır.

Kakao yağının yağ asidi bileşiminde palmitik asit yaklaşık %24–30 oranında bulunur ve bu bileşik, kakao yağında yer alan trigliseritlerin temel bileşenlerinden biridir. Doymuş bir yağ asidi olması nedeniyle, çikolatanın sertlik düzeyine doğrudan katkı sağlar. Ayrıca, palmitik asidin varlığı çikolatanın ağızda erime hissini iyileştirmekte ve temperleme işlemi sırasında stabil kristal yapıların oluşumunu destekleyerek teknolojik işlem verimliliğini artırmaktadır [17].

Kakao yağında bulunan stearik ve oleik asit gibi diğer yağ asitleriyle dengeli bir bileşim içerisinde yer aldığına, çikolata içeriğindeki palmitik asit genellikle sağlık üzerinde olumsuz bir etki oluşturmaz. Bu denge, özellikle bitter çikolata gibi yüksek kakao içeriğine sahip ürünlerin, içerdiği antioksidan bileşikler sayesinde genel sağlık açısından faydalı olarak değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır [7].

Palmitik asidin kimyasal yapısı Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Palmitik asidin kimyasal gösterimi

Stearik asit (C₁₇H₃₅COOH)

Stearik asit, 18 karbon atomu içeren doymuş bir yağ asidi olup, kimyasal formülü C₁₇H₃₅COOH ve molekül kütlesi 284,48 g/mol'dür. Oda sıcaklığında genellikle katı halde ve beyaz kristal formda bulunan bu bileşik, çikolata ve diğer yağ bazlı ürünlerde yaygın olarak yer almaktadır. Stearik asidin erime noktası yaklaşık 69–70 °C, kaynama noktası ise

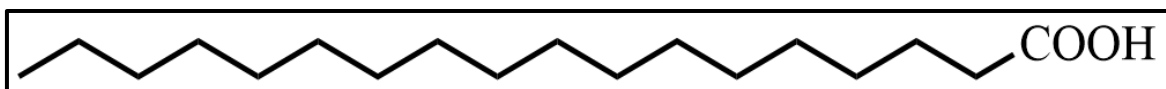
yaklaşık 374 °C civarındadır. Bu termal özellikler, stearik asidin yüksek sıcaklık koşullarında kararlılığını koruyan bir bileşik olmasını sağlar. Ayrıca yoğunluğu yaklaşık 0,847 g/mL'dir.

Çözünürlük özellikleri bakımından stearik asit suda çözünmeyen, ancak etanol, eter, kloroform ve benzen gibi organik çözücülerde çözünebilen bir bileşiktir. Bu özellikleri, onu çeşitli kimyasal işlemler ve analitik uygulamalar için uygun hale getirmektedir.

Doğal kaynaklarda yaygın olarak bulunan stearik asit hem bitkisel hem de hayvansal yağlar içerisinde yer alır. Özellikle kakao yağında yaklaşık %33 oranında bulunur ve bu yönüyle çikolata üretiminde önemli bir bileşen olarak öne çıkar. Nihai çikolata ürünlerinde ise stearik asit oranı %5 ila %10 arasında değişiklik göstermektedir. Bu oranlar, stearik asidin çikolatanın sertlik, erime davranışı ve fiziksel stabilitesi üzerindeki belirleyici etkilerini destekleyen temel faktörlerdir.

Stearik asit, kimyasal olarak oktadekanoik asit (C18:0) olarak adlandırılan, 18 karbon atomuna sahip uzun zincirli bir doymuş yağ asididir. Yunanca kökenli “*stearikos*” kelimesinden türetilmiş olup, “sert yağ” anlamına gelmektedir. Stearik asit hem bitkisel hem de hayvansal yağlarda yaygın olarak bulunur ve palmitik asitten sonra doğada en bol bulunan ikinci doymuş yağ asidi olarak kabul edilmektedir. Bu bileşiğin yapısal formülü Şekil 2.4'te gösterilmiştir [14, 18-19].

Stearik asit, serum lipit ve kolesterol düzeylerini diğer doymuş yağ asitleri ile aynı ölçüde artırmaması bakımından dikkat çekici bir farklılık göstermektedir. Bu ayırt edici özelliğin, stearik asidin intestinal emilim oranının görece düşük olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Söz konusu yağ asidinin, geleneksel olarak kolesterol düzeylerini yükselten diğer doymuş yağlardan ayrı olarak değerlendirilmesi önerilmiştir [5, 13].



Şekil 2.4. Stearik asidin kimyasal gösterimi

Lipitler, trigliseritler

Çikolata, kakao çekirdeklerinden elde edilen ana bileşenlerin yanı sıra, önemli miktarda lipid (yağ) bileşenleri de içermektedir. Çikolatadaki lipidler, ağırlıklı olarak trigliserit formunda bulunur. Bu lipid fraksiyonu, çikolatanın lezzet profili, tekstürel özellikleri ve sağlık üzerindeki potansiyel etkileri açısından belirleyici bir rol oynamaktadır.

Lipitler, yağ asitleri ile gliserolün esterleşmesi sonucu oluşan biyomoleküllerdir ve çikolatanın yapısında önemli bir yer tutar. Çikolatada bulunan başlıca yağ asitleri doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri olup, bu bileşikler ürünün kendine özgü dokusunu, erime noktasını ve ağızda erime hissini belirleyen temel unsurlardır.

Çikolatadaki lipitler, özellikle trigliseritler, ürünün fiziksel özelliklerini ve duyu kalitesini belirleyen temel bileşenler arasında yer almaktadır. Trigliserit bileşimi; çikolatanın erime davranışı, doku özellikleri ve lezzet profili üzerinde doğrudan etkilidir.

Kakao yağında bulunan trigliseritler, çikolatanın insan vücut sıcaklığında hızla erimesini sağlayan düşük ve dar bir erime noktası aralığına sahiptir. Bu özellik, çikolatanın ağızda eriyerek hoş bir tüketim deneyimi sunmasına olanak tanır.

Trigliseritlerin yapısı, çikolatanın sertlik veya yumuşaklık gibi dokusal özelliklerini belirler. Doymuş yağ asitleri (örneğin palmitik ve stearik asit), çikolataya daha sert ve kırılabilir bir yapı kazandırırken; tekli doymamış yağ asitleri (örneğin oleik asit), daha yumuşak ve pürüzsüz bir doku oluşumunu destekler.

Lipitler, çikolatanın lezzet gelişiminde ve ağızda bıraktığı hissiyatta önemli rol oynamaktadır. Trigliseritleri oluşturan yağ asitlerinin türü ve oranı, çikolatanın tat profiline ve duyu yoğunluğuna doğrudan etki eder.

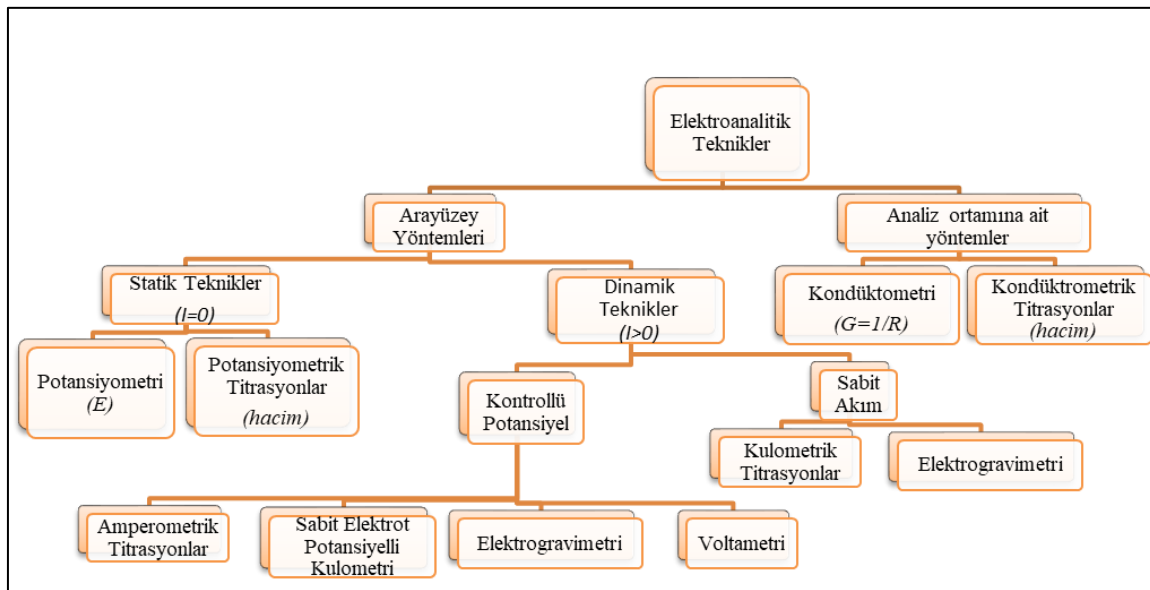
2.2. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler, bir maddenin indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerini inceleyerek analitik bilgi elde etmeye yönelik kullanılan tekniklerdir. Bu yöntemler, elektrot

yüzeyinde gerçekleşen elektron transferine dayalı olarak maddenin kimyasal özelliklerinin belirlenmesini sağlar (Şekil 2.5).

Elektrokimyasal ölçümler, numunenin yanı sıra en az iki elektrot içeren bir elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleştirilir. Bu yöntemler, sulu çözeltilerle sınırlı kalmayıp, susuz çözeltiler ve gaz fazındaki sistemler üzerinde de uygulanabilir. Çoğu elektrokimyasal teknikte, sistemdeki elektriksel parametrelerden biri — genellikle gerilim (voltaj), akım, direnç veya yük — ölçülürken, diğer parametreler sabit tutulur. Bu sayede, kimyasal yapı, analit derişimi gibi kimyasal bilgiler elde edilebilir.

Elektrokimyasal yöntemlerin önemli avantajlarından biri, belirli kimyasal türlerin tespitinde yüksek özgüllük (spesifite) göstermeleridir. Bu durum, söz konusu yöntemlerin yalnızca analiz edilmek istenen hedef bileşiklerin tayini için kullanışlı hale gelmesini sağlar. Öte yandan, bazı elektrokimyasal teknikler daha düşük özgüllüğe sahip olabilir; ancak iletkenlik ölçümleri gibi genel elektriksel parametreler üzerinden, özellikle iyonik türlerin belirlenmesinde önemli avantajlar sunmaktadır [20]. Elektrokimyasal analizlerin en dikkat çekici yönlerinden biri ise, birçok durumda ölçümün bir elementin belirli bir yükseltgenme veya indirgenme durumuna özgü olmasıdır. Bu özellik, aynı elementin birden fazla yükseltgenme basamağına sahip olduğu karışımlarda, her bir türün derişiminin bağımsız olarak ve yüksek hassasiyetle tayin edilmesine olanak tanır.



Şekil 2.5. Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması

2.2.1. Voltametri

Voltametri, bir elektrolitik hücreye dışarıdan potansiyel uygulandığında, ortamda bulunan elektrokimyasal olarak aktif türlerin tepkimeleri sonucu oluşan akımın ölçülmesine dayanan bir elektrokimyasal analiz yöntemidir.

Voltametriyi diğer elektrokimyasal yöntemlerden ayıran bazı temel özellikler bulunmaktadır. Örneğin; elektrogravimetri ve kulometri gibi yöntemlerle karşılaştırıldığında, voltametrik analizlerde derişim polarizasyonunun etkilerini en aza indirmek amacıyla özel önlemler alınmaktadır. Ayrıca voltametri, analitin yalnızca çok küçük bir kısmının tüketilmesiyle gerçekleştirilebildiğinden, minimal analit tüketimi sağlayan bir yöntem olarak öne çıkar. Voltametrik ölçümler, tam derişim polarizasyonu koşullarında akımın izlenmesine dayanırken, potansiyometrik yöntemlerde ölçümler, sistemden akım geçmezken yani polarizasyonun olmadığı koşullarda yapılır.

Voltametrizde nitel analiz

Voltametrik analizlerde, uygulanan potansiyele karşılık ölçülen akımın grafiksel olarak gösterilmesiyle elde edilen voltamogram, örnek üzerinde yapılan nitel analizin temelini oluşturur. Voltamogram üzerindeki akım-piklerinin analizi, elektroaktif türlerin tanımlanmasında kullanılır.

Pik akımının yarısına karşılık gelen potansiyel değeri, yani $I_d/2$ noktasındaki potansiyel, yarı pik potansiyeli olarak adlandırılır ve genellikle $E_{p/2}$ sembolüyle gösterilir. $E_{p/2}$ değeri, belirli bir ortam koşulunda her bir elektroaktif tür için karakteristik olup, madde tanımlamasında önemli bir parametre olarak kullanılır.

Ancak, aynı ortamda bulunan iki farklı türün $E_{p/2}$ değerleri örtüştüğünde, yani voltametrik pikleri çakıştığında, analitik ayırım zorlaşır. Bu durumda, destek elektrolit bileşimi, çözeltinin pH değeri veya kompleksleştirici ajanların kullanımı gibi yöntemlerle ortam koşulları değiştirilerek piklerin ayrılması ve bileşiklerin ayrı ayrı tayini mümkün hâle getirilebilir [21].

Voltametri ile elde edilen akım-potansiyel ilişkisi, ilk kez Heyrovský ve Ilkovič tarafından matematiksel olarak ifade edilmiştir. Bu ilişkiyi tanımlayan denklem, literatürde

Heyrovský–Ilkovič eşitliği olarak bilinmektedir. Söz konusu eşitlik, voltametrik ölçümler sırasında elde edilen akımın uygulanan potansiyelle nasıl bir ilişki içinde olduğunu ortaya koyar ve özellikle polarografi başta olmak üzere elektroanalitik kimyada teorik temel olarak önemli bir yer tutar.

$$E = E_{p/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d - i}{i} \quad (2.1)$$

Burada;

- E: Uygulanan potansiyel (mV)
- $E_{p/2}$: Yarı pik potansiyeli (mV)
- i: Akım şiddeti (μA)
- i_d : Difüzyon akımı (μA)
- n: Aktarılan elektron sayısı
- F: Faraday sabiti (96500 C/mol)

Ölçülen akım şiddeti i, difüzyon akımının yarısına eşit olduğunda, yani $i = i_d/2$ olduğunda, logaritmik denklem şu şekilde olur:

$$\log \left[\frac{i_d - i}{i} \right] = 0 \quad (2.2)$$

İki elektroaktif maddenin voltametrik dalgalarının birbirinden ayrılabilir olması için, bu maddelere ait yarı dalga potansiyelleri ($E_{1/2}$) arasında en az 100 mV'luk bir fark bulunması gerekmektedir. Eğer $E_{1/2}$ farkı 100 mV'tan daha küçük ise, voltamogram üzerinde oluşan dalgalar genellikle birbirine çakışır, bu da bileşiklerin ayrı ayrı tayin edilmesini zorlaştırır.

Voltametrde nicel analiz

Voltametrik analizde, difüzyon akımı, ölçülen sınır akımı ile artık akım arasındaki fark olarak tanımlanır ve büyüklüğü, çözeltideki elektroaktif türün derişimiyle doğru orantılıdır. Analiz sırasında, analitin yalnızca ihmal edilebilir düzeyde küçük bir kısmı elektrolizlendiğinden, madde tüketimi oldukça düşüktür ve genellikle göz ardı edilebilir. Bu nedenle, difüzyon akımı, voltametrik yöntemlerde nicel analiz amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır.

- $I_d = kC$
- I_d : Difüzyon akımı
- k = Orantı sabiti
- C : İndirgenen maddenin derişimi (mmol/L)

Voltametrik analizlerde, elektroaktif türlerin derişimlerinin belirlenmesine yönelik çeşitli nicel analiz yaklaşımları kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında doğrudan karşılaştırma, kalibrasyon grafiğı ve standart ekleme yöntemleri en yaygın olarak başvuru olanlardır.

Doğrudan karşılaştırma yöntemi

Bu yöntemde, analizi yapılacak maddeye ait bilinen derişimde bir standart çözeltisi hazırlanır ve bu çözeltinin voltamogramı alınarak difüzyon akımı kaydedilir. Daha sonra, derişimi belirsiz olan örneğin voltamogramı alınır ve elde edilen difüzyon akımı, standart çözelti ile karşılaştırılır. Difüzyon akımları arasındaki orantı, bilinmeyen çözeltinin derişiminin hesaplanmasına olanak tanır.

Kalibrasyon grafiğı yöntemi

Bu yöntemde, saf analit maddesinden farklı derişimlerde standart çözeltiler hazırlanır. Her bir çözeltinin voltamogramı alınarak difüzyon akımları ölçülür. Elde edilen akım değerleri, karşılık geldikleri derişimlerle birlikte grafiğı dökülerek bir kalibrasyon doğrusu elde edilir. Daha sonra bilinmeyen derişime sahip çözeltinin voltamogramı alınır ve ölçülen difüzyon akımı bu kalibrasyon eğrisi üzerinde değerlendirilerek örneğin derişimi belirlenir.

Standart ekleme yöntemi

Bu yöntemde, öncelikle analiz edilecek örnek çözeltinin voltamogramı alınarak difüzyon akımı ölçülür. Daha sonra, aynı çözeltiye bilinen derişimlerde analit çözeltisi ilave edilir. Her ekleme sonrasında voltamogramlar kaydedilir ve difüzyon akımları ölçülür. Elde edilen difüzyon akımı – derişim verileri bir grafiğı aktarılır. Bu doğrusal ilişki grafiğı üzerinde doğrunun derişim eksenini kestiğı nokta, başlangıçtaki bilinmeyen derişimi verir.

Voltametik analizlerde başlıca iki temel elektrot türü kullanılır: çalışma elektrotu ve referans (karşılaştırma) elektrotu. Ayrıca, akımın tamamlanmasını sağlayan yardımcı (karşıt) elektrot da sistemin önemli bir bileşenidir.

Çalışma elektrotları

Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları; cıva kökenli elektrotlar, katı elektrotlar, modifiye elektrotlar ve dönen elektrotlar gibi çeşitli tiplerde olabilir. Bu elektrotlar genellikle mikro elektrot boyutunda tasarlanır. Mikro elektrotların kullanımı sayesinde, numunede bulunan elektroaktif türlerin yalnızca çok küçük bir kısmı elektrokimyasal tepkimeye girer; böylece çözeltideki bileşim, hacmin büyük kısmında değişmeden korunur.

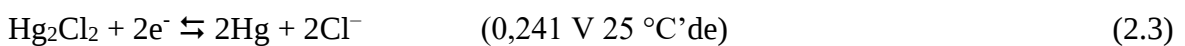
Hücrede yer alan destek elektrolit olarak analitin en az 100 katı derişimde, elektroaktif olmayan iletken bir çözelti kullanılır. Destek elektrolitin temel işlevi, iyonların elektriksel çekim nedeniyle göçünü engellemek, sadece difüzyonla taşınımı ve elektriğin çözelti ortamında iletilmesini sağlamaktır.

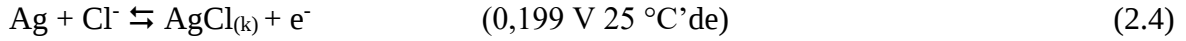
Voltametik analiz sırasında, çalışma elektrotu ile referans elektrot arasında belirli bir potansiyel farkı uygulanır, bu sırada çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot (karşıt elektrot) arasındaki akım ölçülür. Bu akım-potansiyel ilişkisi, analitin hem nitel hem de nicel analizine olanak tanır.

Referans elektrotlar

Referans elektrotlar (karşılaştırma elektrotları), sabit ve iyi tanımlanmış potansiyele sahip olmaları nedeniyle voltametik sistemlerin önemli bir bileşenidir. Küçük akım şiddetlerinde genellikle polarizasyon göstermeyen, ancak akım şiddeti arttıkça ideallikten sapma eğilimi gösterebilen bu elektrotlar, potansiyel uygulamalarında referans noktası olarak görev yapar.

Voltametik çalışmalarda en yaygın kullanılan referans elektrotları doygun kalomel elektrotu (SCE) ve gümüş/gümüş klorür elektrotudur (Ag/AgCl). Bu elektrotlar, elektrokimyasal ölçümlerde stabil ve güvenilir potansiyel değerleri sağlayarak sistemin doğruluğunu artırır.



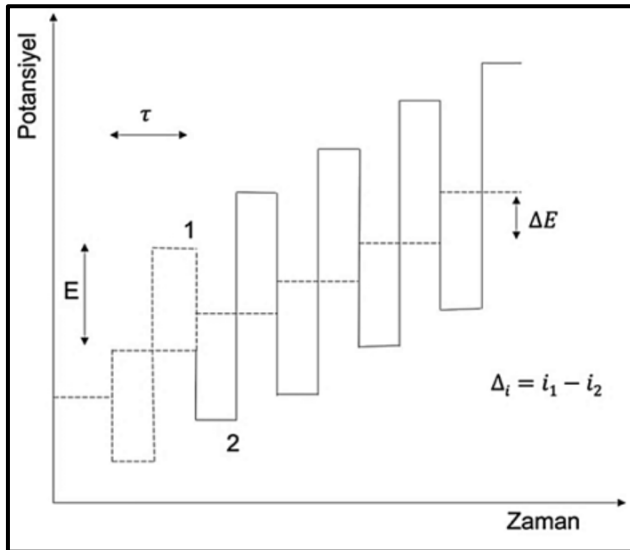


Bir referans elektrotun ideal olarak değerlendirilebilmesi için bazı temel kriterleri sağlaması gerekmektedir. Bu kriterler arasında; elektrot reaksiyonunun tersinir olması ve Nernst denkleminde uygunluk göstermesi, sıcaklık değişimlerinden önemli ölçüde etkilenmemesi, zamana bağlı olarak sabit bir potansiyel sağlaması ve küçük miktarda akım geçtikten sonra bile kısa sürede başlangıçtaki potansiyel değerine dönebilme özelliğine sahip olması yer alır. Bu özellikleri taşıyan referans elektrotlar, voltametrik ölçümlerde güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesini mümkün kılmaktadır.

Kare dalga voltametrisi (SWV)

Kare dalga voltametrisi (SWV): Kare dalga voltametrisi, yüksek hızda ve yüksek duyarlılıkla çalışan bir puls voltametrisi tekniğidir. SWV ile elde edilen voltamogramlar, genellikle 10 milisaniyeden daha kısa sürede kaydedilebilir, bu da yöntemin zaman açısından oldukça verimli olmasını sağlar.

SWV yönteminde uyarma potansiyelinin oluşumu ve elde edilen basamaklı sinyali Şekil 2.6'da gösterilmektedir.



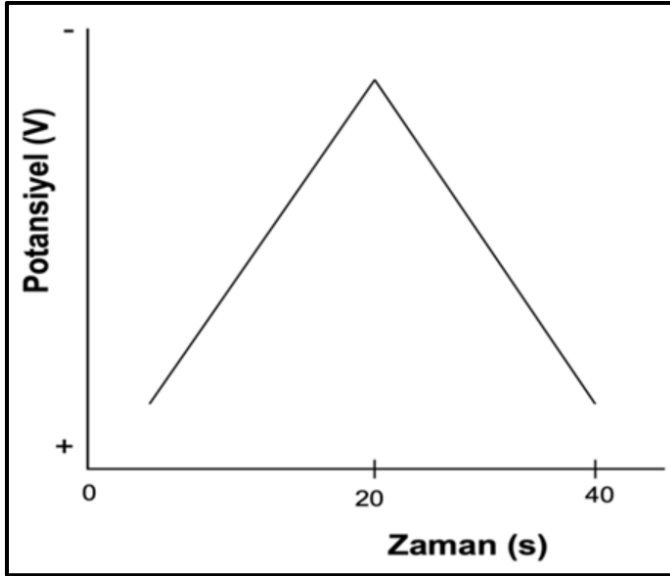
Şekil 2.6. Bir SWV yönteminde uyarma potansiyelinin oluşumu

Sıyırma voltametrisi (SV)

Voltametrinin bir alt dalı olup elektroanalitik yöntemler arasında yüksek hassasiyet sunan önemli tekniklerden biridir. SV'nin en büyük avantajı, analiz öncesinde gerçekleştirilen ön biriktirme aşamasıdır. Bu aşamada, analit çalışma elektrotu üzerinde veya içinde biriktirilir. Ardından gelen sıyırma adımında, önceden biriktirilen analit çözeltiden elektrokimyasal olarak sıyırılır. Bu süreçte gözlemlenen akım, numunedeki analit derişimiyle doğru orantılıdır. Sıyırma voltametrisinin iki temel varyasyonu olan anodik sıyırma voltametrisi (ASV) ve katodik sıyırma voltametrisi (CSV), ön biriktirme ve sıyırma adımlarının doğası bakımından farklılık gösterir. ASV'de ilk olarak katodik bir biriktirme işlemi gerçekleştirilir; analit elektrot yüzeyine indirgenerek biriktirilir. Daha sonra, pozitif yönde potansiyel taraması yapılarak sıyırma sırasında oluşan anodik (oksidatif) akımlar ölçülür. CSV'de ise, analit önce anodik olarak biriktirilir, ardından negatif yönde potansiyel uygulanarak katodik akımlar kaydedilir. Her iki yöntem elektrolizle zenginleştirmeye yapıldığından özellikle ultra eseri metal iyonlarının tayininde kullanılmaktadır [22].

Dönüşümlü voltametri (CV)

Moleküler türlerin indirgenme ve yükseltgenme özelliklerini belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan temel bir elektrokimyasal tekniktir. CV, yalnızca redoks özelliklerini saptamakla kalmaz; aynı zamanda elektron transferiyle tetiklenen kimyasal reaksiyonların kinetik ve mekanistik özelliklerini incelemek açısından da oldukça değerli bir yöntemdir [21].



Şekil 2.7. CV’de uygulanan potansiyelin zamanla değişimi

Bu teknikte, uygulanan potansiyel, önceden belirlenen bir aralıkta pozitiften negatife ve tekrar pozitifte doğru taranarak değiştirilir; bu süreç boyunca sistemden geçen akım değerleri kaydedilir (Şekil 2.7). CV ölçümleri sayesinde, elektrot yüzeyinin kapasitif davranışı analiz edilebilir ve incelenen maddenin yükseltgenme ve indirgenme potansiyelleri belirlenebilir. Ayrıca, bu yöntemle maddenin genel elektrokimyasal davranışı hakkında nitelikli bilgi elde edilir [23].

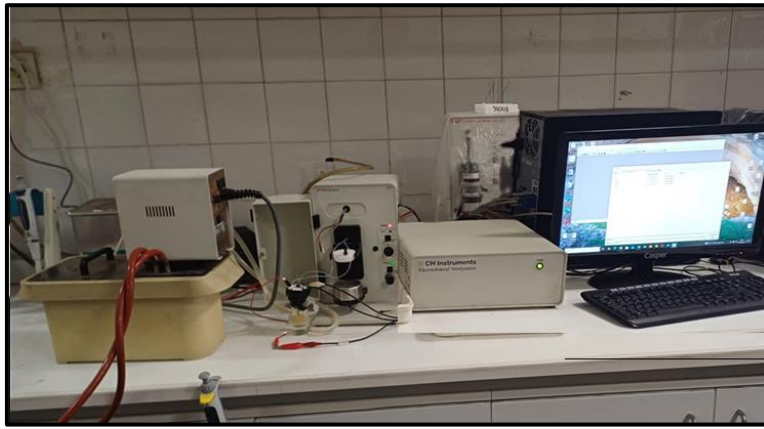


3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar

3.1.1. Elektrokimyasal analizör (Voltametri cihazı, potansiyostat cihazı)

Elektrokimyasal analizler, bilgisayar destekli CHI760D model potansiyostat (CH Instruments Electrochemical Workstation) ve BAS marka CGME hücre sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.1. Voltametri cihazı

3.1.2. Analitik terazi

Tüm tartım işlemleri, 0,1 mg hassasiyete sahip OHAUS marka EP214C model analitik terazi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.2. Analitik terazi

3.1.3. Elektrotlar

Çalışma elektrotu

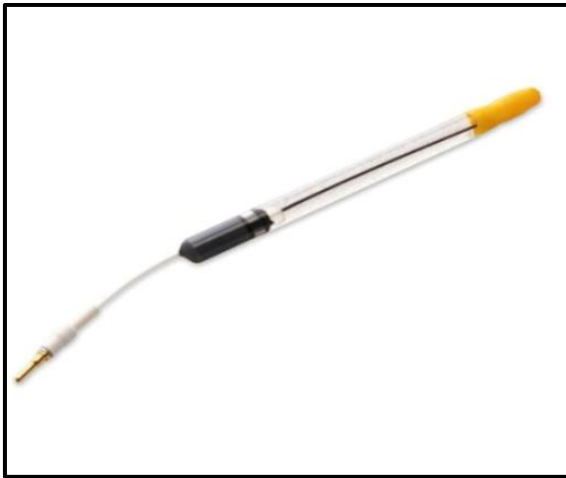
Çalışmalarda, platin çalışma elektrotu (CHI102), camsı karbon çalışma elektrotu (MF-2010) ve altın çalışma elektrotu (2 mm çaplı) (CHI101) kullanılmıştır. Elektrotlardan güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla, her analiz öncesinde elektrotlar kimyasal ve mekanik temizleme işlemlerine tabi tutulmuştur. Temizleme işleminin ardından, elektrot yüzeyleri saf etil alkol ve ultra saf su ile durulanarak kurutulmuş, böylece bir sonraki analiz için uygun koşullarda kullanıma hazır hale getirilmiştir.



Resim 3.3. Sırayla platin elektrot, camsı karbon elektrot ve altın elektrot

Referans elektrot

Analizlerde, susuz ortam koşullarında referans elektrot olarak, 0,01 M AgCl çözeltisi içeren BAS MF-2052 RE-5B model Ag/AgCl elektrotu kullanılmıştır.



Resim 3.4. Ag/AgCl referans elektrot

Karşıt elektrot

Analizlerde karşıt elektrot olarak Platin tel kullanılmıştır.



Resim 3.5. Platin tel

3.1.4. pH metre

pH ölçümleri Mettler Toledo markalı cihaz ile gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.6. pH metre

3.1.5. Ultra saf su cihazı

Deneyisel çalışmalarda, Innovation marka ultra saf su sistemi kullanılmıştır. Bu cihazdan elde edilen ultra saf suyun iletkenliği 0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olup, tüm çözelti hazırlama ve temizlik işlemlerinde kullanılmıştır.

3.1.6. Ultrasonik su banyosu

Deneyisel çalışmalarda, çözeltilerin homojenleştirilmesi ve çözünürlüğün artırılması amacıyla Isolab marka ultrasonik su banyosu kullanılmıştır.



Resim 3.7. Ultrasonik su banyosu

3.1.7. Isıtıcı

Deneyisel çalışmalarda, sıcaklık kontrollü işlemlerde kullanılmak üzere Haake marka su banyosundan yararlanılmıştır.



Resim 3.8. Su banyosu

3.1.8. Elektrokimyasal hücre

Deneysel çalışmalarda, sıcaklık kontrolü ve dış ortamla temasın minimize edilmesi amacıyla kapaklı ceketli elektrokimyasal hücre kullanılmıştır.



Resim 3.9. Kapaklı ceketli elektrokimyasal hücre

3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelere ait marka, katalog numarası ve saklama koşulları ayrıntılı olarak Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddelerin listesi

Adı	Markası	Katalog Numarası	Saklama koşulları
NaOH	Merck	106498	+2°C ile +30°C Sıkıca kapatılmış Kuru
H ₂ SO ₄	Merck	112080	Sıkıca kapatılmış Serin yerde
Tetrabütilamonyum tetrafloroborat (TBA TFB)	Merck	217964	Sıkıca kapatılmış Kuru Serin yerde
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Merck	102931	Sıkıca kapatılmış Serin yerde
Etanol	Merck	100983	+2°C ile +30°C Sıkıca kapatılmış Kuru Isıdan uzak
Palmitik asit	Merck	800508	30°C'in altında Sıkıca kapatılmış Kuru
Stearik asit	Merck	800673	Sıkıca kapatılmış Kuru serin yerde
Oleik asit	Merck	104415	20 °C ile 25 °C Kuru ve karanlık ortamda Kapalı ambalajda

3.3. Örnekler, Reaktifler ve Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. 1,0 M NaOH çözeltisi

4,01 g NaOH, 100 mL'lik bir beherde çözülmüş, ardından çözelti ölçülü balona aktarılmış ve ultra saf su ilavesiyle toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.2. 1,0 M H₂SO₄ çözeltisi

Yoğunluğu 1,84 g/mL ve %98 derişime sahip H₂SO₄ çözeltisinden 1,38 mL ölçülerek alınmış, üzerine ultra saf su ilave edilerek toplam hacim 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.3. 0,01 M Destek elektrolit çözeltisi

3,280 g tetrabütilamonyum tetrafloroborat (mol kütlesi: 329,27 g/mol), bir kap içerisine alınarak üzerine 20 mL DMSO ilave edilmiştir. Ardından çözelti, saf etanol ile karıştırılarak toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.4. 0,1000 M Palmitik asit

0,6410 g palmitik asit (256,42 g/mol), beherde etanol içerisinde çözülmüş ve ardından çözelti ölçülü balonda 25 mL hacme tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.3.5. 0,1000 M Oleik asit

3,21 mL oleik asit (282,46 g/mol) beherde etanol içerisinde çözülmüş ve ardından çözelti, ölçülü balonda 100 mL hacme tamamlanmıştır.

3.3.6. 0,1000 M Stearik asit

2,844 g stearik asit (284,48 g/mol), beherde etanol içerisinde çözülmüş ve ardından çözelti, ölçülü balonda 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır.

3.3.7. Çikolata numunesinin hazırlanması

1,864 g çikolata numunesi tartılarak küçük parçalara ayrılmıştır. Numune, 20 mL n-hegzan ilave edilerek 30 °C sıcaklıkta, ultrasonik banyoda 20 dakika işleme tabi tutulmuş ve ardından 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ekstrakte edilen faz ayrı bir kaba alınmış ve üzerine sırasıyla 20 mL 1,0 M NaOH çözeltisi ile 4 mL etanol ilave edilmiştir. Karışım, geri soğutucu altında 110 °C'de 1 saat süreyle ısıtılmıştır. Daha sonra, 4 mL DMSO ve pH = 2,0 olacak şekilde ayarlanmış 1,0 M H₂SO₄ çözeltisi ilave edilmiştir. Son olarak, çözelti etil alkolle 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu işlem sonucunda, çikolata numunesinde ester formunda bulunan analitler, yağ asitlerine dönüştürülmüştür.

3.3.8. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi için potansiyostat cihazının çalışma değerleri

Analizlerde, kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ve dönüşümlü voltametri yöntemleri kullanılmış olup cihaz parametreleri Çizelge 3.2 ve 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinin cihaz parametreleri

Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi	
Başlangıç potansiyeli (V)	0
Bitiş potansiyeli (V)	-1,8
Frekans (Hz)	15
Maksimum akım (μA)	1
Minimum akım (nA)	1
Genlik (V)	0,025
Potansiyel artışı (V)	0,004
Biriktirme süresi (s)	50 ile 60
Biriktirme potansiyeli (V)	-1,2 ile -1,1
Hassasiyet (A/V)	$1 \cdot 10^{-4}$
Bekleme süresi (s)	2

Çizelge 3.3. Dönüşümlü voltametri cihaz parametreleri

Dönüşümlü voltametri	
Başlangıç potansiyeli (V)	0
Yüksek potansiyel (V)	0
Düşük potansiyel (V)	-1,8
Tarama hızı (V/s)	0,1
Potansiyel artış aralığı (V)	0,001
Bekleme süresi (s)	2
Hassasiyet (A/V)	$1 \cdot 10^{-4}$
Maksimum akım (μA)	1
Minimum akım (nA)	1
Ara eklemelerde N_2 gazı geçiş süresi (s)	2

3.3.9. Fityk programıyla çıkan piklerin ayrılması

Bu matematiksel metot her bir bileşenin sinyalini Gauss eğrisiyle modellemeye dayanmaktadır. Gauss eğrisi, elektrokimyasal ölçümlerde gözlenen simetrik ve düzgün piklerin analitik olarak temsil edilmesi için uygun bir fonksiyon tipidir:

$$f(x) = h \cdot \exp \left(-\frac{(x-x_0)^2}{2\sigma^2} \right) \quad (3.1)$$

Burada $f(x)$, x potansiyelindeki teorik akım şiddeti; h , pik yüksekliği; x_0 , pik merkezi, σ , pik genişliği ve x ise potansiyeldir. Bu modelleme işlemleri Fityk yazılımı [24] kullanılarak gerçekleştirilmiştir.





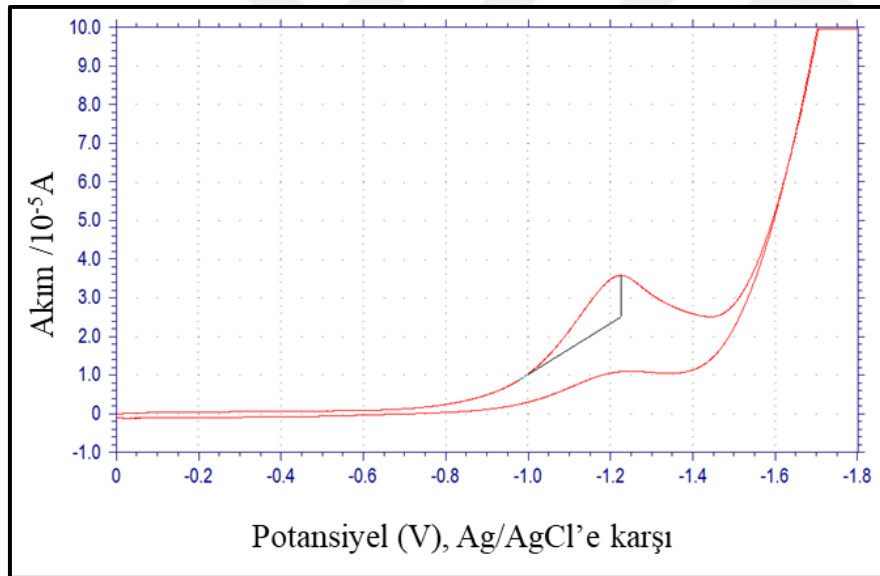
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kare Dalga Katodik Sıyırma Voltametrisi Yöntemiyle Oleik Asit Tayini

Oleik asidin tayini, kare dalga katodik sıyırma yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde oleik asidin tayini için çalışma elektrotu, sıcaklık, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, pH optimize edilmiştir.

4.1.1. Oleik asidin dönüşümlü voltamogramı

Oleik asidin indirgenme/yükseltgenme pik potansiyellerinin ve tersinirliğinin belirlenmesi için yapılan dönüşümlü voltamogramda katodik yönde, -1,225 V anodik yönde -1,400 V'ta belirgin pikler gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. 3,23 mM OA'nın 60 °C'deki dönüşümlü voltamogramı (0,1 V/s)

Oleik asitle yapılan çalışmalarda daha sonra yapılan sıcaklık optimizasyonunda 60 °C'deki akım değeri en yüksek çıktığından, bu çalışmada 60 °C'deki voltamogram alınmıştır.

CV tekniği ile redoks tepkimelerinin tersinirliğini belirlerken yaygın olarak kullanılan bağıntılardan biri şu şekildedir:

$$|E_{pa} - E_{pk}| = (0,059/n) V \quad (4.1)$$

E_{pa} : anodik pik potansiyeli(V), E_{pk} : katodik pik potansiyeli(V), n: aktarılan elektron sayısı:1

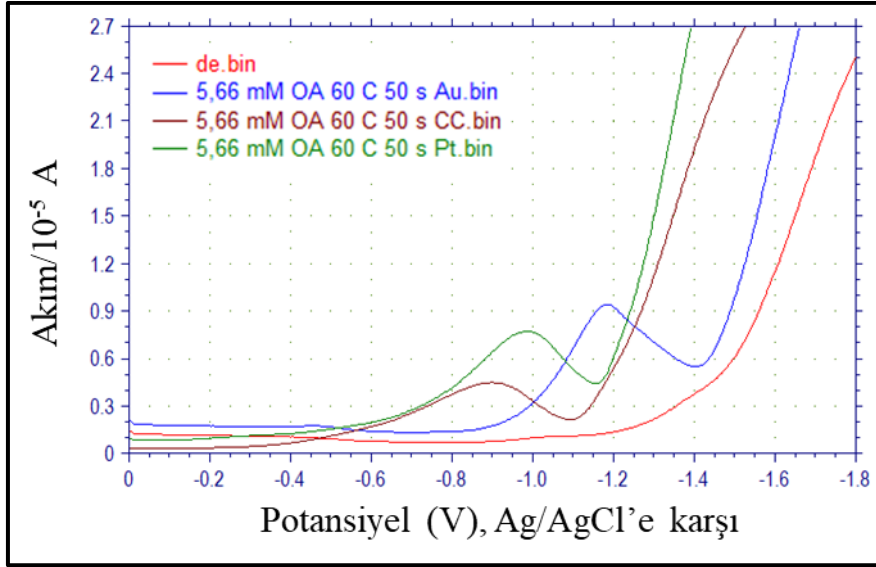
Elektron aktarımı olan tepkimede katodik pik potansiyeli ile anodik pik potansiyeli arasındaki fark 0,059 V ise tepkime tersinirdir.

- $E_{pa} : -1,400 \text{ V}$ $E_{pk} : -1,225 \text{ V}$
- $|E_{pa} - E_{pk}| = (0,059/n) \text{ V}$
- $|-1,400 - (-1,225)| = (0,059/1) \text{ V}$
- $0,175 > 0,059$

Yapılan analizde oleik asidin bu ortamdaki indirgenme yükseltgenmesinin tersinir olmadığı anlaşılmıştır.

4.1.2. Oleik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu

Çalışma elektrotunun optimizasyonu amacıyla kare dalga katodik sıyırma voltametri ile Pt, Au, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları denenmiştir. Denemeler, 5 mL destek elektrolitte (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) 5,66 mM oleik asit çözeltisi 60 °C sıcaklıkta, -1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde yapılmıştır. En iyi sonuç, Au elektrotunda elde edilmiştir ve bu sonuç Şekil 4.2’de ve oleik asidin, Pt, Au ve camısı karbon ve kalem ucu çalışma elektrotları ile ölçülen, akım değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Oleik asit için altın elektrottan elde edilen akım değeri (5,515 μA) en büyük olduğundan, çalışmalarda altın elektrot tercih edilmiştir.



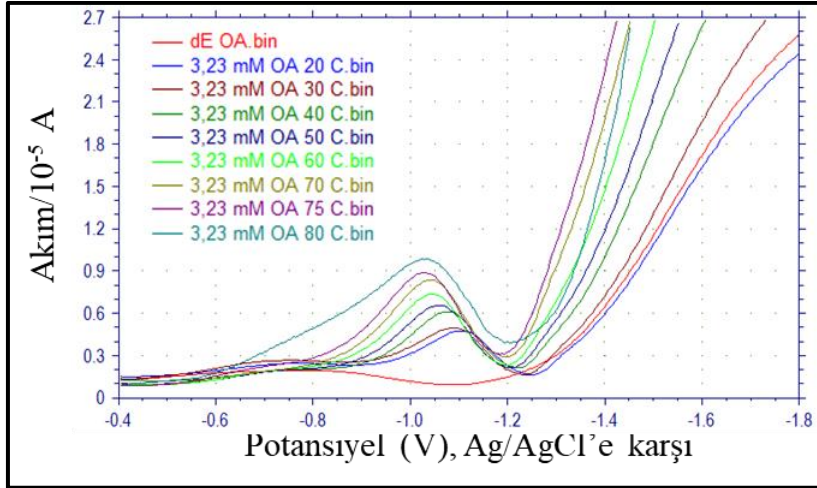
Şekil 4.2. 5,66 mM OA'nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60 °C'de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.1. 5,66 mM OA'nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60 °C'de, -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri

Çalışma Elektrotu	Ölçülen Akım Değeri (µA)
Altın	5,515
Platin	4,291
Camsı karbon	2,801
Kalem ucu	2,601

4.1.3. Oleik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu

Oleik asidin çözünürlüğü sıcaklıkla değiştiğinden, uygun sıcaklığı belirlemek için öncelikle en uygun sıcaklık değeri tespit edilmiştir. Çalışma elektrotu olarak altın elektrot kullanılmıştır. Bu amaçla, 9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) 10 dakika boyunca N₂ gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M oleik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 3,23 mM OA çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametrisiyle altın çalışma elektrotu ile sıcaklığı, 10 °C'lik artışlarla 20 °C'den 80 °C'ye kadar sekiz farklı sıcaklıkta ölçülmüş ve 70 °C'ye kadar piklerin artışı gözlemlenmiş, 70 °C'den sonra pik küçülmeye başlamıştır (Şekil 4.3). Oleik asidin sıcaklığa bağlı olarak değişen akım değerleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

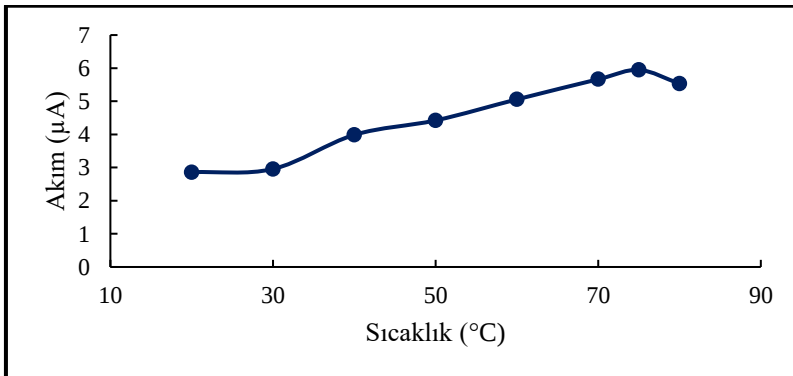


Şekil 4.3. 3,23 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametriyle altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.2. 3,23 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın elektrot ile farklı sıcaklıklardaki akım değerleri

Sıcaklık (°C)	Akım (μ A)
20	2,860
30	2,957
40	3,988
50	4,424
60	5,059
70	5,666
75	5,947
80	5,535

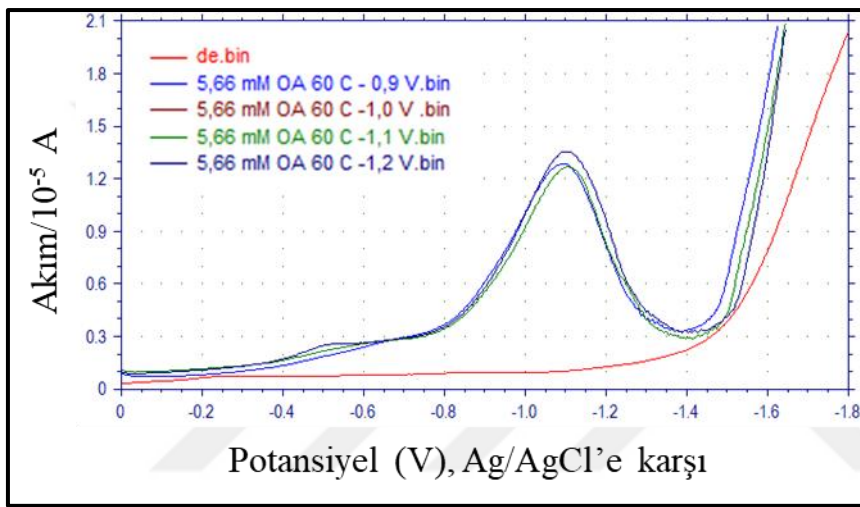
Oleik asit çözeltisi için akım değerlerine göre en yüksek akım 75 °C'de olmasına rağmen buharlaşma da hesaba katılarak ve diğer yağ asitleri ile birlikte tayini için optimum sıcaklık olarak 60 °C seçilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. 3,23 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri

4.1.4. Oleik asit tayini için biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

5 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) 2 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M oleik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM oleik asit çözeltisinin sıcaklığı kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de tutulmuş ve -0,9 V, -1,0 V, -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.5’te verilmiştir. Potansiyel ve akım değerleri Çizelge 4.3’te verilmiştir.

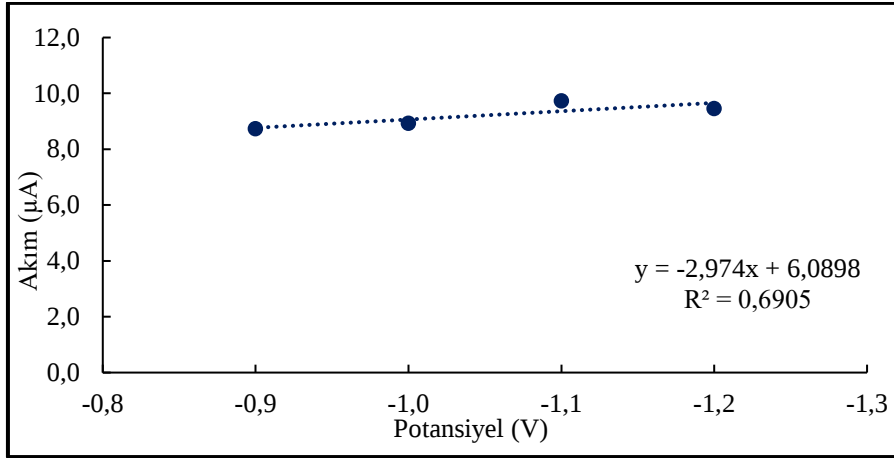


Şekil 4.5. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyel değerlerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.3. 5,66 mM OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de farklı biriktirme potansiyellerindeki akım değerleri

Potansiyel (V)	Akım (μA)
-0,9	8,736
-1,0	8,924
-1,1	9,732
-1,2	9,458

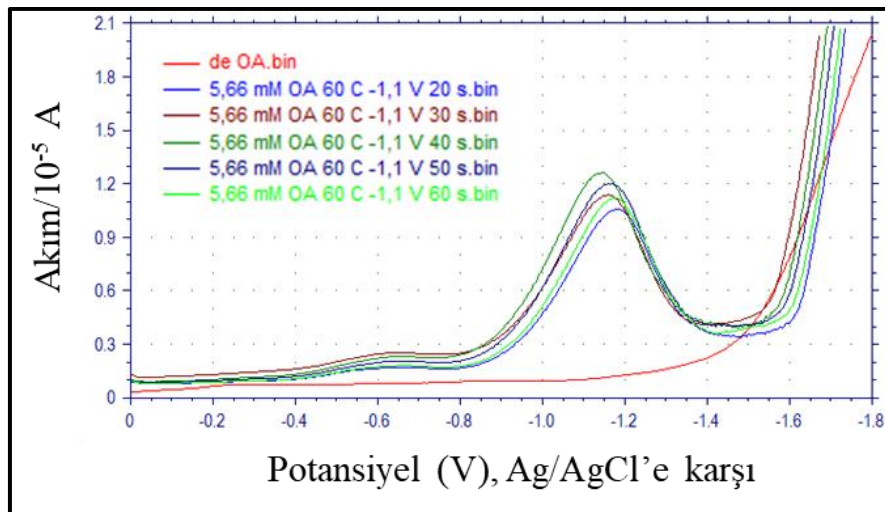
5,66 mM oleik asit çözeltisinin, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C -0,9V; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinin pik potansiyellerine karşılık gelen akım değerlerine göre biriktirme potansiyeli -1,1 V olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri

4.1.5. Oleik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu

Kare dalga katodik sıyırma yöntemi ile oleik asidin uygun biriktirme süresini belirlemek amacıyla, altın çalışma elektrotu ile 5 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) iki dakika boyunca N₂ gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M oleik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM OA çözeltisinin kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde sıcaklığı 60 °C'de tutulmuş ve -1,1 V biriktirme potansiyelinde beş farklı zaman diliminde voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.7). Biriktirme süresi ve akım değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

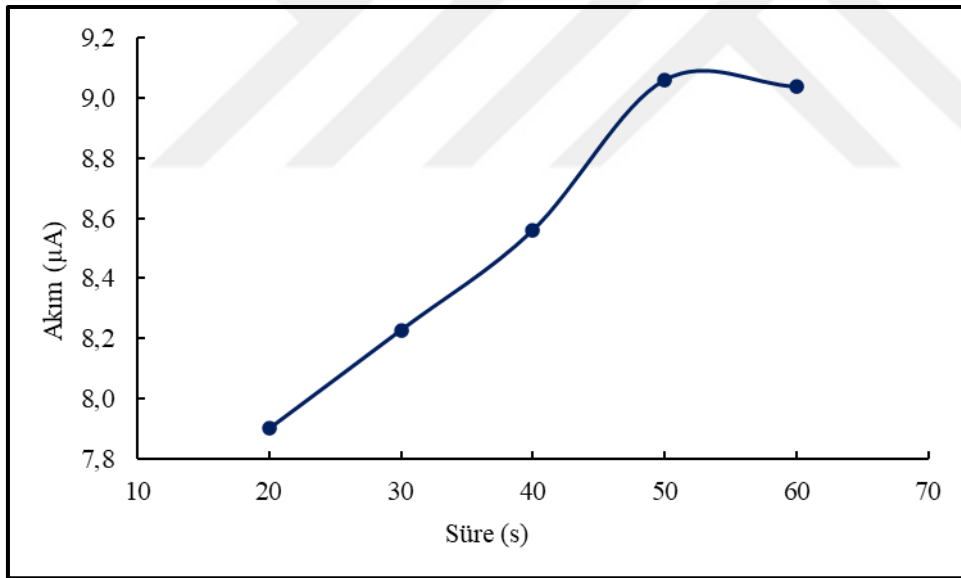


Şekil 4.7. 5,66 mM OA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.4. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri

Süre(s)	Akım (μ A)
20	7,902
30	8,229
40	8,560
50	9,059
60	9,038

5,66 mM oleik asit çözeltisinin kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki 20, 30, 40, 50 ve 60 saniyelik biriktirme sürelerinde yapılan ölçümler sonucunda, en uygun biriktirme süresi 60 saniye olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

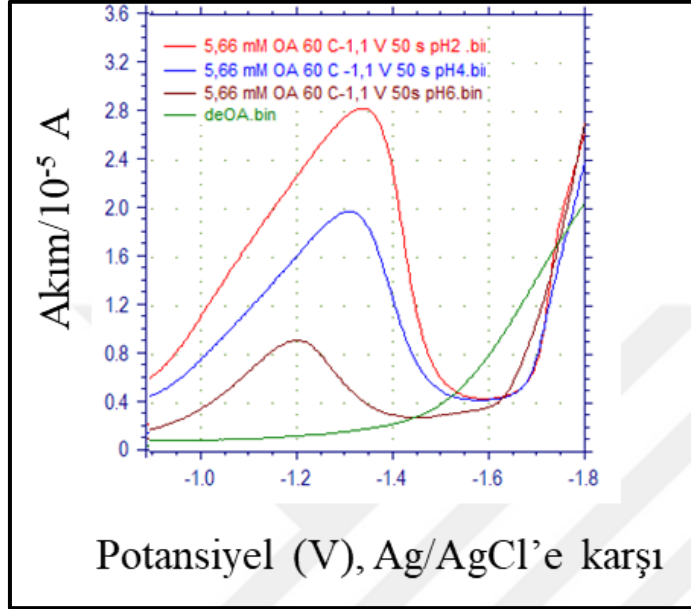


Şekil 4.8. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerinde elde edilen akım değerleri

4.1.6. Oleik asit tayini için pH'nın optimizasyonu

Hücreye, 5 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) eklenmiş ve üzerine 0,1000 M oleik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM oleik asit çözeltisi 2 dakika boyunca N_2 gazı geçirildikten sonra kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli ve 50 saniye biriktirme süresinde

voltamogramları alınmıştır. pH ayarlamaları 1,0 M NaOH ve 1,0 M H₂SO₄ çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.9). Oleik aside ait, farklı pH'larda ölçülen akım değerleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Oleik asidin farklı pH'lardaki akım değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

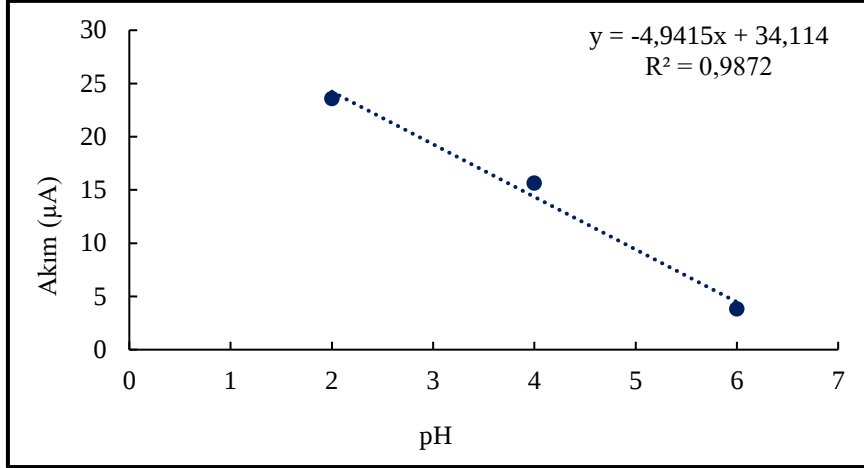


Şekil 4.9. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.5. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerindeki akım değerleri

pH	Akım (µA)
2,0	23,58
4,0	15,65
6,0	6,506

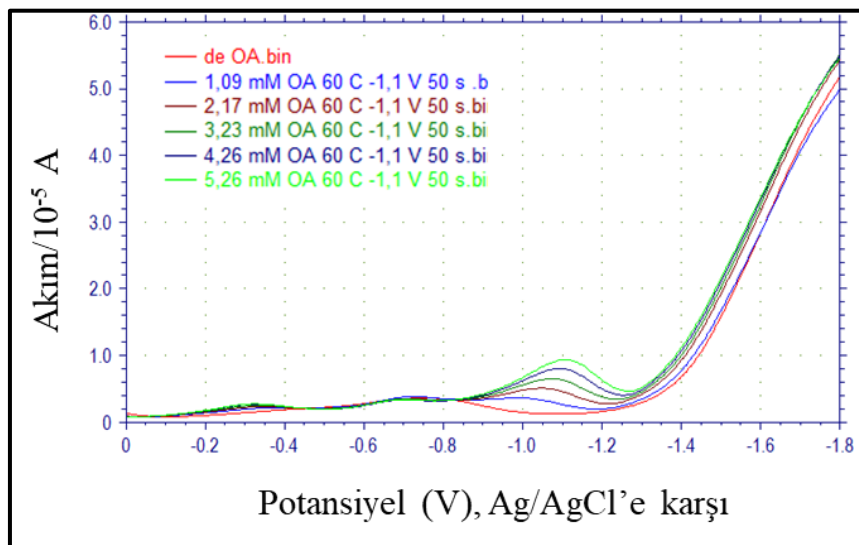
Oleik asit için yapılan deneyler sonucunda en uygun pH'ın 2,0 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. 5,66 mM OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 50 s biriktirme süresinde, farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri

4.1.7. Kalibrasyon grafiği ile oleik asit tayini

Hücreye 9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) eklenmiş ve çözeltilerden 2 dakika boyunca N₂ gazı geçirilmiştir. Sonrasında 3,23 mM oleik asit çözeltisinin kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M OA çözeltisinden 0,1 mL eklenerek artan derişimlerde voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.11). Akım değerleri Çizelge 4.6'da listelenmiştir.



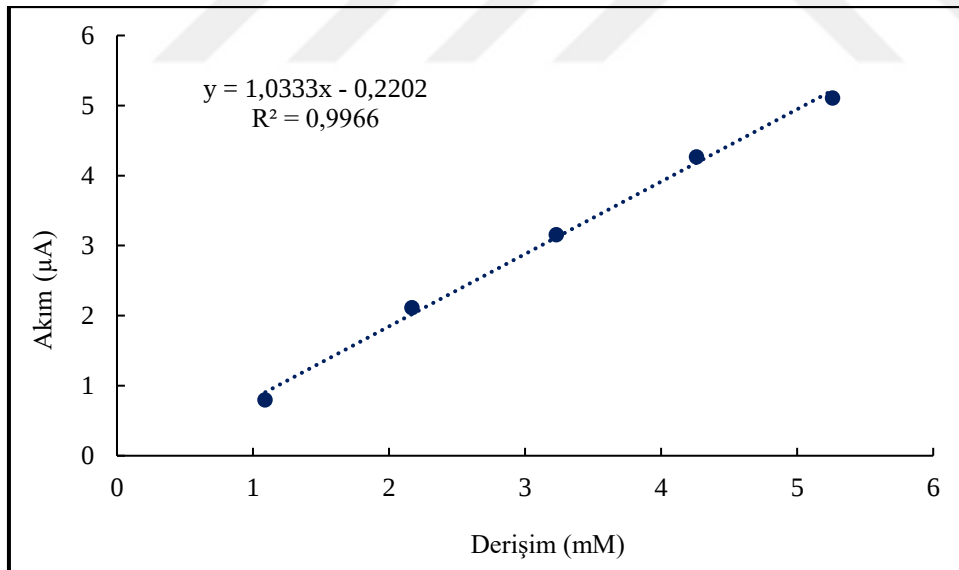
Şekil 4.11. OA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerde elde edilen voltamogramları

Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M oleik asit derişimlerine karşı akım değerleri Çizelge 4.6’da verilmiş, değerler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.12).

Çizelge 4.6. OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri

Derişim (mM)	Akım(μA)
1,09	0,801
2,17	2,113
3,23	3,156
4,26	4,266
5,26	5,108

Çizelge 4.6’da elde edilen derişim akım değerleri grafiğe geçirildiğinde $I = 1,0333C - 0,2202$ doğrusu elde edilmiş olup (Şekil 4.12), bu doğrunun eğim değeri gözlenebilme (3s/m) ve tayin sınırının (10s/m) hesaplanmasında kullanılmıştır.



Şekil 4.12. OA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği (Çalışma elektrotu: altın; sıcaklık: 60 °C; biriktirme potansiyeli: -1,1 V; biriktirme süresi: 50 s)

4.1.8. Oleik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi

9 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) üzerine tek sefer eklenen 1,1 mM oleik asidin kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -

1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde 10 tekrarlı ölçümü alınmış ve 1,556 ile 1,713 μA arasında değişen akım değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.7). Bu akım değerlerinin standart sapması 0,0409 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. 1,1 mM OA için kare dalga katodik sıyırma voltametriyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması (Çalışma elektrotu: altın; sıcaklık: 60 °C; biriktirme potansiyeli: -1,1 V; biriktirme süresi: 50 saniye)

1,1 mM OA	Akım (μA)
1	1,673
2	1,662
3	1,652
4	1,651
5	1,637
6	1,621
7	1,556
8	1,713
9	1,669
10	1,632
x=	1,646
s=	0,0409

$$\text{LOD}_{(\text{OA})} = \frac{3s}{m} = 3 \times 0,0409 \mu\text{A} / 1,0333 \frac{\mu\text{A}}{\text{mM}} = 0,12 \text{ mM}$$

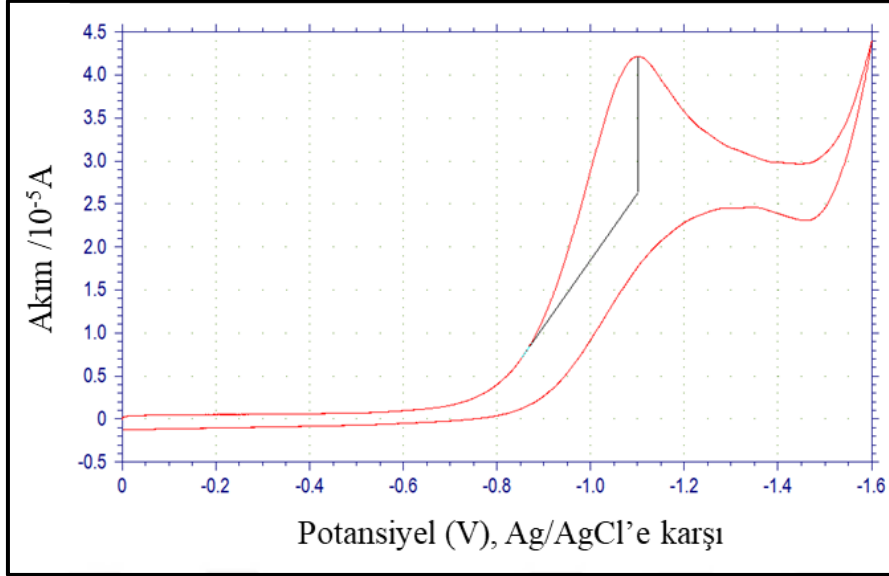
$$\text{LOQ}_{(\text{OA})} = \frac{10s}{m} = 10 \times 0,0409 \mu\text{A} / 1,0333 \frac{\mu\text{A}}{\text{mM}} = 0,40 \text{ mM}$$

4.2. Kare Dalga Katodik Sıyırma Voltametriyle Palmitik Asit Tayini

Palmitik asidin tayini, kare dalga katodik sıyırma yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde palmitik asidin tayini için çalışma elektrotu, sıcaklık, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, pH optimize edilmiştir.

4.2.1. Palmitik asidin dönüşümlü voltamogramı

3,23 mM palmitik asidin pik potansiyellerinin ve tersinirliğinin belirlenmesi için yapılan dönüşümlü voltametri çalışmasında katodik yönde -1,100 V anodik yönde -1,520 V'ta belirgin pikler gözlemlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. 3,23 mM PA'nın 60 °C'deki dönüşümlü voltamogramı (0,1 V/s)

Palmitik asitle yapılan sıcaklık optimizasyon çalışmalarında 60 °C'deki akım değeri referans olarak alındığından, bu çalışmada da aynı şekilde 60 °C'de ölçüm alınmıştır.

PA indirgenme/yükseltgenme tepkimelerinin tersinirliği için aşağıdaki hesaplama yapılmıştır.

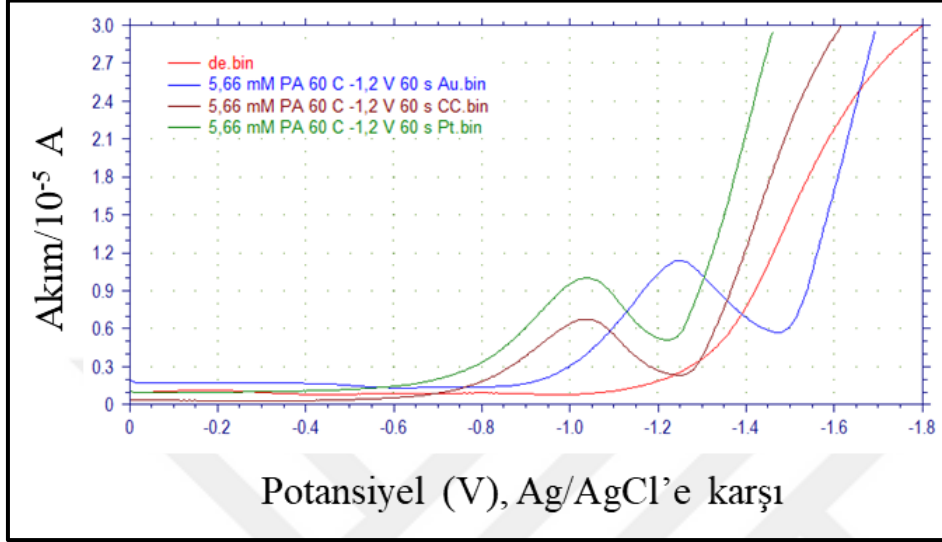
- $E_{pa} : -1,520 \text{ V}$ $E_{pk} : -1,100 \text{ V}$
- $|E_{pa} - E_{pk}|$ $= (0,059/n) \text{ V}$
- $|-1,520 - (-1,100)|$ $= (0,059/1) \text{ V}$
- $0,420 > 0,059$

Yapılan analizde palmitik asidin bu ortamdaki indirgenme yükseltgenmesinin tersinir olmadığı anlaşılmıştır.

4.2.2. Palmitik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu

Çalışma elektrotunun optimizasyonu amacıyla Pt, Au, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları test edilmiştir. Denemeler, 5 mL destek elektrolitte (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) 5,66 mM palmitik asit çözeltisinin 60 °C sıcaklıkta, -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde yapılmıştır. En iyi sonuç, Au elektrotunda elde edilmiştir ve bu sonuç Şekil 4.14'te ve palmitik asidin, Pt, Au ve camısı karbon çalışma

elektrotları ile ölçülen, akım değerleri Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Palmitik asit için altın elektrottan elde edilen akım değeri (6,924 μA) en büyük olduğundan, çalışmalarda altın elektrot tercih edilmiştir.



Şekil 4.14. 5,66 mM PA’nın kare dalga sıyırma voltametrisinde Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60 °C’de, -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları

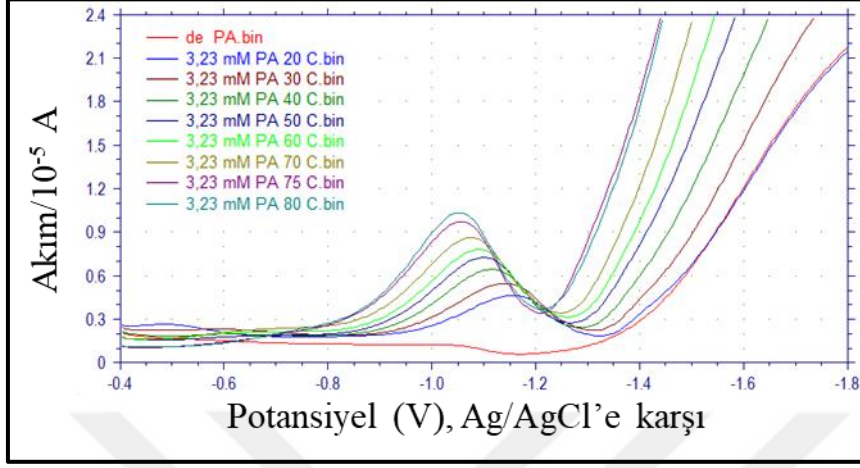
Çizelge 4.8. 5,66 mM PA’nın kare dalga sıyırma voltametrisi ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60 °C’de, -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri

Çalışma Elektrotu	Ölçülen Akım Değeri (μA)
Altın	6,924
Platin	5,741
Camsı karbon	4,740
Kalem ucu	2,806

4.2.3. Palmitik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu

Palmitik asidin çözünürlüğü sıcaklıkla değiştiğinden, uygun sıcaklığı belirlemek için öncelikle en uygun sıcaklık değeri tespit edilmiştir. Bu amaçla, 9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) 2 dakika boyunca N_2 gazı geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M palmitik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 3,23 mM PA çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile sıcaklığı 10 °C’lik artışlarla 20 °C’den 80 °C’ye kadar sekiz farklı sıcaklıkta ölçülmüş ve 70 °C’ye kadar piklerin artışı

gözlemlenmiş, 70 °C’den sonra pikte azalma olmuştur (Şekil 4.15). Palmitik asidin sıcaklığa bağlı olarak değişen akım değerleri Çizelge 4.9’da gösterilmiştir.

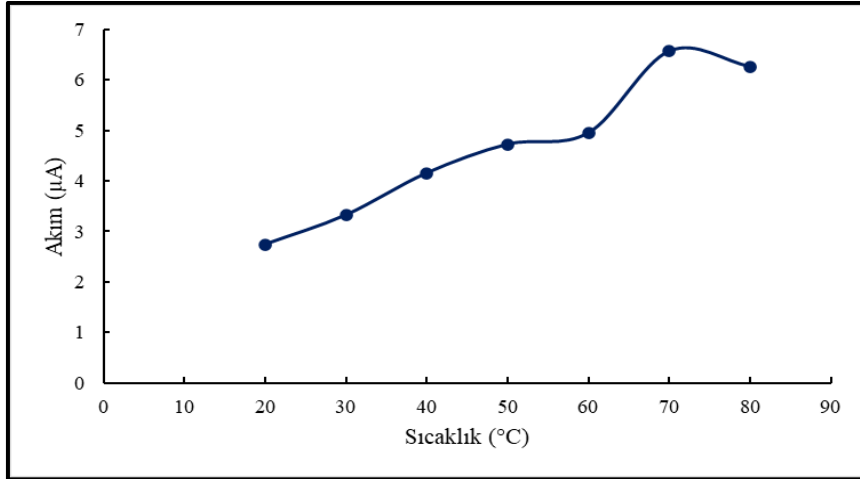


Şekil 4.15. 3,23 mM PA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.9. 3,23 mM PA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde farklı sıcaklıklardaki akım değerleri

Sıcaklık (°C)	Akım (µA)
20	2,738
30	3,323
40	4,157
50	4,728
60	4,957
70	6,581
80	6,265

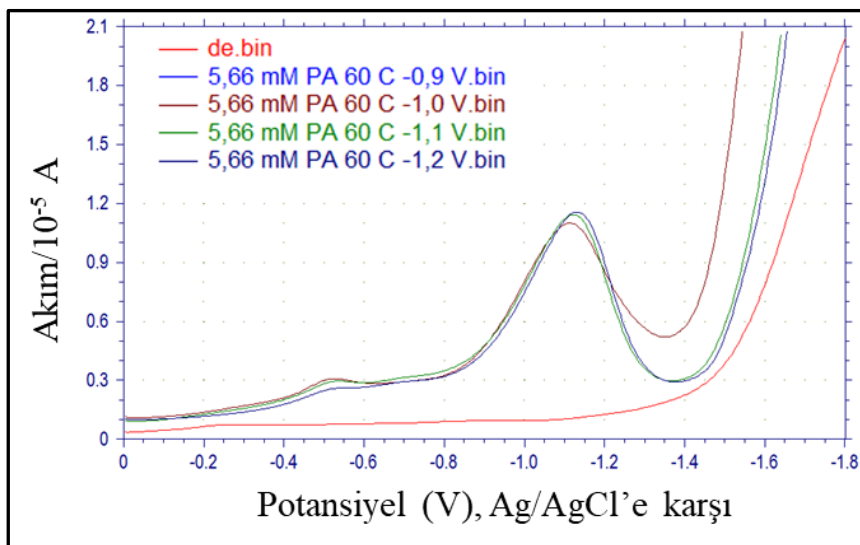
Palmitik asit için altın çalışma elektrotu ile akım değerlerine bakıldığında optimum sıcaklığın 70 °C olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.16). Ancak buharlaşmayı hesaba katınca ve diğer yağ asitleri ile birlikte tayin için 60 °C optimum sıcaklık olarak seçilmiştir.



Şekil 4.16. 3,23 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri

4.2.4 Palmitik asit tayini için biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

5 mL destek elektrolit çözeltisinden (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) 2 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M palmitik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM palmitik asit çözeltisinin kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile sıcaklığı 60 °C'de sabit tutulmuş ve -0,9 V, -1,0 V, -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.17'de verilmiştir. Potansiyel ve akım değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

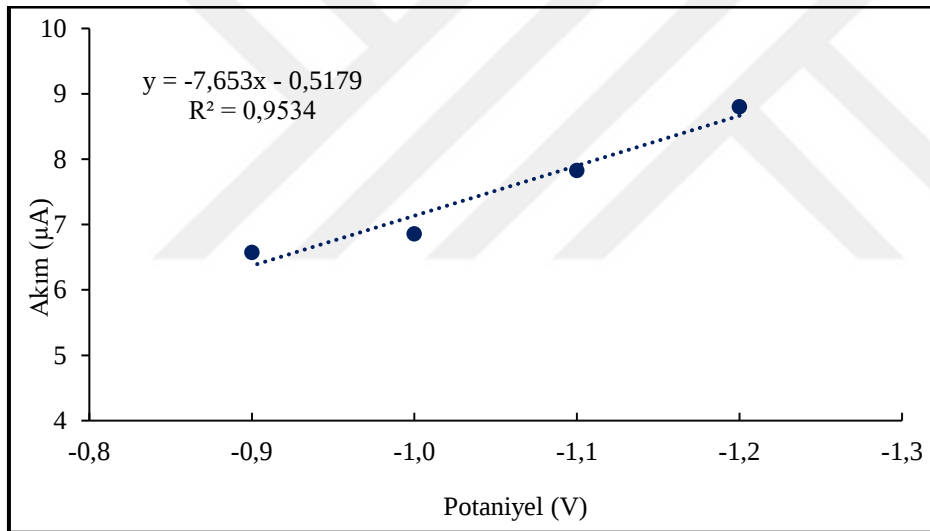


Şekil 4.17. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.10. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrodu ile 60 °C'de farklı biriktirme potansiyeline karşı akım değerleri

Potansiyel (V)	Akım (μ A)
-0,9	6,577
-1,0	6,859
-1,1	7,831
-1,2	8,804

5,66 mM palmitik asit çözeltisinin, kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinin pik potansiyellerine karşılık gelen akım değerlerine göre biriktirme potansiyeli -1,2 V olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.18).

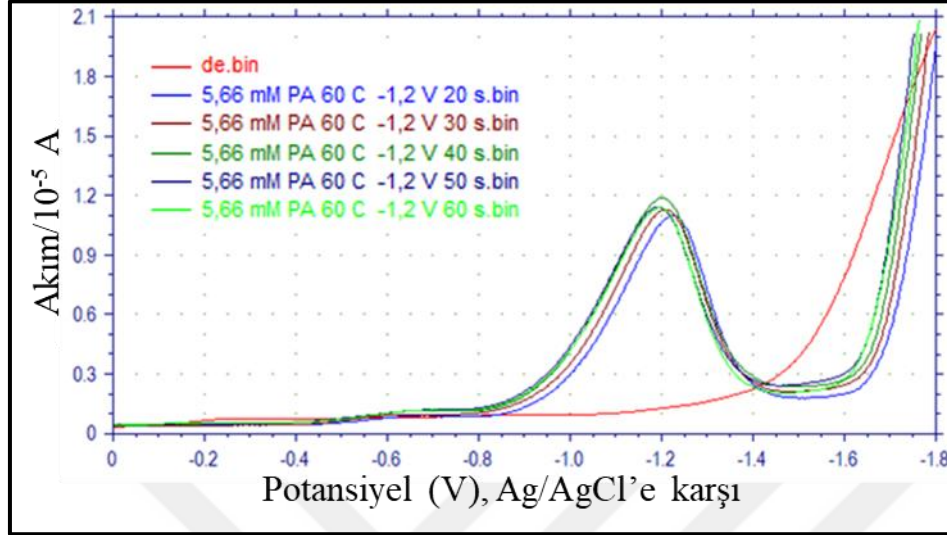


Şekil 4.18. 5,66 mM PA'nın, kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri

4.2.4. Palmitik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu

Kare dalga katodik sıyrma yöntemi ile palmitik asidin uygun biriktirme süresini belirlemek amacıyla, 5 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) 2 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M palmitik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM PA çözeltisinin kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile sıcaklığı 60 °C'de tutulmuş ve -1,2 V biriktirme potansiyelinde 5 farklı zaman diliminde

voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.19). Biriktirme süresi ve akım değerleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

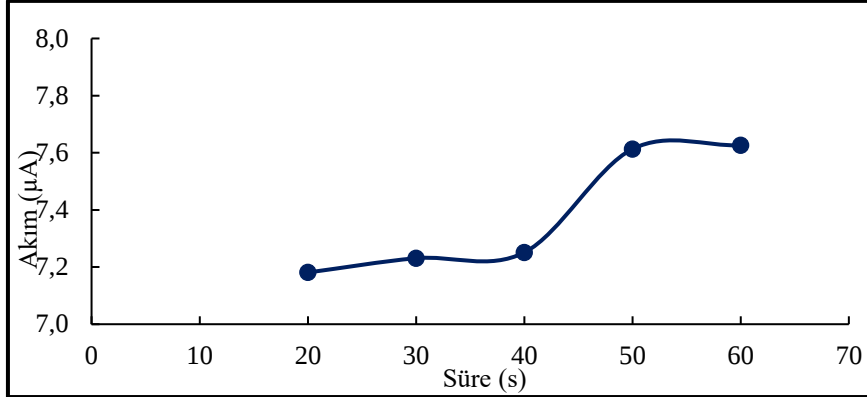


Şekil 4.19. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.11. 5,66 mM PA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme süresine karşı akım değerleri

Süre (s)	Akım (μ A)
20	7,181
30	7,231
40	7,251
50	7,613
60	7,626

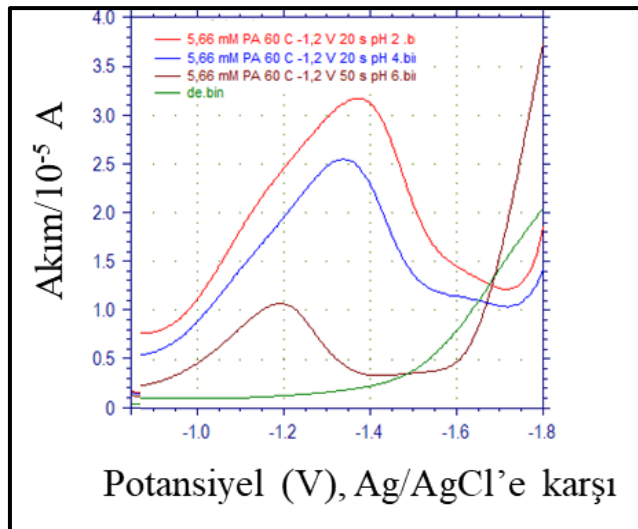
5,66 mM palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 20, 30, 40, 50 ve 60 saniyelik biriktirme sürelerinde yapılan ölçümler sonucunda, en uygun biriktirme süresi 60 saniye olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme sürelerinde elde edilen akım değerleri

4.2.5. Palmitik asit tayini için pH'nın optimizasyonu

Analiz hücresine 5 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) çözeltisi eklenmiş ve üzerine 0,1000 M palmitik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM palmitik asit çözeltisi 2 dakika boyunca N₂ gazı geçirildikten sonra altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde kare dalga katodik sıyırma voltamogramları alınmıştır. pH ayarlamaları 1,0 M NaOH ve 1,0 M H₂SO₄ çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Palmitik aside ait, farklı pH'larda ölçülen akım değerleri Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Palmitik asidin farklı pH'lardaki akım değerleri Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

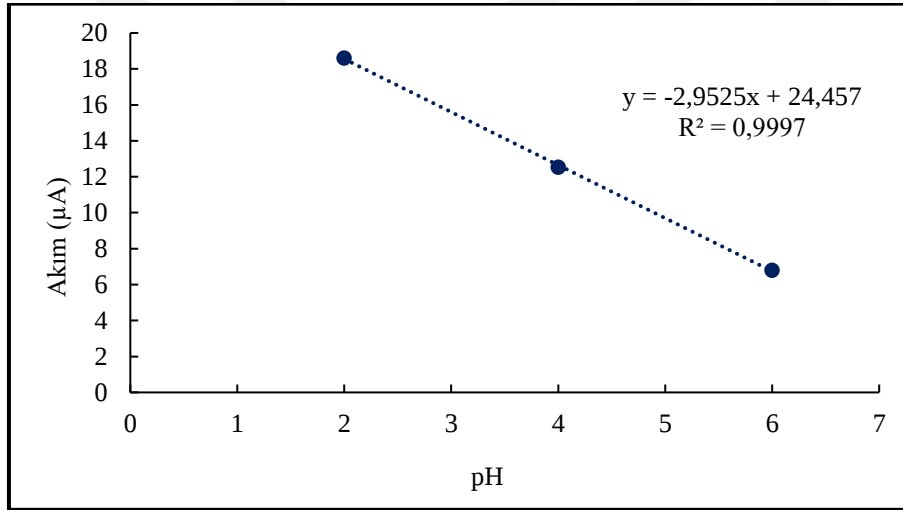


Şekil 4.21. 5,66 mM PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.12. 5,66 mM PA ‘nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresinde farklı pH değerlerindeki akım değerleri

pH	Akım (μA)
2,0	18,61
4,0	12,53
6,0	6,8

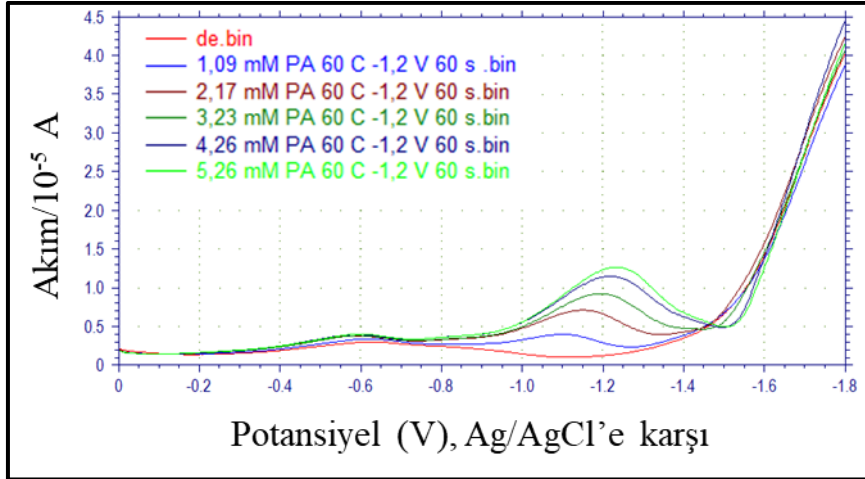
5,66 mM PA çözeltisinin kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresinde alınan voltamogramlar sonucunda en uygun ortamın pH’ın 2,0 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. 5,66 mM PA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri

4.2.6. Kalibrasyon grafiği yöntemi ile palmitik asit tayini

Hücreye 9 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) eklenmiş ve çözeltiden 2 dakika boyunca N₂ gazı geçirilmiştir. Sonrasında kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M PA çözeltisinden 0,1 mL eklenerek artan derişimlerde voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.23). Akım değerleri Çizelge 4.13’te listelenmiştir.

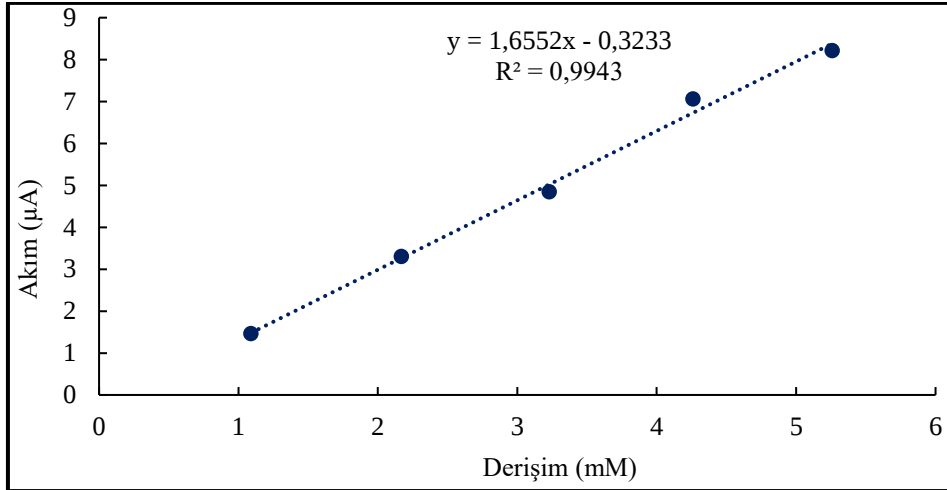


Şekil 4.23. PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki artan derişim değerlerinde elde edilen voltamogramları

Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M oleik asidin artan derişimlerine karşı akım değerleri Çizelge 4.13'te verilmiş, değerler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.24).

Çizelge 4.13. PA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri

Derişim (mM)	Akım(μ A)
1,09	1,466
2,17	3,300
3,23	4,843
4,26	7,059
5,26	8,216



Şekil 4.24. PA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğı (Çalışma elektrotu: altın; sıcaklık: 60 °C; biriktirme potansiyeli: -1,2 V; biriktirme süresi:60 s)

Çizelge 4.13'teki değerler kullanılarak standart sapma elde edilmiştir. Grafiğın eğiminden yararlanarak (1,6552) gözlenebilme sınırı (3s/m) ve tayin sınırı (10s/m) hesaplanmıştır.

4.2.7. Palmitik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi

9 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) üzerine tek sefer eklenen 1,1 mM palmitik asit çözeltisinin kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 10 tekrarlı ölçümü alınmış ve 2,434 ile 2,675 µA arasında değişen akım değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.14). Bu akım değerlerinin standart sapması 0,0836 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.14. 1,1 mM PA için kare dalga katodik sıyrma voltametriyiyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması (Çalışma elektrotu: altın, sıcaklık: 60 °C, biriktirme potansiyeli: -1,2 V, biriktirme süresi:60 saniye)

1,1 mM PA	Akım (μA)
1	2,551
2	2,675
3	2,461
4	2,475
5	2,559
6	2,637
7	2,664
8	2,434
9	2,556
10	2,551
x=	2,556
s=	0,0836

$$LOD_{(PA)} = \frac{3s}{m} = 3 \times 0,0836 \mu A / 1,6552 \frac{\mu A}{mM} = 0,15 mM$$

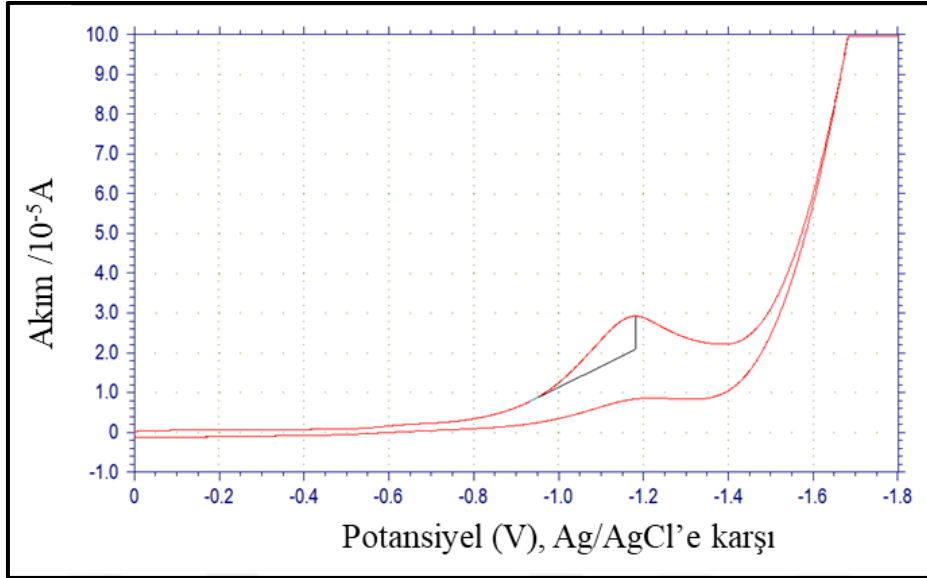
$$LOQ_{(PA)} = \frac{10s}{m} = 10 \times 0,0836 \mu A / 1,6552 \frac{\mu A}{mM} = 0,51 mM$$

4.3. Kare Dalga Katodik Sıyrma Voltametriyiyle Stearik Asit Tayini

Stearik asidin tayini, kare dalga katodik sıyrma yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde stearik asidin tayini için çalışma elektrotu, sıcaklık, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, pH optimize edilmiştir.

4.3.1. Stearik asidin dönüşümlü voltamogramı

Stearik asidin indirgenme/yükseltgenme pik potansiyellerinin ve tersinirliğinin belirlenmesi için elde edilen dönüşümlü voltamogramda katodik yönde -1,180 V anodik yönde -1,380 V'ta belirgin pikler gözlemlenmiştir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. 3,23 mM SA'nın 60 °C'deki dönüşümlü voltamogramı (0,1 V/s)

Stearik asit tayini için sıcaklık optimizasyonu çalışmalarında 60 °C'deki akım değeri uygun bulunduğundan, bu çalışmada da aynı şekilde 60 °C'de voltamogram alınmıştır.

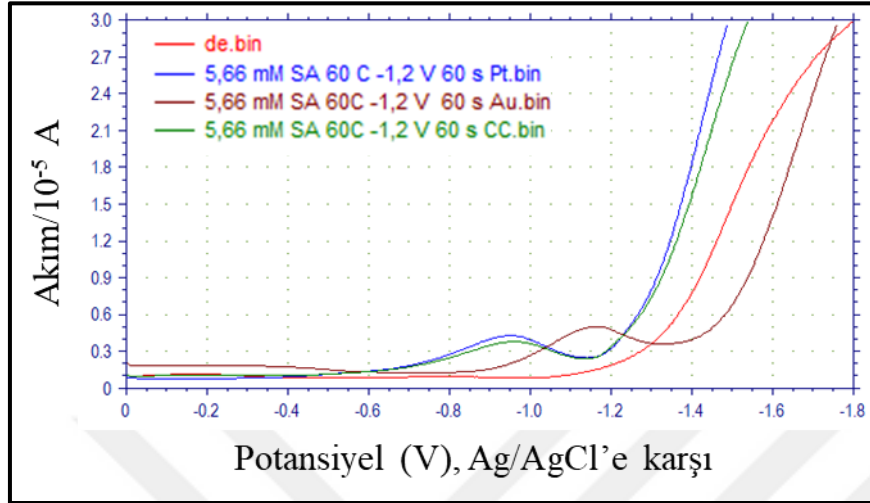
- $E_{pa} : -1,380 \text{ V}$
- $E_{pk} : -1,180 \text{ V}$
- $|E_{pa} - E_{pk}| = (0,059/n) \text{ V}$
- $|-1,380 - (-1,180)| = (0,059/1) \text{ V}$
- $0,200 > 0,059$

Yapılan analizde stearik asidin bu ortamdaki indirgenme yükseltgenmesinin tersinir olmadığı anlaşılmıştır.

4.3.2. Stearik asit tayini için çalışma elektrotunun optimizasyonu

Çalışma elektrotunun optimizasyonu amacıyla kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ile Pt, Au ve camısı karbon ve kalem ucu elektrotları test edilmiştir. Denemeler, 5 mL destek elektrolitte (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) 5,66 mM stearik asit çözeltisinin 60 °C sıcaklıkta, -1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde yapılmıştır. En iyi sonuç, Au elektrotunda elde edilmiştir ve bu sonuç Şekil 4.26'da ve stearik asidin, Pt, Au ve camısı karbon ve kalem ucu çalışma elektrotları ile ölçülen, akım değerleri Çizelge 4.15'te

gösterilmiştir. Stearik asit için altın elektrottan elde edilen akım değeri ($2,209 \mu\text{A}$) en büyük olduğundan, çalışmalarda altın elektrot tercih edilmiştir.



Şekil 4.26. 5,66 mM SA'nın kare dalga sıyırma voltametriği ile Pt, Au, camısı karbon elektrotları ile 60°C 'de, $-1,1 \text{ V}$ biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde elde edilen voltamogramları

Stearik asit için altın elektrottan elde edilen akım değeri ($2,209 \mu\text{A}$) en büyük olduğundan, çalışmalarda altın elektrot tercih edilmiştir (Çizelge 4.15).

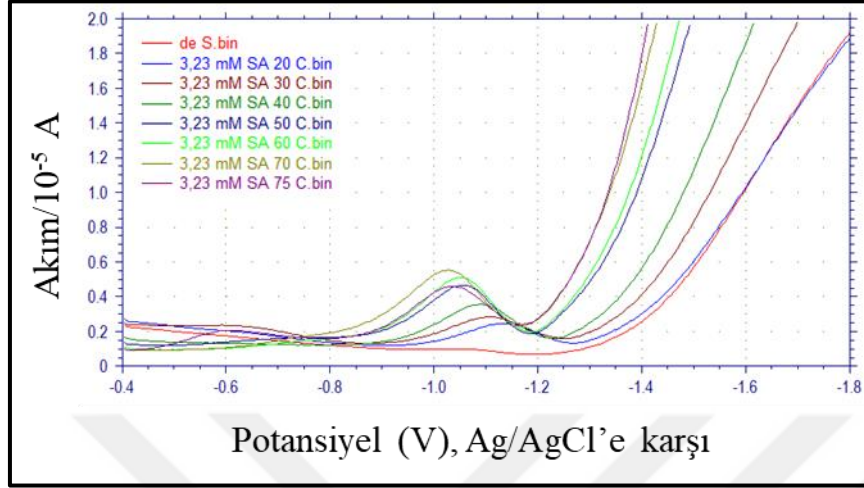
Çizelge 4.15. 5,66 mM stearik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametriği ile Au, Pt, camısı karbon ve kalem ucu elektrotları ile 60°C 'de, $-1,1 \text{ V}$ biriktirme potansiyelinde, 60 s biriktirme süresinde ölçülen akım değerleri

Çalışma Elektrotu	Ölçülen Akım Değeri (μA)
Altın	2,209
Platin	2,063
Camsı karbon	1,971
Kalem ucu	1,208

4.3.3. Stearik asit tayini için sıcaklığın optimizasyonu

Stearik asidin çözünürlüğü sıcaklıkla değiştiğinden, uygun sıcaklığı belirlemek için öncelikle en uygun sıcaklık değeri tespit edilmiştir. Bu amaçla, 9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) altın çalışma elektrotu ile 10 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M stearik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 3,23 mM SA çözeltisinin kare dalga sıyırma voltametriğiyle sıcaklığı, 20°C 'den 75°C 'ye kadar yedi farklı sıcaklıkta ölçülmüş ve 70°C sıcaklığa kadar piklerin artışı, 70°C 'den sonra pikte

azalma gözlenmiştir (Şekil 4.27). 3,23 mM Stearik asidin sıcaklığa bağlı olarak değişen akım değerleri Çizelge 4.16’da gösterilmiştir.

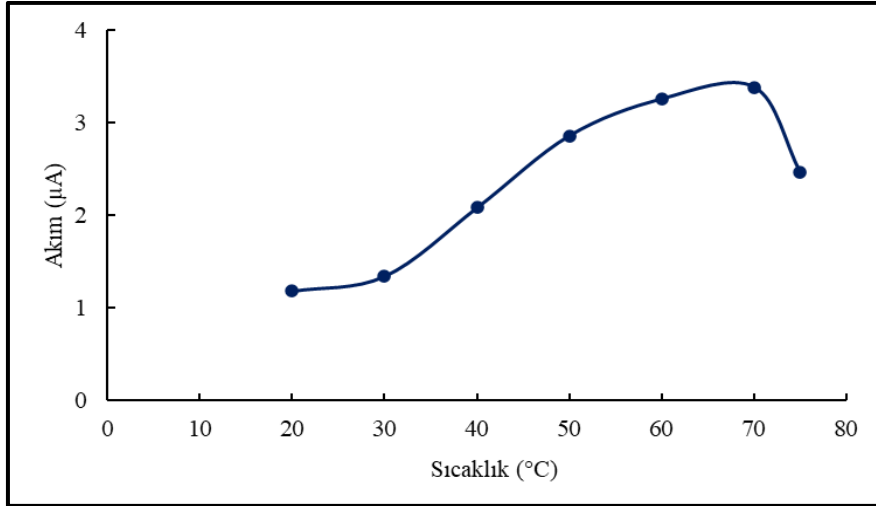


Şekil 4.27. 3,23 mM SA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisiyle altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklık değerlerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.16. 3,23 mM SA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde farklı sıcaklıklardaki akım değerleri

Sıcaklık (°C)	Akım (µA)
20	1,183
30	1,343
40	2,081
50	2,857
60	3,253
70	3,388
75	2,459

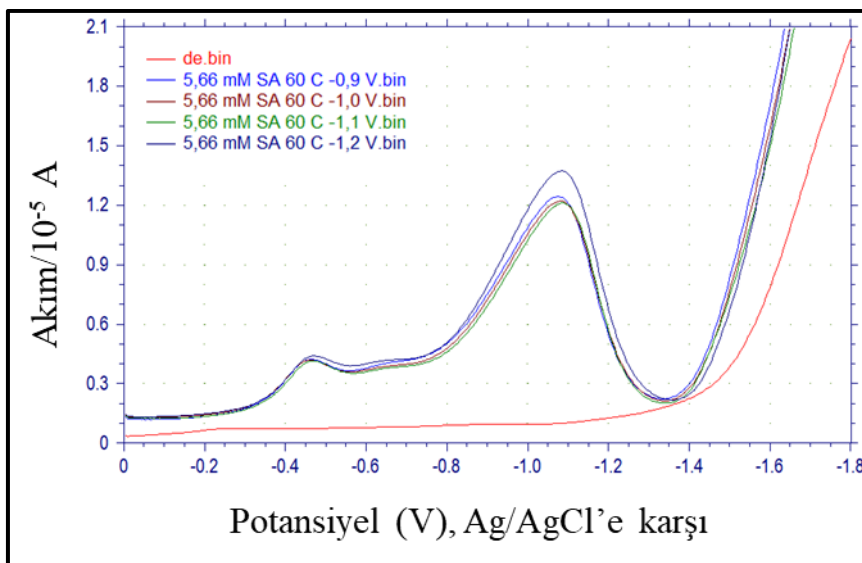
Stearik asit için akım değerlerine bakıldığında en yüksek akımın 70 °C’de olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.28). Ancak buharlaşmayı hesaba katınca ve birlikte tayin için 60 °C optimum sıcaklık olarak seçilmiştir.



Şekil 4.28. 5,66 mM SA ait kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile farklı sıcaklıklarda elde edilen akım değerleri

4.3.4. Stearik asit tayini için biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

5 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) çözeltisinden 2 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M stearik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM stearik asit çözeltisinin sıcaklığı altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de tutulmuş ve -0,9 V, -1,0 V, -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.29'da verilmiştir. Potansiyel ve akım değerleri Çizelge 4.17'de verilmiştir.

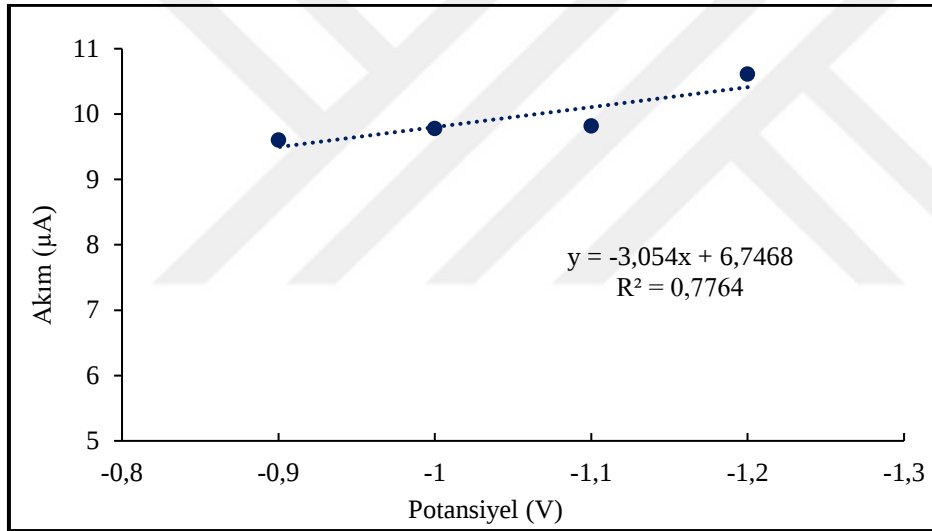


Şekil 4.29. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrot ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.17. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de farklı biriktirme potansiyelindeki akım değerleri

Potansiyel (V)	Akım (μ A)
-0,9	9,605
-1,0	9,780
-1,1	9,819
-1,2	10,610

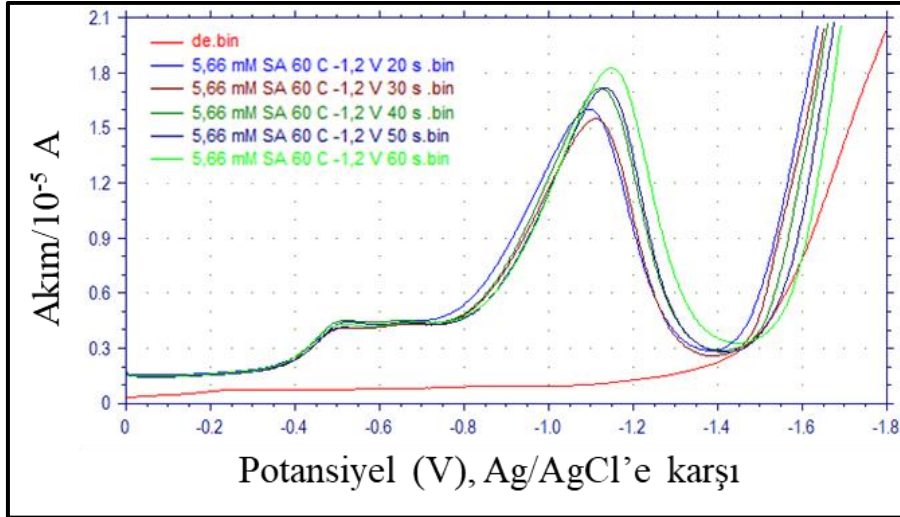
5,66 mM stearik asit çözeltisinin, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinin pik potansiyellerine karşılık gelen akım değerlerine göre biriktirme potansiyeli -1,2 V olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. 5,66 mM SA'nın, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -0,9; -1,0 V; -1,1 V ve -1,2 V biriktirme potansiyellerinde elde edilen akım değerleri

4.3.5. Stearik asit tayini için biriktirme süresinin optimizasyonu

Kare dalga katodik sıyırma yöntemi ile stearik asidin uygun biriktirme süresini belirlemek amacıyla, 5 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) çözeltisinden 2 dakika boyunca N_2 gazı ile geçirildikten sonra üzerine 0,1000 M stearik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM SA çözeltisinin kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile sıcaklığı 60 °C'de, -1,2 V biriktirme potansiyelinde 5 farklı zaman diliminde voltamogramlar alınmıştır Şekil (4.31). Biriktirme süresi ve akım değerleri Çizelge 4.18'de verilmiştir.

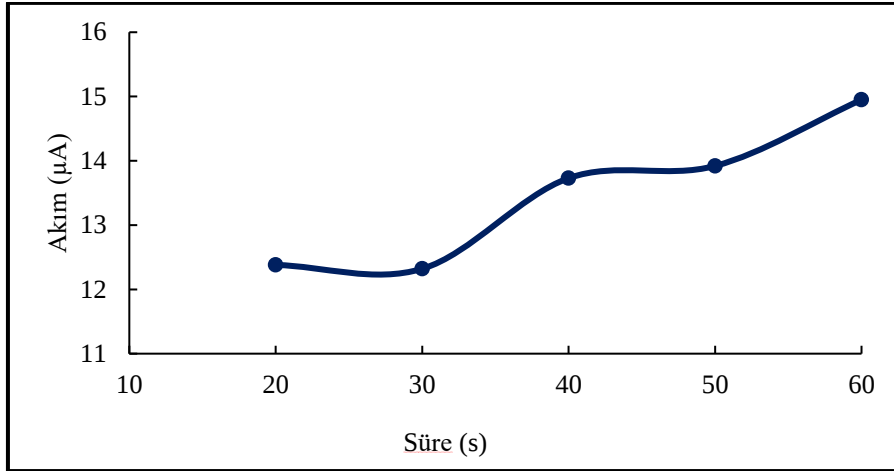


Şekil 4.31. 5,66 mM SA'nın kare dalga sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde farklı biriktirme sürelerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.18. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme süresine karşı akım değerleri

Süre(s)	Akım (μ A)
20	12,38
30	12,32
40	13,73
50	13,92
60	14,95

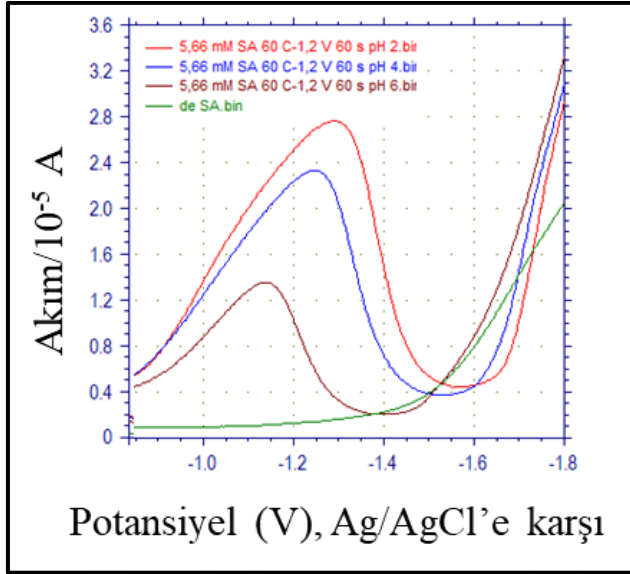
5,66 mM stearik asit çözeltisi için kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelindeki 20, 30, 40, 50 ve 60 saniyelik biriktirme sürelerinde yapılan ölçümler sonucunda, en uygun biriktirme süresi 60 saniye olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelindeki farklı biriktirme süre değerlerinde elde edilen akım değerleri

4.3.6. Stearik asit tayini için pH'nın optimizasyonu

Analiz hücresine 5 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) çözeltisi eklenmiş ve üzerine 0,1000 M stearik asit çözeltisinden 0,3 mL eklenmiştir. 5,66 mM stearik asit çözeltisi 2 dakika boyunca N_2 gazı geçirildikten sonra kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde voltamogramlar alınmıştır. pH ayarlamaları 1,0 M NaOH ve 1,0 M H_2SO_4 çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Stearik aside ait, farklı pH'larda ölçülen akım değerleri Şekil 4.33'te gösterilmiştir. Stearik asidin farklı pH'lardaki akım değerleri Çizelge 4.19'da gösterilmiştir.

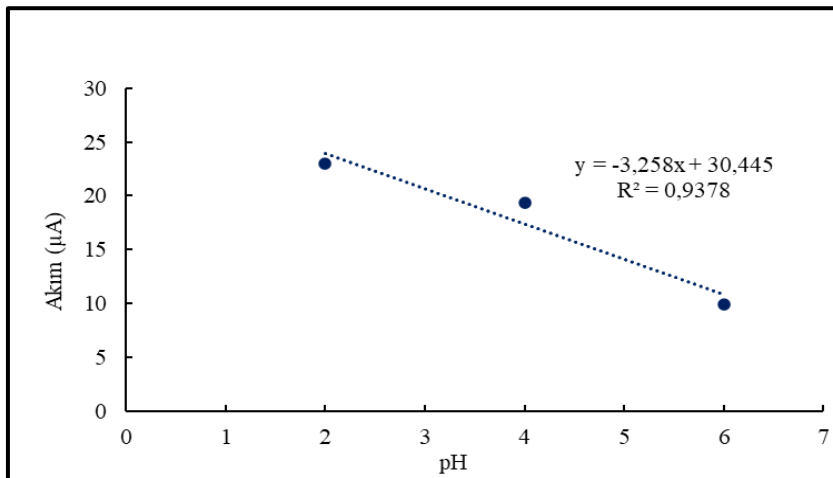


Şekil 4.33. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen voltamogramları

Çizelge 4.19. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerindeki akım değerleri

pH	Akım (μA)
2,0	22,96
4,0	19,35
6,0	9,928

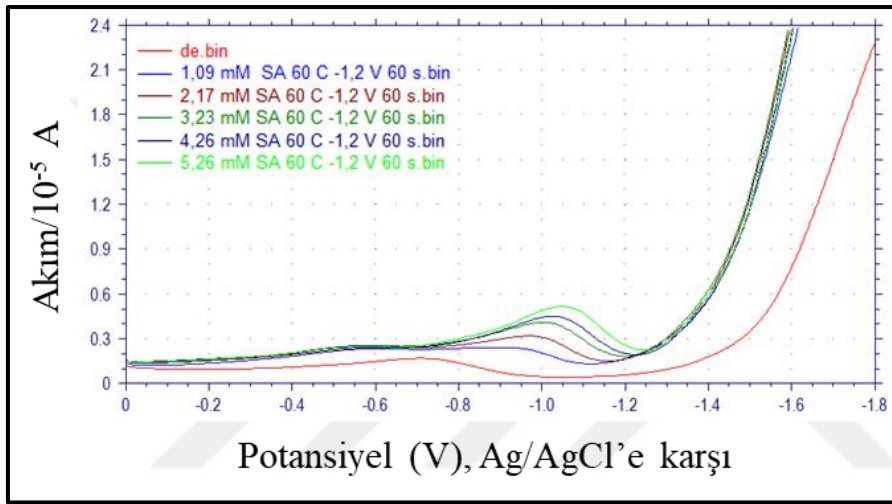
Stearik asit için yapılan gözlemler sonucunda en uygun pH'ın 2,0 olduğu tespit edilmiştir



Şekil 4.34. 5,66 mM SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki farklı pH değerlerinde elde edilen akım değerleri

4.3.7. Kalibrasyon grafiği yöntemi ile stearik asit tayini

Hücreye 9 mL destek elektrolit (tetrabütilamonyum tetrafloroborat) eklenmiş ve çözeltiden 2 dakika boyunca N_2 gazı geçirilmiştir. Sonrasında 3,23 mM stearik asit çözeltisi kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M SA çözeltisinden eklenerek artan derişimlerde voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.35). Akım değerleri Çizelge 4.20’de listelenmiştir.

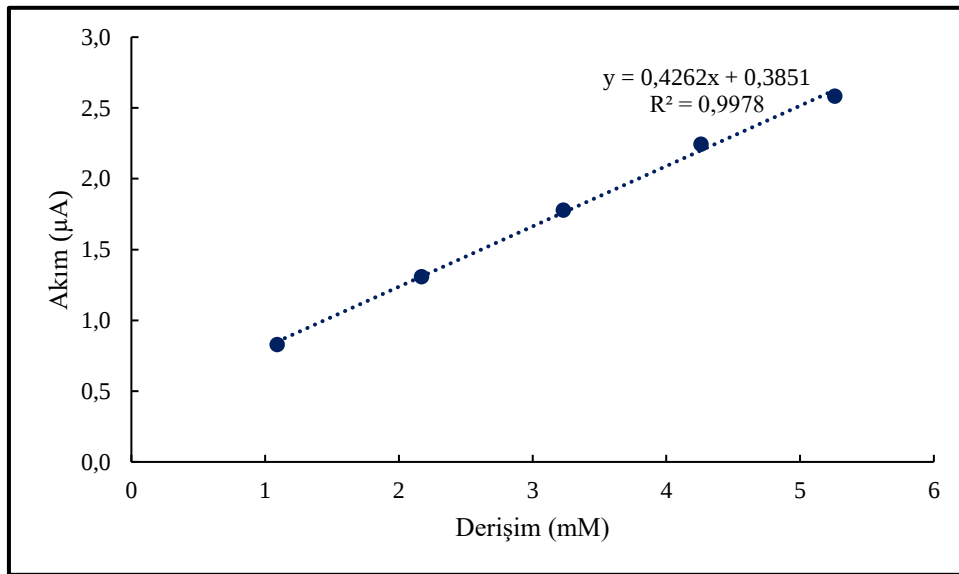


Şekil 4.35. SA’nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyeli, 60 s biriktirme süresindeki artan derişim değerlerinde elde edilen voltamogramları

Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,1 V biriktirme potansiyelinde ve 50 saniye biriktirme süresinde 0,1000 M stearik asit derişimlerine karşı akım değerleri Çizelge 4.20’de verilmiş, değerler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.36). Grafiğin eğiminden yararlanarak (0,4262) gözlenebilme sınırı (3s/m) ve tayin sınırı (10s/m) hesaplanmıştır.

Çizelge 4.20. SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,1 V biriktirme potansiyelinde, 50 s biriktirme süresinde artan derişimlerdeki akım değerleri

Derişim (mM)	Akım (μ A)
1,09	0,83
2,17	1,31
3,23	1,78
4,26	2,24
5,26	2,58



Şekil 4.36. SA'nın kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde ile elde edilen kalibrasyon grafiği (Çalışma elektrotu: altın; sıcaklık: 60 °C; biriktirme potansiyeli: -1,2 V; biriktirme süresi: 60 s)

4.3.8. Stearik asit tayini için gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırının (LOQ) belirlenmesi

9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) çözeltisi üzerine tek sefer eklenen 1,1 m M stearik asit çözeltisinin, kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V ve 60 s biriktirme sürelerindeki 10 tekrarlı ölçümü alınmış ve 0,7564 ile 0,9491 μ A arasında değişen akım değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.21). Bu akım değerlerinin standart sapması 0,0730 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.21. 1,1 mM SA için kare dalga katodik sıyrma voltametrisiyle elde edilen akım değerleri ve standart sapması (Çalışma elektrotu: altın, sıcaklık: 60 °C, biriktirme potansiyeli: -1,2 V, biriktirme süresi: 60 saniye)

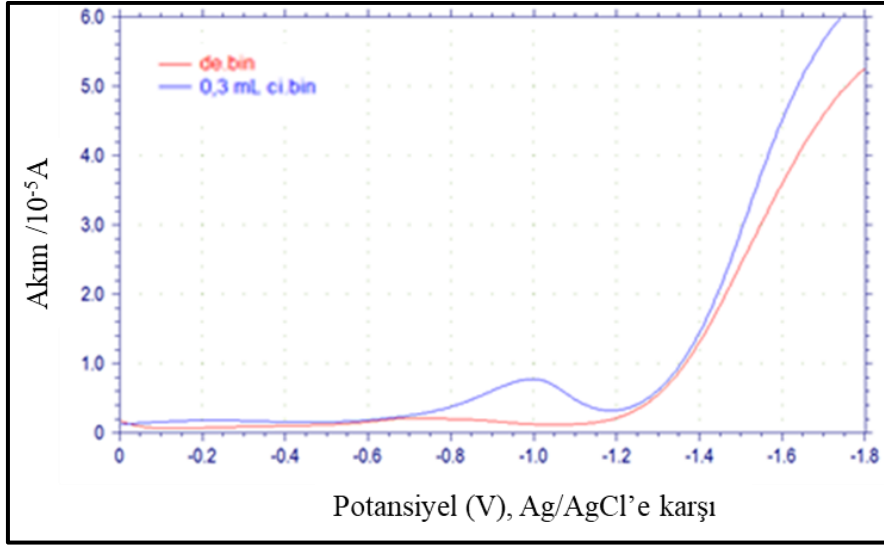
1,1 mM SA	Akım (μA)
1	0,858
2	0,84
3	0,758
4	0,756
5	0,756
6	0,841
7	0,934
8	0,949
9	0,904
10	0,923
x=	0,755
s=	0,0730

$$LOD_{(SA)} = \frac{3s}{m} = 3 \times 0,0730 \mu A / 0,4262 \frac{\mu A}{mM} = 0,51 \text{ mM}$$

$$LOQ_{(SA)} = \frac{10s}{m} = 10 \times 0,0730 \mu A / 0,4262 \frac{\mu A}{mM} = 1,71 \text{ mM}$$

4.4. Çikolata Numunesinde PA, SA ve OA Tayini

0,3 mL çikolata numunesi 9 mL destek elektrolit (tetrabütülamonyum tetrafloroborat) çözeltisine eklenerek 2 dakika boyunca N₂ gazı geçirildikten sonra kare dalga katodik sıyrma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C’de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde voltamogramları alınmış ve 4,648 μA akım kaydedilmiştir (Şekil 4.37).

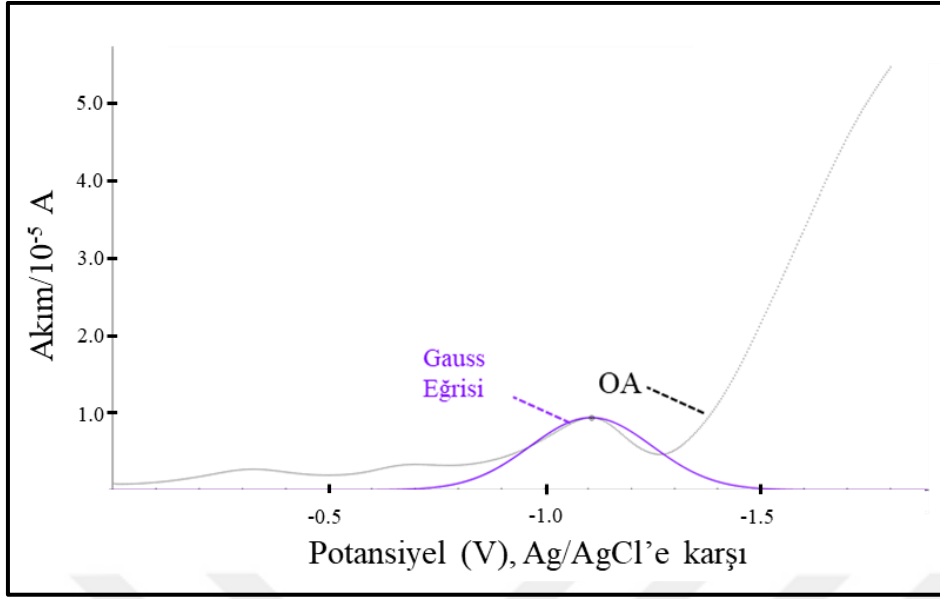


Şekil 4.37. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisinde altın çalışma elektrotu ile 60 °C'de -1,2 V biriktirme potansiyelinde ve 60 saniye biriktirme süresinde 0,3 mL çikolata numunesinin voltamogramı

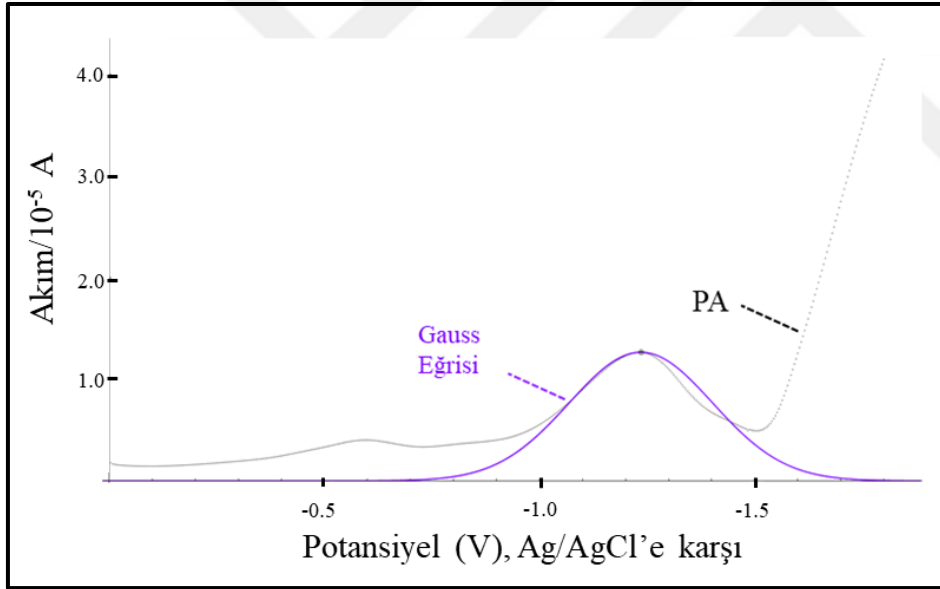
4.4.1. OA, PA ve SA voltamogramlarındaki çakışmanın Fityk programı ile giderilmesi

OA, PA ve SA, voltametrik ölçümlerde -1,1 V civarında indirgendiklerinden dolayı pikleri üst üste çakışmaktadır. Dolayısıyla çikolata numunesinin voltametrik analizinde de -1,1 V civarında tek pik gözlenmektedir. Bu çakışma nedeniyle, doğrudan deneysel yolla çikolatadaki her bir yağ asidinin ayrı ayrı miktarlarını belirlemek mümkün olmamıştır. Bu sorunu aşmak için örtüşen voltametrik sinyalleri matematiksel olarak ayrıştırmaya dayalı bir yaklaşım kullanılmıştır. Her bir yağ asidi (OA, PA, SA) için ayrı ayrı voltametrik ölçümler alınmıştır. OA için 0,5 mL 0,1000 M çözelti (5,26 mM), PA için 0,5 mL 0,1000 M çözelti (5,26 mM) ve SA için 0,5 mL 0,1000 M (5,26 mM) çözelti kullanılmıştır. Voltamogramların x:y değerlerini almak için voltamogramlar, .txt formatına çevrilerek elde edilen veriler Fityk programında işlenmiştir. Bu sayede, her bileşiğe ait karakteristik pik konumunun ve şeklinin belirlenmesini sağlamıştır.

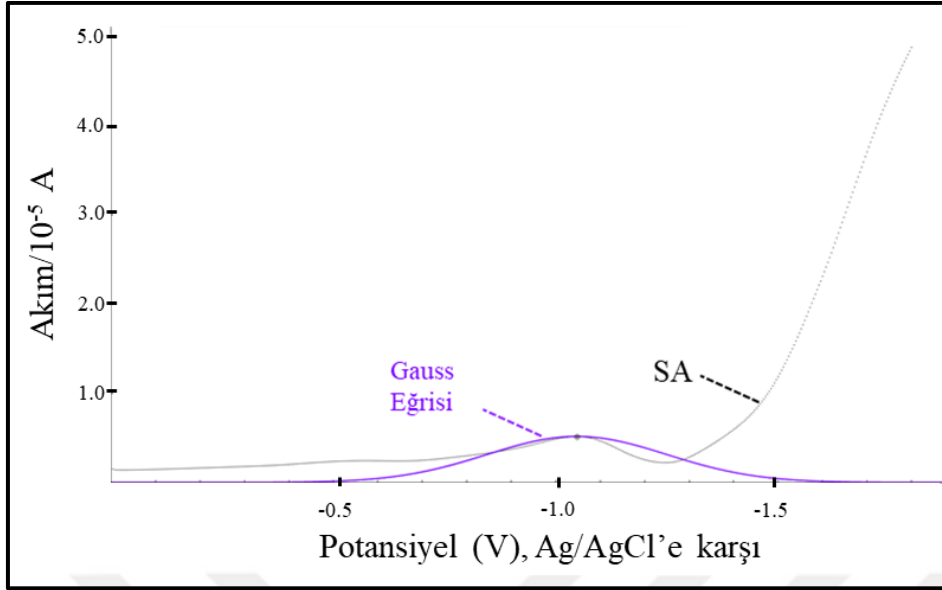
Her bir bileşene ait modellenmiş Gauss eğrileri Şekil 4.38-4.40'ta, Gauss eğrisi parametreleri Çizelge 4.22'de verilmiştir.



Şekil 4.38. 5,26 mM OA'nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali



Şekil 4.39. 5,26 mM PA'nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali



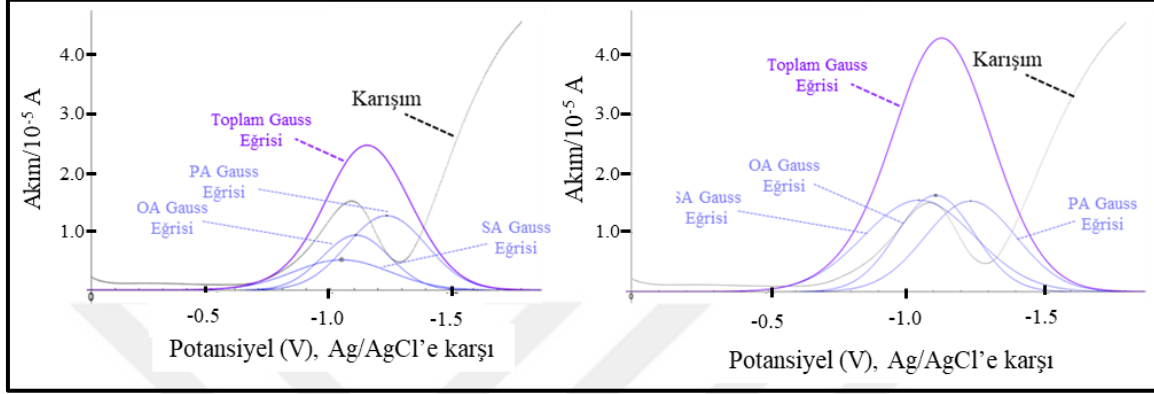
Şekil 4.40. 5,26 mM SA'nın voltamogramı ve Gauss eğrisi ile modellenmiş sinyali

Çizelge 4.22. Yağ asidi çözeltilerinin voltamogramlarından Gauss eğrileri ile elde edilen parametreler

	Akım (Yükseklik, h) (A)	E_{pk} (Merkez) (V)	Yarı pik genişliği (hwhm)
OA	$9,358 \cdot 10^{-6}$	-1,108	0,166
PA	$1,265 \cdot 10^{-5}$	-1,236	0,196
SA	$5,155 \cdot 10^{-6}$	-1,048	0,238

Modellenmeye hazır hale gelen Gauss eğrileri, voltamogramları alınmış olan iki sisteme uygulanmıştır. Doğruluk testi için bilinen derişimlerdeki yağ asidi karışımına ve tayin için çikolata çözeltilisinin voltamogramına Gauss eğrilerinin parametreleri eklenmiştir. Her iki sistem için de elde edilen voltamogramların üzerine önceden oluşturulan üç Gauss eğrisi (OA, PA, SA) parametrik olarak yüklenmiştir. Bu eğrilerin merkez ve yarı pik genişlik (*half width at half maximum*, hwhm) parametreleri sabit tutulmuştur. Fityk programında Fit → Run komutu ile sabit parametrelili teorik Gauss eğrilerinin en iyi örtüşmesi sağlanmıştır. Bu işlem sırasında sadece tepe yüksekliği, h, optimizasyon algoritması ile ayarlanmıştır. Fit sonucu elde edilen h değerleri, her bir Gauss eğrisinin toplam sinyale katkısını temsil eder. Bu yükseklikler, her bir yağ asidinin karışımındaki göreceli miktarına orantılıdır. Bu şekilde, doğrudan ayrıştırılamayan örtüşen sinyaller, sayısal olarak ayrıştırılabilir ve bileşen oranları hesaplanabilir.

Model sistem 0,3 mL 0,1000 M OA (3,03 mM), 0,3 mL 0,1000 M PA (3,03 mM) ve 0,3 mL 0,1000 M SA (3,03 mM) içermektedir. Her bir asitten eş molar alınarak hazırlanmıştır ve voltamogramı alınmıştır. Elde edilen sinyal Fityk programı ve saf maddelerin voltamogramlarından oluşturulan Gauss eğrileri kullanılarak ayrıştırılmıştır (Şekil 4.41).



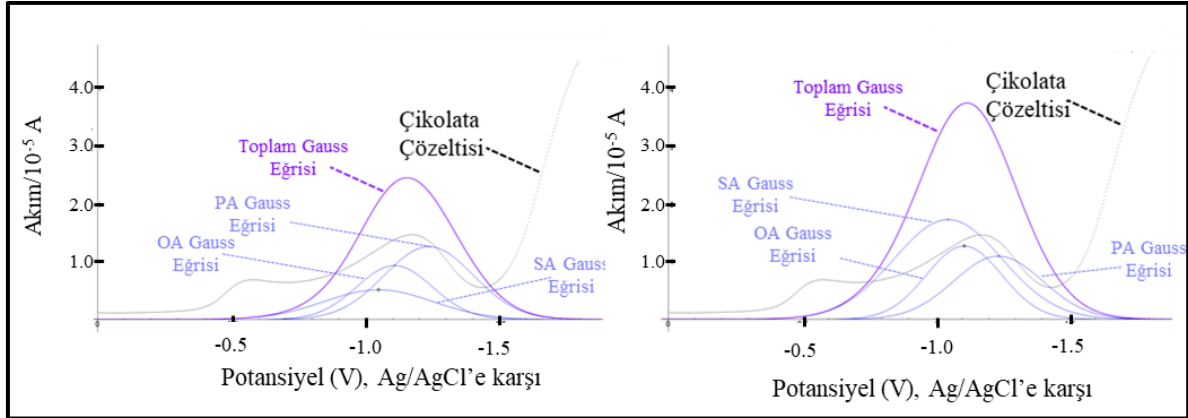
Şekil 4.41. Eş molar (3,03 mM) OA, (3,03 mM) PA ve (3,03 mM) SA içeren model sistemin voltamogramı ile eklenen Gauss parametreleri (sol) ve fit edilmiş Gauss eğrileri (sağ)

Fit sonucunda elde edilen yükseklik değerleri kullanılarak her bir asidin karışımdaki göreceli oranları hesaplanmıştır. Sonuçlar oleik asit için %34,62, palmitik asit için %32,53 ve stearik asit için %32,86 olarak belirlenmiştir. Bu değerler karışımdaki oranlarla oldukça uyumludur ve sonuçta bu yöntemin % hataları Çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelge 4.23. Eş molar OA, PA ve SA içeren model sistem için fit sonrası elde edilen yükseklik değerleri ve yağ asitlerinin yüzde bileşimleri

Yağ Asidi	Fit Sonrası Hesaplanan Yükseklik (h) (A)	% Bileşim	%Hata
OA	$1,635 \cdot 10^{-5}$	%34,62	$(34,62-33,33)/33,33=3,87$
PA	$1,537 \cdot 10^{-5}$	%32,53	$(32,53-33,33)/33,33=2,40$
SA	$1,552 \cdot 10^{-5}$	%32,86	$(32,86-33,33)/33,33=1,41$

Yöntemin doğruluğu belirlendikten sonra, aynı prosedür çikolata örneği üzerine uygulanmıştır. Bu amaçla, çikolatadan hazırlanmış 0,5 mL'lik çözelti kullanılarak ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen voltamogram üzerine, daha önce modellenmiş OA, PA ve SA'ya ait Gauss eğrileri parametrik olarak tanımlanmış ve yine merkez ve genişlik parametreleri sabitlenerek yalnızca yükseklikler optimize edilmiştir. Bu analizde de fit edilerek deneysel veri ile model eğriler eşleştirilmiştir (Şekil 4.42).



Şekil 4.42. Çikolata numunesinin voltamogramı ile eklenen Gauss parametreleri (sol) ve fit edilmiş Gauss eğrileri (sağ)

Analiz sonucunda, çikolata örneğindeki OA, PA ve SA oranları sırasıyla %31,02; %26,75 ve %42,23 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24). Yağ asitlerinin içinde OA, PA ve SA'nın toplamı ortalama %90,88 olarak bildirilmiştir [16]. Raporlanan bu değer ile düzeltme faktörü hesaplanmış ($90,88/100$) ve düzeltilmiş yağ asidi oranları Çizelge 4.24'te verilmiştir. Elde edilen bu değerlerin, literatürde raporlanan çikolata yağ asidi bileşimleri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.24. Çikolata çözeltisindeki OA, PA ve SA içeren model sistem için fit sonrası elde edilen yükseklik değerleri, yağ asitlerinin yüzde bileşimleri ve literatürde raporlanan yağ asidi yüzde bileşimleri

Yağ Asidi	Fit Sonrası Hesaplanan Yükseklik (h) (A)	% Bileşim (Fityk)	Yağ asitleri içindeki % ($90,88/100$) [16]	% Bileşim [16]
OA	$1,276 \cdot 10^{-5}$	$\%31,02 \pm 3,22$	28,19	$\%25,99 \pm 6,89$
PA	$1,101 \cdot 10^{-5}$	$\%26,75 \pm 2,48$	24,31	$\%25,56 \pm 2,06$
SA	$1,737 \cdot 10^{-5}$	$\%42,23 \pm 4,34$	38,37	$\%39,33 \pm 5,25$
Sonuçlar 3 deney verisinin ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.				

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, çikolatada ester formunda bulunan oleik asit (OA), palmitik asit (PA) ve stearik asit (SA) bileşiklerinin serbest yağ asitlerine dönüştürülerek kare dalga katodik sıyırma voltametrisi (SWCSV) yöntemiyle kantitatif tayinleri gerçekleştirilmiştir. Voltametrik analizlerde, çalışma elektrotu olarak altın elektrot; referans elektrot olarak Ag/AgCl; karşıt elektrot olarak platin tel; destek elektrolit olarak ise alkol içinde çözünmüş tetrabütilamonyum tetrafloroborat kullanılmıştır.

Yöntemin geliştirilmesi ve optimizasyonu sürecinde çalışma elektrodu, sıcaklık, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, pH gibi parametrelerin analiz hassasiyeti ve seçiciliği üzerindeki etkileri sistematik olarak araştırılmıştır. En uygun analiz koşulları, ortam sıcaklığının 60 °C, pH'ın ise 2 olarak ayarlanmasıyla elde edilmiştir. Biriktirme potansiyeli OA için -1,1 V, PA ve SA için -1,2 V olarak belirlenmiş; biriktirme süresi OA için 50 saniye, PA ve SA için ise 60 saniye olarak optimize edilmiştir.

Başlangıçta, OA, PA ve SA'nın voltametrik sinyallerinin aynı potansiyel aralığında yer aldığı ve piklerin üst üste bindiği gözlenmiştir. Bu durum, ayrı ayrı kantitatif tayini zorlaştırmıştır. Ancak Fityk programı kullanılarak gerçekleştirilen pik ayrıştırma işlemi sayesinde, analitlerin sinyalleri ayrılmış ve kantitatif tayin mümkün hale gelmiştir.

Uygulanan yöntemle elde edilen analitik performans parametreleri aşağıda verilmiştir:

➤ Gözlenebilme sınırları (LOD)

- OA için 0,12 Mm
- PA için 0,15 mM
- SA için 0,51 mM

➤ Tayin sınırları (LOQ)

- OA için 0,40 mM
- PA için 0,51 mM
- SA için 1,71 mM

Geliştirilen yöntem, çikolata örneklerinde uygulanmış ve yağ asitlerinin yüzdesel dağılımları aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

- Oleik asit (OA): %28,19
- Palmitik asit (PA): %24,31
- Stearik asit (SA): %38,37

Elde edilen bu değerlerin, literatürde raporlanan çikolata yağ asidi bileşimleri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Ayrıca, altın elektrot yüzeyinin karbon nanotüp gibi iletken nanomalzemelerle modifiye edilmesiyle sinyal ayrımı ve yoğunluğunun daha da artırılabilceği düşünülmektedir. Bu yöntem, yalnızca çikolata değil, aynı zamanda süt ve yağlı tohumlar gibi farklı gıda matrislerinde de uygulanabilir potansiyele sahiptir. Çoklu analizi destekleyen elektrokimyasal sensör sistemlerinin geliştirilmesi ise gıda analizlerinde yöntemsel çeşitliliği ve güvenilirliği artırabilecek önemli bir ilerleme olarak değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Tunick, M. H. ve Nasser, J. A. (2019). The chemistry of chocolate and pleasure. In *Sex, smoke, and spirits: The role of chemistry*. Washington, DC: American Chemical Society, 33-41.
2. Byczkiewicz, S., Sz wajgier, D., Baranowska-Wójcik, E., Telichowska, A., Szymandera-Buszk a, K., Wojtczak, J. ve Kobus-Cisowska, J. (2024). Research on Application of Japanese Quince (*Chaenomeles* L.) and Pork Collagen in Dark Chocolate—Benefits in Prevention of Inflammation In Vitro Model. *Nutrients*, 16(11), 1758-1759.
3. Torres-Moreno, M., Torrescasana, E., Salas-Salvadó, J., & Blanch, C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food chemistry*, 166, 125-132.
4. Velciov, A. B., Riviş, A., Lalescu, D., Popescu, G. S., Cozma, A., Kiss, A. A. ve Rada, M. (2021). Determination of some nutritional parameters of dark chocolate. *Metabolism*, 3(4), 5-6.
5. Katz, D. L., Doughty, K. ve Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 15(10), 2779-2811.
6. Verna, R. (2013). The history and science of chocolate. *The Malaysian journal of pathology*, 35(2), 111.
7. Talbot, G. (2009). 1 – Introduction. In *Science and technology of enrobed and filled chocolate, confectionery and bakery products*. Cambridge: Woodhead Publishing, 1-7.
8. Barišić, V., Kopjar, M., Jozinović, A., Flanjak, I., Ačkar, Đ., Miličević, B. ve Babić, J. (2019). The chemistry behind chocolate production. *Molecules*, 24(17), 3163-3164.
9. da Veiga Moreira, I. M., de Figueiredo Vilela, L., Santos, C., Lima, N. ve Schwan, R. F. (2018). Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Research International*, 109(4), 196-203.
10. Toker, O. S., Palabiyik, I., Pirouzian, H. R., Aktar, T. ve Konar, N. (2020). Chocolate aroma: Factors, importance and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 99(1), 580-592.
11. Torres-Moreno, M., Tarrega, A., Costell, E. Ve Blanch, C. (2012). Dark chocolate acceptability: influence of cocoa origin and processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(2), 404-411.
12. Scapagnini, G., Davinelli, S., Di Renzo, L., De Lorenzo, A., Olarte, H. H., Micali, G. ve Gonzalez, S. (2014). Cocoa bioactive compounds: Significance and potential for the maintenance of skin health. *Nutrients*, 6(8), 3202-3213.
13. Selçuk, Z. ve Geçgel, Ü. (2012). Determination of Fat Contents and Fatty Acid Compositions of Commercial Chocolates on the Turkish Market. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 9(1), 86-94.

14. Karacor, K. ve Cam, M. (2015). Effects of oleic acid. *Medical Science and Discovery*, 2(1), 125-32.
15. Ching, C. B., Abdullah, J. ve Yusof, N. A. (2022). Voltammetric determination of palmitic acid by electrode modified with reduced graphene oxide. *Journal of Food Science and Technology*, 59(3), 1053-1062.
16. Ergönül, P. G., Ergönül, B. ve Seçkin, A. K. (2010). Cholesterol content and fatty acid profile of chocolates mostly consumed in Turkey Contenido de colesterol y perfil de ácidos grasos de los chocolates más consumidos en Turquía. *CyTA–Journal of Food*, 8(1), 73-78.
17. Lipp, M. ve Anklam, E. (1998). Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate—Part A. Compositional data. *Food chemistry*, 62(1), 73-97.
18. Sampath, H. ve Ntambi, J. M. (2005). The fate and intermediary metabolism of stearic acid. *Lipids*, 40(12), 1187-1191.
19. Bangar, S. P., Whiteside, W. S., Chowdhury, A., Ilyas, R. A. ve Siroha, A. K. (2024). Recent advancements in functionality, properties, and applications of starch modification with stearic acid: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280, 135782.
20. Ivaska, A. ve J. Bobacka (2005). Process Analysis | electroanalytical techniques. In *Encyclopedia of analytical science* (Second Edition). Oxford: Elsevier, 309-316.
21. Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T. ve Dempsey, J. L. (2018). A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of chemical education*, 95(2), 197-206.
22. Achterberg, E.P., M. Gledhill ve K. Zhu (2018). Voltammetry—cathodic stripping. In *Reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering*. (First Edition). Oxford: Elsevier, 125-139.
23. Choudhary, Y.S., L. Jothi, ve G. Nageswaran (2017). *Electrochemical characterization, in spectroscopic methods for nanomaterials characterization*. Oxford: Elsevier, 19-54.
24. Wojdyr, M. (2010). Fityk: A general-purpose peak fitting program. *Applied Crystallography*, 43(5), 1126-1128.



Gazili olmak ayrıcalıktır