

**FARKLI NİŞASTA KAYNAKLARINDAN ÇAPRAZ BAĞLI
NİŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF
CROSS-LINKED STARCH FROM DIFFERENT
STARCH SOURCES**

Kevser KAHRAMAN

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Üye (Başkan) :
Prof. Dr. Hazım ÖZKAYA

Üye (Danışman) :
Prof. Dr. Hamit KÖKSEL

Üye :
Prof. Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY

Üye :
Doç. Dr. Behiç MERT

Üye :
Yrd. Doç. Dr. Serpil ÖZTÜRK

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 28/10/2011 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adil DENİZLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür

FARKLI NIŞASTA KAYNAKLARINDAN ÇAPRAZ BAĞLI NIŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Kevser Kahraman

ÖZ

Bu çalışmada sodyum trimetafosfat:sodyum tripolifosfat (99:1) karışımı kullanılarak çapraz bağlı (ÇB) mısır ve buğday nişastaları üretilmiştir. Reaksiyon koşullarının belirlenmesi için yanıt yüzey yöntemi uygulanmış ve 2 faktörlü (reaksiyon sıcaklığı ve pH) ve 5 seviyeli (pH 10-12, 38-70°C) merkezi kompozit desen kullanılmıştır. Aynı sıcaklıkta, reaksiyon pH'sı 11 ve üzerinde ise ÇB mısır ve buğday örneklerinin enzime dirençli nişasta (EDN) ve fosfor (P) içerikleri artmıştır. Örnekler 70°C ve pH 12'de çapraz bağlandığında en yüksek EDN ve P içerikleri elde edilmiştir. Bu reaksiyon koşullarında, ÇB mısır ve buğday nişastalarının EDN içerikleri sırasıyla %78.4 ve %95.8'dir. Çapraz bağlama genellikle DSC başlangıç ve pik sıcaklıklarında artışa, entalpi değerlerinde azalmaya neden olmuştur. ÇB nişastaların çözünürlük ve şişme derecesi değerleri doğal nişastalara göre düşüktür. ÇB örneklerinin çoğunun RVA eğrileri sıfır çizgisinin üzerine çıkamamıştır. Bu durum düşük şişme yetenekleri ile de uyumludur. Çok yüksek EDN içeren ve $P \leq \%0.4$ olan iki ÇB nişasta fazla miktarda üretilmiştir. Seçilen bu ÇB nişastalar bisküvi üretimi için %25, 50 ve 75 oranlarında, kraker üretimi için %15, 30 ve 45 oranlarında un ile yer değiştirilmiştir. Kepek ve değişik tipte ticari EDN kaynakları da karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır. EDN kaynaklarının çoğu bisküvi örneklerinin kalınlık değerlerinde artışa, yayılma oranı değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bisküvi örneklerinin fiziksel özelliklerindeki en olumsuz etkiye Hylon VII ve kepek ilavesi neden olmuştur. Doğal mısır nişastası, Novelose 330 ve kepek bisküvi örneklerinin sertliğini artırırken, diğer EDN kaynakları azaltmıştır. ÇB buğday nişastası bisküvi örneklerinin fiziksel özellikleri üzerine olumsuz etki yaratmamış ve bu örnekte %75 oranında ilave edilerek üretilen bisküvi en yüksek EDN içeriğine (%32.4) sahip olmuştur. Seçilmiş ÇB mısır ve buğday nişastaları ile değişik EDN kaynakları kraker örneklerinin uzunluk, genişlik ve kalınlık değerlerini azaltmıştır ancak bu etki bisküvi örneklerinde gözlemlendiği kadar belirgin olmamıştır. Kepek ve EDN ilavesi ile kraker örneklerinin sertlik değerleri azalmıştır. En yüksek EDN içeriğine (%23.7) %45 oranında ÇB buğday nişastası ilave edilen kraker sahip olmuştur. ÇB nişastalar, özellikle de buğday nişastasından üretilen ÇB nişasta bisküvi ve kraker kalitesi üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmamıştır ve bu örneğin fırıncılık ürünlerinde geleneksel lifler yerine alternatif bir EDN kaynağı olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Çapraz bağlı nişasta; enzime dirençli nişasta; şişme derecesi; çözünürlük; RVA; bisküvi; kraker

Danışman: Prof. Dr. Hamit Köksel, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CROSS-LINKED STARCH FROM DIFFERENT STARCH SOURCES

Kevser Kahraman

ABSTRACT

In this study, cross-linked (CL) corn and wheat starches were produced by using sodium trimetaphosphate:sodium tripolyphosphate (99:1) mixture. Response surface methodology was performed to determine the reaction conditions and central composite design with two factors (reaction temperature and pH) and five levels (pH 10-12, 38-70°C) was used. At the same temperature, if the reaction pH is 11 or above, resistant starch (RS) and phosphorus (P) contents of the CL corn and wheat starches increased. The highest RS and P contents were determined when the samples cross-linked at 70°C and pH 12. At this reaction conditions, RS contents of CL corn and wheat starches were 78.4% and 95.8%, respectively. Cross-linking generally caused increases in DSC onset and peak temperatures and decreases in enthalpy values. The solubility and swelling power values of the CL starches were lower than those of respective native starches. RVA pasting curves of most of the CL samples did not rise above the baseline, in accordance with their low swelling ability. Two CL starches with high RS and P $\leq 0.4\%$ contents were produced in large amounts. These selected CL starches were replaced by flour at 25, 50 and 75% levels for cookie and 15, 30 and 45% levels for cracker production. Bran and different types of commercial RS sources were also used for comparison. Most of the RS sources increased the thickness and decreased the spread ratio of cookie samples. The most deteriorative affect on the physical properties of cookie samples was caused by Hylon VII and bran addition. Native corn starch, Novelose 330 and bran increased, whereas the other RS sources decreased the hardness of the cookie samples. The CL wheat starch sample did not have any deteriorative affect on the physical properties of cookie samples and the cookie supplemented with this sample at a level of 75% had highest RS content (32.4%). The selected CL corn and wheat starches and different types of RS sources decreased the length, width and thickness of the cracker samples; however this affect was not obvious as observed on cookie samples. The hardness of the cracker samples were decreased with the addition of bran and RS sources. The cracker supplemented with CL wheat starch at a level of 45% had the highest RS content (23.7%). The CL starches, especially the one prepared from wheat starch did not have a deteriorative effect on cookie and cracker quality and it can be concluded that these samples can be used as an alternative RS source in bakery products instead of traditional fibers.

Keywords: Cross-linked starch; enzyme resistant starch; swelling power; solubility; RVA; cookie; cracker

Advisor: Prof. Dr. Hamit Köksel, Hacettepe University, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, değerli görüş ve katkılarıyla beni yönlendiren tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Hamit KÖKSEL'e,

Değerli öneri ve katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri sayın hocalarım Prof. Dr. Hazım ÖZKAYA ve Prof. Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY'a,

Tez çalışmamın bir kısmında laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan sayın hocam Doç. Dr. Behiç MERT'e,

Çalışmalarım sırasında bana her konuda yardımcı olan değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Serpil ÖZTÜRK'e,

Araştırma Bursu desteği ile tez çalışmamın bir kısmını Michigan State University, Food Science and Human Nutrition Bölümü'nde yapmama imkan sağlayan YÖK'e ve laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan Prof. Dr. Perry K.W. NG'e,

Çalışmalarım sırasında bana her konuda yardımcı olan Araş. Gör. Seher GÜMÜŞ, Gıda Müh. Aslıhan ÜNÜVAR ve Gıda Müh. Oğuz ACAR'a,

Desteğini her zaman hissettiğim Doç. Dr. Arzu BAŞMAN'a,

Çalışmalarım sırasında her zaman yakın ilgilerini gördüğüm Hububat Araştırma Grubu'ndaki çalışma arkadaşlarıma,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Uzm. Yelda ZENCİR'e,

Yaşamımın en güzel manevi desteğini veren ve tezimin her aşamasında sabır, hoşgörü ve sevgisini benden esirgemeyen sevgili eşim Burak KAHRAMAN'a

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tez çalışmam sırasında da sonsuz sevgi, hoşgörü ve desteklerini benden esirgemeyen ve gösterdikleri özveri sayesinde bu tezin tamamlanmasında büyük katkıları olan sevgili annem Seycan AK ve babam Refik AK'a,

Sevgi, hoşgörü ve desteklerini benden esirgemeyen kayınvalidem Meral KAHRAMAN, kayınpederim Mustafa KAHRAMAN, kardeşlerim D. Tuba AK GÜNEŞ, E. Caner GÜNEŞ ve Barkın KAHRAMAN'a,

teşekkürlerimi sunarım.

Kevser KAHRAMAN

Yaşam enerjimin kaynağı biricik kızım ECEM'e...

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Nişasta Granülünün Kimyasal Yapısı ve Bileşimi	4
2.2. Nişastanın Sulu Sistemde Uğradığı Değişiklikler	5
2.3. Nişasta Modifikasyonu	8
2.3.1. Çapraz bağlı nişastalar	9
2.4. Enzime Dirençli Nişasta	13
2.4.1. Enzime dirençli nişasta oluşturma yöntemleri	14
2.4.2. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri.....	20
2.4.2.1. Bağırsak kanserini önleme.....	20
2.4.2.2. Hipoglisemik etki.....	21

2.4.2.3.	Hipokolesterolemik etki	22
2.4.2.4.	Prebiyotik etki	22
2.4.2.5.	Kilo kontrolü	22
2.4.2.6.	Safra taşı oluşumunu azaltma	23
2.4.2.7.	Mineral absorpsiyonu.....	23
2.4.3.	Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları	23
3.	MATERYAL.....	26
3.1.	Ön Deneme Materyali	26
3.2.	Tez Materyali.....	26
4.	METOT.....	26
4.1.	Ön Denemelerde Kullanılan Metotlar	26
4.1.1.	Nişastanın asit ile hidrolizi.....	26
4.1.2.	Nişasta jelatinizasyonu	26
4.1.3.	Çapraz bağlı nişasta üretimi ön denemeleri	27
4.1.4.	Enzime dirençli nişasta tayini	29
4.2.	Ana Denemelerde Kullanılan Metotlar.....	30
4.2.1.	Rutubet tayini	30
4.2.2.	Çapraz bağlı nişasta üretimi.....	30
4.2.3.	Enzime dirençli nişasta tayini	32
4.2.4.	Fosfor tayini	32

4.2.5.	Nişasta rneklerinin termal zellikleri.....	33
4.2.6.	Mikro-visko analizör ile örneklerin davranışlarının incelenmesi.....	34
4.2.7.	Nişasta granülünün ısıtmalı mikroskopta şişme özelliklerinin incelenmesi	35
4.2.8.	znrlk ve su bağlama özellikleri.....	35
4.3.	Üretilen apraz Bağlı Nişastaların rn Kalitesine Etkisinin İncelenmesi..	36
4.3.1.	Un analizleri	36
4.3.2.	Bisküvi retimi.....	37
4.3.2.1.	Bisküvi örneklerinde fiziksel analizler.....	38
4.3.2.2.	Bisküvi örneklerinde renk analizi.....	39
4.3.2.3.	Bisküvi örneklerinde tekstür analizi	39
4.3.2.4.	Bisküvi rneklerinde EDN tayini.....	39
4.3.3.	Kraker retimi.....	39
4.3.3.1.	Kraker örneklerinde fiziksel analizler.....	41
4.3.3.2.	Kraker örneklerinde renk analizi	41
4.3.3.3.	Kraker örneklerinde tekstür analizi.....	41
4.3.3.4.	Kraker rneklerinde EDN tayini.....	42
4.3.4.	İstatistiksel analiz	42
5.	SONUÇLAR VE TARTIşMA	43

5.1. Ön Deneme Sonuçları.....	43
5.2. Ana Deneme Sonuçları	49
5.2.1. Nişasta örneklerinin EDN (toplam besinsel lif) içerikleri	49
5.2.2. Nişasta örneklerinin fosfor içerikleri	59
5.2.3. Nişasta örneklerinin termal özellikleri.....	65
5.2.4. Nişasta örneklerinin mikroviskoanalizördeki davranışları.....	71
5.2.5. Nişasta örneklerinin ısıtmalı mikroskopta şişme özellikleri.....	73
5.2.6. Nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri	80
5.2.7. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan unların kalite özellikleri	89
5.2.8. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi kalitesi üzerine etkisi....	92
5.2.9. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker kalitesi üzerine etkisi.....	98
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	105
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	108
ÖZGEÇMİŞ	118

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a*	Kırmızıdan (+) yeşile (-) renk değişimi ifadesi
AACCI	American Association of Cereal Chemists International
AOAC	The Association of Analytical Chemists
b*	Sarıdan (+) maviye (-) renk değişimi ifadesi
CFR	Code of Federal Regulation
CL	Cross-linked
ÇB	Çapraz bağlı
ΔH	DSC entalpi değeri
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel taramalı kalorimetre)
EDN	Enzime dirençli nişasta
EURESTA	European Food-Linked Agro-Industrial Research–Concerted Action on Resistant Starch
FAO	Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)
IOM	The Institute of Medicine of the National Academy of Sciences in the United State (ABD Ulusal Bilimler Akademisi Tıp Enstitüsü)
L*	Parlaklık ifadesi
RGB	Red Gren Blue
RSM	Response surface methodology
RVA	Rapid visco analyser (Mikro-visko analizör)
STMP	Sodyum trimetafosfat
STPP	Sodyum tripolifosfat
TBL	Toplam besinsel lif
T _o	DSC başlangıç sıcaklığı
T _p	DSC pik sıcaklığı
TPP	Tripolifosfat
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
YYY	Yanıt yüzey yöntemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Tipik bir RVA grafiği	6
Şekil 2.2. Tipik bir Miksolab grafiği	7
Şekil 2.3. Nişastanın pH>10'da STPP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma	11
Şekil 2.4. Nişastanın pH<9'da STPP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma .	12
Şekil 2.5. STMP ve nişasta arasında gerçekleşen ilk reaksiyon.....	12
Şekil 2.6. Nişastanın pH>8'de STMP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma	13
Şekil 2.7. Nişastanın pH<7'de STMP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma	13
Şekil 4.1. Çapraz bağlı nişasta oluşturma yöntemi	28
Şekil 4.2. Ana denemelerde kullanılacak sıcaklık ve pH seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan merkezi kompozit desen (central composite design) ($\alpha=0.5$).....	31
Şekil 4.3. Ana denemelerde kullanılan merkezi kompozit desen (central composite design) ($\alpha=0.5$).....	32
Şekil 4.4. Fosfor için kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4.5. Kraker kalıbı.....	41
Şekil 5.1. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği.....	58
Şekil 5.2. Çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği	58
Şekil 5.3. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin fosfor içeriği verilerine ait yüzey	

grafiği.....	64
Ŗekil 5.4. Çapraz bağlı buğday niŖastası örneklerinin fosfor içeriği verilerine ait yüzey grafiği	64
Ŗekil 5.5. Mısır niŖastasından üretilen çapraz bağlı niŖasta örneklerine ait RVA grafikleri.....	72
Ŗekil 5.6. Buğday niŖastasından üretilen çapraz bağlı niŖasta örneklerine ait RVA grafikleri.....	73
Ŗekil 5.7. Doğal mısır niŖastasının ısıtmalı mikroskopta ısıtma ncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri.....	76
Ŗekil 5.8. 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı mısır niŖastası örneğinin ısıtmalı mikroskopta ısıtma ncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri	76
Ŗekil 5.9. Doğal buğday niŖastasının ısıtmalı mikroskopta ısıtma ncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri	79
Ŗekil 5.10. 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı buğday niŖastası örneğinin ısıtmalı mikroskopta ısıtma ncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Buğday nişastasından farklı oranlarda STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların fosfor ve EDN içerikleri.....	17
Çizelge 4.1. Ön denemelerde Şekil 4.1’de belirtilen yöntem ile üretilen çapraz bağlı nişastalara ait örnek numaraları	29
Çizelge 4.2. RVA “Standart 1” profilinde sıcaklık-hız değişimi.....	34
Çizelge 4.3. Miksolab “Chopin” protokolünde sıcaklık-hız değişimi	37
Çizelge 4.4. AACCI bisküvi formülasyonu	38
Çizelge 4.5. Kraker formülasyonu	40
Çizelge 4.6. Farklı nişasta oranlarına göre kraker formülasyonuna ilave edilen su miktarı.....	40
Çizelge 5.1. Ön denemelerde üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin AACCI 32-40 yöntemine göre belirlenen %EDN içerikleri	43
Çizelge 5.2. Ön denemelerde üretilen örneklerin EDN değerlerinin reaksiyon koşulları, üretim sistemi ve nişasta türüne göre çoklu karşılaştırma sonuçları	44
Çizelge 5.3. Ön denemelerde elde edilen bazı çapraz bağlı nişasta örneklerinin AOAC 991.43 metoduna göre belirlenen %EDN içerikleri.....	45
Çizelge 5.4. Ön çalışmada örnek üretiminde kullanılan yöntemler arasındaki farklılıklar.....	47
Çizelge 5.5. Woo ve Seib (2002)’e göre üretilen örneklerin AOAC 991.43 metoduna göre belirlenen %EDN içerikleri.....	47
Çizelge 5.6. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastalarına ait %EDN içerikleri.....	50

Çizelge 5.7. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları	52
Çizelge 5.8. Çapraz bağlı buğday nişastaları için için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN içerikleri	55
Çizelge 5.9. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan fosfor içerikleri	60
Çizelge 5.10. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan fosfor içerikleri.....	62
Çizelge 5.11. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan DSC değerleri	67
Çizelge 5.12. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan DSC değerleri	70
Çizelge 5.13. Çapraz bağlı mısır nişastası granüllerinde ısıtma sonrası belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan alan artışı değerleri	75
Çizelge 5.14. Çapraz bağlı buğday nişastası granüllerinde ısıtma sonrası belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan alan artışı değerleri.....	79
Çizelge 5.15. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan çözünürlük değerleri	82
Çizelge 5.16. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan çözünürlük değerleri.....	84
Çizelge 5.17. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan şişme derecesi değerleri.....	86
Çizelge 5.18. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan şişme derecesi değerleri	88

Çizelge 5.19. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) kalite özellikleri	89
Çizelge 5.20. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) farinogram özellikleri	91
Çizelge 5.21. Kraker ve bisküvi üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) Miksolab karakteristikleri	92
Çizelge 5.22. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi.....	94
Çizelge 5.23. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin sertlik ve renk özellikleri (L^* , a^* , b^*) üzerine etkisi	96
Çizelge 5.24. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin EDN/TBL içerikleri üzerine etkisi	98
Çizelge 5.25. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker örneklerinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi.....	100
Çizelge 5.26. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker örneklerinin sertlik ve renk özellikleri üzerine (L^* , a^* , b^*) etkisi	102
Çizelge 5.27. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının krakerler örneklerinin EDN/TBL içerikleri üzerine etkisi	104

1. GİRİŞ

Nişasta besleyici değerinin yanı sıra jel oluşturma, kıvam verme ve su tutma gibi bazı özellikleri nedeniyle gıda sanayinde oldukça önem taşımaktadır. Ancak nişastanın karıştırma ile viskozitesinin azalma eğilimi, termal direncin düşük ve retrogradasyon eğiliminin yüksek olması gibi özellikleri nedeniyle endüstriyel gıda uygulamalarındaki kullanımlarında bazı sınırlamalar söz konusudur. Bu nedenle doğal nişasta, bazı modifikasyonlar ile fiziksel ve kimyasal özellikleri değiştirilerek spesifik gıda uygulamalarında kullanıma uygun hale getirilebilmektedir. Modifikasyon ile nişastanın özellikleri tamamen kaybolmamakta, belirli ölçüde korunmaktadır. Nişasta modifikasyonu temel olarak 3 başlıkta toplanmaktadır; fiziksel modifikasyon (ısı-nem uygulaması, prejelatinizasyon vb), parçalama (asit-enzim hidrolizi ve oksidasyon gibi işlemler sonucu dekompozisyon) ve kimyasal modifikasyon (eterleştirme, esterleştirme, çapraz bağlama vb). En yaygın kimyasal modifikasyon türü olan çapraz bağlama genellikle granüler nişastanın, nişasta moleküllerindeki hidroksil grupları arasında bağ yapabilme kapasitesine sahip ajanlarla muamele edilmesi ile gerçekteştirilmektedir. Son yıllarda çapraz bağlama ile nişastaların enzimatik hidrolize dirençli hale geldiği belirlenmiş, bu özelliklerinden dolayı bu nişastaların yeni bir besinsel lif kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Enzime dirençli nişasta (EDN), sağlıklı bireylerin ince bağırsağında sindirilemeyen ancak kalın bağırsakta fermente olabilen nişasta ve nişasta parçalanma ürünleridir ve başlıca 4 grup altında toplanmaktadır. Tip1 EDN, kısmen öğütölmüş tanelerde bulunurken Tip2 EDN yeşil muz ve yüksek amilozlu nişasta gibi granüler formdaki jelatinize olmamiş nişastada bulunmaktadır. Tip3 EDN retrograde nişastalar, Tip4 EDN ise kimyasal olarak modifiye edilmiş nişastalardır. EDN normal nişasta gibi sindirilememekte ve kolona geçmektedir, bu nedenle sağlık üzerinde bazı olumlu etkileri bulunmaktadır. EDN kolon mikroflorası için substrat konumundadır ve bu mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkileri bulunan bütirat, asetat, propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır. EDN ince bağırsakta sindirilemediği için EDN içeren gıdaların glisemik indeksi azalmaktadır. Bu nedenle EDN diyabetli bireyler için hazırlanan

gıda formülasyonlarında kullanılabilir. Ayrıca serum kolesterol ve trigliserit seviyesini azaltıcı ve kardiyovasküler sistemi iyileştirici özelliği bulunmaktadır.

Tahıllarda, sebze ve meyvelerde ve işlenmiş gıdalarda farklı miktarlarda EDN bulunmaktadır ancak bu gıdalardaki EDN miktarı genellikle düşüktür. Çeşitli ısı işlemleri, asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısı işlem uygulaması, ısıtma soğutma döngüleri, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemlerle gıdaların EDN içerikleri artırılabilir. Genel olarak Tip3 EDN oluşturmak için nişasta önce jelatinize daha sonra retrograde edilmelidir. Nişastanın jelatinizasyonundan sonra amiloz molekülleri hidrojen bağları ile ikili sarmal yapı oluşturacak şekilde yeniden dizilirler. Oluşan bu kristal yapı nişastayı hidrolize eden enzimlere dirençli hale gelmektedir. Kimyasal yöntemlerle EDN (Tip4 EDN) oluşumunda ise, nişasta bir takım kimyasal maddelerle çapraz bağ oluşturularak modifiye edilmektedir. Yapıya eklenen sübstituentler sindirim enzimlerinin yapıya girmesini engellemekte ve yapıyı sindirim enzimlerine karşı dirençli hale getirmektedir.

Bir gıda bileşeni olarak EDN, daha çok orta ve düşük nem içerikli gıdalarda, özellikle de kahvaltılık hububat ürünleri, ekmek ve kek gibi bazı hububat ürünlerinde kullanılabilir. EDN özellikle beyaz renkli olması ve tat-koku özelliklerini çok fazla değiştirmemesi nedeniyle pek çok geleneksel lif kaynağına göre gıda formülasyonlarında bazı avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca EDN proses koşullarına geleneksel liflere göre daha fazla uyumlu olduğu için EDN kullanıldığında üretim koşulları ve ürün formülasyonunda daha az modifikasyon gerekmektedir.

Bu çalışmada mısır ve buğday nişastalarına sodyum trimetafosfat:sodyum tripolifosfat (STMP:STPP) karışımı kullanılarak kimyasal modifikasyon uygulanmış ve örneklerin EDN içerikleri arttırılmaya çalışılmıştır. Deneysel desen (Reaksiyon koşulları; pH ve sıcaklık) yanıt yüzey yöntemi (YYY; response surface methodology) kullanılarak hazırlanmıştır. Ön denemelerden sonra sıcaklık 38-70°C ve pH 10-12 aralıklarında tutularak toplam 13 noktada örnek üretilmiştir. Üretilen çapraz bağlı nişastaların EDN ve fosfor içerikleri belirlenmiştir. Örneklerin sulu sistemde ısıtma-soğutma sırasındaki davranışları RVA (RapidVisco Analyzer:mikro-viskoanalizör) ile nişasta retrogradasyonu ise DSC (Differential

Scanning Calorimetry: diferansiyel taramalı kalorimetre) ile incelenmiştir. Ayrıca örneklerin su bağlama özellikleri (şişme derecesi ve ısıtma sonrası granül alanındaki artış) ve çözünürlük özellikleri de belirlenmiştir. Bu tez kapsamında üretilen çapraz bağlı nişastaların bisküvi ve kraker kalitesine etkisinin incelenmesi amacıyla CFR tarafından izin verilen maksimum fosfor içeriğini (%0.4) geçmeyecek şekilde fosfor içeren ve en yüksek oranda EDN içeriğine sahip çapraz bağlı mısır ve buğday nişastası örneklerinden fazla miktarda üretilmiş ve bu örnekler bisküvi ve kraker üretiminde kullanılmıştır. Bu örneklerin bisküvi ve kraker kalitesine etkisinin, diğer ticari besinsel lif kaynakları ile karşılaştırılabilmesi amacıyla bisküvi ve kraker üretiminde buğday kepeği ve ticari EDN örnekleri (Tip2, Tip3 ve Tip4) de kullanılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Nişasta Granülünün Kimyasal Yapısı ve Bileşimi

Nişasta birçok gıda maddesinin temel bileşeni olarak insan beslenmesinde büyük bir önem taşımaktadır. Nişasta besleyici değerinin yanı sıra gıdaların fiziksel özellikleri üzerindeki etkisi nedeniyle de oldukça önemlidir (Hoseney, 1994). Nişastanın jel oluşturma, kıvam verme, su tutma gibi birçok özelliğinden gıda sanayinde yararlanılmaktadır. Pudinglerin jelleşmesi, yemek soslarının kıvamının oluşması ve keklerin pişme sırasında sıvı halden katı hale dönüşmesinde nişastanın etkisi bulunmaktadır (Köksel, 2005).

Nişasta α -D-glukoz birimlerinin polimerleşmesinden oluşan bir polisakkarittir. Nişastanın yapısında lineer bir polimer olan amiloz ve dallanmış bir polimer olan amilopektin olmak üzere iki tür polimer bulunmaktadır (Hoseney, 1994). Nişastanın içerdiği amiloz ve amilopektin oranı kaynağına göre değişebilmektedir. Arpa, buğday, mısır ve pirinç nişastalarında amiloz oranları yaklaşık olarak sırasıyla %30, %25, %23 ve %15'tir. Bazı hububat mutantlarının %100 amilopektin içeren nişastalara (mumsu: waxy) sahip olduğu saptanmıştır. Bazı hububat nişastaları ise daha yüksek oranda amiloz içermektedir. Yüksek oranda amiloz içeren hububat nişastaları "amilotip nişasta" olarak adlandırılmaktadır. Mısırın yüksek amiloz (%55-70) içeren çeşitli mutantları bulunmaktadır (Garcia-Alonso et al., 1999; Chung et al., 2003; Patil, 2004). Pirinç, buğday ve arpanın da yüksek amiloz içeren mutantları (yaklaşık sırasıyla %30, %40 ve %45) bulunmaktadır (Szczo drak and Pomeranz, 1991; Brand Miller et al., 1992; Morita et al., 2002).

Amiloz, α -1,4 bağları ile bağlanmış D-glukoz birimlerinden oluşan lineer bir polimerdir. Bu polimerin genel olarak lineer yapıda olduğu kabul edilse de çok az miktarda dallanma noktaları vardır ve bunlar α -1,6 bağlarından oluşur. Ancak amiloz molekülündeki dallanma oldukça az olduğu için molekül dallanmamış bir özellik göstermektedir. Amiloz uzun ve düz zincirli olmasından dolayı ikili sarmal (double helix) oluşturabilme özelliğine sahiptir. Amiloz molekülü 300-1000 arasında glukoz birimi içerir ve molekül ağırlığı 20 000 ile 250 000 arasında değişmektedir. Amilopektin de amiloz gibi α -1,4 bağı ile bağlanmış D-glukoz

birimlerinden oluşmuştur. Ancak amilopektin oldukça dallanmış bir yapıdadır ve dallanma noktalarında α -1,6 bağları bulunmaktadır. Herbir dal 20-25 glukoz biriminden oluşur. Amilopektinin yapısındaki bağların yaklaşık %5'i α -1,6 bağıdır. Molekül büyüklüğü (10^7 - 10^8) amiloza göre oldukça fazladır (Hoseney, 1994).

Nişasta granülü aynı zamanda diğer bazı bileşenleri de içermektedir. Bu bileşenler çok düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen nişastanın bazı özelliklerini etkilerler. Hububat nişastaları çok düşük oranlarda (%0.5-1.0) yağ içerir. Nişastanın bileşiminde ayrıca fosfor ve azot da bulunmaktadır (Köksel, 2005).

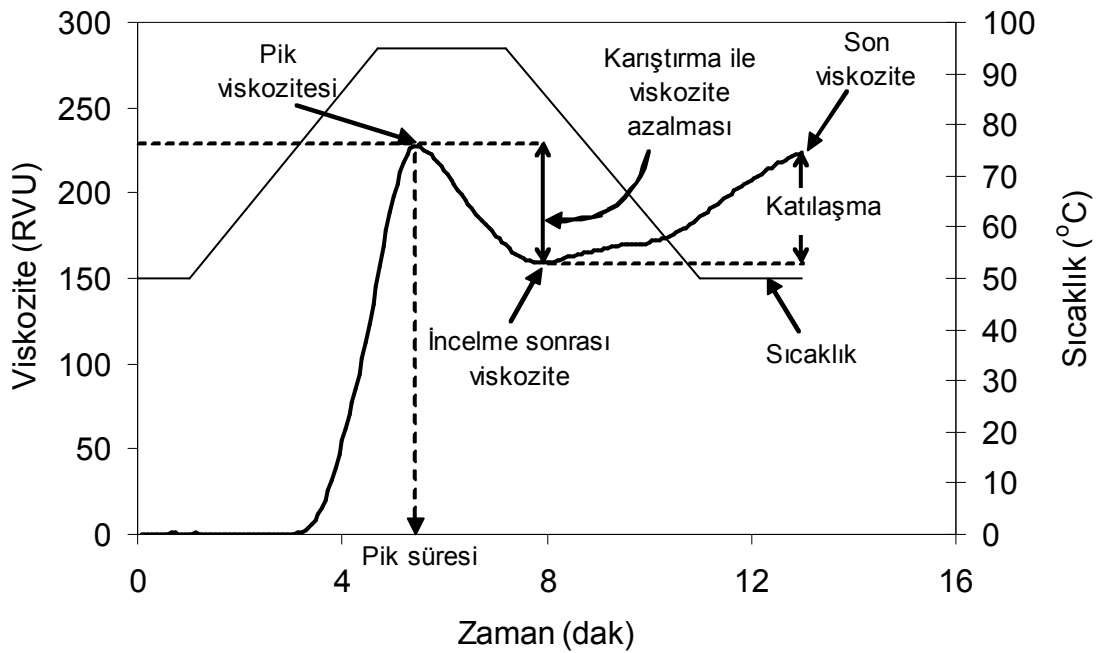
2.2. Nişastanın Sulu Sistemde Uğradığı Değişiklikler

Nişastanın sulu bir sistemde ısıtıldığında uğradığı değişiklikler birçok gıdanın (yemek sosları, pudingler, vs.) özelliklerini belirlemektedir. Nişasta granülleri mikroskopta polarize ışık altında incelendiklerinde tipik malta haçı görüntüsü (çift kırınım; birefringence) verirler. Bu özellik nişastanın çok düzenli bir yapıya sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Köksel, 2005). Nişasta granülleri suda çözünmezler, ancak nişasta-su sistemi ısıtıldığında su, granülün yapısına girer ve granüller şişer. Suyun yapıya girip çıkması düşük sıcaklıklarda geri dönüşümlüdür. Ancak belli bir sıcaklık değerinden sonra yapıda geri dönüşümsüz değişiklikler gerçekleşmeye başlar. Bu değişiklikler sonucunda nişasta granülünün düzenli yapısı bozulur ve granül çift kırınım (birefringence) özelliğini kaybeder. Bu işlem jelatinizasyon, bu işlemin gerçekleştiği sıcaklık ise jelatinizasyon sıcaklığı olarak adlandırılmaktadır. Isıtmanın sürdürülmesiyle nişasta granülleri kısmen çözünür ve çözünen nişasta çözeltiye geçer. Çözünür nişastanın ve nişasta granülünün kalan parçalarının suyu bağlamaları viskozitenin artmasına neden olmaktadır.

Nişastanın çözünmesi ile oluşan yüksek viskoziteli sıvı soğutulduğunda jel oluşur. Bu jel bekletildiğinde nişasta zincirleri arasında yeni hidrojen bağları oluşur. Puding gibi fazla su içeren sistemlerde nişasta zincirlerinin interaksiyonu sonucunda yapıdan su sızmaya başlar. Bu olaya sineresis denir. Bekletme periyodunun arttırılmasıyla nişasta zincirleri arasındaki interaksiyon daha da artar ve nişasta zincirleri hidrojen bağları ile kuvvetlenerek ikili sarmal yapı şeklinde

yeniden dizilmeye başlar. Bu olaya retrogradasyon denir (Haralampu, 2000).

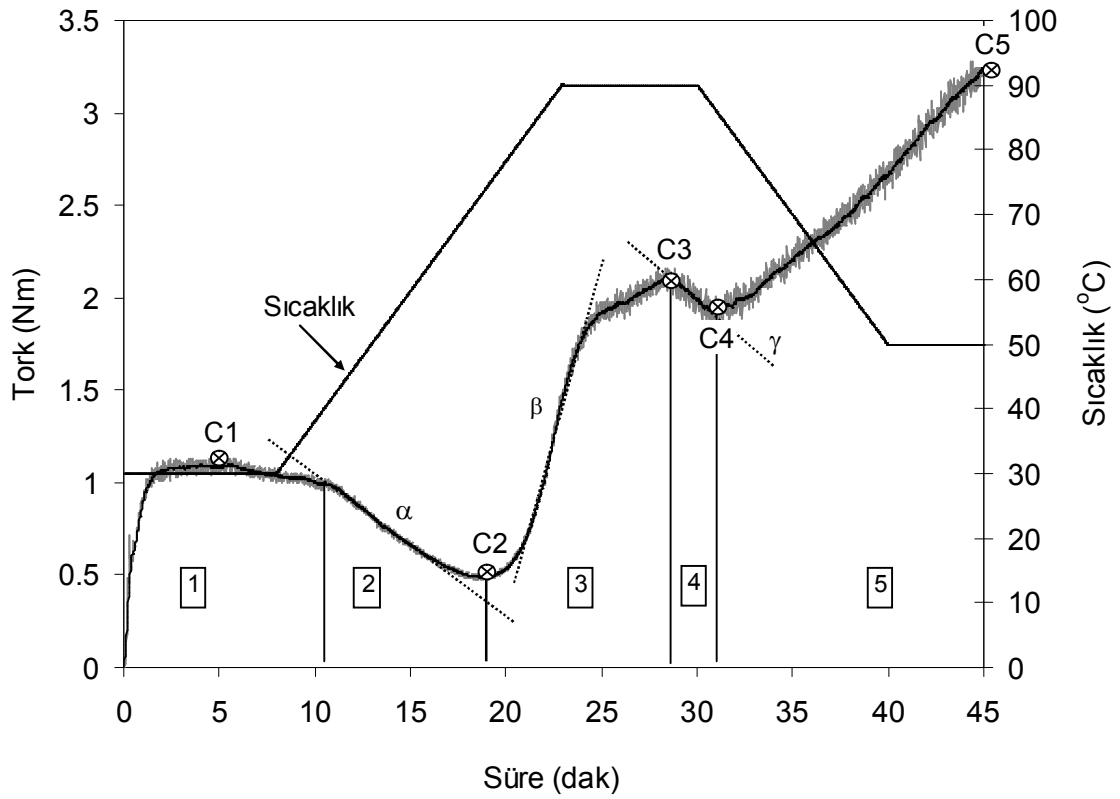
Nişastanın sulu bir sistemde sıcaklık değişimiyle viskozitesinde meydana gelen değişimler Amilograf ve mikro-visko analizör (Rapid Visco Analyzer:RVA, Newport Scientific, Avustralya) gibi cihazlarla incelenmektedir. Bu viskoanalizörlerde nişasta:su sistemi incelenirken sıcaklık artışıyla nişasta granülleri su alarak şişer, sistemin viskozitesi artar ve maksimum viskozite değerine ulaşılır. Bu değere Pik Viskozitesi (peak viscosity) denir. Zamanla aynı yönde karıştırmanın etkisi ile viskozite değeri düşmeye başlar (shear thinning; karıştırma ile viskozite azalması) ve giderek minimum değere ulaşır. Soğutma ile nişasta molekülleri arasında yeni hidrojen bağları meydana gelir. Sistemin viskozitesi yükselir (katılaşma, setback) ve giderek jel oluşur. Soğutma süresi sonunda ulaşılan viskozite değerine Son Viskozite (final viscosity) denilmektedir (Köksel, 2005). Tipik bir RVA grafiği ve değerlendirmede kullanılan kriterler Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Tipik bir RVA grafiği

Sıcaklık değişimi ile birlikte hamur konsistensinde meydana gelen değişim son yıllarda geliştirilen Miksolab (Chopin, Fransa) cihazı ile incelenmektedir. Miksolab, sıcaklık değişimi ile birlikte hamur konsistensinde meydana gelen değişimi Nm

cinsinden ölçen bir cihazdır. Hamur gelişme süresi, protein zayıflaması, nişasta jelatinizasyonu, enzim aktivitesi ve jel kuvveti gibi hem protein hem de nişasta karakteristikleri hakkında fikir vermektedir. Tipik bir Miksolab grafiği ve değerlendirmede kullanılan kriterler Şekil 2.2’de verilmiştir. Miksolab grafiği 5 bölüme incelenmektedir ve Miksolab grafiğini karakterize eden başlıca 8 farklı parametre bulunmaktadır. Bunlar C1, C2, C3, C4, C5, α , β ve γ ’dır. C1 ilk yoğurma bölümünde hamurun paletlere karşı gösterdiği maksimum direnci ifade ederken, diğer dirençler (C2, C3, C4 ve C5) ilgili bölümlerin bitiş noktalarındaki dirençleri göstermektedir. α , β ve γ açıları ise 2., 3. ve 4. bölümlerde hamurun direncindeki azalma ya da artışı ifade eden açılardır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Tipik bir Miksolab grafiği

Birinci bölge hamur sıcaklığının 30°C’de sabit tutulduğu ve unun su absorpsiyonu, gelişme süresi ve stabilitesi gibi parametrelerinin elde edildiği bölgedir. Unun su absorpsiyonu hamurun bu bölgedeki maksimum konsistense (C1) ulaşması için gerekli su miktarıdır (%). Hamurun gelişme süresi hamur konsistensinin birinci

bölgedeki maksimum konsistense (C1) ulaşması için gerekli süredir (dak). Hamurun stabilitesi ise hamur konsistensinin 1.1 Nm'de sabit kaldığı süredir (dak). İkinci bölgede hamur 60°C'ye kadar ısıtılmaktadır. Hamur sıcaklığının artması ve yoğurmanın da etkisiyle hamur konsistensi C2 değerine düşmektedir. Bu düşüş protein zayıflaması ile ilişkilendirilmektedir. C2 değeri ne kadar düşüğe yani C1-C2 farkı ne kadar fazla ise un kalitesi de o kadar düşüktür. Üçüncü bölgede hamur sıcaklığı 90°C'ye kadar arttırılmaktadır. Bu bölgede nişasta jelatinize olmakta ve hamur konsistensi artmaktadır (C3). Dördüncü bölgede sıcaklık 90°C'de sabit tutulmaktadır. Burada konsistensin C3'ten C4'e düşmesi nişasta jelinin ısıtılma sırasındaki stabilitesi hakkında fikir verir ve unun amilaz aktivitesi ile de ilişkilendirilmektedir. Beşinci ve son bölümde ise sıcaklık 90°C'den 50°C'ye düşürülmektedir. Sıcaklıktaki düşüşle birlikte hamur konsistensi C5'e yükselmektedir. Konsistensin C4'ten C5'e yükselmesi hamurun soğutulması ile birlikte nişastada meydana gelen retrogradasyon ile ilişkilendirilmektedir (Kahraman et al., 2008; Öztürk et al., 2008; Köksel et al., 2009; Dubat, 2010).

Nişastanın jelatinizasyonunun incelenmesinde kullanılan başka bir cihaz da mikrokalorimetredir (DSC: Differential Scanning Calorimetry). DSC, bir sisteme ısı akışını sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçer. Nişasta fazla suda ısıtıldığında keskin bir DSC piki verir. Pikin başlama noktası, nişastanın çift kırınım özelliğinin kaybolmaya başladığı noktaya karşılık gelmektedir. Grafik altındaki alan düzenli bir halden düzensiz bir hale geçmek için gerekli olan enerjinin (entalpi) bir ölçüsüdür (Köksel, 2005).

2.3. Nişasta Modifikasyonu

Nişasta jel oluşturma, kıvam verme, su tutma gibi birçok özelliği nedeniyle gıda sanayinde kullanılmaktadır. Ancak karıştırma ile viskozitesinin azalma eğilimi, termal direncin düşük ve retrogradasyon eğiliminin yüksek olması gibi özellikleri nedeniyle endüstriyel gıda uygulamalarındaki kullanımlarında bazı sınırlamalar vardır. Doğal nişasta, bazı modifikasyonlar ile fiziksel ve kimyasal özellikleri değiştirilerek spesifik gıda uygulamalarında kullanıma uygun hale getirilebilmektedir. Modifikasyon ile nişastanın özellikleri tamamen kaybolmamakta

belirli ölçüde korunmaktadır. Nişasta modifikasyonu temel olarak fiziksel modifikasyon (ısı-nem uygulaması, prejelatinizasyon, vb.), parçalama (asit-enzim hidrolizi ve oksidasyon gibi işlemler sonucu dekompozisyon) ve kimyasal modifikasyon (eterleştirme, esterleştirme, çapraz bağlama, vb.) olarak 3 ana başlık altında toplanabilir (Singh et al., 2007). Kimyasal modifikasyon, nişasta molekülüne yeni fonksiyonel grupların eklenmesi (türevlendirme-sübsitüsyon) ile gerçekleştirilmektedir. Gıdalarda kullanılan nişastalar, özellikle çiriş konsistensini, pürüzsüzlüğünü ve berraklığını arttırmak, donma-çözünme ve soğukta depolama stabilitesi kazandırmak amacıyla kimyasal olarak modifiye edilmektedirler (Wu and Seib, 1990; Shi and BeMiller, 2000; Singh et al 2007). Çapraz bağlama ise en yaygın olarak kullanılan kimyasal modifikasyon türüdür. Bu tez kapsamında nişasta çapraz bağlama yöntemi ile modifiye edildiği için çapraz bağlı nişastalarla ilgili daha detaylı bilgi verilecektir.

2.3.1. Çapraz bağlı nişastalar

Amerika Birleşik Devletleri Code of Federal Regulations (CFR)'a göre çapraz bağlı nişastalar, "modifiye gıda nişastaları" sınıfına girmekte ve kimyasal olarak "fosfatlanmış dinişasta fosfat" olarak tanımlanmaktadır. CFR tarafından gıdalarda kullanımına izin verilen çapraz bağlama ajanları; monosodyum ortofosfat (SOP), sodyum trimetafosfat (STMP), sodyum tripolifosfat (STTP) ve fosfor oksiklorittir (POCl_3) (CFR, 2001). Son yıllarda birçok çalışmada çapraz bağlı nişastaların enzimatik hidrolize karşı direnç gösterdiği belirlenmiş ve bu özelliklerinden dolayı bu nişastaların yeni bir besinsel lif kaynağı olabileceği belirtmiştir (Brown et al, 1995; Wepner et al., 1999; Woo and Seib, 2002; Chung et al., 2004). Çapraz bağlama genellikle granüler nişastanın, nişasta moleküllerindeki hidroksil grupları arasında bağ yapabilme kapasitesine sahip ajanlarla muamele edilmesi ile gerçekleştirilmektedir (Singh et al., 2007).

CFR'ye göre çapraz bağlı nişastaların gıdalarda kullanım miktarları ile ilgili bir sınırlandırma söz konusu değildir ve güvenilir bir şekilde gıdalarda kullanılabilir. Ancak CFR, STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastalardaki fosfor içeriği ile ilgili bir kısıtlama getirmiştir. Çapraz bağlı nişastanın fosfor içeriği STMP

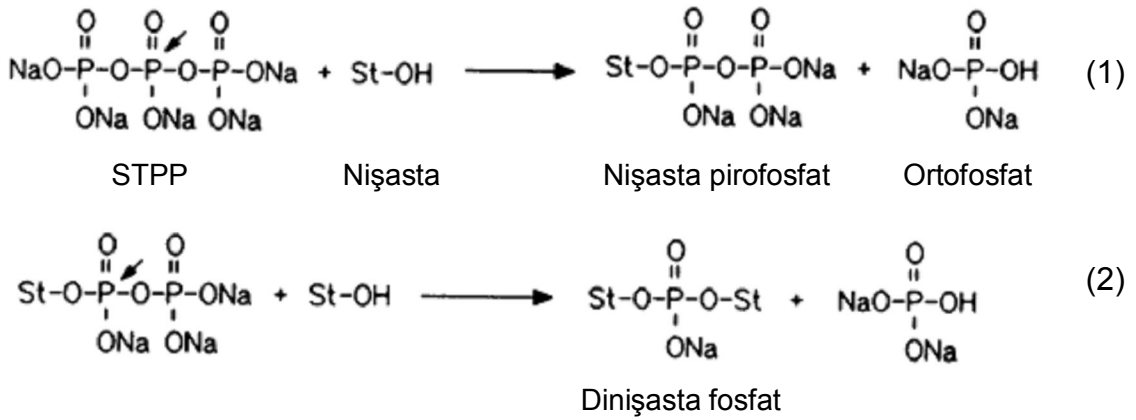
kullanıldığında %0.04'ü geçmemelidir, ancak STMP:STPP karışımı kullanıldığında izin verilen fosfor oranı (%0.4) 10 kat fazladır (CFR, 2001). ABD Ulusal Bilimler Akademisi Tıp Enstitüsü'ne (IOM: The Institute of Medicine of the National Academy of Sciences in the United States) göre insanlarda yüksek miktarda gıda kaynaklı fosfor (fosfat) tüketiminin olumsuz bir etkisi yoktur (IOM, 1997). IOM 9-70 yaş arası kişilerin güvenli bir şekilde günde maksimum 4 g, 1-8 yaş arası çocuklar ile 70 yaş üstü kişilerin ise güvenli bir şekilde günde maksimum 3 g fosfor tüketilebileceğini belirtmişlerdir. Yukarıda da belirtildiği gibi 100 g STMP:STPP karışımı kullanılarak fosforilasyon uygulanmış çapraz bağlı nişastalarda izin verilen maksimum fosfor oranı 0.4 g'dır. Bu nişastadan günde 50 gr tüketmek bile IOM'un belirttiği güvenilir fosfor miktarının çok altındadır. Bunun yanı sıra FAO/WHO Gıda Katkıları Birleşik Uzmanlar Komitesi (The Joint Expert Committee on Food Additives of the FAO/WHO) fosfatlanmış nişastada fosfatları için ADI (Accepted daily intake; Günlük kabul edilebilir alım miktarı) değeri belirtmeksizin gıdalarda kullanımlarının uygun olduğunu belirtmişlerdir (Woo et al., 2009).

Çapraz bağlanmış nişastaların çirişleri uzun pişirme süresi, artan asitlik veya aşırı karıştırma sonucunda daha az bozulmaktadırlar. Pişirme sırasında granül parçalanması ve viskozite düşüşü azaldığı için çapraz bağlı nişastalar özellikle konserve ürünlerde tercih edilmektedir (Hirsch and Kokini, 2002). Çapraz bağlı nişastalar doğal hallerine göre daha düşük çözünürlüğe sahiptirler ve çapraz bağlama ajanının konsantrasyonunun artmasıyla çözünürlük daha da azalmaktadır (Kaur et al., 2005). Çapraz bağlı nişastaların jelatinizasyon sıcaklığı ve soğutma ile katılma değeri artmakta, jelatinizasyon entalpisi azalmaktadır (Zheng et al., 1999; Woo and Seib, 2002).

Nişastanın çapraz bağlama sonucunda kazandığı kimyasal ve fonksiyonel özellikler, nişasta kaynağı, reaksiyon koşulları (reaktant konsantrasyonu, reaksiyon süresi, pH ve katalizör varlığı), süstitüent tipi, süstitüsyon derecesi gibi faktörlere bağlıdır (Lim and Seib, 1993; Hirsch and Kokini, 2002; Wang and Wang, 2002; Singh et al., 2007). Genel olarak çapraz bağlama ve fosforilasyon için gerekli koşullar farklıdır. Çapraz bağlanma fosfor oksiklorit, epiklorohidrin ve STMP

içeren sodyum hidroksit veya sodyum karbonatlı bazik ortamda oda sıcaklığında gerçekleşirken, fosforilasyon nişasta ve STPP karışımının kuru ortamda nötral pH'da yüksek sıcaklıkta (120-170°C) muamele edilmesiyle gerçekleşmektedir (Deetae et al., 2008). Lim ve Seib (1993) çapraz bağlanmanın STMP kullanıldığında pH 8'in, STPP kullanıldığında ise pH 10'un üzerinde hızlandığını belirtmiştir.

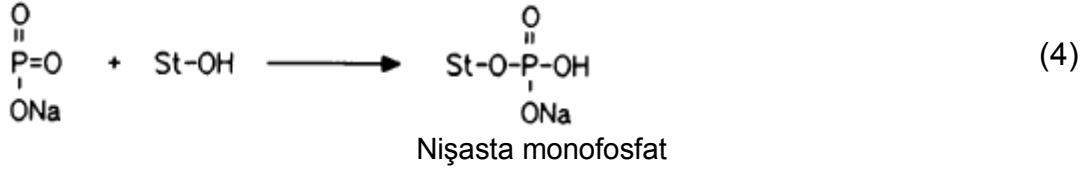
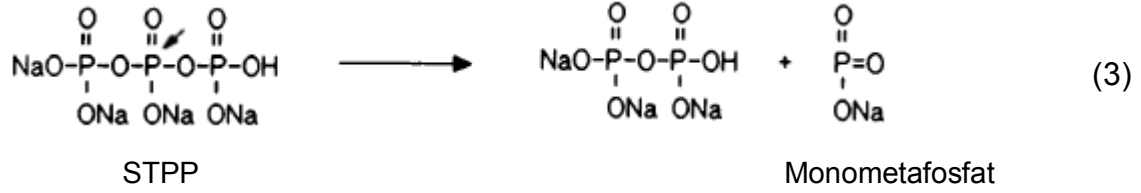
Lim ve Seib (1993) nişastanın STPP ve STMP ile farklı pH'larda fosforilasyonu ile ilgili çeşitli mekanizmalar ileri sürmüştür (Şekil 2.3-2.7). Tripolifosfat (TPP) iyonize olabilen beş hidrojene sahiptir. pH>10 iken tüm asidik bölgeler negatif yüklü hale gelir. Yüksek sıcaklıkta çok az iyonize olan nişasta hidroksilleri tamamen iyonlaşmış hidroksil taşıyan uçlardaki fosfatlar yerine sadece bir iyonize hidroksil taşıyan ortadaki fosfata etki eder (Şekil 2.3, Reaksiyon 1). Bu reaksiyon sonucunda 1 adet nişasta pirofosfat ve 1 adet ortofosfat oluşur. Daha sonra nişasta pirofosfat diğer bir nişasta hidroksil grubu ile reaksiyona girerek dinişasta fosfat oluşturur (Şekil 2.3, Reaksiyon 2).



Şekil 2.3. Nişastanın pH>10'da STPP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma (Oklar nişasta hidroksilinin etki ettiği fosforu göstermektedir)

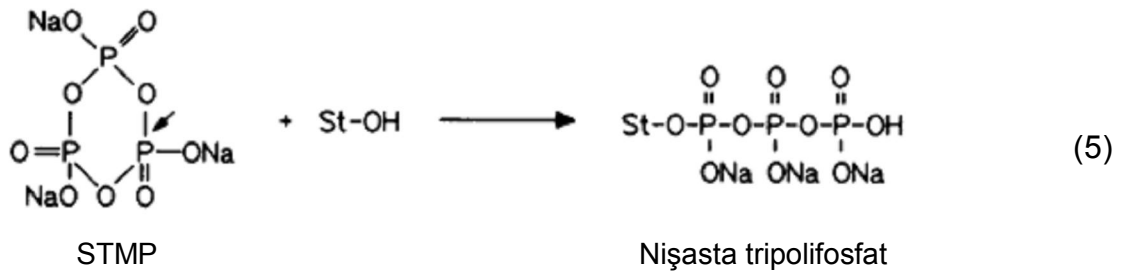
pH<9 iken tripolifosfatın dıştaki fosfat grubu/grupları protonlanarak monometafosfat oluşturur (Şekil 2.4, Reaksiyon 3). Daha sonra monometafosfat hızla nişasta hidroksilleri ile reaksiyona girerek mononişasta fosfat oluştururlar (Şekil 2.4, Reaksiyon 4). Bu durum STPP'nin pH 9'un altında daha az çapraz

bağlanma gerçekleştirdiğini göstermektedir.



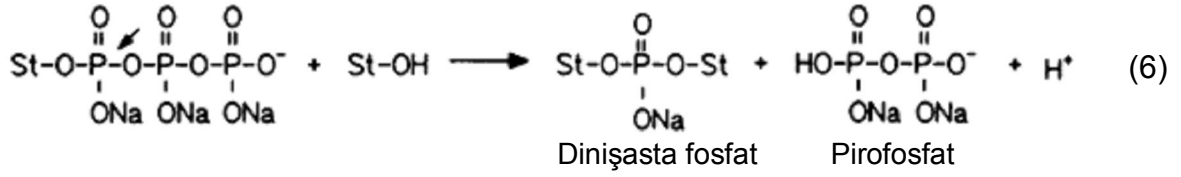
Şekil 2.4. Nişastanın pH<9'da STPP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma (Ok nişasta hidroksilinin etki ettiği fosforu göstermektedir)

STMP ve nişasta arasında gerçekleşen ilk reaksiyonda STMP'nin halkalı yapısı açılarak nişasta tripolifosfat oluşmaktadır (Şekil 2.5, Reaksiyon 5).



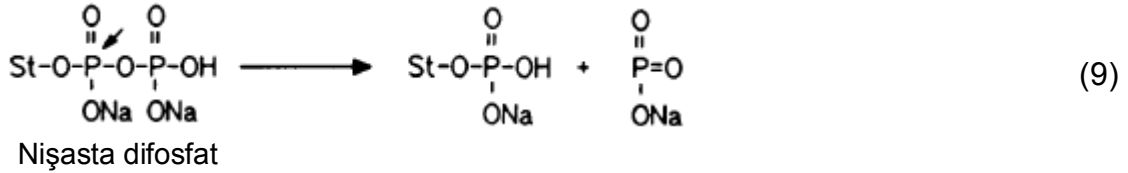
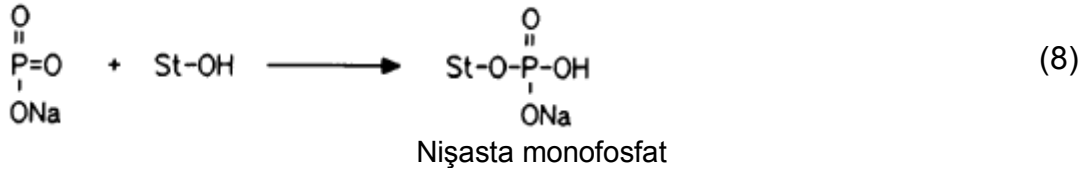
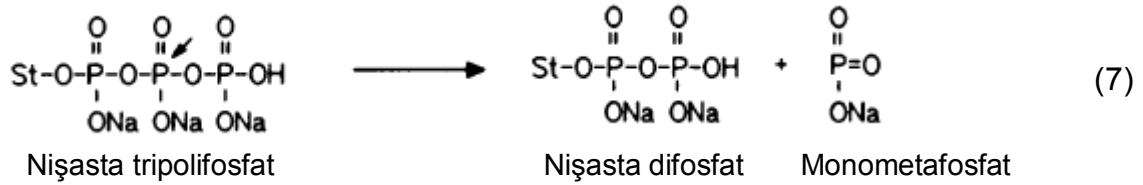
Şekil 2.5. STMP ve nişasta arasında gerçekleşen ilk reaksiyon (Ok nişasta hidroksilinin etki ettiği fosforu göstermektedir)

Nişasta tripolifosfat ATP'nin yapısına benzer bir yapıdadır. Alkali koşullarda ATP pirofosfat ve adenozin monofosfata hidrolize olmaktadır. Benzer şekilde pH>8 olduğunda nişasta, nişasta tripolifosfat ile α-fosfat bağından reaksiyona girerek dinişasta fosfat (çapraz bağlama) ve pirofosfat oluşturmaktadır (Şekil 2.6, Reaksiyon 6).



Şekil 2.6. Nişastanın pH>8'de STMP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma (Ok nişasta hidroksilinin etki ettiği fosforu göstermektedir)

Asidik pH'da ATP uçtaki fosfat grubundan hidroliz olmaktadır. Benzer şekilde pH<7'de nişasta tripolifosfatın uç kısmındaki fosfat grubu reaksiyona girerek monometafosfat ve nişasta difosfat oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 2.7, Reaksiyon 7). Monometafosfat nişasta ile reaksiyona girerek nişasta monofosfat oluşturmaktadır (Şekil 2.7, Reaksiyon 8). Nişasta difosfat da aynı reaksiyon ile nişasta monofosfat oluşmaktadır (Şekil 2.7, Reaksiyon 9).



Şekil 2.7. Nişastanın pH<7'de STMP ile fosforilasyonu için önerilen mekanizma (Oklar nişasta hidroksilinin etki ettiği fosforu göstermektedir)

2.4. Enzime Dirençli Nişasta

Enzime dirençli nişasta (EDN) EURESTA (European Food-Linked Agro-Industrial Research-Concerted Action on Resistant Starch) tarafından "sağlıklı bireylerin ince bağırsağında sindirilemeyen nişasta ve nişasta parçalanma ürünleridir"

şeklinde tanımlanmaktadır (Jiang and Liu, 2002).

Enzime dirençli nişasta 4 grup altında toplanmaktadır:

- Tip1 EDN; sindirilemeyen bir matriks içinde tutuklu halde bulunan nişasta (örnek; kısmen öğütülmüş taneler, baklagil nişastaları)
- Tip2 EDN; granül formdaki jelatinize olmamış nişasta (örnek; yeşil muz, çiğ patates ve yüksek amiloz içeren nişasta)
- Tip3 EDN; retrograde nişasta (örnek: kahvaltılık hububat ürünleri, pişirilip soğutulmuş patates, ekmeç)
- Tip4 EDN; kimyasal olarak modifiye edilmiş nişasta (örnek: asetat nişastaları, fosfat nişastaları, sitrat nişastaları ve çapraz bağlı nişastalar)

Son yıllarda bu dört EDN tipinden başka EDN tiplerinden de bahsedilmektedir. Bunlardan bazıları dirençli dekstrinler olarak da adlandırılan çözüdür polisakkaritlerdir (Hasjim, 2009; Mermelstein, 2009). Frohberg ve Quanz (2008) suda çözünmeyen lineer polialfa-1,4-glukanların da yeni bir EDN tipi olarak sınıflandırılabilereğinden bahsetmiştir. Diğer taraftan Hasjim et al. (2010) ve Jiang et al. (2010) da yüksek amilozlu nişastadan üretilen amiloz-lipid kompleksi içeren nişastaları yeni bir EDN tipi olarak tanımlamışlardır.

2.4.1. Enzime dirençli nişasta oluşturma yöntemleri

Tahıllarda, sebze ve meyvelerde ve işlenmiş gıdalarda farklı miktarlarda EDN bulunmaktadır. Ancak gıdalardaki EDN miktarı genellikle düşüktür ve gıdalara uygulanan işlemler ile gıdanın yapısında bulunan Tip1 EDN ve Tip2 EDN'nin sindirilebilirliği artmaktadır (Vasanthan and Bhattı, 1998). Gıdalara uygulanan bazı işlemler ile EDN miktarı arttırılabilir. Genel olarak EDN, ısı işlemler, asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısı işlem uygulaması, ısıtma soğutma döngüleri, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemlerle oluşturulmaktadır (Charalampopoulos et al., 2002; Sajilata et al., 2006).

Genel olarak Tip3 EDN oluşturmak için nişasta önce jelatinize daha sonra retrograde edilmelidir (Escarpa et al., 1997). Granüler yapı aşırı su varlığında ısıtma ile jelatinizasyon sonucu dağılmakta (Farhat et al., 2001); yapıdan ayrılan nişasta moleküllerinin retrogradasyonu ile yeniden kristalizasyon gerçekleşmektedir (Escarpa et al., 1997; Tovar et al., 2002). Çeşitli araştırmalarda Tip3 EDN oluşturmak için retrogradasyon öncesi jelatinizasyonu sağlamak amacıyla 110–148°C sıcaklık aralığında ve 30–60 dakika süreyle ısıtma işlemi uygulanmıştır (Berry, 1986; Björk et al., 1987; Russell et al., 1988; Sievert and Pomeranz, 1989; Sievert and Wursch, 1993). Garcia-Alonso et al. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, patates nişastasına 120°C'de 20 dakika ısıtma işlemi uygulanarak nişasta jelatinize edilmiş ve ardından –20°C'de 16 saat dondurulup, 60°C'de kurutulmuştur. Bu örneğin AACCI 32-40 yöntemine (AACCI, 2000) göre belirlenen EDN içeriğinin %21.2 olduğu bildirilmiştir. Brumovsky ve Thompson (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek amiloz içeren mısır nişastasında ısıtma işlemi uygulaması ile kısmi asit hidrolizinin EDN oluşumunu arttırdığı gözlemlenmiştir.

Muz nişastası ile yapılan bir çalışmada, nişasta önce kaynar su banyosunda 10 dakika jelatinize edilip 121°C'de 30 dakika otoklavlandıktan sonra pullulanaz enzimi ile muamele edilmiştir (24 saat, 50°C). Daha sonra nişasta 121°C'de 30 dakika otoklavlanmış ve farklı sıcaklık (4-60°C) ve süre (24-48) aralıklarında bekletilmiştir. Doğal muz nişastasının AACCI 32-40 yöntemine (AACCI, 2000) göre belirlenen EDN içeriği %9 iken, pullulanaz enzimi ile muamele sonrası otoklavlanan ve 32°C'de 36 saat bekletilip kurutulan örneğin EDN içeriği %35'e yükselmiştir (Gonzales-Soto et al., 2007).

Yüksek amiloz içeren nişasta %30-40 nem içeriğinde 90-120°C'de 1-4 saat tutularak EDN miktarı artırılmıştır (Brumovsky and Thompson, 2001). Öztürk et al. (2009a) pullulanaz enzimi kullanarak Hylon V ve VII'teki dallanma noktalarının kırılması, ısıtma işlemi ve çeşitli depolama ve kurutma işlemlerinin EDN oluşumu üzerine etkisini incelemiştir. AACCI 32-40 yöntemine (AACCI, 2000) göre belirlenen en yüksek EDN içeriği (%57.8) Hylon VII örneği kullanılarak önce 48

saat enzim hidrolizine tabi tutulup sonrasında 9 otoklavlama (133°C)-bekletme (95°C) döngüsü uygulanan ve etüvde kurutulan örnekte elde edilmiştir. Öztürk et al. (2011) bir başka çalışmasında asit hidrolizi sonrasında 3 otoklavlama (133°C) - bekletme (4°C veya 95°C) döngüsü ve kurutma işleminden geçen Hylon V ve VII örneklerinin EDN içeriklerini incelemiştir. AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yöntemine göre belirlenen en yüksek EDN içeriği (%39.5) 1 saat asit hidrolizi sonrasında 133°C'de 30 dakika otoklavlanan ve 4°C'de bekletildikten sonra kurutulan örneğe aittir.

Kimyasal yöntemlerle EDN (Tip4 EDN) oluşumunda ise, nişasta bir takım kimyasal maddelerle çapraz bağ oluşturularak modifiye edilmektedir. Bu şekilde modifiye edilmiş nişastaların yapısında bulunan sübstituentler sindirim enzimlerinin yapıya girmesini engellemekte ve yakınlarında bulunan çapraz bağları sindirim enzimlerine karşı dirençli hale getirmektedir (Xie and Liu, 2004).

Nişastanın sindirimindeki en büyük değişiklik Woo ve Seib (2002)'in belirttiği gibi çapraz bağlanma sonucunda gerçekleşmiştir. Bu çalışmada sodium trimetafosfat (STMP) ile 130°C'de 2 saat muamele edilen buğday ve mısır nişastalarının AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içerikleri sırasıyla %75.7 ve %57.8'e çıkmıştır. Üretilen çapraz bağlı nişastalar dimetilsülfoksitte (DMSO) çözünmemiş ve amilografta 0 çizgisine yakın bir viskozite eğrisi vermiştir. Woo ve Seib (2002), alkali pH'da STMP'nin STPP'ye göre daha etkili bir fosforilasyon ajanı olduğunu belirtmişlerdir. Çizelge 2.1'den de görüleceği üzere STMP miktarının artırılması, çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin fosfor ve EDN miktarlarında artışa neden olmuştur. Woo ve Seib (2002) STMP:STPP oranının 1:99 olduğu reaksiyon sonucu üretilen örneğin AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriğinin <%1, fosfor miktarının %0.03 olduğunu belirtmiştir. STMP:STPP oranının 99:1 olduğu reaksiyonda ise EDN miktarı %75.7, fosfor miktarı %0.32 olarak belirlenmiştir. Sadece STMP kullanıldığında (STMP:STPP oranı 100:0) da EDN miktarı yüksek bulunmuştur (%75.7), bu örneğin fosfor miktarı ise %0.32 olarak belirlenmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi CFR'ye göre çapraz bağlı

nişastalardaki fosfor içeriği STMP kullanıldığında %0.04'ü geçmemelidir, ancak STMP:STPP karışımı kullanıldığında izin verilen fosfor oranı (%0.4) 10 kat fazladır (CFR, 2001). Sadece STMP kullanıldığında üretilen örneğin fosfor içeriği (%0.32) izin verilen miktardan (%0.04) oldukça yüksek bulunmuştur. Bu nedenle Woo ve Seib (2002) STMP'nin tek başına kullanılması yerine STPP ile karıştırılarak kullanılmasının daha doğru olacağını belirtmiştir.

Çizelge 2.1. Buğday nişastasından farklı oranlarda STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların fosfor ve EDN içerikleri^{1, 2, 3}

STMP:STPP (w:w)	Fosfor (%)	EDN (%)
1:99	0.03	<1.0
25:75	0.13	21.6
50:50	0.21	56.6
75:25	0.29	63.7
99:1	0.32	75.6
100:0	0.32	75.7

¹Woo ve Seib, 2002

²Örnekler pH 11.5'de 45°C'de 3 saat reaksiyona tabi tutulmuştur.

³EDN analizi AOAC 991.43 toplam besinsel lif tayini metoduna göre yapılmıştır (AOAC, 1998)

Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda üretilen çapraz bağlı buğday, mısır, patates ve pirinç nişastalarının AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %75.7, %57.8, %72.8 ve %5.4 olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada reaksiyon süresinin EDN içeriğine etkisi de incelenmiştir. STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin EDN içeriklerinin reaksiyon süresinin artmasıyla artış gösterdiği belirtilmiştir. Bu koşullarda reaksiyon süresinin 1, 2, 5 ve 7 saat şeklinde artırılması sonucunda örneklerin AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içerikleri sırasıyla %14.0, %52.7, %76.0 ve %93.4 olarak artış göstermiştir.

Yeo ve Seib (2009) nişastanın %12'si oranında STMP:STPP (99:1) karışımı ile 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna göre belirlenen EDN içeriği %80 (AOAC, 1998) olan çapraz bağlı buğday nişastası üretmişlerdir. Üretilen bu nişastanın sıcak suda şişme

derecesinin ve çözünürlük değerlerinin doğal haldeki nişastaya göre oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.

Shin et al. (2004) nişastanın %12'si oranında STMP:STPP (99:1) karışımı ile 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon ile patates, buğday, mısır ve yüksek amiloz içeren mısır nişastalarından çapraz bağlı nişasta elde etmişlerdir. Bu nişastaların AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içerikleri sırasıyla %99.6, %72.9, %52.2, %51.2'dir. Çapraz bağlama uygulanan pirinç nişastasının EDN içeriği ise oldukça düşük bulunmuştur (%9.4).

Bir çalışmada mısır nişastası farklı miktarlarda (%4, %8, %12) STMP:STPP (99:1) karışımı ile pH 11 ve 45°C'de 3 saat reaksiyona tabi tutulmuştur. Örneklerin AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen enzime dirençli nişasta miktarları kullanılan çapraz bağlama ajanının artmasıyla artış göstermiştir. Doğal buğday nişastasının EDN miktarı %0.4 iken, %4, %8 ve %12 oranında STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin EDN miktarları sırasıyla %24.5, %60.0 ve %81.6 olarak bulunmuştur (Chung et al., 2004).

Bir çalışmada, sitrik asit ile 140°C'de 7 saat muamele edilen normal ve yüksek amilozlu mısır nişastaları ile mumsu mısır nişastasında AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yöntemine göre belirlenen EDN içerikleri sırasıyla %78.8, %86.4 ve %87.5 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, normal mısır nişastası örneklerinde, reaksiyon süresi 7 saat olduğunda, reaksiyon sıcaklığının 120°C'den 140°C'ye artırılması örneklerin EDN içeriklerini %37.8'den %78.8'e arttırmıştır. Normal mısır nişastası örneklerinde, reaksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda, reaksiyon süresinin 3 saatten 7 saate artırılması örneklerin EDN içeriklerini %41.1'den %78.8'e arttırmıştır. Üretilen bu sitrat nişastalarının RVA analizi sırasında viskozite oluşturmadığı, DSC analizinde ise normal nişastaya göre daha küçük pik verdiği gözlenmiştir (Xie and Liu, 2004). Başka bir çalışmada, sitrik asit ile 140°C'de 5 saat muamele edilen bezelye, mısır, patates ve buğday nişastalarında AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yöntemine göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %45.9,

%50.8, %50.2 ve %57.5 olduğu belirtilmiştir (Wepner et al., 1999).

Hasjim et al. (2010) yeni bir EDN tipi olarak kabul edilebilecek amiloz-lipid kompleksi içeren modifiye nişasta üretmiştir. Bu çalışmada yüksek amilozlu mısır nişastasını öncelikle ısı işleme tabi tutulup izoamilaz enzimi ile dallanma noktaları kırılmıştır ve palmitik asit ile kompleks oluşturulmuştur. Bu örneğin AOAC Method 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriğinin %52.7 olduğu bildirilmiştir.

Dirençli dekstrinler olarak adlandırılan ve yapılarında α -1,4 ve α -1,6 bağlarının yanı sıra α - ve β -1,2, 1,3 ve 1,4 bağları bulunan nişasta türevleri de amilaz enzimleri tarafından parçalanmamakta ve yeni EDN tipleri olarak ifade edilmektedir. Bu dekstrinlerin oluşturulması için nişasta kuru formda çok yüksek sıcaklıkta (200°C) asit varlığında ya da tek başına ısıtılmaktadır (pyroconversion) (Brimhall, 1944; Thompson and Wolfrom, 1958; Ohkuma et al., 1994; 1995; Wang et al., 2001; Hasjim, 2009). Başlangıçta nişasta, içeriğindeki nem kaybolana kadar hidrolize olmakta, su molekülleri azaldığında ise (hidroliz işlemi tersine dönerek) transglükolizasyon ve repolimerizasyon gerçekleşmektedir. Bu esnada yeni α - ve β -1,2, 1,3 ve 1,4 bağları oluşmakta ve nişasta gelişigüzel bir biçimde dallanmaktadır (Thompson and Wolfrom, 1958; Wang et al., 2001; Roturier and Looten, 2006). Bu tip bir ticari EDN olan "Fibersol 2" B&D Nutritional Ingredients (ABD) firması tarafından geliştirilmiş olup, AOAC 2001.03 (AOAC, 2006) yöntemine göre %90 oranında besinsel lif içeren çözünür bir EDN kaynağıdır. Diğer bir ticari çözünür polisakkarit EDN kaynağı olan "Nutriose" ise Roquette (Fransa) ve National Starch (ABD) tarafından geliştirilmiştir. Mısır ve buğday nişastalarından üretilen 2 farklı tipi bulunmaktadır (Mısır-Nutriose FM 06; Buğday-Nutriose FB 06). Her ikisi de AOAC 2001.03 (AOAC, 2006) yöntemine göre %85 oranında besinsel lif içermektedir. Fibersol ve Nutriose suda çözüldüklerinde berrak çözelti oluşturmakta, ürüne herhangi bir koku ve aroma vermemektedirler. Düşük viskoziteli olmaları nedeniyle üründe ağız hissi ve diğer duyuşsal özellikleri değiştirici bir etki yaratmamaktadırlar. Donma çözünme stabilitesi de oldukça iyi olan bu EDN kaynakları, suda çözünür özellikte olmaları nedeniyle özellikle

İçeceklerde kullanılmaktadırlar. Ayrıca asit ve ısıya dayanıklı özelliktedirler. Bu nedenle asitliği yüksek, sıcak doldurulan, aseptik içeceklerde, sos, pudding, süt ve sporcu içeceklerinde kullanılmaktadırlar (Rotuier and Looten, 2006; <http://www.bndni.com/fibersol-2.html>).

2.4.2. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri

Normal nişasta gibi sindirilememesi nedeniyle EDN'nin sağlık üzerine bazı yararları bulunmakta ve benzer fizyolojik etkileri nedeniyle besinsel lif olarak sınıflandırılmaktadır. EDN, çözünmeyen lif sınıfına girmekte ancak çözünür lifler gibi fizyolojik faydaları bulunmaktadır (Haralampu, 2000). EDN'nin başlıca fizyolojik yararları bağırsak kanserini önleme, kan glukoz ve kolesterol seviyelerini düşürme, prebiyotik etki, kilo kontrolü ve safra taşı oluşumunu azaltma, mineral absorpsiyonunu artırma olarak sıralanabilmektedir.

2.4.2.1. Bağırsak kanserini önleme

Farelerle yapılan çalışmalar EDN'nin ince bağırsaktan sindirilmediğini, ancak kalın bağırsakta fermente edildiğini göstermektedir (Gee et al., 1991; Ranhotra et al., 1991). EDN kolon mikroflorası için substrat konumundadır ve bu mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek başta bütirat olmak üzere asetat, propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır (Ferguson et al., 2000; Haralampu, 2000; Charalampopoulos et al., 2002; Annison et al., 2003; Henningsson et al., 2003; Sajilata et al., 2006; Sharma et al., 2008).

Birçok araştırmada kısa zincirli yağ asitlerinin özellikle de bütiratın bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir. Bütirat kalın bağırsak epitel hücrelerinin temel enerji kaynağıdır ve bu hücrelerin kötü huylu hücrelere dönüşümünü engellemektedir (Brown et al., 2001; Topping and Clifton, 2001). Diğer taraftan fermentasyonu sonucunda ortaya çıkan kısa zincirli yağ asitleri kolon pH'sını 1-2 birim düşürmektedir. Kolonun asidik pH'sı ise pH'ya duyarlı toksik bakterilerin çoğalmasını engellemektedir (Sang et al., 2007). Bingham et al. (2003) düşük ve orta düzeyde besinsel lif tüketen toplumlarda, besinsel lif miktarını iki katına çıkarmanın bağırsak kanseri oluşma riskini %40 azalttığını belirtmiştir.

EDN ile beslenen domuz ve farelerde kolon pH'sında önemli bir azalma olduğu ve yüksek miktarda kısa zincirli yağ asidi olduğu belirlenmiştir (Ferguson et al., 2000; Henningson et al., 2003; Thranathan and Mahadevamma, 2003). Farelerle yapılan diğer bir çalışmada da ısıtma işlemiyle stabilize edilen EDN'ce zengin kavuzsuz arpa (Himalaya 292) tüketiminin dışkıdaki kısa zincirli yağ asidi miktarını arttırdığı belirlenmiştir (Bird et al., 2004). Bir başka çalışmada EDN ve buğday kepeği gibi çözünmeyen liflerin birlikte tüketimi sonucunda ortaya fazla miktarda bütirat çıktığı belirlenmiştir (Leu et al., 2002).

2.4.2.2. Hipoglisemik etki

EDN ince bağırsakta sindirilemediği için gıdanın glisemik indeksini azaltmaktadır (Fredriksson et al., 2000; Shamaı et al., 2003). Bu nedenle diyabetli hastaların diyetlerinde kullanılabilir. Pişirilmiş normal nişasta hemen sindirilirken EDN'nin metabolize edilmesi için 5-7 saat gerekmektedir. Bu nedenle EDN, insülin seviyesinde azalma ve tokluk hissinde artış sağlamaktadır (Raben et al., 1994; Reader et al., 1997).

Bir çalışmada, sağlıklı fareler 50 g normal nişasta ya da 50 g EDN içeren (%54) nişasta ile beslenmişlerdir. Yüksek miktarda EDN ile beslenme sonucunda kandaki glukoz ve insülin seviyelerinde önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir (Raben et al., 1994). Raben et al. (1997) bir başka çalışmada da asetillenme ile modifiye edilen nişastanın tokluk hissinin arttırdığını, kan glukoz ve insülin seviyesini ise azalttığını belirtmiştir. Ayrıca Tip3 EDN tüketiminin serum glukoz ve insülin seviyelerinde azalmaya neden olduğunu ve bu nedenle tip 2 diyabetlerde metabolik kontrolün sağlanmasında rol oynayabileceği belirtilmiştir.

Sajilata et al. (2006) Tip3 EDN içeren çikolata barın yemek sonrası glukoz seviyesini düşürdüğünü belirtmiştir. Başka bir çalışmada da ticari bir Tip3 EDN olan CrystaLean tüketen kişilerin glukoz seviyelerinin diğer karbonhidratları (basit şeker, oligosakkarit ve normal nişasta) tüketenlerinkinden önemli derecede düşük olduğu belirtilmiştir (Truwell, 1992). Al-Tamimi et al. (2010) tarafından Tip4 EDN içeren bar üretilmiştir. EDN içeren bar tüketen bireylerde kan glukoz ve insülin

seviyelerinin, patlamış buğday içeren nutrition bar tüketenlere göre daha az artış gösterdiğini belirtmiştir.

2.4.2.3. Hipokolesterolemik etki

İnsan ve farelerle yapılan çeşitli çalışmalarda EDN'nin serum kolesterol ve trigliseritlerin seviyesini de azalttığı, dolayısıyla kardiyovasküler sistemi iyileştirdiği belirtilmektedir. Nugent (2005) EDN tüketimi sonrasında farelerde toplam lipid, kolesterol, trigliseritler ve tigliseritçe zengin protein seviyelerinde düşüş gözlendiğini belirtmişlerdir. Farelerle yapılan diğer çalışmalarda da EDN ile beslenme sonucunda kolesterol ve trigliserit konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir (De-Deckere et al., 1993; Hashimoto et al., 2006; Sajilata et al., 2006). Yine bir başka çalışmada da yulaf lifi ve EDN ilave edilerek ekstrüde edilen kasava nişastası ile beslenen deney farelerinde (hamster) serum kolesterol seviyesinde düşüş gözlenmiştir (Martinez-Flores et al., 2004).

2.4.2.4. Prebiyotik etki

Prebiyotikler, gastrointestinal sistemde bulunan probiyotik bakterilerin gelişimini ve/veya aktivitesini arttırarak sağlık üzerinde olumlu etki yapmalarını sağlayan sindirilemeyen gıda bileşenleridir (Roberfroid, 2000; Scholz-Ahtrens et al., 2007). EDN sindirilmeden kalın bağırsağa geçtiği için, probiyotik mikroorganizmalar için substrat olarak davranabilmekte ve sindirim sisteminde koruyucu görev yaptığı düşünülmektedir (Brown et al., 1997; Brown et al., 1998; Wang et al., 1999; Sajilata et al., 2006).

2.4.2.5. Kilo kontrolü

Bazı araştırmacılar EDN'nin yağ oksidasyonunda rol oynadığını (Nugent, 2005), tokluk hissi verdiğini (Nugent, 2005; Sharma et al., 2008) ve kilo kontrolü sağladığını (Mikusova et al., 2009) belirtmişlerdir. Higgins et al. (2004) tüketilen toplam karbonhidratın %5.4'ünün EDN ile yer değiştirmesinin, yemek sonrası lipid oksidasyonunu önemli derecede arttırdığını belirtmiştir. Bu da uzun vadede yağ depolanmasının azalması anlamına gelmektedir. Tapsell (2004)'e göre EDN'ce zengin bir öğün insülin salgısındaki azalmanın bir sonucu olarak yağ depolarının

daha fazla kullanılmasına neden olmaktadır. De Roos et al. (1995) EDN’ce zengin ekmek yiyen kişilerde beyaz ekmek yiyenlere göre 70 ila 120 dakika daha fazla doyunluk hissi görüldüğünü belirtmiştir.

2.4.2.6. Safra taşı oluşumunu azaltma

Sindirilebilir nişasta insülin artışına neden olmakta, insülin artışı da kolesterol sentezini tetiklemektedir. Yüksek kolesterol seviyesi ise vücutta safra taşı oluşumunu arttırmaktadır. EDN sindirilmediği ve insülin seviyesini arttırmadığı için safra taşı oluşumunu azalttığı belirtilmektedir (Birkett et al., 1996; Sajilata et al., 2006).

2.4.2.7. Mineral absorpsiyonu

EDN’ce zengin diyetle beslenen fare ve domuzlarda kalsiyum, magnezyum, çinko, demir ve bakır absorpsiyonunun olumlu yönde etkilendiği belirtilmiştir (Morais et al., 1996; Younes et al., 1996; Lopez et al., 2001).

2.4.3. Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları

EDN hem fizyolojik yararları hem de diğer besinsel liflerle elde edilemeyen kendilerine özgü fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda üreticilerinin oldukça ilgisini çekmektedir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011). EDN’nin sağlık üzerinde yarar sağlaması için günde en az 20 gr tüketilmesi gerekmektedir (Sajilata et al., 2006). Kadınlar ve erkekler için besinsel lif AI değerleri (AI; Adequate intake-yeterli tüketim) sırasıyla 25 g ve 38 g olarak belirtilmiştir (FAO/WHO, 2002). Ancak günlük besinsel lif tüketimi bu miktarların çok altındadır. Lif tüketiminin artırılması gıdaların besinsel liflerle zenginleştirilmesiyle mümkündür.

EDN ile ilgili pratiğe yönelik uygulamalar daha çok orta ve düşük nem içerikli gıdalar ve özellikle de kahvaltılık hububat ürünleri, ekmek ve kek gibi bazı hububat ürünlerinde gerçekleştirilmiştir. Geleneksel liflerin su absorpsiyonları oldukça yüksektir. Bu nedenle özellikle fırıncılık ürünlerinin geleneksel liflerle zenginleştirilmesi, hem formülasyon hem de proses koşullarının değiştirilmesini gerektirmektedir. Dolayısıyla kullanılacak lifin su absorpsiyonunun az olması

istenmektedir (Woo et al., 2009). EDN'nin düşük su tutma kapasitesi gibi fiziksel özellikleri, proses esnasında kolay işlenebilirlik, gevreklik, hacim artışı (expansion) ve son ürün kalitesinde artış gibi olumlu etkilere neden olmaktadır (Sajilata et al., 2006; Baixauli et al., 2008). Ekmek üretiminde kepek ve benzeri ticari lifler kullanıldığında koyu renkli ve düşük hacimli bir ürün elde edilmektedir. Besinsel lifler ile aynı fizyolojik etkiye sahip olan EDN gıdalarda ingrediyan olarak kullanıldığında besinsel liflerden farklı olarak görünüm, tekstür ve ağız hissi (mouthfeel) açısından daha iyi sonuçlar vermektedir (Charalampopoulos et al., 2002). Tüm bu özellikleri nedeniyle EDN, tüketici tarafından daha kolay kabul edilebilmekte dolayısıyla besinsel lif tüketimi de artmaktadır (Buttriss and Strokes, 2008). Ayrıca proses koşullarına daha fazla uyumlu olduğu için EDN kullanıldığında üretim koşulları ve ürün formülasyonunda daha az modifikasyon yapılmaktadır (Patil, 2004).

Bir çalışmada EDN kullanılarak üretilen keklerin pişme sonrası nem kaybı, yükseklik, hacim ve yoğunluk değerleri kontrol örneği ile aynı bulunmuştur. Pişirildikten 24 saat sonra aroma, tazelik, kumlu (grittiness) ve nemli yapı bakımından en iyi özelliklere sahip olan keklerin %40 oranında EDN içeren kekler olduğu belirtilmiştir (Sajilata et al., 2006). Baixauli et al. (2008) EDN ilavesinin muffin örneklerinde daha yumuşak bir tekstüre neden olduğunu belirtmiştir.

Sözer et al. (2007) tarafından makarna üretiminde %10 oranında ticari EDN ve kepek kullanılmış ve EDN ile üretilen makarnalarda pişme kaybı ve sertlik değerlerinin kepekli makarnaya göre daha düşük olduğu belirtilmiştir. Öztürk et al. (2009b) ekmek üretiminde %10, 20 ve 30 oranlarında ticari EDN (Hylon VII, Novelose330 ve CrystaLean) kullanımının ekmeklerin duyuşal özelliklerini (renk, gözenek, dış görünüş ve simetri) değiştirmediğini, ekmek hacimlerinin ise %20 ilave oranının üzerine çıkıldığında azaldiğını belirtmiştir. Diğer bir çalışmada %40 oranında EDN içeren ekmeklerde hacim ve hücre içi gözenek yapısı diğer ticari besinsel liflere göre daha iyi olmuştur (Baghurst et al., 1996).

Sajilata et al. (2006) EDN içeren gofret örneklerinin gevreklik, nem ve genel tekstür özellikleri bakımından kontrol ve ticari lifler kullanılarak üretilenlere göre

daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir. Wepner et al. (1999) da sitrat nişastası kullanılarak üretilen gofretler ile kontrol örneği arasında önemli bir görünüş farklı olmadığını belirtmiştir. Yağda kızartılmış ürünlerde kullanılacak olan kaplama maddesinde %20 oranında ticari EDN (Novolose330) ilavesi ile kabul edilebilir özellikte ürün üretimi gerçekleştirilmiştir (Sanz et al., 2008). EDN ekstrüde ürünlerde de olumlu etki yaratmaktadır. EDN içeren ekstrüde ürünlerin genleşme değerleri kontrol örneğinden daha fazla bulunmuştur (Sajilata et al., 2006).

Yeo ve Seib (2009) tarafından çeşitli ticari EDN'lerin (Hylon VII, Novelose, Fibersym) ekmek ve bisküvi kalitesine etkisi incelenmiştir. Fibersym (Tip4 EDN) ilave edilen unların miksograf su absorpsiyonu değerlerinde çok az değişiklik olduğu, miksograf karıştırma sürelerinin arttığı belirlenmiştir. Fibersym ilave edilen ekmek hamurları daha yapışkan olmuş, ancak ikinci havalandırma ve şekil verme sırasında yapışkanlıkta azalma gözlenmiştir. Bu çalışmada Hylon VII ve Novelose ilave edilen bisküvi hamurlarının konsistensi artarken, Fibersym ilave edilen bisküvi hamurlarının konsistensinde azalma gözlenmiştir.

Hung ve Morita (2004) ticari çapraz bağlı nişastaların (Tip4 EDN) ekmek kalitesine etkisini incelemiştir. Çapraz bağlı nişasta ilave edilen hamurun gelişme süreleri ve yumuşama dereceleri kontrol ununa göre önemli bir değişiklik göstermezken, farinograf stabiliteleri kontrol örneğine göre daha yüksek bulunmuştur. Çapraz bağlı mısır nişastası ilavesi ekmek hamurunun direnç ve ekstensibilitesini arttırmış, ekmeklerin tekstür özelliklerini geliştirmiştir.

3. MATERYAL

3.1. Ön Deneme Materyali

Ön denemelerde kullanılan yüksek amiloz içerikli mısır nişastaları (Hylon V, %55 amiloz ve Hylon VII, %70 amiloz) National Starch Chemical Co. (Bridgewater, NJ, ABD) firmasından satın alınmıştır. Normal amiloz içerikli mısır nişastası Cargill Inc. (İstanbul, Türkiye) ve buğday nişastası Çelebi Kardeşler Gıda ve İhtiyaç Mad. San ve Tic. Ltd. Şti (Ankara, Türkiye)'den alınmıştır.

3.2. Tez Materyali

Ana denemelerde kullanılan normal amiloz içerikli mısır nişastası National Starch Chemical Co. (Bridgewater, NJ, ABD) firmasından, normal amiloz içerikli buğday nişastası ise MGP Ingredients (Atchison, KS, ABD) firmasından satın alınmıştır.

4. METOT

4.1. Ön Denemelerde Kullanılan Metotlar

4.1.1. Nişastanın asit ile hidrolizi

Nişasta hidrolizatlarının hazırlanmasında Köksel et al. (2007) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Amilotip mısır nişastası (Hylon V ve Hylon VII) %6'lık HCl ile 2:3 oranında karıştırılıp 40°C'ye ayarlı etüvde 2 saat bekletilerek hidrolize edilmiştir. Hidroliz süresi sonunda pH %10'luk NaOH ile 6'ya ayarlanmıştır. Örnekler, 1000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilip sıvı kısım döküldükten sonra 2.5 katı kadar saf su ile aynı hız ve sürede 3 kez daha yıkanmış ve 40°C'ye ayarlanmış olan etüvde 1 gece kurutulmuştur. Örnekler kurutulduktan sonra öğütülerek 212 µm'lik elekten elenmiştir.

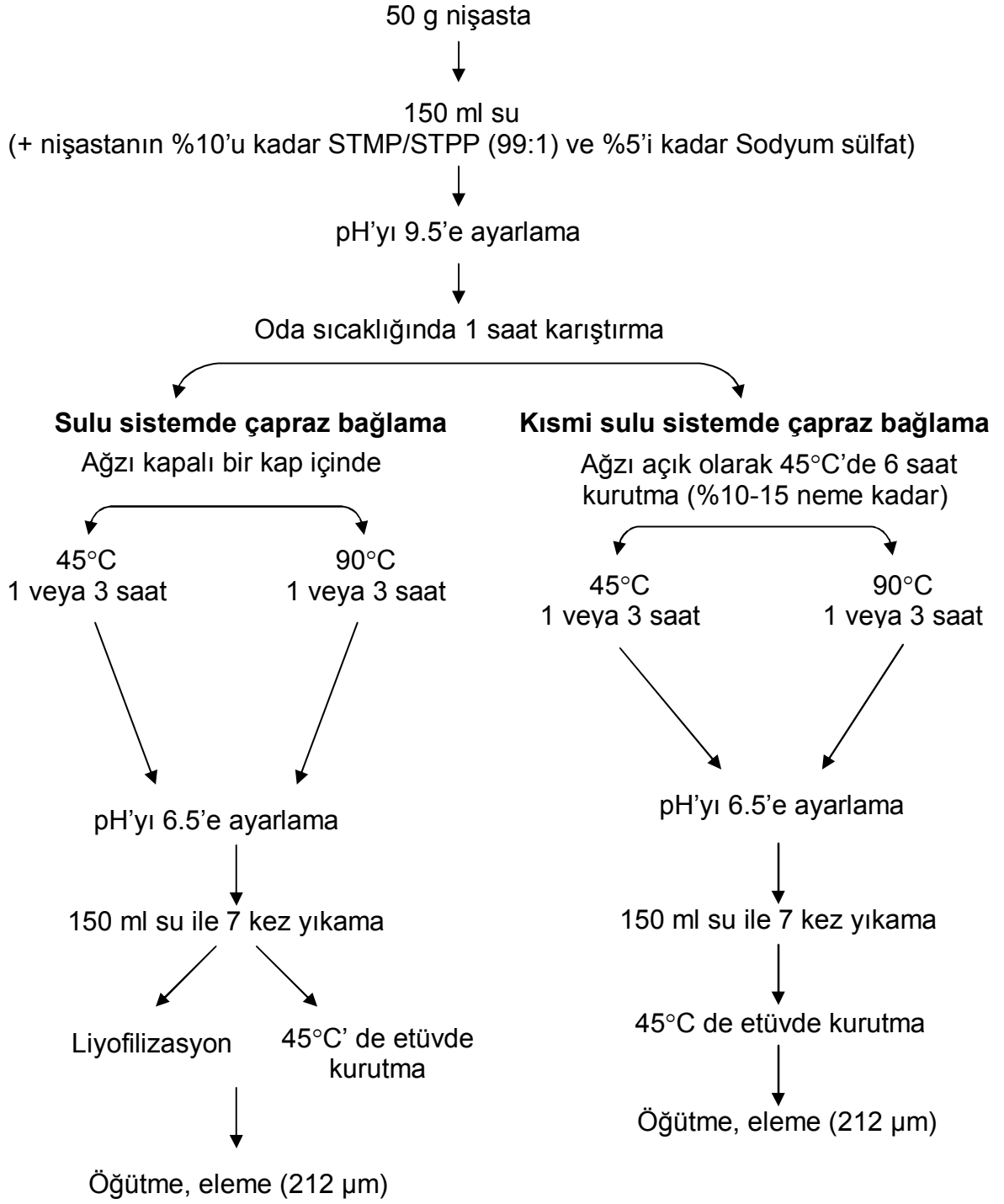
4.1.2. Nişasta jelatinizasyonu

Hylon V ve Hylon VII örnekleri (600 g) 1:10 oranında su ile karıştırılıp 30 dakika ocakta pişirildikten sonra, otoklavda 2 kez peşpeşe 135°C'de 30 dakika ısı işlem uygulanmıştır. Otoklavdan çıkan örnekler 50°C'de etüvde kurutulduktan sonra öğütülerek 212 µm'lik elekten elenmiştir.

4.1.3. Çapraz bağlı nişasta üretimi n denemeleri

Çapraz bağlı nişasta üretimi için ABD "Code of Federal Regulations" (CFR, 2001) tarafından gıdalarda kullanımına izin verilen çapraz bağlama ajanlarından sodyum trimetafosfat (STMP) ve sodyum tripolifosfat (STTP) kullanılmıştır. Bu amaçla amilotip mısır nişastaları (Hylon V ve Hylon VII) ve bunlardan hazırlanan asit hidrolize nişastalar ile jelatinize örneklere (50 g) nişastanın %10'u kadar STMP:STPP (99:1) karışımı ve %5'i kadar sodyum sülfat içeren su (150 ml) ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat karıştırılmıştır. Bu aşamadan sonra Şekil 4.1'de gösterildiği gibi iki farklı Şekilde rnek hazırlanmıştır. Şekil 4.1'de belirtilen yöntemle elde edilen çapraz bağlı nişasta örneklere ait numaralar izelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çapraz bağlı nişasta retiminde Şekil 4.1'de gösterilen metodun yanı sıra Woo ve Seib (2002)'in çalışmasında belirtilen koşullar kullanılarak da örnek üretilmiştir. Bu yönteme göre normal amiloz içerikli buğday ve mısır nişastaları ile %70 amiloz içeren mısır nişastası (Hylon VII), 2 saat asitle hidroliz edilmiş Hylon VII ile jelatinize edilmiş Hylon VII nişastaları kullanılarak çapraz bağlı nişasta üretilmiştir. Bu amaçla nişasta örneklere (50 g), nişastanın %12'si oranında STMP:STPP (99:1) karışımı ve %10'u oranında sodyum sülfat içeren 70 ml su ile karıştırılıp, pH'sı 11.5'e ayarlanmış ve çalkalamalı inkübatörde (Jeiotech SI-300R, Kore) 45°C'de 3 saat karıştırılmıştır. Reaksiyon sonunda çözelti pH'sı 6.5'e ayarlanarak reaksiyon durdurulmuş, daha sonra bağlanmamış fosfat bileşiklerini uzaklaştırmak amacıyla 140 ml su ile 7 kez yıkanmıştır. Örnekler 50°C'de bir gece kurutulduktan sonra öğütülerek 212 m'lik elekten elenmiştir.



Şekil 4.1. Çapraz bağlı nişasta oluşturma yöntemi

Çizelge 4.1. Ön denemelerde Şekil 4.1’de belirtilen yöntem ile üretilen çapraz bağlı nişastalara ait örnek numaraları

Kaynak	Reaksiyon Sıcaklık x Süre	Nemli sistem	Sulu sistem	
			Etüvde kurutma	Liyofilizasyon
Hylon V (Doğal)	45°C x 1 saat	1	5	9
	45°C x 3 saat	2	6	10
	90°C x 1 saat	3	7	11
	90°C x 3 saat	4	8	12
Hylon V (2 saat asit hidrolize)	45°C x 1 saat	13	17	21
	45°C x 3 saat	14	18	22
	90°C x 1 saat	15	19	23
	90°C x 3 saat	16	20	24
Hylon V (jelatinize)	45°C x 1 saat	25	29	33
	45°C x 3 saat	26	30	34
	90°C x 1 saat	27	31	35
	90°C x 3 saat	28	32	36
Hylon VII (Doğal)	45°C x 1 saat	37	41	45
	45°C x 3 saat	38	42	46
	90°C x 1 saat	39	43	47
	90°C x 3 saat	40	44	48
Hylon VII (2 saat asit hidrolize)	45°C x 1 saat	49	53	57
	45°C x 3 saat	50	54	58
	90°C x 1 saat	51	55	59
	90°C x 3 saat	52	56	60
Hylon VII (jelatinize)	45°C x 1 saat	61	65	69
	45°C x 3 saat	62	66	70
	90°C x 1 saat	63	67	71
	90°C x 3 saat	64	68	72

4.1.4. Enzime dirençli nişasta tayini

Ön denemelerde, örneklerin enzime dirençli nişasta (EDN) miktarlarını belirlemede iki farklı yöntem kullanılmıştır. İlk yöntemde “Megazyme resistant starch kit” (Megazyme int., Wicklow, İrlanda) kullanılarak EDN miktarı belirlenmiştir (AACCI 32-40, AACCI, 2000). Bu yöntemde örnek α -amilaz ve amiloglukozidaz enzimleri ile 37°C’de 16 saat inkübe edilerek nişastanın sindirilmesi ve glukoza dönüşmesi sağlanır. Reaksiyon etil alkol ilavesi ile sonlandırılıp santrifüj edilerek çöken EDN peleti alınır. EDN peleti derişik (2 M) potasyum hidroksit (KOH) ile çözündürülür ve çözünen nişasta amiloglukozidaz ile glukoza dönüştürülür. Oluşan glukoz spektrofotometrik olarak belirlenir.

Benzer fizyolojik etkilerinden dolayı EDN, besinsel lif olarak sınıflandırılmaktadır.

Bu nedenle EDN miktarının belirlenmesinde AOAC 991.43 “Toplam besinsel lif tayin” metodu (AOAC, 1998) da kullanılabilir. Bu yöntemde örneklerdeki nişasta ve proteinin uzaklaştırılması amacıyla örnek, termostabil α -amilaz (100°C, 35 dak), amiloglukozidaz (60°C, 30 dak) ve proteaz (60°C, 30 dak) ile bir dizi enzimatik reaksiyona tabi tutulur. Enzim tarafından parçalanmayan kısım (EDN) etil alkol ile çöktürülür. Daha sonra Gooch krozesi üzerindeki selit yatağından filtre edilip (Gooch krozesi, gözenek büyüklüğü 40-100 μ m, porozite 2), önce iki kez etil alkol (%78 ve %95 konsantrasyonda) ile daha sonra da aseton ile yıkanır ve etüvde (105°C) 1 gece kurutulur.

4.2. Ana Denemelerde Kullanılan Metotlar

4.2.1. Rutubet tayini

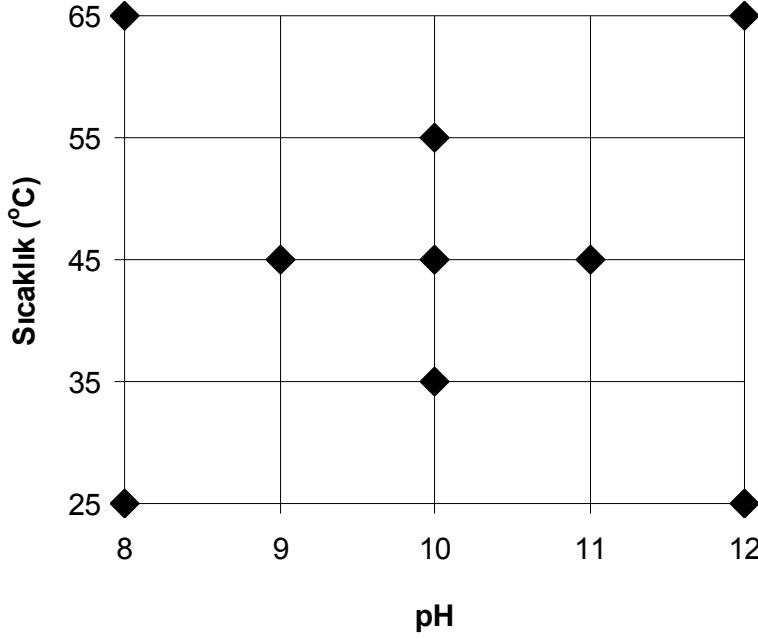
Örneklerin rutubet miktarları AACCI 08.01 (AACCI, 2000) yöntemine göre belirlenmiştir.

4.2.2. Çapraz bağlı nişasta üretimi

Ana denemelerdeki çapraz bağlı nişasta üretiminde Woo ve Seib (2002)'in çalışmalarında belirttikleri yöntem kısmen modifiye edilerek kullanılmıştır. Bahsedilen çalışmada kullanılan nişasta:su oranı ile kimyasal madde miktarları, bu tez çalışmasında sabit tutulmuş, reaksiyon koşulları (pH ve sıcaklık) değiştirilmiştir. Deneysel desen (reaksiyon koşulları), yanıt yüzey yöntemi (YYY; response surface methodology) kullanılarak yapılmıştır. Modelleme aşamasında merkezi kompozit desen (central composite design) kullanılmıştır ($\alpha=0.5$).

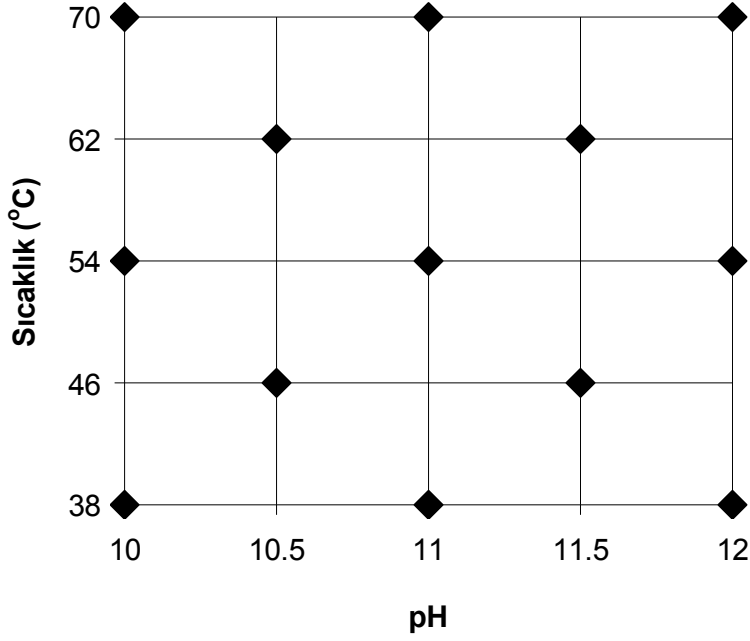
Ana denemelerde kullanılacak sıcaklık ve pH seviyelerinin belirlenmesi için, önce pH ve sıcaklık için 5'er noktada olmak üzere 9 noktada örnek üretilmiştir (Şekil 4.2). Merkezde tekrar yapılmamıştır. Çapraz bağlı nişasta üretimi için 50 gram nişastaya ağırlığının %12'si oranında STMP:STPP (99:1) ve %10'u oranında sodyum sülfat içeren 70 ml su ilave edilmiş, karışım Şekil 4.2'de belirtilen pH ve sıcaklık koşullarında 3 saat ısıtılmalı manyetik karıştırıcı (Heidolph Mei Tech Heater, Almanya) ile karıştırılmıştır. Reaksiyon sıcaklığı manyetik karıştırıcının dijital göstergesi ile ayarlanmış ve reaksiyon süresi boyunca dijital bir termometre

yardımıyla kontrol edilmiştir. Reaksiyon sonunda çözelti pH'sı 6.5'e ayarlanarak reaksiyon durdurulmuş, daha sonra bağlanmamış fosforu uzaklaştırmak amacıyla 140 ml su ile 7 kez yıkanmıştır. Örnekler 50°C'de bir gece kurutulduktan sonra öğütülerek 212 µm'lik elekten elenmiştir.



Şekil 4.2. Ana denemelerde kullanılacak sıcaklık ve pH seviyelerinin belirlenmesi için kullanılan merkezi kompozit desen (central composite design) ($\alpha=0.5$)

Şekil 4.2'de belirtilen koşullarda üretilen örneklerin EDN miktarları Madde 4.1.4'te anlatılan şekilde AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin" metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenmiştir. Bu aşamada elde edilen sonuçlara göre tezin ileri aşamalarında reaksiyon sıcaklığının 40°C'den ve pH'sının 10'dan yüksek olduğu koşullarda örnek üretilmesine karar verilmiştir. Modelleme aşamasında merkezi kompozit desen (central composite design) kullanılmıştır ($\alpha=0.5$). pH ve sıcaklık için 5'er noktada olmak üzere (sıcaklık 38-70°C; pH 10-12) toplam 13 noktada örnek üretilmiştir (Şekil 4.3). Merkezde tekrar yapılmamıştır.



Şekil 4.3. Ana denemelerde kullanılan merkezi kompozit desen (central composite design) ($\alpha=0.5$)

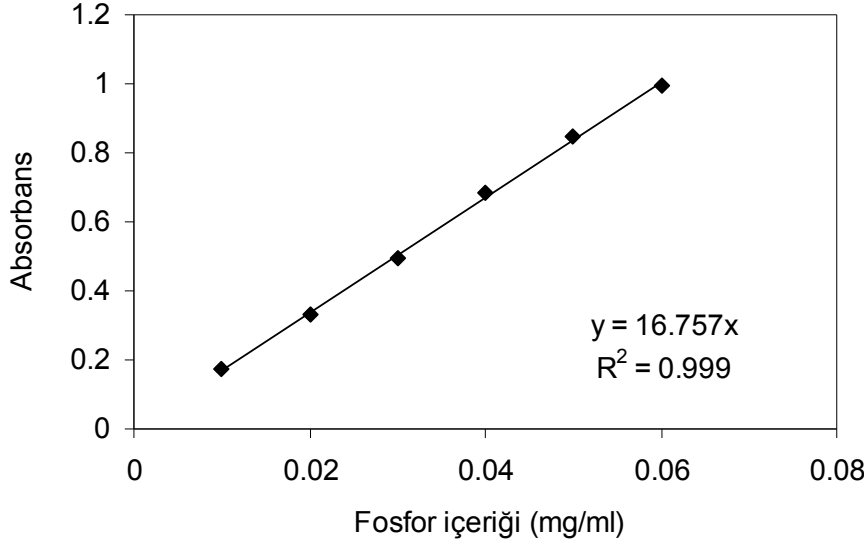
4.2.3. Enzime dirençli nişasta tayini

EDN miktarını belirlemede kullanılan AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yönteminde örnek α -amilaz ve amiloglukozidaz ile sindirilir ve sindirilmeyen kısım (EDN) alkol ilavesi ile çökeltir, 2 M KOH ile çözündürülür ve amiloglukozidaz ile glukozaya dönüştürülür. Oluşan glukoz spektrofotometrik olarak belirlenerek EDN miktarı hesaplanır. Çapraz bağlı nişasta örneklerinin sindiriminden sonra elde edilen EDN KOH çözeltisinde çözündürülemediği için bu örneklerin EDN içeriklerinin belirlenmesi mümkün olamamıştır. Dolayısıyla örneklerin EDN içerikleri Madde 4.1.4'te anlatılan şekilde AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin" metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenmiş ve sonuçlar EDN olarak ifade edilmiştir.

4.2.4. Fosfor tayini

Örneklerin fosfor içerikleri AOAC 986.24 metodu modifiye edilerek belirlenmiştir (AOAC, 1998). 1 g nişasta örneği porselen krozeye tartılmış ve 700°C'ye ayarlı kül fırınında 16 saat yakılmıştır. Süre sonunda soğuyan krozelere 10 ml %25'lik HCl ve 1 ml HNO₃ ilave edilerek çözelti kaynayınca kadar ısıtılmıştır. Soğutulan

çözelti 100 ml'ye seyreltilmiş, bu çözülden 1 ml alınarak üzerine 1 ml vanadat molibdat çözeltisi ve 3 ml saf su ilave edilip, 10 dakika sonra absorbans (400nm) okunmuştur. Örneklerin fosfor içerikleri hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Fosfor için kalibrasyon eğrisi

4.2.5. Nişasta örneklerinin termal özellikleri

Örneklerde jelatinizasyon ve retrogradasyonun incelenmesi diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC: differential scanning calorimetry) cihazı (DSC 2910, TA Instruments Thermal Analyzer, ABD) ile yapılmıştır (Tufvesson et al., 2001, Yu and Christe, 2001). Analiz için örnek hazırlama aşamasında, yüksek hacimli DSC kaplarına ~3 mg nişasta örneği 0.1 mg hassasiyette tartılmış, üzerine yaklaşık 3 katı su ilave edilmiş ve ardından hemen hermetik kapatma düzeneği ile kapatılmıştır. Analizden önce örnekler 1 gece buzdolabında bekletilerek suyun homojen dağılımı sağlanmıştır. Örnekler 10°C/dak ısıtma hızıyla oda sıcaklığından 200°C'ye kadar ısıtılarak termogramları hazırlanmıştır. Referans olarak boş DSC kabı kullanılmıştır. Örneklerde jelatinizasyon ve retrogradasyon endotermik piklerden yararlanılarak izlenmekte olup, endoterm başlangıç (T_0) ve pik (T_p) sıcaklıkları ile pikin altında kalan alandan entalpi değerleri (ΔH) hesaplanarak termogramlar değerlendirilmiştir.

4.2.6. Mikro-visko analizör ile örneklerin davranışlarının incelenmesi

Mikro-visko analizör (Rapid Visco Analyzer: RVA; Newport Scientific, Avustralya) ile örneklerin suda ısıtma-soğutma sırasındaki davranışlarının incelenmesi için %14 nem esasına göre 3 gram örnek kullanılmıştır. Örnek, cihazın özel kabına tartılmış olan saf su üzerine ilave edilip karıştırıcı palet yerleştirildikten sonra cihaza konularak, cihaza ait Standart 1 profili kullanılarak RVA özellikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. RVA “Standart 1” profilinde sıcaklık-hız değişimi

Süre	Kriter	Değer
Saat:Dak:Sn		
00:00:00	Sıcaklık	50°C
00:00:00	Hız	960 rpm
00:00:10	Hız	160 rpm
00:01:00	Sıcaklık	50°C
00:04:42	Sıcaklık	95°C
00:07:12	Sıcaklık	95°C
00:11:00	Sıcaklık	50°C
00:13:00	Sıcaklık	50°C

Deneyde kullanılacak su ve örnek miktarları sırasıyla Eşitlik 4.1 ve 4.2 kullanılarak belirlenmiştir:

$$M_2 = \frac{(100 - 14) \times M_1}{(100 - W_1)} \quad (4.1)$$

$$W_2 = 25.0 + (M_1 - M_2) \quad (4.2)$$

M_1 = %14 nem esasına göre tartılması gereken örnek miktarı, (3 g)

M_2 = nem miktarına göre düzeltilmiş örnek miktarı, g

W_1 = örneğin nem miktarı, %

W_2 = düzeltilmiş su miktarı, g

4.2.7. Nişasta granülünün ısıtılmalı mikroskopta şişme özelliklerinin incelenmesi

Nişasta granüllerinin 95°C'ye ısıtılması sonucunda granül boyutlarında meydana gelen değişiklikler ısıtılmalı mikroskop (Leica Microsystems CMS; GmbH, Model: DM 3000, İngiltere) kullanılarak incelenmiştir. Hazırlanan nişasta preparatı (nişasta:su) mikroskoba bağlı bir ısıtıcı (Linkam PE 94, Lincm Scientific Ins., İngiltere) yardımıyla 95°C'ye kadar ısıtılmıştır. Isıtma boyunca granülde meydana gelen değişimler normal ışık altında gözlenmiş ve mikroskoba entegre bir kamera yardımıyla kaydedilmiştir. Granüllerin ısıtma öncesi ve sonrasındaki alanları ImageJ programı kullanılarak hesaplanmış, alan artışı % olarak ifade edilmiştir (Eşitlik 4.3).

$$\text{Alan Artışı (\%)} = \frac{\text{ısıtma sonrası alan} - \text{ısıtma öncesi alan}}{\text{ısıtma öncesi alan}} \times 100 \quad (4.3)$$

4.2.8. Çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Örneklerin çözünürlük ve su bağlama (şişme derecesi) özelliklerinin belirlenmesi için Crosbie (1991) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilmiştir. Bu amaçla deney tüplerine 0.5 g örnek tartılıp üzerine 10 ml saf su ilave edilmiş ve süspansiyon 95°C'de 30 dakika ısıtılmıştır. Isıtma sonrasında örnekler 3000 x rpm hızda 10 dakika santrifüj (Nüve NF 1215, Türkiye) uygulanmıştır. Çökelen kısım tartılıp şişme derecesi (g/g) hesaplanmıştır. Çözünürlüğün belirlenmesi içinse süpernatant kurutma kabına aktararak tartılmış ve etüvde 100°C'de 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Çözünürlük ve şişme derecesi sırasıyla Eşitlik 4.4 ve 4.5'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlük (\%)} = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (4.4)$$

M_1 = örnek miktarı (g, kuru madde esasına göre)

M_2 = kurutulmuş süpernatant (g)

$$\text{Şişme derecesi (g/g)} = \frac{M_3}{M_1} \quad (4.5)$$

M_1 = örnek miktarı (g, kuru madde esasına göre)

M_3 = yaş çökelti (g)

4.3. Üretilen Çapraz Bağlı Nişastaların Ürün Kalitesine Etkisinin İncelenmesi

Tez kapsamında üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerin bisküvi ve kraker üretiminde EDN kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amacıyla, STMP-STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastalarda CFR tarafından izin verilen maksimum fosfor içeriğini (%0.4) geçmeyecek şekilde fosfor ve yüksek oranda EDN içeren çapraz bağlı mısır ve buğday nişastasını örneklerinden fazla miktarda üretilmiştir. Bu örnekler mısır nişastasını için reaksiyon pH'sının 12 ve sıcaklığının 70°C olduğu, buğday nişastasını için ise reaksiyon pH'sının 12 ve sıcaklığının 38°C olduğu örneklerdir.

4.3.1. Un analizleri

Bisküvi üretiminde kullanılacak un (Un 1) Ülker Bisküvi Sanayi Ticaret A.Ş. (Ankara), kraker üretiminde kullanılacak un (Un 2) Ankara Büyükşehir Belediyesi Halk Ekmek A.Ş. (Ankara) tarafından sağlanmıştır. Un örneklerinin rutubet, kül, yaş gluten ve protein miktarları (DUMAS), Zeleny sedimentasyon ve düşme sayısı değerleri ve farinograf özellikleri sırasıyla AACCI 44-15A, 08-01, 38-10, 46-30, 56-60, 56-81 ve 54-21 (AACCI, 2000) yöntemlerine göre belirlenmiştir. Un örneklerinde modifiye sedimentasyon testi Köksel et al. (2002) yöntemine göre yapılmıştır.

Un örneklerinin Miksolab (Chopin Tech., Fransa) özellikleri AACCI 54-60 (AACCI, 2000) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla yoğurma haznesinde hamur ağırlığı 75 gram olacak şekilde un kullanılmıştır. Cihaza ait Chopin protokolü kullanılarak Miksolab özellikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.3)

Çizelge 4.3. Miksolab “Chopin” protokolünde sıcaklık-hız değişimi

Süre		
Saat:Dak:Sn	Kriter	Değer
00:00:00	Hız	80 rpm
00:00:00	Sıcaklık	30°C
00:08:00	Sıcaklık	30°C
00:23:00	Sıcaklık	90°C
00:30:00	Sıcaklık	90°C
00:40:00	Sıcaklık	50°C
00:45:00	Sıcaklık	50°C

4.3.2. Bisküvi üretimi

Bisküvi üretimi, AACCI 10.54 (AACCI, 2000) yöntemine göre yapılmıştır. Bisküvi formülasyonu Çizelge 4.4’te verilmiştir. Madde 4.3’te de belirtildiği gibi izin verilen maksimum fosfor içeriğini (%0.4) geçmeyecek şekilde fosfor ve yüksek oranda EDN içeren çapraz bağlı mısır nişastası (70°C x pH 12; c70x12) ve buğday nişastası (38°C x pH 12; w38x12) örneklerinin bisküvi kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu örneklerin bisküvi kalitesine etkisinin, diğer besinsel lif kaynakları ile karşılaştırılabilmesi amacıyla bisküvi üretiminde kepek ve ticari Tip2 EDN (Hylon VII; National Starch, USA), ticari Tip3 EDN (Novelose 330; National Starch, USA) ve ticari Tip4 EDN (Fibersym; MGP Ingredients, USA) de kullanılmıştır. Ayrıca doğal haldeki buğday ve mısır nişastaları da bisküvi üretiminde kullanılmıştır. Kepek ve nişasta örnekleri %25, 50 ve 75 oranında Un 1 ile yer değiştirecek şekilde formülasyona ilave edilerek bisküvi üretimi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.4. AACCI bisküvi formülasyonu

Bileşenler	Ağırlık (g)
Sakaroz (ince granül halinde)	25.6
Kahverengi şeker (Brownulated granulated sucrose)	8.0
Yağsız süttezu (Nonfat dry milk)	0.8
Tuz	1.0
Sodyum bikarbonat	0.8
Yağ (Shortening)	32.0
HFCS (Yüksek fruktozlu mısır şurubu)	1.2
Amonyum bikarbonat	0.4
Deiyonize su, $g=(80-g \text{ un})+17.6$	değişken
$Un^1 + EDN$	80.0

¹%13 rutubet esasına göre

Un, nişasta ve amonyum bikarbonat dışındaki diğer kuru bileşenler bir kaptay iyice karıştırılmış ve hazırlanan bu kuru karışım ile yağ, yoğurucunun (Kitchen Aid, St. Joseph, Michigan, ABD) haznesine aktarılıp her dakikada bir haznenin kenarlarına sıçrayan materyal sıyrılarak toplam 3 dakika karıştırılmış (hız kademesi 3) ve böylelikle krema elde edilmiştir. Aynı bir kaptay su, HFCS ve amonyum bikarbonat ile hazırlanan sıvı karışım kremaya eklenmiş ve her 15 saniyede bir sıyırma işlemi yapılarak toplam 1 dakika karıştırılmıştır (hız kademesi 3). Karışıma un ilave edilip her 10 saniyede bir sıyırma işlemi yapılarak toplam 30 saniye karıştırma (hız kademesi 2) sonucunda bisküvi hamuru elde edilmiştir. Hamur mikserin haznesinden alınarak 4 eşit parçaya bölünmüş ve her birine oblong şekil verilerek tepsiye yerleştirilmiştir. Hamur oklava ile kalınlığı 0.7 cm olacak şekilde üzerinden 2 kez geçilerek açılmış ve 6.0 cm çapındaki kalıpla şekil verilmiştir. Bisküviler, $205\pm 2^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı fırında (Şimşek Labor teknik Ltd. Şti., Ankara) 11 dakika pişirilmiştir, fırından çıkarıldıktan 5 dakika sonra tepside alınmış ve oda sıcaklığına ulaştıktan sonra (~30 dak) paketlenmiştir.

4.3.2.1. Bisküvi örneklerinde fiziksel analizler

Bisküvi örneklerinde çap ve kalınlık AACCI 10.54 (AACCI, 2000) yöntemine göre kumpas kullanılarak belirlenmiştir. Bisküvilerin yayılma oranı çap/kalınlık olarak hesaplanmıştır.

4.3.2.2. Bisküvi örneklerinde renk analizi

Bisküvi örneklerinin renk değerleri (CIE L*, a*, b*) bilgisayar destekli görüntü işleme teknolojisi kullanılarak MATLAB programı ile belirlenmiştir. Renk analizi için bisküvi görüntüleri bir tarayıcı yardımıyla bilgisayara aktarılmıştır. Bilgisayar ortamına aktarılan görüntülere ait RGB (red, green, blue) değerleri, bilgisayar algoritması yardımıyla L*, a*, b* değerlerine çevrilmiştir (Gökmen ve Süğüt, 2007).

4.3.2.3. Bisküvi örneklerinde tekstür analizi

Bisküvi örneklerinde tekstür analizi TAPlus Tekstür Analizörü (Lloyd Instruments, UK) ile 3 mesnet eğme aparatı (three-point bending jig) kullanılarak yapılmıştır. Pişirme işleminden 72 saat sonra bisküviyi kırmak için gerekli olan maksimum kuvvet (N) ölçülmüş ve sertlik değeri olarak ifade edilmiştir.

4.3.2.4. Bisküvi örneklerinde EDN tayini

Bisküvi örneklerinin EDN/TBL içeriklerinin belirlenmesi amacıyla öncelikle Prosky et al. (1984) tarafından önerilen yöntem kullanılarak bisküvi örneklerinin yağı uzaklaştırılmıştır. Yağı uzaklaştırılan bisküvi örnekleri öğütülmüş ve bu örneklerin EDN/TBL içerikleri Madde 4.1.4'te anlatılan şekilde AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin" metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenmiştir.

4.3.3. Kraker üretimi

Kraker üretiminde Lee et al. (2002) tarafından önerilen tek aşamalı fermentasyon metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Kraker formülasyonu Çizelge 4.5'te verilmiştir. Madde 4.3'te de belirtildiği gibi izin verilen maksimum fosfor içeriğini (%0.4) geçmeyecek şekilde fosfor ve yüksek oranda EDN içeren çapraz bağlı mısır nişastası (70°C x pH 12; c70x12) ve buğday nişastası (38°C x pH 12; w38x12) örneklerinin kraker kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu örneklerin kraker kalitesine etkisinin, diğer besinsel lif kaynakları ile karşılaştırılabilmesi amacıyla bisküvi üretiminde olduğu gibi kraker üretiminde de kepek ve ticari Tip2 EDN (Hylon VII; National Starch, USA), ticari Tip3 EDN (Novelose 330; National Starch, USA) ve ticari Tip4 EDN (Fibersym; MGP Ingredients, USA) kullanılmıştır.

Ayrıca doğal haldeki buğday ve mısır nişastaları da kraker üretiminde kullanılmıştır. Kepek ve nişasta örnekleri %15, 30 ve 45 oranında Un 2 ile yer değiştirecek şekilde formülasyona ilave edilerek kraker üretimi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.5. Kraker formülasyonu

Bileşenler	Ağırlık (g)
Un ¹ + EDN	100.0
Maya	0.7
Yağ (Shortening)	11.0
Sodyum bikarbonat	0.45
Tuz (NaCl)	1.6
Deiyonize su	değişken ²

¹%14 rutubet esasına göre

²ilave edilen su miktarları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Kraker hamurunun hazırlanmasında Lee et. al (2002) tarafından belirtilen su miktarı kullanıldığında kraker hamuru oldukça kuru olmuş ve hamurun toparlanıp silindirlerden geçirilmesi mümkün olamamıştır. Hamura ilave edilen nişasta miktarının artması da hamur sertliğini arttırmıştır. Hem kontrol hamurunun hem de nişasta ilave edilen hamurların silindirlerden geçişini kolaylaştırmak amacıyla hamura eklenecek su miktarları Çizelge 4.6'daki gibi değiştirilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı nişasta oranlarına göre kraker formülasyonuna ilave edilen su miktarı

Nişasta ilave oranı (%)	Eklenen su miktarı (g)
0	37
15	39
30	41
45	43

Formülasyonda belirtilen bileşenler, bir yoğurucu (Kitchen Aid, St. Joseph, Michigan, ABD) yardımıyla karıştırılarak kraker hamurları hazırlanmıştır. Kraker hamurları, fermentasyon kabinine (Şimşek Labortechnik, Ankara) alınarak kraker yapımı için uygun bağıl nemde (%90) ve 30°C'de 24 saat fermente edilmiştir. Süre sonunda hamur, istenen kalınlığa getirmek amacıyla farklı aralıklara ayarlanan silindirlerden (20/32, 16/32, 12/32, 7/32, 4/32 ve 2/32 inç) üçer kez geçirilmiştir.

Son Őeklin verilmesi amacıyla silindirden geğirilen hamur, kalıp (Şekil 4.5) üzerine serilmiŐ ve ¼zerinden merdane ile ileri geri geçilerek hamurun kesilmesi ve kraker katmanlarının birleŐmesi (docking) sağlanmıştır. Bu kalıp 5.0 - 5.0 cm boyutlarında kraker hamurları kesmektedir. Hazırlanan krakerler 265°C'ye ayarlı fırında (Şimşek Labortechnik, Ankara) 4 dakika 20 saniye pişirilmiştir. ¼rnekler fırından ęıkarıldıktan 30 dakika sonra tepside alınılarak paketlenmiştir.



Şekil 4.5. Kraker kalıbı

4.3.3.1. Kraker ¼rneklerinde fiziksel analizler

Kraker ¼rneklerinin boyutları (uzunluk, genişlik ve kalınlık) kumpas kullanılarak belirlenmiştir (Lee et al., 2002).

4.3.3.2. Kraker ¼rneklerinde renk analizi

Kraker ¼rneklerinin renk değerleri (CIE L*, a*, b*) bilgisayar destekli g¼r¼nt¼ işleme teknolojisini kullanarak MATLAB programını ile belirlenmiştir. Renk analizi için kraker g¼r¼nt¼leri bir tarayıcı yardımıyla bilgisayara aktarılmıştır. Bilgisayar ortamına aktarılan g¼r¼nt¼lere ait RGB (red, green, blue) değerleri, bilgisayar algoritması yardımıyla L*, a*, b* değerlerine ęevrilmiŐtir (G¼kmen ve S¼ę¼t 2007).

4.3.3.3. Kraker ¼rneklerinde tekst¼r analizi

Kraker ¼rneklerinde tekst¼r analizi TAPlus Tekst¼r Analiz¼r¼ (Lloyd Instruments, UK) ile 3 mesnet eğme aparatı (three-point bending jig) kullanılarak yapılmıştır. Pişirme işleminden 72 saat sonra krakeri kırmak için gerekli olan maksimum

kuvvet (N) ölçülmüş ve sertlik değeri olarak ifade edilmiştir.

4.3.3.4. Kraker örneklerinde EDN tayini

Kraker örneklerinin EDN/TBL içeriklerinin belirlenmesi amacıyla öncelikle Prosky et al. (1984) tarafından önerilen yöntem kullanılarak kraker örneklerinin yağı uzaklaştırılmıştır. Yağı uzaklaştırılan kraker örnekleri öğütülmüş ve bu örneklerin EDN/TBL içerikleri Madde 4.1.4'te anlatılan şekilde AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin" metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenmiştir.

4.3.4. İstatistiksel analiz

Sonuçlar SPSS 11.5 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Örnekler arası farklar önemli bulunduğu ortalamalar DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca ön denemelerde örneklerin EDN içerikleri üzerine reaksiyon koşulları, üretim sistemi ve nişasta türünün etkisine bakılmıştır.

Merkezi kompozit desen (central composite design) ile belirlenen noktalar kullanılarak, desene ait üçüncü derece polinomun katsayıları en küçük kareler yöntemi ile Design Expert programı kullanılarak hesaplanmıştır. Katsayıları hesaplanan 3. dereceden denklemler kullanılarak hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin EDN ve fosfor içerikleri, nişastanın T_o , T_p ve ΔH değerleri, ısıtma sırasında granül alanındaki artış değerleri ile çözünürlük ve şişme derecesi değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, hesaplanan değerler ile deneysel değerler arasındaki regresyon katsayıları (R^2 değeri) hesaplanarak, deney deseninin modelleme aşamasında gösterdiği performans belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Ön Deneme Sonuçları

Hylon V, Hylon VII ve bunlardan elde edilen çapraz bağlı nişastaların “Megazyme resistant starch kit” (Megazyme, Wicklow, İrlanda) kullanılarak AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yöntemine göre belirlenen enzime dirençli nişasta (EDN) miktarları Çizelge 5.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1. Ön denemelerde üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin AACCI 32-40 yöntemine göre belirlenen %EDN içerikleri¹

Kaynak	Reaksiyon Sıcaklık x Süre	Nemli sistem	Sulu sistem	
			Etüvde kurutma	Liyofilizasyon
Hylon V (Doğal)	Hylon V (Doğal)	37.0 b	37.0 b	37.0 a
	45°C x 1 saat	41.8 a	40.2 b	27.1 bc
	45°C x 3 saat	34.9 b	47.6 a	29.7 b
	90°C x 1 saat	41.4 a	39.6 b	28.6 bc
	90°C x 3 saat	35.1 b	42.8 ab	26.5 c
Hylon V (2 saat asit hidrolize)	Hylon V (2 saat asit hidrolize)	36.4 a	36.4 b	36.4 a
	45°C x 1 saat	36.1 a	38.2 a	29.2 b
	45°C x 3 saat	35.3 a	38.8 a	29.9 b
	90°C x 1 saat	39.0 a	38.9 a	28.8 b
	90°C x 3 saat	35.3 a	28.4 c	29.3 b
Hylon V (jelatinize edilmiş)	Hylon V (jelatinize edilmiş)	17.1 b	17.1 b	17.1 c
	45°C x 1 saat	24.8 a	23.8 a	20.3 b
	45°C x 3 saat	24.5 a	23.5 a	21.9 b
	90°C x 1 saat	26.4 a	23.7 a	22.9 b
	90°C x 3 saat	25.4 a	24.5 a	27.6 a
Hylon VII (Doğal)	Hylon VII (Doğal)	45.0 a	45.0 b	45.0 a
	45°C x 1 saat	44.8 a	42.3 c	36.9 d
	45°C x 3 saat	46.4 a	44.0 b	35.8 d
	90°C x 1 saat	44.6 a	47.0 a	33.9 b
	90°C x 3 saat	42.4 a	29.4 d	33.8 b
Hylon VII (2 saat asit hidrolize)	Hylon VII (2 saat asit hidrolize)	42.7 ab	42.7 a	42.7 a
	45°C x 1 saat	44.8 ab	43.2 a	37.8 ab
	45°C x 3 saat	40.1 b	44.3 a	39.1 ab
	90°C x 1 saat	46.2 a	45.5 a	36.2 b
	90°C x 3 saat	45.9 a	37.4 b	30.9 c
Hylon VII (jelatinize edilmiş)	Hylon VII (jelatinize edilmiş)	23.2 c	23.2 b	23.2 c
	45°C x 1 saat	28.0 ab	28.2 a	25.6 abc
	45°C x 3 saat	30.4 a	28.1 a	27.2 ab
	90°C x 1 saat	28.2 ab	28.6 a	29.2 a
	90°C x 3 saat	26.4 bc	28.9 a	25.1 bc

¹Her bir nişasta kaynağı ve bunlardan elde edilen hidrolize/jelatinize nişastalar için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.1 incelendiğinde ön denemelerde Hylon VII kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerin EDN içeriklerinin Hylon V kullanılarak elde edilenlerinkine göre genellikle daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunda doğal haldeki Hylon VII'nin EDN miktarının doğal haldeki Hylon V'e göre daha yüksek olmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Her iki nişasta örneği için de, sulu sistemde çapraz bağlama yapılan örneklerden liyofilize edilerek kurutulanların EDN miktarları etüvde kurutulanlara göre daha düşük bulunmuştur. Ancak aynı materyalden nemli sistem veya sulu sistem-etüvde kurutma ile çapraz bağlama yapılan örneklerin EDN miktarları arasında birkaç örnek hariç kayda değer bir fark bulunmamıştır. Bunun yanı sıra örneklerin 45°C veya 90°C'de 1 veya 3 saat reaksiyona tabi tutulmuş olması da EDN miktarlarında genellikle belirgin bir fark yaratmamıştır. Bu çizelgede çeşitli hammaddeler, reaksiyon koşulları ve üretim sistemleri kullanılarak üretilen örnekler bulunmaktadır. Bu faktörlerin etkilerini daha iyi değerlendirebilmek amacıyla örnekler reaksiyon koşulları, üretim sistemi ve nişasta türüne göre gruplandırılmış ve grupların ortalama EDN içerikleri Çizelge 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Ön denemelerde üretilen örneklerin EDN değerlerinin reaksiyon koşulları, üretim sistemi ve nişasta türüne göre çoklu karşılaştırma sonuçları¹

Üretimde Kullanılan Değişkenler	Örnek	EDN (%)
Reaksiyon koşulları (Sıcaklık x Süre)	45°C x 1 saat	34.1 b
	45°C x 3 saat	34.5 ab
	90°C x 1 saat	35.0 a
	90°C x 3 saat	32.0 c
Üretim sistemi	Nemli sistem	36.1 a
	Sulu sistem, etüvde kurutma	35.7 a
	Sulu sistem, liyofilizasyon	29.7 b
Nişasta türü	Hylon V (Doğal)	36.3 b
	Hylon V (2 saat hidrolize)	33.9 c
	Hylon V (jelatinize edilmiş)	24.1 d
	Hylon VII (Doğal)	40.1 a
	Hylon VII (2 saat hidrolize)	41.0 a
	Hylon VII (jelatinize edilmiş)	27.9 d

¹Üretimde kullanılan her bir değişken için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.2 incelendiğinde reaksiyonun 90°C'de 3 saat gerçekleştirildiği örneklerin

EDN içeriklerinin diğer koşullarda üretilenlerin EDN içeriklerinden önemli derecede düşük bulunduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Ayrıca sulu sistemde üretilip liyofilizasyon ile kurutulan örneklerin EDN içerikleri diğer üretim sistemleri ile üretilen örneklerin EDN içeriklerinden düşük çıkmıştır ($p < 0.05$). Nişasta türleri arasında en yüksek EDN içeriği doğal Hylon VII ile 2 saat hidrolize edilmiş Hylon VII'den üretilen çapraz bağlı nişastalara aittir ve bu örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır.

EDN miktarını belirlemede kullanılan AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yönteminde örnek, α -amilaz ve amiloglukozidaz ile sindirilir ve geride kalan kısım (EDN) alkol ile çökeltir, daha sonra KOH ile çözündürülür ve glukozla dönüştürülür. Glukoz miktarından örneğin EDN içeriği hesaplanır. Çapraz bağlı nişasta örneklerinin sindiriminden sonra elde edilen EDN, KOH çözeltisinde çözündürülemez. Hwang et al. (2009) ve Wu ve Seib (1990) da aynı problem ile karşılaşmışlar ve bu yöntem yerine AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin metodu"nu (AOAC, 1998) kullanarak elde edilen sonuçları EDN olarak ifade etmişlerdir. Benzer yaklaşım bu tezde de kullanılmıştır. Çizelge 5.1'de EDN içerikleri belirtilen bazı çapraz bağlı nişasta örneklerinin AOAC Toplam besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içerikleri Çizelge 5.3'te verilmiştir.

Çizelge 5.3. Ön denemelerde elde edilen bazı çapraz bağlı nişasta örneklerinin AOAC 991.43 metoduna göre belirlenen %EDN içerikleri¹

Kaynak	Reaksiyon koşulları (Sıcaklık x Süre x Sistem)	% EDN
Hylon V	Hylon V (Doğal)	7.9 a
	90°C x 3 saat x Nemli sistem (No 4)	7.3 a
	45°C x 3 saat x Sulu sistem, Etüvde kurutma (No 6)	7.5 a
Hylon VII	Hylon VII (Doğal)	16.1 a
	90°C x 3 saat x Nemli sistem (No 40)	19.8 b
	45°C x 3 saat x Sulu sistem, Etüvde kurutma (No 42)	19.0 b

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

Örneklerin EDN miktarlarının belirlenmesinde kullanılan ilk yöntemde (AACCI, 2000) örnekler α -amilaz ve amiloglukozidaz enzimleri ile 37°C'de 16 saat inkübe edilmiştir. Bu yöntemle genel olarak nişastada bulunan Tip1, Tip2 ve Tip3 EDN

belirlenebilmektedir. EDN belirlemede kullanılan ikinci yöntemde (AOAC 991.43, 1998) ise örnekler amilaz enzimi ile 100°C'de 35 dakika inkübe edilmektedir. Bu koşullarda Tip1 ve Tip2 EDN ısıtmanın etkisiyle değişime uğrayarak kısmen sindirilebilir hale gelmektedir. Bu nedenle Hylon V ve Hylon VII örneklerinde ilk yöntemle belirlenen EDN miktarları sırasıyla %37.0 ve %45.0 iken (Çizelge 5.1), ikinci yöntemle kısmi sindirilme sonucu EDN miktarları daha düşük (sırasıyla %7.9 ve %16.1) bulunmuştur (Çizelge 5.3).

Çizelge 5.3 incelendiğinde Hylon V kullanılarak üretilen 4 numaralı (90°C x 3 saat, nemli sistem) ve 6 numaralı (45°C x 3 saat, sulu sistem, etüvde kurutma) örneklerin EDN içerikleri ile işlem görmemiş doğal haldeki Hylon V örneğinin EDN içeriği arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmektedir. Hylon VII kullanılarak üretilen 40 numaralı örnek (90°C x 3 saat, nemli sistem) ile 42 numaralı (45°C x 3 saat, sulu sistem, etüvde kurutma) örneklerin EDN içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı, bu örneklerin EDN içerikleri ile Hylon VII örneğinin EDN içeriği arasında önemli ($p < 0.05$) fakat çok yüksek olmayan bir fark bulunduğu belirlenmiştir. Ancak, örneklerin Çizelge 5.3'te belirtilen EDN içeriklerinin literatürde karşılaşılan çapraz bağlı nişastaların EDN içeriklerine göre oldukça düşük olduğu görülmüştür. Literatürde STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların EDN miktarlarının daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Woo ve Seib, 2002; Chung et al., 2004; Shin et al., 2004; Yeo and Seib, 2009). Bu nedenle ön denemelerde kullanılan çapraz bağlama yönteminin etkin olmadığı ve örneklerde çapraz bağlanmanın yeterince gerçekleşmediği sonucuna varılmıştır. Bu amaçla ilgili literatür taranmış, Woo ve Seib (2002)'in çalışmasında belirtilen koşullar kullanılarak yeniden örnek üretilmesine karar verilmiştir. "Ön denemelerde kullanılan metotlar" bölümünde Şekil 4.1'de belirtilen yöntem (1. Yöntem) ile Woo ve Seib (2002)'in çalışmasında belirtilen yöntem arasındaki temel farklar Çizelge 5.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. Ön çalışmada örnek üretiminde kullanılan yöntemler arasındaki farklılıklar

1. Yöntem	Woo ve Seib (2002)
50 gram nişasta + 150 ml su Su içinde; %10 STMP:STPP (99:1) ve 5% sodyum sülfat Reaksiyon pH'sı 9.5 Reaksiyon etüvde 30 dakika aralıklarla karıştırılarak gerçekleştirilmiştir (45°C ve 90°C)	50 gram nişasta + 70 ml su Su içinde; %12 STMP:STPP (99:1) ve 10% sodyum sülfat Reaksiyon pH'sı 11.5 Reaksiyon sürekli çalkalama sağlayan inkübatörde gerçekleştirilmiştir (45°C)

Woo ve Seib (2002)'in kullandığı çapraz bağlama yönteminin etkinliğini kontrol etmek amacıyla normal amiloz içeren buğday ve mısır nişastasası ile yüksek amiloz içeren mısır nişastasası (Hylon VII) kullanılarak yeniden çapraz bağlı nişasta üretilmiştir. Çapraz bağlama öncesinde yapılan başka bir modifikasyonun çapraz bağlanmaya etkisinin incelenmesi amacıyla doğal haldeki Hylon VII örneğinin yanı sıra jelatinize edilen ve 2 saat asit hidrolize edilen Hylon VII örnekleri kullanılarak da çapraz bağlı nişasta üretilmiştir. Bu örneklerin AOAC 991.43 (AOAC, 1998) metoduna göre belirlenen EDN içerikleri Çizelge 5.5'te verilmiştir.

Çizelge 5.5. Woo ve Seib (2002)'e göre üretilen örneklerin AOAC 991.43 metoduna göre belirlenen %EDN içerikleri¹

Örnek	Doğal	Çapraz bağlı
Buğday nişastasası	3.0 c	64.2 a
Mısır nişastasası	2.5 c	44.3 b
Hylon VII	16.1 b	63.3 a
2 saat asit hidrolize edilmiş Hylon VII	16.7 b	62.6 a
Jelatinize edilmiş Hylon VII	17.8 a	17.1 c

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.5 incelendiğinde, işlem görmemiş doğal haldeki buğday ve mısır nişastasası örneklerinin EDN içeriklerinin oldukça düşük olduğu, Woo ve Seib (2002)'in yöntemine göre çapraz bağlama gerçekleştiğinde ise bu örneklerin EDN miktarlarının sırasıyla %64.2 ve %44.3'e yükseldiği görülmektedir. Benzer şekilde doğal haldeki Hylon VII örneği ile 2 saat asit hidrolize edilmiş Hylon VII örneğinin EDN miktarları sırasıyla %16.1 ve %16.7 iken, bu örnekler çapraz bağlandığında EDN miktarları sırasıyla %63.3 ve %62.6'ya yükselmiştir. Shin et al. (2004)

çalışmasında Woo ve Seib (2002) yöntemine göre üretilen çapraz bağlı buğday, mısır ve Hylon VII nişastalarının AOAC 991.43 (AOAC, 1998) metoduna göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %72.9, %52.2 ve %51.2 olduğunu bildirmiştir. Ön denemelerde elde edilen sonuçlar ile Shin et al. (2004)'ün çalışmasında elde edilen sonuçların uyumlu olduğu görülmektedir.

Normal amiloz içerikli mısır nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı %44.3 iken, yüksek amiloz içerikli mısır nişastasından (Hylon VII) üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı %63.3 olarak belirlenmiştir. Amiloz içeriğinin artması çapraz bağlanma sonucu oluşan EDN miktarını bir miktar arttırmıştır. Normal amiloz içerikli buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı (%64.2) ile yüksek amiloz içerikli mısır nişastasından (Hylon VII) üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı (%63.3) arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Diğer bir ifade ile bu tez kapsamında kullanılan çapraz bağlama yöntemiyle EDN oluşturmada yüksek amiloz içerikli mısır nişastası, normal amiloz içerikli nişastalara göre çok fazla avantaj sağlamamıştır. Ayrıca yüksek amiloz içerikli nişastalar, normal amiloz içerikli nişastalara göre daha pahalıdır. Bu nedenlerle asıl denemelerde normal amiloz içerikli buğday ve mısır nişastası kullanılmasına karar verilmiştir.

Çapraz bağlı Hylon VII örneğinin EDN miktarı (%63.3) ile 2 saat asit hidrolize edilmiş Hylon VII'den üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı (%62.6) arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır (Çizelge 5.5). Jelatinize edilmiş Hylon VII'den üretilen çapraz bağlı nişasta örneğinin EDN miktarı ise oldukça düşüktür (%17.1). Birçok araştırmacı çapraz bağlamanın granüler nişastanın, nişasta moleküllerindeki hidroksil grupları arasında moleküller arası bağ yapabilme kapasitesine sahip ajanlarla muamele edilmesi ile gerçekleştirildiğini belirtmiştir (Singh et al., 2007). Jelatinizasyon ile nişastanın granüler yapısının kaybolmasının çapraz bağlanmayı engellediği düşünülmektedir. Nişastaya çapraz bağlama öncesinde uygulanan asit modifikasyon veya jelatinizasyon işlemlerinin EDN oluşturmada doğal haldeki nişastaya göre bir avantaj sağlamadığı açıkça görülmektedir. Bu nedenle çapraz bağlama öncesinde

nişastaya başka bir modifikasyonun uygulanmamasına karar verilmiştir.

Çizelge 5.5 incelendiğinde, çapraz bağlı nişasta üretiminde Şekil 4.1'de belirtilen yöntem yerine Woo ve Seib (2002)'in yöntemi kullanıldığında Hylon VII'den üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin EDN içeriklerinde çok önemli artışlar olduğu görülmektedir. Çizelge 5.3'te 40 ve 42 numara ile gösterilen örnekler Hylon VII kullanılarak üretilmiştir ve bu örneklerin EDN içerikleri sırasıyla %19.0 ve %19.8'dir. Woo ve Seib (2002)'e göre örnek hazırlandığında ise çapraz bağlı Hylon VII örneğinin EDN miktarının %63.3 olduğu görülmektedir (Çizelge 5.5). Bu nedenle kullanılan yeni yöntemin (Woo and Seib, 2002) çapraz bağlamada daha etkili olduğu düşünülmektedir ve etkin bir çapraz bağlama sağlamak amacıyla tezde kullanılacak olan ana denemelerde yeni yöntemdekine benzer üretim koşullarında çapraz bağlama yapılmasına karar verilmiştir.

5.2. Ana Deneme Sonuçları

5.2.1. Nişasta örneklerinin EDN (toplam besinsel lif) içerikleri

EDN miktarını belirlemede kullanılan AACCI 32-40 (AACCI, 2000) yönteminde örnek α -amilaz ve amiloglukozidaz ile sindirilir ve geride kalan kısım (EDN) alkol ile çöktülür daha sonra KOH ile çözündürülür ve amiloglukozidaz ile glukoz dönüşür. Oluşan glukoz miktarından örneğin EDN içeriği hesaplanır. Çapraz bağlı nişasta örneklerinin sindiriminden sonra elde edilen EDN, KOH çözeltisinde çözündürülemediği (Wu and Seib, 1990; Hwang et al., 2009) için bu yöntemle EDN miktarının belirlenmesi mümkün olamamıştır. Dolayısıyla bu örneklerin EDN içerikleri Madde 4.1.4'te anlatılan şekilde AOAC 991.43 "Toplam besinsel lif tayin" metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenmiştir ve bu sonuçlar EDN olarak ifade edilmiştir.

Ön denemeler Woo ve Seib (2002) tarafından kullanılan çapraz bağlama yönteminin daha etkili olduğunu gösterdiği için ana denemelere geçildiğinde bu yöntemdekine benzer üretim koşullarında çapraz bağlama yapılmasına karar verilmiş ve örneklere pH 8-12 ve sıcaklık 25-65°C aralıklarında çapraz bağlama uygulanmıştır (Şekil 4.2). Bu koşullarda üretilen çapraz bağlı mısır ve buğday

nişastasası örneklerinin EDN içerikleri Çizelge 5.6'da verilmiştir.

Çizelge 5.6. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastalarına ait %EDN içerikleri^{1, 2}

Üretim koşulları		Çapraz bağlı mısır nişastaları	Çapraz bağlı buğday nişastaları
T (°C)	pH		
	Kontrol	2.5 d	3.0 d
25	8	2.9 d	2.0 d
25	12	17.3 b	62.8 b
35	10	3.0 d	1.2 d
45	9	2.5 d	2.7 d
45	10	2.8 d	2.1 d
45	11	11.3 c	26.9 c
55	10	3.9 d	1.8 d
65	8	2.3 d	1.3 d
65	12	80.8 a	90.6 a

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

²EDN; Enzime dirençli nişasta

Çizelge 5.6 incelendiğinde, buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişastalara ait EDN miktarlarının aynı deney koşullarında üretilen çapraz bağlı mısır nişastalarının EDN miktarlarından genel olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum buğday nişastasının yapısal olarak çapraz bağlanmaya daha uygun olduğunun bir göstergesidir. Her iki nişasta örneği için reaksiyonun gerçekleştiği tüm sıcaklıklarda pH 8, 9 ve 10 olduğunda örneklerin EDN içeriklerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Reaksiyon 45°C'de gerçekleştirildiğinde, reaksiyon pH'sı 9 ve 10 iken her iki nişasta örneğinin de EDN miktarında önemli bir değişiklik gözlenmemiş, pH 11 olduğunda ise EDN miktarında önemli artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu durum pH'nın 11'e yükseltilmesiyle çapraz bağlanmanın arttığını göstermektedir. Diğer taraftan pH 12'de üretilen çapraz bağlı nişastalarda sıcaklığın 25°C'den 65°C'ye artırılması örneklerin, özellikle de buğday nişastasası kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin, EDN miktarlarında önemli derecede artışa neden olmuştur ($p<0.05$). Bu nedenle tezin daha ileri aşamalarında reaksiyon sıcaklığının ve pH'sının yüksek olduğu koşullarda örnek üretilmesine karar verilmiştir. Ancak granüler yapının bozulması çapraz

bağlanmayı olumsuz etkilediği için jelatinizasyonu engellemek amacıyla 70°C sıcaklık ve pH 12'nin üzerine çıkılmamıştır. Bu nedenle sıcaklığın 38-70°C ve pH'nın 10-12 aralıklarında tutulduğu yeni bir deneysel desen uygulanmıştır (Şekil 4.3). Bu koşullarda üretilen örneklerin EDN içeriklerini sıcaklık (T) ve pH'nın fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastası örneklerinin EDN içerikleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.1 ve 5.2'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \% \text{ EDN (Mısır)} = & - 2879.3481 - 4.46 \times T + 969.5686 \times \text{pH} - 2.7019 \times T \times \\ & \text{pH} + 0.15388 \times T^2 - 101.6323 \times \text{pH}^2 + 0.01055 \times T^2 \times \text{pH} - 0.09375 \times T \\ & \times \text{pH}^2 - 0.00165 \times T^3 + 2.7 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.1)$$

$$\begin{aligned} \% \text{ EDN (Buğday)} = & 36753.2664 - 54.1848 \times T - 9787.2521 \times \text{pH} + \\ & 10.2804 \times T \times \text{pH} - 0.0542 \times T^2 + 861.8280 \times \text{pH}^2 - 0.0030 \times T^2 \times \text{pH} - \\ & 0.4453 \times T \times \text{pH}^2 + 0.00056 \times T^3 - 25.1250 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.2)$$

Yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin EDN içerikleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN içerikleri Çizelge 5.7'de, buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN içerikleri ise Çizelge 5.8'de verilmiştir.

Sıcaklık 38-70°C ve pH 10-12 aralıklarında tutularak uygulanan yeni deneysel desene göre üretilen örneklerin yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan EDN içeriklerinin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R² değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak çapraz bağlı mısır nişastası örnekleri için hesaplanan EDN içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R² değeri 0.995 olarak saptanmıştır. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin EDN içeriklerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.7. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları^{1,2}

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN miktarı (%)	YYY ile hesaplanan EDN miktarı (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		2.5 g	-
38	10	2.3 g	2.8
38	11	5.2 g	6.1
38	12	49.4 c	48.6
46	10.5	2.3 g	0.1
46	11.5	18.9 e	22.2
54	10	3.3 g	4.4
54	11	12.9 f	11.5
54	12	59.6 b	60.8
62	10.5	3.9 g	7.6
62	11.5	39.6 d	37.7
70	10	2.1 g	1.9
70	11	16.6 e	18.2
70	12	78.4 a	79.7

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

²EDN; Enzime dirençli nişasta

Çizelge 5.7 incelendiğinde mısır nişastası örneklerinde reaksiyon sıcaklığı 38°C olduğunda, reaksiyon pH'sı 10 olan örneğin EDN miktarı (%2.3) ile pH 11 olan örneğin EDN miktarı (%5.2) arasında önemli fark bulunmazken, pH 12 olduğunda örneğin EDN miktarında (%49.4) önemli bir artış gözlenmiştir (p<0.05). 70°C'de pH 12'de üretilen örneğin EDN miktarı (%78.4) ile pH 11'de üretilen örneğin EDN miktarı (%16.6) arasında önemli fark bulunmuştur (p<0.05). 70°C'de pH 11'de üretilen örneğin EDN miktarı (%16.6) ise pH 10'da üretilen örneğinkinden (%2.3) önemli derecede yüksek bulunmuştur (p<0.05). 38°C'nin dışında reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer tüm sıcaklıklarda, aynı sıcaklıkta üretilen örneklerde reaksiyon pH'sının artması EDN miktarında önemli artışa neden olmuştur (p<0.05). Daha önce de belirtildiği gibi nişastanın STMP ve STPP ile fosforilasyonunda çapraz bağlı nişasta oluşumu için alkali pH gerekmektedir (Lim,

1990; Woo and Seib, 2002). Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımının pH>9.5 olduğunda etkili bir şekilde çapraz bağlama gerçekleştirdiğini belirtmiştir. Bu tez kapsamında ise, Çizelge 5.7'den de görüleceği üzere, pH'nın 11 ve üzerinde olduğu reaksiyonlar sonucu üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin EDN miktarlarında önemli artışlar söz konusudur.

Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış genel olarak örneklerin EDN içeriklerinde de bir artışa neden olmuştur (Çizelge 5.7). Reaksiyonun pH 10'da gerçekleştirildiği örneklerde sıcaklığın 38°C, 54°C veya 70°C olması, örneklerin EDN miktarlarında istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Benzer şekilde reaksiyonun pH 10.5'de gerçekleştirildiği örneklerde de sıcaklığın 46°C veya 62°C olması örneklerin EDN miktarlarında istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Bu örnekler dışında reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği diğer tüm örneklerde reaksiyon sıcaklığındaki artış, örneklerin EDN içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışa neden olmuştur (p<0.05). Daha önce de belirtildiği gibi sitrik asit kullanılarak üretilen kimyasal modifiye nişastalarda da benzer bir sonuç söz konusudur. Xie ve Liu (2004) 7 saatlik reaksiyon sonucunda üretilen sitrat nişastalarının EDN içeriklerinin reaksiyon sıcaklığındaki artışla birlikte arttığını belirtmiştir. Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te reaksiyon süresinin buğday nişastasının EDN içeriğine etkisini incelemiştir. Reaksiyon süresinin 1, 2, 5 ve 7 saat şeklinde artırılması sonucunda örneklerin AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %14.0, %52.7, %76.0 ve %93.4 olarak artış gösterdiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada da farklı miktarlarda (%4, %8, %12) STMP:STPP karışımı ilavesinin 45°C ve pH 11'de 3 saat reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı buğday nişastalarının EDN içerikleri üzerine etkisi incelenmiştir (Chung et al., 2004). Doğal buğday nişastasının EDN miktarı %0.4 iken, %4, %8 ve %12 oranında STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin EDN miktarları sırasıyla %24.5, %60.0 ve %81.6 olarak bulunmuştur.

Çizelge 5.7 incelendiğinde reaksiyon pH'sının 12 olduğu durumda, 38°C'de

üretilem çapraz bağlı mısıır nişastasının EDN miktarı %49.4 iken, reaksiyon pH'sı 11.5 ve sıcaklığı 46°C olduğunda üretilem çapraz bağlı mısıır nişastasının EDN miktarının %18.9 olduğu görülmektedir. Sıcaklık 8°C düşük olmasına rağmen, pH 0.5 birim arttığında EDN miktarı yaklaşık %30 fazla çıkmıştır. Benzer şekilde pH'nın 12 ve sıcaklığın 54°C olduğu reaksiyon sonucu üretilem çapraz bağlı mısıır nişastasının EDN miktarı %59.6 iken, pH'nın 11.5 ve sıcaklığın 62°C olduğu reaksiyon sonucu üretilem çapraz bağlı mısıır nişastasının EDN miktarı %39.6 olarak belirlenmiştir. Burada da sıcaklık 8°C düşük olmasına rağmen, pH 0.5 birim arttığında EDN miktarı yaklaşık %20 fazla çıkmıştır. Bu durum daha önce de bahsedildiği gibi EDN oluşumunda, pH'nın sıcaklıktan daha önemli bir etkiye sahip olduğunu ve yüksek pH'da gerçekleşen çapraz bağlanmanın sıcaklığın artmasıyla arttığını göstermektedir. Bu tez kapsamında mısıır nişastasından üretilem çapraz bağlı nişasta örneklerindeki en yüksek EDN içeriği 70°C ve pH 12'de üretilem örnekte gözlenmiştir (%78.4).

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN içerikleri Çizelge 5.8'de verilmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak çapraz bağlı buğday nişastası örnekleri için hesaplanan EDN içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.997 olarak saptanmıştır. Çizelge 5.8'deki koşullarda üretilem örneklerin EDN içeriklerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.8 incelendiğinde Çizelge 5.7'dekine benzer sonuçlar gözlenmektedir. Ancak buğday nişastasından aynı sıcaklıkta reaksiyon gerçekleştirilerek üretilem tüm çapraz bağlı nişasta örneklerinde reaksiyon pH'sının arttırılması ile EDN miktarları önemli artış göstermiştir ($p<0.05$). Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı buğday nişastalarında pH 10, 11 ve 12 olarak değiştirildiğinde EDN içerikleri sırasıyla %2.7, %29.9 ve %85.2 olarak önemli artış göstermiştir ($p<0.05$). Benzer artışlar reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer sıcaklıklarda da görülmüştür. Daha önce de belirtildiği gibi çapraz bağlı nişasta oluşumu için STMP ve STPP kullanıldığında ortamın alkali olması gerekmektedir

(Lim, 1990). Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanıldığında pH>9.5 olduğunda daha etkili bir şekilde çapraz bağlama gerçekleştiğini belirtmiştir. Bu tez kapsamında ise, Çizelge 5.8'den de görüleceği üzere, pH'nın 11 ve üzeri olduğu reaksiyonlar ile üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin EDN miktarlarında önemli artışlar söz konusudur.

Çizelge 5.8. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN içerikleri^{1,2}

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN* miktarı (%)	YYY ile hesaplanan EDN* miktarı (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		3.0 i	-
38	10	2.7 i	3.1
38	11	29.9 g	28.8
38	12	85.2 b	86.1
46	10.5	2.1 i	6.1
46	11.5	66.0 d	68.3
54	10	2.7 i	2.0
54	11	41.5 f	38.2
54	12	92.2 a	91.7
62	10.5	8.8 h	11.6
62	11.5	71.7 c	76.4
70	10	2.4 i	4.3
70	11	49.3 e	49.4
70	12	95.8 a	97.5

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

²EDN; Enzime dirençli nişasta

Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış genel olarak örneklerin EDN içeriklerinde de artışa neden olmuştur (Çizelge 5.8). Ancak reaksiyonun pH 10'da gerçekleştirildiği örneklerde sıcaklığın 38°C, 54°C veya 70°C olması, çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde olduğu gibi çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin de EDN miktarlarında istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Reaksiyonun pH 12'de gerçekleştirildiği örneklerin EDN içerikleri oldukça yüksek bulunmuş ve sıcaklığın

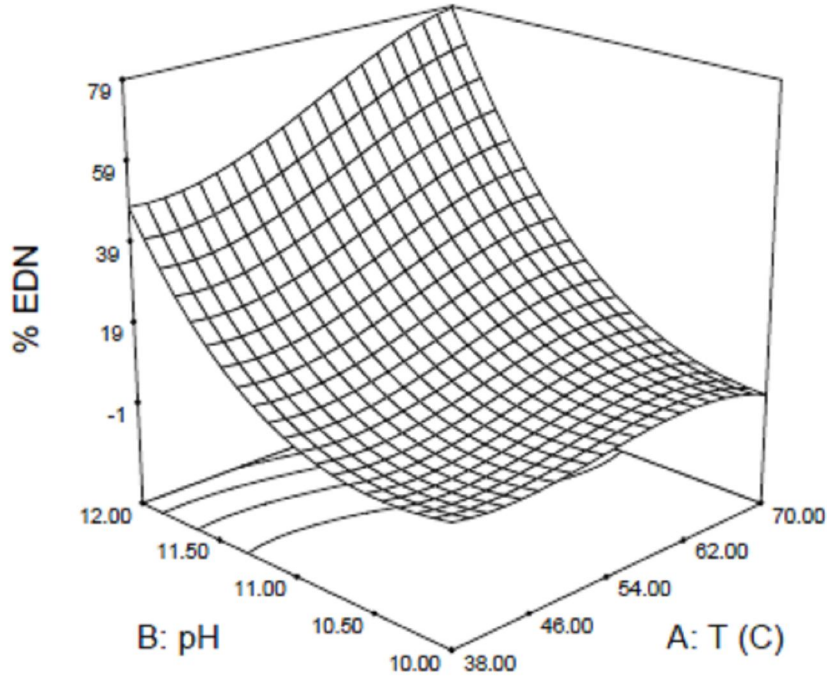
54°C veya 70°C olması örneklerin EDN miktarlarında istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Bu örnekler dışında reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği diğer tüm örneklerde reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin EDN içeriklerinde istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olmuştur ($p < 0.05$). Xie ve Liu (2004) da ürettikleri sitrat nişastalarında benzer sonuç ile karşılaşmıştır. Reaksiyon sıcaklığının artırılması sitrat nişastalarının EDN içeriklerinde artışa neden olmuştur.

Çizelge 5.8 incelendiğinde reaksiyon pH'sının 12 olduğu durumda, 38°C'de üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının EDN miktarı %85.2 iken, reaksiyon pH'sı 11.5 ve sıcaklığı 46°C olduğunda üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının EDN miktarının %66.0 olduğu görülmektedir. Sıcaklık 8°C düşük olmasına rağmen, pH 0.5 birim arttığında EDN miktarı yaklaşık %20 fazla çıkmıştır. Benzer şekilde pH'nın 12 ve sıcaklığın 54°C olduğu reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının EDN miktarı %92.2 iken, pH'nın 11.5 ve sıcaklığın 62°C olduğu reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının EDN miktarı %71.7 olarak belirlenmiştir. Burada da sıcaklık 8°C düşük olmasına rağmen, pH 0.5 birim arttığında EDN miktarı yaklaşık %20 fazla çıkmıştır. Bu durum daha önce de bahsedildiği gibi EDN oluşumunda, pH'nın sıcaklıktan daha önemli bir etkiye sahip olduğunu ve yüksek pH'da gerçekleşen çapraz bağlanmanın sıcaklığın artmasıyla arttığını göstermektedir. Bu tez kapsamında buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinde en yüksek EDN içeriği 70°C ve pH 12'de üretilen örnekte gözlenmiştir (%95.8).

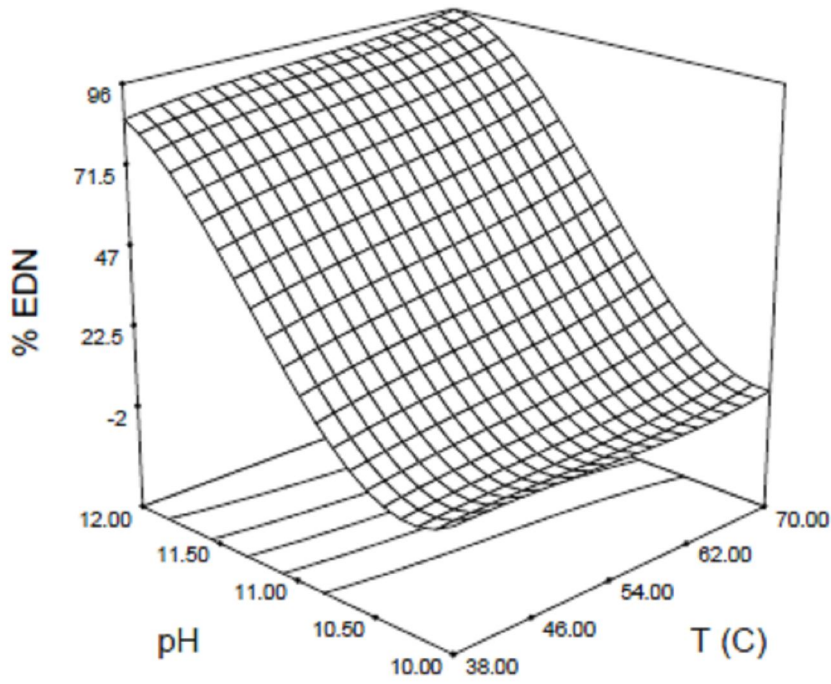
Çapraz bağlı mısır nişastası ve buğday nişastası örneklerinin EDN içeriklerinin sıcaklık ve pH ile değişimleri benzer eğilim gösterse de aralarında dikkat çekici farklar bulunmaktadır. Çizelge 5.7 ve 5.8 incelendiğinde, belli sıcaklık ve pH'da üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin EDN içeriklerinin, aynı sıcaklık ve pH'da üretilen mısır nişastası örneklerinin EDN içeriklerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar Woo ve Seib (2002) ve Shin et al. (2004)'ün çalışmalarında da gözlenmiştir. Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda üretilen çapraz bağlı

mısır ve buğday nişastalarının AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %57.8 ve %75.7 olduğunu bildirmiştir. Shin et al. (2004) da STMP:STPP karışımı ile 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucu üretilen mısır ve buğday nişastalarının AOAC 991.43 besinsel lif tayini metoduna (AOAC, 1998) göre belirlenen EDN içeriklerinin sırasıyla %52.2 ve %72.9 olduğunu bildirmiştir. Örneklerin EDN içerikleri çapraz bağlanma ile arttığı için EDN içeriği çapraz bağlanmanın bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu nedenle, buğday nişastası örneklerinin daha yüksek EDN içeriğine sahip olması, buğday nişastasının yapısal olarak mısır nişastasına göre çapraz bağlanmaya daha uygun olduğunun bir göstergesidir.

Mısır ve buğday nişastaları için YYY ile hesaplanan EDN içeriği verilerine ait yüzey grafikleri sırasıyla Şekil 5.1 ve 5.2'de görülmektedir. Genel olarak yanıt yüzey yönteminde bağımsız değişkenlerin değiştirilmesi ile bağımlı değişken (yanıt) önce bir maksimum veya minimum değere ulaşır (optimum), bu noktaya ulaştıktan sonra tekrar azalma veya artış göstermesi beklenir. Ancak bazı pratik uygulamalarda bağımsız değişkenlerin alabileceği değerler sınırlıdır ve yanıtın bu maksimum veya minimuma ulaşması mümkün olmayabilir. Şekil 5.1 ve 5.2 incelendiğinde de EDN içeriklerinin sıcaklık ve pH'daki artışla birlikte arttığı ancak sıcaklık ve pH için deneyde kullanılan sınırlar arasında bir optimuma ulaşmadığı, maksimum değerlerin sınırlar dışında gerçekleştiği görülmektedir. Diğer yandan daha yüksek sıcaklık ve pH değerlerinde reaksiyon gerçekleştirmek (örnek üretmek) nişastanın çözünürlüğünü arttırdığı için mümkün olamamıştır. Bu nedenle EDN içeriği bakımından bir maksimum değere ulaşmak mümkün olmamıştır.



Şekil 5.1. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği



Şekil 5.2. Çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği

5.2.2. Nişasta örneklerinin fosfor içerikleri

Şekil 4.3'te belirtilen koşullarda üretilen örneklerin fosfor içeriklerini sıcaklık (T) ve pH'nın fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastası örneklerinin fosfor içerikleri (P) için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.3 ve 5.4'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \% P (\text{Mısır}) = & 31.8259 - 0.2051 \times T - 8.0885 \times \text{pH} + 0.01812 \times T \times \text{pH} + \\ & 0.001936 \times T^2 + 0.7181 \times \text{pH}^2 - 0.0001 \times T^2 \times \text{pH} - 0.00031 \times T \times \text{pH}^2 - \\ & 0.0000053 \times T^3 - 0.02167 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.3)$$

$$\begin{aligned} \% P (\text{Buğday}) = & 180.7553 + 0.0844 \times T - 50.3696 \times \text{pH} - 0.02772 \times T \times \\ & \text{pH} + 0.001173 \times T^2 + 4.6878 \times \text{pH}^2 - 0.0000587 \times T^2 \times \text{pH} + 0.001563 \times \\ & T \times \text{pH}^2 - 0.00000285 \times T^3 - 0.145 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.4)$$

Yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin fosfor içerikleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan fosfor içerikleri Çizelge 5.9'da, buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan fosfor içerikleri ise Çizelge 5.10'da verilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak çapraz bağlı mısır nişastası örnekleri için hesaplanan fosfor içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.995 olarak saptanmıştır. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin fosfor içeriklerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.9. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan fosfor içerikleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen fosfor miktarı (%)	YYY ile hesaplanan fosfor miktarı (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		0.01 i	-
38	10	0.08 h	0.08
38	11	0.20 d	0.19
38	12	0.30 b	0.29
46	10.5	0.14 f	0.12
46	11.5	0.28 bc	0.27
54	10	0.07 h	0.06
54	11	0.21 d	0.22
54	12	0.36 a	0.35
62	10.5	0.17 e	0.16
62	11.5	0.34 a	0.32
70	10	0.10 g	0.10
70	11	0.26 c	0.25
70	12	0.37 a	0.36

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.9 incelendiğinde aynı sıcaklıkta reaksiyonun gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sındaki artışın örneklerin fosfor içeriklerinde istatistiksel olarak önemli artışa neden olduğu görülmektedir (p<0.05). Örneğin 38°C'de ve pH 10'da gerçekleştirilen reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı mısır nişastasının fosfor içeriği %0.08 iken, aynı sıcaklıkta pH 11 ve pH 12'de üretilen örneklerin fosfor içerikleri sırasıyla %0.20 ve %0.30'dur. Benzer artışlar reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer tüm sıcaklıklarda üretilen örneklerde de görülmüştür.

Bunun yanı sıra, aynı pH'da reaksiyonun gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış, genel olarak örneklerin fosfor içeriklerinde önemli artışa neden olmuştur. Örneğin pH 10 olduğunda reaksiyon sıcaklığının 38°C veya 54°C olması örneklerin fosfor içeriklerinde önemli artışa neden olmazken, sıcaklık 70°C

olduğunda fosfor içeriğinde önemli artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Benzer durum pH'nın 11 olduğu reaksiyon sonucu üretilen örneklerde de geçerlidir. Reaksiyon pH'sı 12 olduğunda ise 38°C'de üretilen örneğin fosfor içeriği, 54°C ve 70°C'de üretilen örneklerin fosfor içeriklerine göre önemli derecede düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Bu pH'da sıcaklığın 54°C veya 70°C olması örneklerin fosfor içeriklerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır ($p<0.05$). Reaksiyon pH'sı hem pH 10.5 hem de 11.5 olduğunda, reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin fosfor içeriklerinde önemli artışa neden olmuştur ($p<0.05$).

CFR tarafından STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların gıdalarda kullanımıyla ilgili bir kısıtlama getirilmiştir. Buna göre STMP ve STPP'nin birlikte kullanılması ile üretilen çapraz bağlı nişastanın fosfor içeriği maksimum %0.4 olmalıdır. Bu tez kapsamında mısır nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerindeki en yüksek fosfor içeriği 70°C ve pH 12'de üretilen örnekte gözlenmiştir ve %0.37'dir. Bu değer CFR tarafından izin verilen maksimum değer altındadır. Literatür taraması sırasında da STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların fosfor içeriklerinin %0.4'ün üzerine çıkmadığı görülmüştür. Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda üretilen çapraz bağlı mısır nişastasının fosfor içeriğini %0.33 olarak belirlemiştir. Chung et al. (2004) da STMP:STPP karışımı kullanarak 45°C ve pH 11'de çapraz bağlı mısır nişastası üretmişler ve kullanılan STMP:STPP karışımı miktarının fosfor içeriğine etkisini incelemişlerdir. Nişastanın %4'ü oranında STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinin fosfor içeriği %0.14 iken, bu karışımdan %12 oranında kullanıldığında çapraz bağlı mısır nişastası örneğinin fosfor içeriği %0.37'ye yükselmiştir.

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan fosfor içerikleri Çizelge 5.10'da verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak çapraz bağlı buğday nişastası örnekleri için hesaplanan fosfor içeriklerinin, deneysel verilerle

karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.997 olarak saptanmıştır. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin fosfor içeriklerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.10. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan fosfor içerikleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen fosfor miktarı (%)	YYY ile hesaplanan fosfor miktarı (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		0.06 e	-
38	10	0.14 d	0.14
38	11	0.33 c	0.33
38	12	0.44 b	0.44
46	10.5	0.16 d	0.17
46	11.5	0.43 b	0.44
54	10	0.13 d	0.13
54	11	0.33 c	0.31
54	12	0.47 ab	0.47
62	10.5	0.17 d	0.18
62	11.5	0.45 ab	0.4
70	10	0.18 d	0.18
70	11	0.33 c	0.33
70	12	0.50 a	0.50

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

Çizelge 5.10 incelendiğinde Çizelge 5.9'daki sonuçlara benzer sonuçlar gözlenmektedir. Aynı sıcaklıkta reaksiyonun gerçekleştirildiği çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sındaki artış, örneklerin fosfor içeriklerinde de önemli artışa neden olmuştur ($p < 0.05$). Örneğin 38°C'de ve pH 10'da gerçekleştirilen reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneğinin fosfor içeriği %0.14 iken, aynı sıcaklıkta pH 11 ve pH 12'de üretilen örneklerin fosfor içerikleri sırasıyla %0.33 ve %0.44'tür. Benzer artışlar reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer tüm sıcaklıklarda üretilen örnekler için de geçerlidir.

Aynı pH'da reaksiyon gerçekleştirildiğinde, reaksiyon sıcaklığındaki artış, mısır

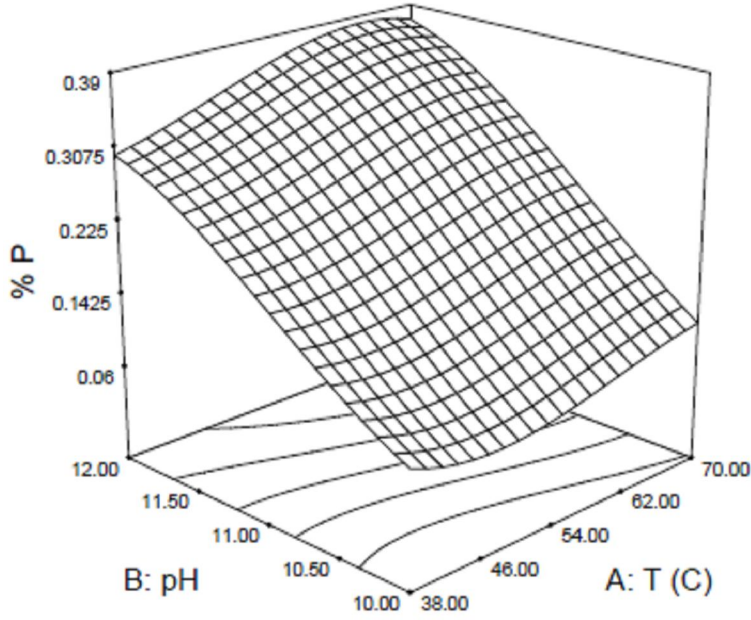
nişastasından üretilen çapraz bağlı örneklerin aksine, genellikle fosfor içeriklerinde önemli artışa neden olmamıştır (Çizelge 5.10). pH 10, 10.5, 11 ve 11.5 olduğunda, reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin fosfor içeriklerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Reaksiyon pH'sı 12 ve sıcaklığı 38°C olduğunda üretilen örneğin fosfor içeriği, aynı pH'da sıcaklık 54°C olduğunda üretilen örneğin fosfor içeriğinden istatistiksel olarak farklı bulunmamışken, aynı pH'da 38°C ve 70°C'de üretilen örneklerin fosfor içerikleri arasında önemli fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

Buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerindeki en yüksek fosfor içeriği 70°C ve pH 12'de üretilen örnekte gözlenmiştir ve %0.50'dir. Bu değer CFR tarafından izin verilen maksimum değer üstündedir. Literatürde STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı buğday nişastalarının fosfor içeriklerinin %0.4'ün üzerine çıkmadığı görülmüştür. Woo ve Seib (2002) STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının fosfor içeriğini %0.32 olarak belirlemiştir. Woo ve Seib (2002) ayrıca aynı reaksiyon koşullarında karışımdaki STMP ve STTP oranlarını değiştirerek çapraz bağlı buğday nişastası üretmiştir. STMP:STPP oranının 1:99 olduğu reaksiyon sonucu üretilen örneğin fosfor içeriği %0.03 iken, STMP:STPP oranının 99:1 olduğu reaksiyonda ise fosfor miktarı %0.32 olarak belirlenmiştir. Woo ve Seib (2002) reaksiyon süresinin çapraz bağlı nişastaların fosfor içeriğine etkisini de incelemiştir. 45°C ve pH 11.5'te üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon süresi 1 saat olduğunda fosfor içeriği %0.13 iken, 7 saat reaksiyon sonucunda bu değer %0.38'e yükselmiştir.

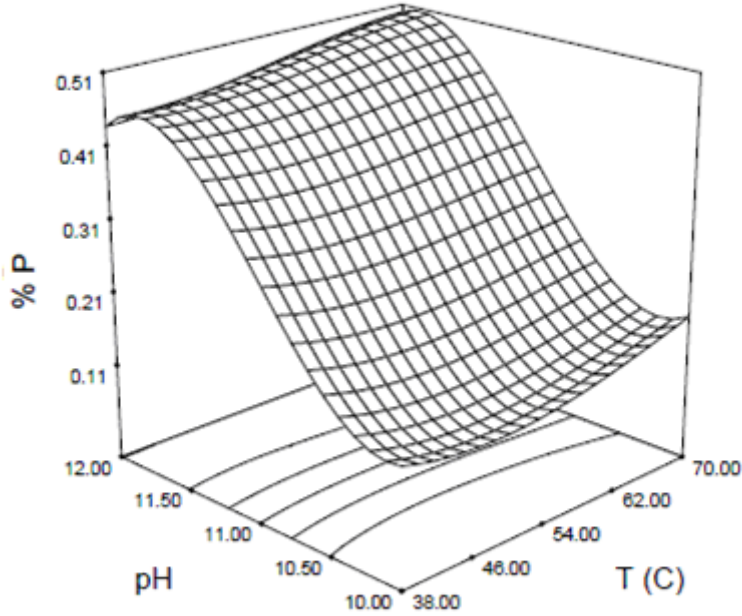
Çapraz bağlı mısır nişastası ve buğday nişastası örneklerinin fosfor içeriklerinin reaksiyon sıcaklık ve pH'sı ile değişimi benzer eğilim göstermektedir. Ancak belli sıcaklık ve pH'da üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin fosfor içerikleri, aynı sıcaklık ve pH'da üretilen mısır nişastası örneklerinin fosfor içeriklerinden daha yüksektir. Fosfor içeriğinin çapraz bağlanmanın bir göstergesi olduğu düşünülürse, buğday nişastası örneklerinin daha yüksek fosfor içeriğine sahip olması, buğday nişastasının yapısal olarak çapraz bağlanmaya daha uygun

olduğu fikrini desteklemektedir.

Mısır ve buğday nişastaları için YY ile hesaplanan fosfor içeriği verilerine ait yüzey grafikleri sırasıyla Şekil 5.3 ve 5.4'te görölmektedir.



Şekil 5.3. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin fosfor içeriği verilerine ait yüzey grafiği



Şekil 5.4. Çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin fosfor içeriği verilerine ait yüzey grafiği

Daha önce de belirtildiği gibi genel olarak yanıt yüzey yönteminde bağımsız değişkenlerin değiştirilmesi ile bağımlı değişken (yanıt) önce bir maksimum veya minimum değere ulaşır (optimum), bu noktaya ulaştıktan sonra tekrar azalma veya artış göstermesi beklenir. Ancak bazı pratik uygulamalarda bağımsız değişkenlerin alabileceği değerler sınırlıdır ve yanıtın bu maksimum veya minimuma ulaşması mümkün olmayabilir. Şekil 5.3 ve 5.4 incelendiğinde de P içeriklerinin sıcaklık ve pH'daki artışla birlikte arttığı ancak sıcaklık ve pH için deneyde kullanılan sınırlar arasında bir optimuma ulaşmadığı, maksimum değer sınırlar dışında gerçekleştiği görülmektedir. Diğer yandan daha yüksek sıcaklık ve pH değerlerinde örnek üretmek nişastanın çözünürlüğünü arttırdığı için mümkün olamamıştır. Bu nedenle EDN içeriği sonuçlarında olduğu gibi P içeriği bakımından da bir maksimum değere ulaşmak mümkün olmamıştır.

Bu tez kapsamındaki başlıca amaçlardan biri yüksek EDN içerikli çapraz bağlı nişasta üretimidir. Bu nedenle en yüksek EDN üretimini sağlayacak reaksiyon koşullarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Ancak daha önce belirtildiği gibi CFR tarafından STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların gıdalarda kullanımıyla ilgili bir kısıtlama getirilmiştir. Buna göre STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastalarda fosfor içeriği maksimum %0.4 olmalıdır. Bu nedenle üretilen nişastada fosfor içeriği sınırlayıcı bir faktördür ve maksimum %0.4 oranında fosfor içeren ve en yüksek EDN içeriğine sahip olan nişasta üretiminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Hem mısır hem de buğday nişastası kullanıldığında maksimum EDN miktarı 70°C ve pH 12'de reaksiyon gerçekleştiğinde elde edilmiştir (mısır; %78.4, buğday; %95.8). Bu koşullarda üretilen mısır nişastasının fosfor içeriği izin verilen sınırın altındayken (%0.37), buğday nişastası için bu miktar izin verilen sınırdan yüksektir (%0.50).

5.2.3. Nişasta örneklerinin termal özellikleri

Şekil 4.3'te belirtilen koşullarda üretilen örneklerin termal özelliklerini (T_o , T_p ve ΔH) reaksiyon sıcaklığı (T) ve pH'sının fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin başlangıç sıcaklığı (T_o), pik sıcaklığı (T_p) ve entalpi (ΔH)

değerleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.5, 5.6 ve 5.7'de verilmiştir.

$$T_o (\text{Mısır}) = 1702.2036 - 7.9933 \times T - 398.0044 \times \text{pH} + 0.94304 \times T \times \text{pH} + 0.05488 \times T^2 + 32.6502 \times \text{pH}^2 - 0.00264 \times T^2 \times \text{pH} - 0.02969 \times T \times \text{pH}^2 - 0.000169 \times T^3 - 0.8917 \times \text{pH}^3 \quad (5.5)$$

$$T_p (\text{Mısır}) = 937.9019 - 5.73 \times T - 204.7591 \times \text{pH} + 0.6216 \times T \times \text{pH} + 0.0457 \times T^2 + 16.393 \times \text{pH}^2 - 0.001953 \times T^2 \times \text{pH} - 0.01875 \times T \times \text{pH}^2 - 0.0001546 \times T^3 - 0.4333 \times \text{pH}^3 \quad (5.6)$$

$$\Delta H (\text{Mısır}) = -65.8849 + 16.5274 \times T - 56.9312 \times \text{pH} - 2.1437 \times T \times \text{pH} - 0.092 \times T^2 + 10.358 \times \text{pH}^2 + 0.00508 \times T^2 \times \text{pH} + 0.07187 \times T \times \text{pH}^2 + 0.0002238 \times T^3 - 0.433 \times \text{pH}^3 \quad (5.7)$$

Yanıt yüzey yöntemi ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin T_o , T_p ve ΔH değerleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan T_o , T_p ve ΔH değerleri Çizelge 5.11'de verilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak mısır nişastası için hesaplanan T_o , T_p ve ΔH değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değerleri sırasıyla 0.996, 0.994 ve 0.944 olarak saptanmıştır. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin T_o , T_p ve ΔH değerlerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemlerin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.11. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan DSC değerleri^{1,2}

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen T _o (°C)	YYY ile hesaplanan T _o (°C)	Deneysel olarak belirlenen T _p (°C)	YYY ile hesaplanan T _p (°C)	Deneysel olarak belirlenen ΔH (J/g)	YYY ile hesaplanan ΔH (J/g)
T (°C)	pH						
Kontrol		69.4 f	-	73.4 g	-	6.0 cd	-
38	10	69.2 f	69.1	72.9 g	72.8	9.1 ab	9.5
38	11	70.0 e	70.1	74.5 f	74.7	9.5 ab	10.0
38	12	75.2 b	75.0	79.4 b	79.4	7.6 bcd	8.1
46	10.5	69.2 f	68.9	73.2 g	73.5	10.4 a	10.2
46	11.5	72.9 c	73.0	77.4 d	77.5	8.2 abc	8.7
54	10	69.3 f	69.1	73.0 g	73.3	10.5 a	10.9
54	11	71.6 d	71.4	76.4 e	76.0	7.6 bcd	8.8
54	12	76.7 a	76.8	80.5 a	80.8	5.8 d	6.5
62	10.5	70.1 e	70.3	74.8 f	74.9	8.7 ab	9.1
62	11.5	74.8 b	74.5	78.5 c	78.8	7.5 bcd	7.4
70	10	70.2 e	70.1	74.2 f	74.3	10.4 a	10.7
70	11	72.0 d	72.1	76.4 e	76.7	7.9 bcd	8.5
70	12	76.3 a	76.3	80.7 a	80.8	7.7 bcd	7.4

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

²T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH: Enerji

Aynı sıcaklıkta üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sının artması örneklerin T_o ve T_p değerlerinde önemli (p<0.05) artışa neden olmuştur (Çizelge 5.11). Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastalarında pH 10, 11 ve 12 olarak değiştirildiğinde T_o değerleri sırasıyla 69.2°C, 70.0°C ve 75.2°C olarak önemli artış göstermiştir (p<0.05). Aynı sıcaklıkta reaksiyonun gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastalarında pH 10, 11 ve 12 olarak değiştirildiğinde ise T_p değerleri sırasıyla 72.9°C, 74.5°C ve 79.4°C olarak önemli artış göstermiştir (p<0.05). Benzer artışlar reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer sıcaklıklarda da görülmüştür. Aynı sıcaklıkta üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sının artması örneklerin entalpi (ΔH) değerlerinde genellikle istatistiksel olarak önemli olmayan düşüşe neden olmuştur. Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde pH'nın 10, 11 veya 12 olması örneklerin ΔH değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Reaksiyonun 54°C'de gerçekleştirildiği örneklerde ise reaksiyon pH'sının 11 ve 12 olması örneklerin ΔH

değerleri arasında önemli bir değişime neden olmamış, bu sıcaklıkta reaksiyon pH'sı 10 olduğunda üretilen örneğin ΔH değeri önemli derecede daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çeşitli araştırmacılar STMP:STPP karışımı kullanılarak gerçekleştirilen çapraz bağlanmanın, nişasta örneklerinin T_o ve T_p değerlerinde artışa, ΔH değerlerinde ise genellikle düşüğe neden olduğunu belirtmişlerdir. Bir çalışmada doğal haldeki mısır nişastasının T_o ve T_p değerlerinin sırasıyla 64.3°C ve 69.4°C olduğu, bu değerlerin STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda 69.6°C ve 74.8°C 'e arttığı belirtilmiştir (Woo ve Seib, 2002). Başka bir çalışmada farklı oranlarda STMP:STPP karışımı kullanılarak 50°C ve pH 11'de üretilen çapraz bağlı pirinç nişastası örneklerinde çağraz bağlama sonucunda DSC endotermelerinin daraldığı, jelatinizasyon sıcaklığının 5°C kadar arttığı, ΔH değerinin ise çapraz bağlanmadan etkilenmediği belirtilmiştir (Chatakanonda et al., 2000). Ayrıca STMP:STPP karışımının ilave oranı arttıkça çapraz bağlı pirinç nişastası örneklerinin T_o ve T_p değerlerinde artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Doğal pirinç nişastasının T_o değeri 69.9°C iken, %12.2, %18.2 ve %26.2 oranında STMP:STPP karışımı ilave edilerek üretilen çapraz bağlı pirinç nişastası örneklerinin T_o değerleri sırasıyla 70.6°C , 70.8°C ve 70.3°C olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar benzer artışın T_p değerlerinde de gözlemlendiğini belirtmişler ve doğal pirinç nişastası ile %12.2, %18.2 ve %26.2 oranında STMP:STPP karışımı ilave edilerek üretilen çapraz bağlı pirinç nişastası örneklerinin T_p değerlerini sırasıyla 75.2°C , 76.5°C , 77.7°C ve 79.5°C olarak belirlemişlerdir.

Şekil 4.3'te belirtilen koşullarda üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin termal özelliklerini (T_o , T_p ve ΔH) reaksiyon sıcaklığı (T) ve pH'sının fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin T_o , T_p ve ΔH değerleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.8, 5.9 ve 5.10'da verilmiştir.

$$T_o (\text{Buğday}) = -1096.7537 + 4.4747 \times T - 281.8920 \times \text{pH} - 0.5162 \times T \times \text{pH} + 0.025 \times T^2 - 24.4762 \times \text{pH}^2 - 0.00049 \times T^2 \times \text{pH} + 0.0203 \times T \times \text{pH}^2 + 0.000108 \times T^3 - 0.6917 \times \text{pH}^3 \quad (5.8)$$

$$T_p (\text{Buğday}) = 376.3004 + 0.8742 \times T - 73.9335 \times \text{pH} - 0.1518 \times T \times \text{pH} + 0.00072 \times T^2 + 5.3587 \times \text{pH}^2 - 0.003125 \times T^2 \times \text{pH} + 0.0219 \times T \times \text{pH}^2 + 0.0002075 \times T^3 - 0.13333 \times \text{pH}^3 \quad (5.9)$$

$$\Delta H (\text{Buğday}) = 563.9270 + 0.6925 \times T - 155.3014 \times \text{pH} - 0.7989 \times T \times \text{pH} + 0.0653 \times T^2 + 16.1431 \times \text{pH}^2 + 0.000586 \times T^2 \times \text{pH} + 0.03438 \times T \times \text{pH}^2 - 0.0004273 \times T^3 - 0.55 \times \text{pH}^3 \quad (5.10)$$

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan T_o , T_p ve ΔH değerleri Çizelge 5.12’de verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak buğday nişastası için hesaplanan T_o , T_p ve ΔH değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değerleri sırasıyla 0.986, 0.999 ve 0.976 olarak belirlenmiştir. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin T_o , T_p ve ΔH değerlerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemlerin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.12 incelendiğinde çapraz bağlı mısır nişastasının termal özelliklerinde gözlenen eğilimin (Çizelge 5.11), çapraz bağlı buğday nişastasında da gözlendiği görülmektedir. Aynı sıcaklıkta üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon pH’sının artması örneklerin T_o ve T_p değerlerinde genellikle önemli ($p < 0.05$) artışa neden olmuştur (Çizelge 5.12). Örneğin reaksiyonun 38°C ’de gerçekleştirildiği çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon pH’sı 10’dan 11’e çıkarıldığında örneklerin T_o değerlerinde önemli olmayan bir artış gözlenmiş, aynı sıcaklıkta reaksiyon pH’sı 12 olan örneğin T_o değerindeki artış ise önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Reaksiyonun 70°C ’de pH 10 ve 11’de gerçekleştiği örneklerin dışında, her bir sıcaklık derecesinde üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin tümünde reaksiyon pH’sındaki artış örneklerin T_p

değerlerinde önemli artışa neden olmuştur ($p < 0.05$). Üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin ΔH değerleri arasında bazı farklar olsa da bu farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Aynı pH'da üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon sıcaklığındaki artış, tüm örneklerin T_o ve T_p değerlerinde artışa neden olmuştur ve bu artışların sadece bazıları önemli bulunmuştur (Çizelge 5.12).

Çizelge 5.12. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan DSC değerleri^{1,2}

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen T_o (°C)	YYY ile hesaplanan T_o (°C)	Deneysel olarak belirlenen T_p (°C)	YYY ile hesaplanan T_p (°C)	Deneysel olarak belirlenen ΔH (J/g)	YYY ile hesaplanan ΔH (J/g)
T (°C)	pH						
Kontrol		61.0 f	-	65.4 i	-	5.6	-
38	10	61.6 f	61.7	65.4 i	65.6	7.8	7.9
38	11	62.6 ef	62.1	67.1 h	67.3	7.6	7.5
38	12	67.3 b	67.4	72.3 b	72.5	5.6	5.7
46	10.5	62.5 ef	62.6	66.7 h	66.7	6.3	6.3
46	11.5	66.0 bc	65.8	70.6 cd	70.8	5.4	5.6
54	10	65.1 cd	64.7	66.5 h	66.7	7.2	7.1
54	11	63.8 de	64.4	68.2 fg	68.7	6.2	6.3
54	12	70.1 a	69.6	74.7 a	75.0	5.3	5.2
62	10.5	64.4 cd	64.2	67.4 gh	67.6	6.8	7.0
62	11.5	67.0 b	67.1	71.5 bc	71.6	6.7	6.7
70	10	66.1 bc	66.3	69.1 ef	69.3	7.2	7.2
70	11	66.0 bc	65.6	69.8 de	70.1	6.5	6.4
70	12	70.9 a	71.0	75.4 a	75.8	6.2	6.3

ÖD³

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

² T_o : Başlangıç sıcaklığı; T_p : Pik sıcaklığı; ΔH : Enerji

³Ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark yoktur

Chatakanonda et al. (2000) ve Woo ve Seib (2002) de çalışmalarında bu tez kapsamındaki sonuçlara uyumlu olarak STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin T_o ve T_p değerlerinin arttığını belirtmişlerdir. Woo ve Seib (2002) buğday nişastasının T_o değerinin 56.6°C 'den, STMP:STPP karışımı kullanılarak 45°C ve pH 11.5'te 3 saat reaksiyon sonucunda 60.9°C 'ye arttığını belirtmiştir. Ayrıca buğday nişastasının T_p değerinin çapraz bağlama ile 61.4°C 'den 69.7°C 'ye yükseldiğini belirtmişlerdir. Çapraz bağlama ile ΔH

değerinde ise 9.8 J/g'dan 8.9 J/g'a düşüş gözlenmiştir. Woo ve Seib (2002) çapraz bağlı nişastaların jelatinizasyon sıcaklığında görülen artışın çapraz bağlanmanın sonucunda nişasta granülündeki kristallerin erimesinin engellemesinin neden olduğunu belirtmiştir. Chatakanonda et al. (2000) STMP:STPP karışımının ilave oranının artmasıyla çapraz bağlı pirinç nişastası örneklerinin T_o ve T_p değerlerinde artış gözlendiğini belirtmiştir. Pirinç nişastası örneklerinin ΔH değerlerinde ise çapraz bağlama sonucunda bir değişim gözlenmemiştir.

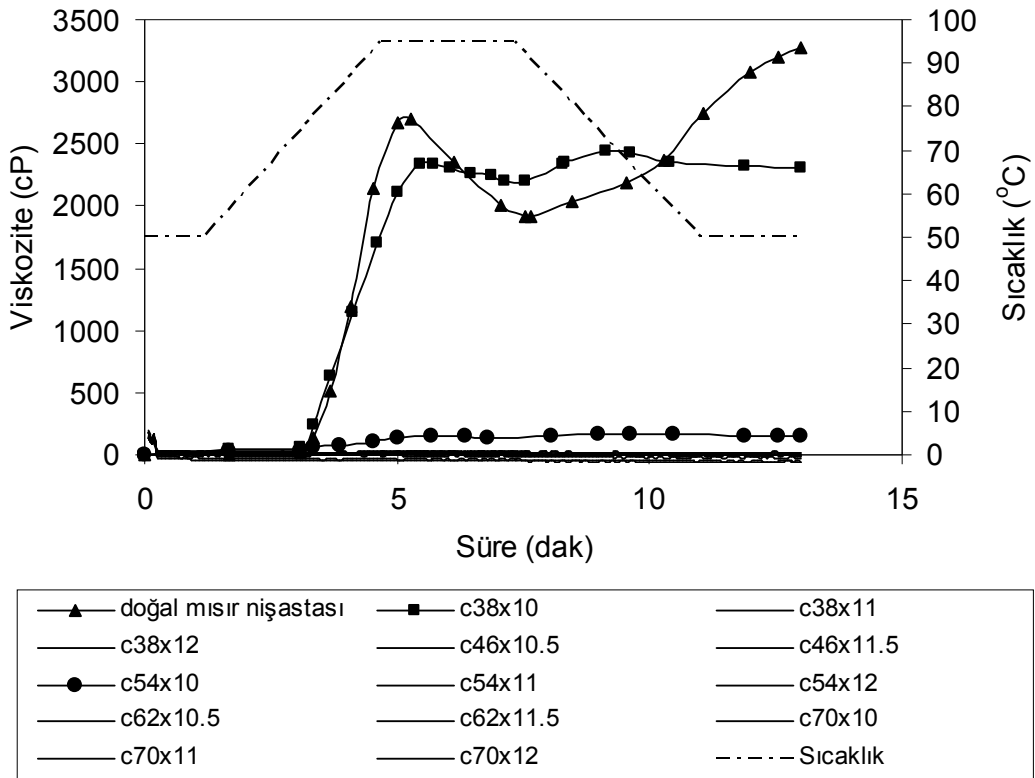
5.2.4. Nişasta örneklerinin mikroviskoanalizördeki davranışları

Mısır ve buğday nişastası kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerine ait RVA grafikleri sırasıyla Şekil 5.5 ve 5.6'da verilmiştir. Hem mısır hem buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişastaların çoğunun RVA'da belirlenen viskoziteleri sıfır çizgisine çok yakın düz bir çizgi halinde ilerlemiştir. Bu nedenle bu örnekler RVA'da tipik bir grafik oluşturmamıştır.

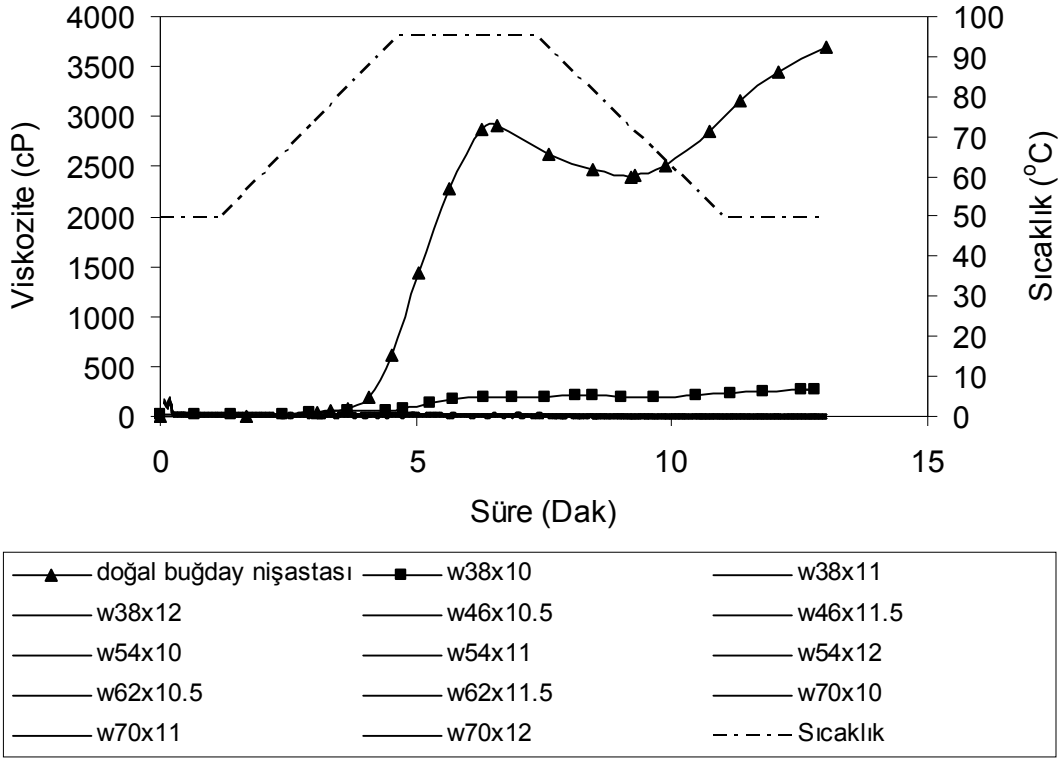
Reaksiyon sıcaklığının 38°C ve pH'sının 10 olduğu durumda üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneği ise RVA'da diğerlerinden oldukça farklı bir viskozite eğrisi oluşturmuştur (Şekil 5.5). Bu örnekte shear thinning (karıştırma ile viskozite azalması) çok az gözlenmiştir. Diğer yandan aynı koşullarda üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının bu tip bir viskozite eğrisi oluşturmadığı, sıfır çizgisine yakın bir viskozite eğrisi oluşturduğu görülmektedir (Şekil 5.6). EDN ve fosfor içeriği sonuçlarında da belirtildiği gibi buğday nişastası yapısal olarak çapraz bağlanmaya daha uygundur. Bu nedenle buğday nişastasından üretilen tüm çapraz bağlı nişastalar (38°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı nişasta örneği dahil olmak üzere) RVA'da nişasta için tipik sayılabilecek bir grafik vermemiş, tüm çapraz bağlı buğday nişastaları sıfır çizgisine yakın viskozite eğrisi oluşturmuştur.

Çapraz bağlanma sonucunda nişastanın hidroksil grupları arasında intermoleküler bağ oluşmaktadır. Kovalent bağlardan oluşan bu ağ yapısı, nişastanın daha az şişmesine neden olmakta (Chung et al., 2004) dolayısıyla çapraz bağlı nişastalar RVA'da ısıtma sırasında normal nişastalara göre çok daha az şişmekte ve viskozite eğrisi oluşturmamaktadır. Chatakanonda et al. (2000) da benzer şekilde çapraz bağlanma nedeniyle oluşan kovalent bağların nişasta granülünü sıkıca bir

araya getirdiğini dolayısıyla moleküler mobilitenin kısıtlandığını belirtmiştir. Çapraz bağlı nişastaların şişmemesinin temel nedeni muhtemelen moleküler mobilitede gözlenen bu azalmadır. Birçok çalışmada bu tez kapsamında elde edilen sonuçlara benzer Amilograf/RVA sonuçları gözlenmiştir. Woo ve Seib (2002) ve Chung et al. (2004; 2010) STMP:STPP karışımı kullanılarak hazırlanan çapraz bağlı nişastaların Amilograf/RVA'da viskozite eğrisi oluşturmadığını belirtmişlerdir. Xie ve Liu (2004) da sitrat nişastalarının RVA'da viskozite eğrisi oluşturmadığını belirtmiştir.



Şekil 5.5. Mısır nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerine ait RVA grafikleri (c mısır nişastasını; örnek kodlamalarındaki birinci sayı sıcaklığı, ikinci sayı pH'yı ifade etmektedir)



Şekil 5.6. Buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerine ait RVA grafikleri (w buğday nişastasını; örnek kodlamalarındaki birinci sayı sıcaklığı, ikinci sayı pH'yı ifade etmektedir)

5.2.5. Nişasta örneklerinin ısıtmalı mikroskopta şişme özellikleri

Nişasta granüllerinin ısıtılması sonucunda granül boyutlarında meydana gelen değişikliği izlemek amacıyla nişasta-su preparatı mikroskoba bağlı bir ısıtıcı ile ısıtılmıştır. Granüllerin ısıtma öncesi ve sonrası belirlenen alanlarından, alan artış değeri hesaplanmıştır. Örneklerin alan artışı (%) değerlerini sıcaklık (T) ve pH'nın fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastası örneklerinin ısıtma sonrası alan artışı (%) değerleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.11 ve 5.12'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \% \text{ Alan artışı (Mısır)} = & 27636.0152 - 326.1527 \times T - 5494.906 \times \text{pH} + \\ & 49.0878 \times T \times \text{pH} + 0.7933 \times T^2 + 356.0609 \times \text{pH}^2 - 0.0687 \times T^2 \times \text{pH} - \\ & 1.8172 \times T \times \text{pH}^2 - 0.00012 \times T^3 - 7.3917 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.11)$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Alan artışı (Buğday)} = & - 25519.599 - 185.0090 \times T + 8033.6285 \times \text{pH} + \\ & 32.3358 \times T \times \text{pH} - 0.0180 \times T^2 - 809.8902 \times \text{pH}^2 - 0.0461 \times T^2 \times \text{pH} - \\ & 1.1969 \times T \times \text{pH}^2 + 0.00344 \times T^3 + 26.2667 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.12)$$

YYY ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.11 kullanılarak YYY ile hesaplanan ısıtma sonrası alan artışı değerleri Çizelge 5.13'te verilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak mısır nişastası için hesaplanan alan artışı değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.992 olarak saptanmıştır. Çizelge 5.13'teki koşullarda üretilen örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.13 incelendiğinde çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin ısıtmalı mikroskop kullanılarak belirlenen alan artışı değerlerinin, doğal haldeki mısır nişastası örneğinin alan artışı değerinden istatistiksel olarak düşük olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Doğal haldeki mısır nişastasının ısıtma sonrası alan artışı değeri %693 iken, bu değer 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinde %179'a kadar düşmüştür. Bu nişastaların ısıtma öncesi ve ısıtma sonrası granül şekillerine ait seçilen mikroskop görüntüleri sırasıyla Şekil 5.7 ve 5.8'de verilmiştir. Şekil 5.7 incelendiğinde "1" numara ile işaretlenen doğal mısır nişastası granülünün ısıtma sonucunda çok fazla şiştiği, granülün şeklinin bozulduğu ve çeperlerinin belirsizleştiği görülmektedir. Buna karşın 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğine ait "2" numara ile işaretlenen granülün ısıtma sonrasında doğal mısır nişastasına kıyasla çok daha az şiştiği ve granül şeklinde önemli bir değişme meydana gelmediği görülmektedir (Şekil 5.8). Aynı sıcaklıkta üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sının artması ısıtma sonrası alan artışı değerlerinde istatistiksel olarak önemli

bir düşüğe neden olmuştur ($p<0.05$). Örneğin reaksiyonun 38°C 'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde, reaksiyon pH'sı 10, 11 ve 12 olduğunda ısıtma sonrası alan artışı değerleri sırasıyla %420, %262 ve %207 olarak önemli düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Benzer düşüşler reaksiyonun gerçekleştirildiği tüm sıcaklıklarda da görülmüştür. Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış genel olarak örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinde düşüğe neden olmuştur. Sadece pH 11 ve 12'de üretilen örneklerde reaksiyon sıcaklığının 54°C veya 70°C olması örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerleri arasında istatistiksel olarak önemli fark yaratmamıştır.

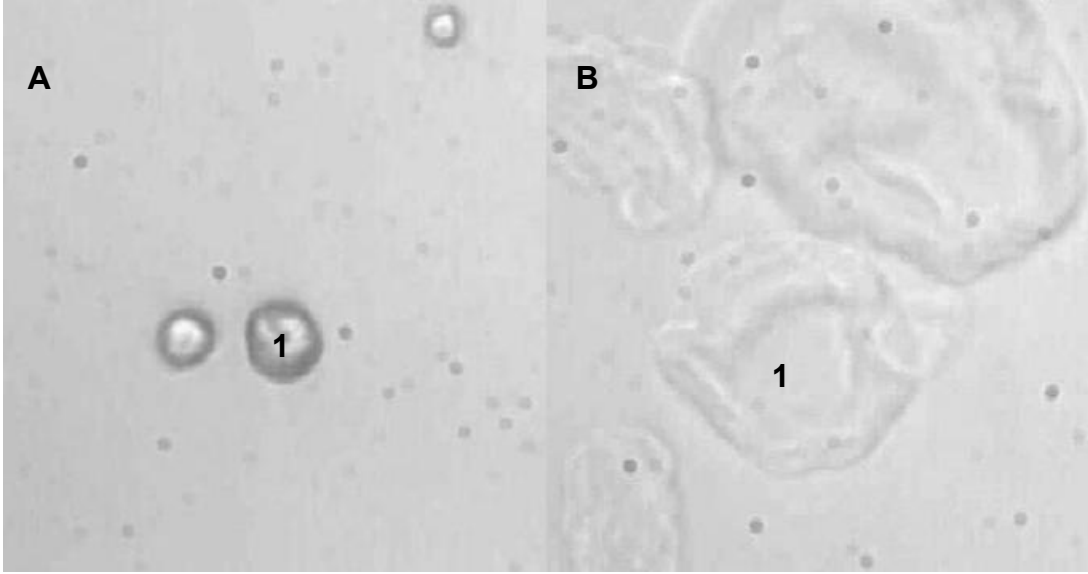
Çizelge 5.13. Çapraz bağlı mısır nişastası granüllerinde ısıtma sonrası belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan alan artışı değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen alan artışı (%)	YYY ile hesaplanan alan artışı (%)
T ($^{\circ}\text{C}$)	pH		
Kontrol		693.3 a	-
38	10	420.0 b	415.6
38	11	262.1 f	267.4
38	12	207.1 h	205.2
46	10.5	293.6 d	292.8
46	11.5	231.6 g	219.8
54	10	308.3 c	312.5
54	11	239.0 g	237.9
54	12	187.5 i	191.4
62	10.5	269.9 ef	256.8
62	11.5	213.4 h	210.9
70	10	278.3 e	273.7
70	11	235.5 g	237.7
70	12	179.3 i	171.5

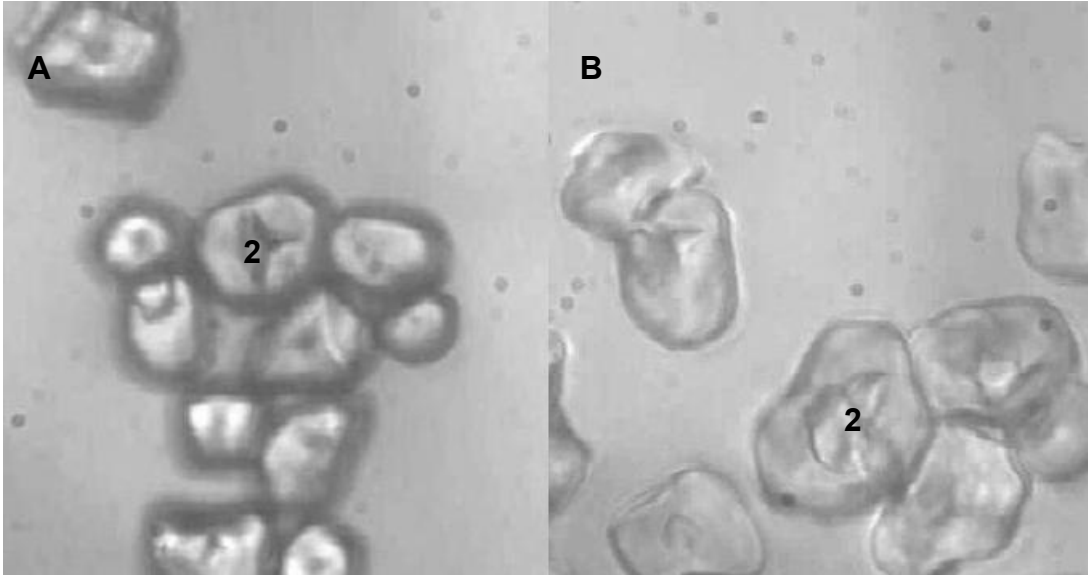
¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Chatakanonda et al. (2000) STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı pirinç nişastasına ait granüllerin ısıtma sırasındaki değişikliklerini bu tez kapsamında olduğu gibi ısıtma sistemi ve kamera bulunan bir mikroskopla

incelemiştir. Benzer şekilde doğal nişastanın ısıtma sırasında aşırı miktarda şiştiğini, deformasyona uğrayıp parçalandığını, çapraz bağlı nişastaların ise daha az şiştiğini ve çok yüksek sıcaklıklarda bile parçalanmadığını belirtmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi çapraz bağlanma sonucu gerçekleşen kovalent bağların oluşturduğu ağ yapı, şişmeye karşı oldukça dayanıklıdır (Chatakanonda et al., 2000; Chung et al., 2004).



Şekil 5.7. Doğal mısır nişastasının ısıtmalı mikroskopta ısıtma öncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri



Şekil 5.8. 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinin ısıtmalı mikroskopta ısıtma öncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri

Bu tez kapsamında üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin ısıtma ile alan artışı değerleri ve örneklerin RVA sonuçları birbirini desteklemektedir. Daha önce 38°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinin diğer çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinden farklı olarak yüksek bir viskozite eğrisi gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 5.5). Bu örneğin alan artışı değerinin (%420) diğer çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin alan artışı değerlerinden oldukça yüksek olması RVA sonucu ile paralellik göstermektedir. 38°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinden sonra en yüksek alan artışı değerine sahip olan örnek 54°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğidir (%308) ve bu örnek RVA'da oldukça düşük viskozite eğrisi oluşturmuştur. Sonuç olarak Çizelge 5.13'teki koşullarda üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde alan artışı değerinin %308'den düşük olması durumunda örneklerin RVA'da viskozite eğrisi oluşturmadığı söylenebilir.

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.12 kullanılarak YYY ile hesaplanan ısıtma sonrası alan artışı değerleri ise Çizelge 5.14'te verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak buğday nişastası için hesaplanan alan artışı değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.989 olarak saptanmıştır. Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.14 incelendiğinde çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin ısıtmalı mikroskop kullanılarak belirlenen alan artışı değerlerinin, doğal haldeki buğday nişastası örneğinin alan artışı değerinden istatistiksel olarak düşük bulunduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Doğal haldeki buğday nişastasının ısıtma sonrası alan artışı değeri %574 iken, bu değer 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneğinde %178'e kadar düşmüştür. Bu nişastaların ısıtma öncesi ve ısıtma sonrası granül şekillerine ait seçilmiş mikroskop görüntüleri sırasıyla Şekil 5.9 ve 5.10'da verilmiştir. Şekil 5.9 incelendiğinde "1" numara ile işaretlenen doğal

buğday nişastası granülünün ısıtma sonucunda çok fazla şiştiği, granülün şeklinin bozulduğu ve çeperlerinin belirsizleştiği görülmektedir. Buna karşın 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneğine ait "2" numara ile işaretlenen granülün ısıtma sonrasında doğal buğday nişastasına kıyasla çok daha az şiştiği ve granül şeklinde önemli bir değişme meydana gelmediği görülmektedir (Şekil 5.10).

Aynı sıcaklıkta üretilen örneklerde reaksiyon pH'sındaki artış genel olarak örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinde düşüğe neden olmuştur. Reaksiyonun 70°C'de gerçekleştirildiği örneklerde reaksiyon pH'sının 10 veya 11 olması örneklerin alan artışı değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmazken, reaksiyon pH'sı 12 olan örneğin ısıtma sonrası alan artışı değeri önemli derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Bu örnekler dışında aynı sıcaklıkta üretilen diğer tüm çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sındaki artış örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinde istatistiksel olarak önemli düşüğe neden olmuştur ($p<0.05$). Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde, reaksiyon pH'sı 10, 11 ve 12 olduğunda ısıtma sonrası alan artışı değerlerinin sırasıyla %302, %223 ve %179 olarak önemli düşüş gösterdiği görülmektedir ($p<0.05$).

Aynı pH'da üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde reaksiyon sıcaklığındaki artış, tüm örneklerin ısıtma sonrası alan artışı değerlerinde azalmaya neden olmuştur ve bu azalmaların bazıları önemli bulunmuştur (Çizelge 5.14). Örneğin pH 10'da üretilen örneklerde reaksiyon sıcaklığı 38°C'den 54°C'ye arttırıldığında örneklerin alan artışı değerleri arasındaki azalma istatistiksel olarak önemli iken ($p<0.05$), pH 11, 11.5 ve 12'de azalmalar önemsiz bulunmuştur. Isıtmalı mikroskop kullanılarak çapraz bağlı pirinç nişastalarının şişme özelliklerini inceleyen Chatakanonda et al. (2000) da bu tez kapsamında belirlendiği gibi doğal nişastanın ısıtma sırasında çapraz bağlı nişastalara göre daha fazla şiştiğini belirtmiştir.

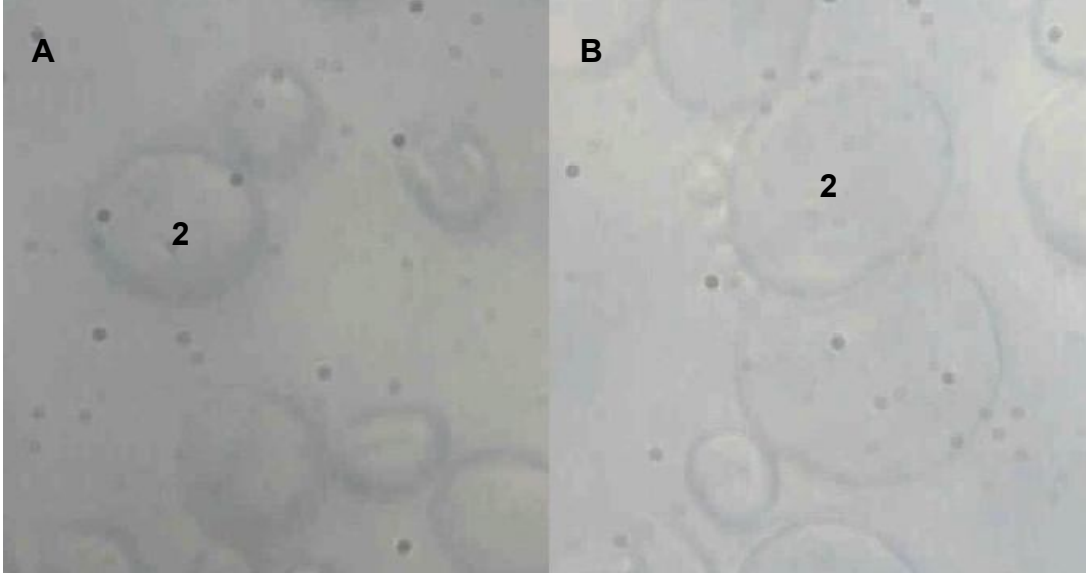
Çizelge 5.14. Çapraz bağlı buğday nişastası granüllerinde ısıtma sonrası belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan alan artışı değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen alan artışı (%)	YYY ile hesaplanan alan artışı (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		574.0 a	-
38	10	302.3 b	300.5
38	11	222.7 f	227.8
38	12	179.4 h	177.9
46	10.5	263.5 c	260.3
46	11.5	201.0 g	196.4
54	10	241.7 d	246.9
54	11	220.1 f	221.5
54	12	175.6 h	180.7
62	10.5	243.2 d	238.7
62	11.5	194.3 g	191.2
70	10	234.5 de	233.3
70	11	226.4 ef	231.7
70	12	178.0 h	176.3

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)



Şekil 5.9. Doğal buğday nişastasının ısıtmalı mikroskopta ısıtma öncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri



Şekil 5.10. 70°C ve pH 12'de üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneğinin ısıtılmalı mikroskopta ısıtma öncesi (A) ve ısıtma sonrası (B) görüntüleri

Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde olduğu gibi, çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin de alan artışı ile RVA sonuçları birbirini desteklemektedir. Çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde en yüksek alan artışı değeri 38°C ve pH 10'da üretilen örneğe aittir (%302) ve bu değer mısır nişastasından aynı koşullarda üretilen çapraz bağlı nişastanın alan artışı değerine (%420) göre oldukça düşüktür. Bu durum buğday nişastasından üretilen hiçbir çapraz bağlı nişastanın tipik RVA eğrisi oluşturmamasını açıklamaktadır. Burada da mısır nişastasında olduğu gibi çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde alan artışı değerinin %302'den düşük olması durumunda örneklerin RVA'da viskozite eğrisi oluşturamadığı söylenebilir.

5.2.6. Nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Şekil 4.3'te belirtilen koşullarda üretilen örneklerin çözünürlük değerlerini sıcaklık (T) ve pH'nın bir fonksiyonu olarak gösteren üçüncü dereceden model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastası örneklerinin çözünürlük (%) değerleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.13 ve 5.14'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Çözünürlük (Mısır)} = & 1215.7086 - 0.3364 \times T - 321.8658 \times \text{pH} + 0.27824 \times \\ & T \times \text{pH} - 0.025697 \times T^2 + 28.0366 \times \text{pH}^2 + 0.001406 \times T^2 \times \text{pH} - 0.01844 \times \\ & T \times \text{pH}^2 - 0.0000671 \times T^3 - 0.8067 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.13)$$

$$\begin{aligned} \text{Çözünürlük (Buğday)} = & -17.1929 - 3.8015 \times T + 28.0111 \times \text{pH} + 0.4614 \times \\ & T \times \text{pH} + 0.02231 \times T^2 - 4.0223 \times \text{pH}^2 - 0.000557 \times T^2 \times \text{pH} - 0.017656 \times \\ & T \times \text{pH}^2 - 0.0000995 \times T^3 + 0.15917 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.14)$$

Yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin çözünürlük değerleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.13 kullanılarak YYY ile hesaplanan çözünürlük değerleri Çizelge 5.15'te verilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak mısır nişastası için hesaplanan çözünürlük değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.919 olarak saptanmıştır. Yukarıdaki koşullarda üretilen örneklerin çözünürlük değerlerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.15 incelendiğinde çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin çözünürlük değerlerinin normal mısır nişastasına göre önemli derecede daha düşük olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Doğal haldeki mısır nişastasının çözünürlük değeri %4.47 iken, 70°C ve pH 12'de reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı mısır nişastasının çözünürlük değeri %0.73'e kadar düşmüştür. Çapraz bağlı nişastalar arasında en yüksek çözünürlük değeri en düşük sıcaklık ve pH'da reaksiyonun gerçekleştirildiği örneğe aittir (38°C ve pH 10; %3.75). Reaksiyonun aynı sıcaklıkta gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon pH'sındaki artış genel olarak örneklerin çözünürlük değerlerinde düşüğe neden olmuştur. Reaksiyonun 46°C'de gerçekleştirildiği örneklerde reaksiyon pH'sının 10.5 ya da 11.5 olması örneklerin çözünürlük değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Bu örnekler

dışında reaksiyonun aynı sıcaklıkta gerçekleştirildiği diğer tüm örneklerde reaksiyon pH'sındaki artış örneklerin çözünürlük değerlerinde istatistiksel olarak önemli düşüğe neden olmuştur ($p<0.05$). Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin çözünürlük değerlerinde genellikle düşüğe neden olmuştur. Bu düşüş bazı örneklerde önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Örneğin reaksiyon sıcaklığındaki artış, pH 11 ve 12'de reaksiyona tabi tutulan örneklerin çözünürlük değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. pH 10, 10.5 ve 11.5'de reaksiyonun gerçekleştirildiği örneklerde ise reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin çözünürlük değerlerinde önemli düşüğe neden olmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 5.15. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan çözünürlük değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen çözünürlük değeri (%)	YYY ile hesaplanan çözünürlük değeri (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		4.47 a	-
38	10	3.75 b	3.76
38	11	1.89 e	1.54
38	12	0.77 g	0.74
46	10.5	1.83 e	2.09
46	11.5	0.81 e	1.11
54	10	3.50 c	3.15
54	11	1.79 e	1.25
54	12	0.57 g	0.19
62	10.5	1.19 f	1.49
62	11.5	0.67 g	0.90
70	10	2.17 d	2.14
70	11	1.67 e	1.29
70	12	0.73 g	0.68

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Sang ve Seib (2006) de bu sonuçlara benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Yüksek amilozlu mısır nişastasının (Hylon VII) çözünürlük değeri %5.0 iken, bu değer

STMP:STPP karışımı kullanılarak 110°C'de 4 saat reaksiyon sonucunda %1.1'e kadar düşmüştür. Doğal nişastanın suda çözünürlüğü düşüktür ancak dimetilsülfoksit (DMSO) ve potasyum hidroksitte (KOH) çözünmektedir. Çapraz bağlı nişastalar ise daha önce de belirtildiği gibi KOH çözeltisinde ve DMSO'da da çözünmemektedir (Woo and Seib, 2002; Hwang et al., 2009).

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.14 kullanılarak YYY ile hesaplanan çözünürlük değerleri Çizelge 5.16'da verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R² değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak çapraz bağlı buğday nişastası örnekleri için hesaplanan çözünürlük değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R² değeri 0.964 olarak saptanmıştır. Yukarıdaki koşullarda üretilen örneklerin çözünürlük değerlerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.16 incelendiğinde çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin çözünürlük değerlerinin normal buğday nişastasına göre önemli derecede daha düşük olduğu görülmektedir (p<0.05). Doğal haldeki buğday nişastasının çözünürlük değeri %3.34 iken, 70°C ve pH 12'de reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı buğday nişastasının çözünürlük değeri %0.71'e kadar düşmüştür. Çapraz bağlı buğday nişastaları arasında en yüksek çözünürlük değeri en düşük sıcaklık ve pH'da reaksiyonun gerçekleştirildiği örneğe aittir (38°C ve pH 10; %2.34). Reaksiyonun aynı sıcaklıkta gerçekleştiği örneklerde, reaksiyon pH'sındaki artış örneklerin çözünürlük değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bu azalma bazı örneklerde önemli bulunmuştur (p<0.05). Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği örneklerde pH 11'de üretilen örneğin çözünürlük değeri ile pH 10'da üretilen örneğin çözünürlük değeri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli iken (p<0.05), bu örnek (38°C ve pH 11) ile pH 12'de üretilen örneğin çözünürlük değeri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış bazı örneklerin çözünürlük değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bu azalma bazı örneklerde

önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Örneğin reaksiyonun pH 10'da gerçekleştirildiği örneklerin çözünürlük değerleri reaksiyon sıcaklığındaki artış ile istatistiksel olarak önemli düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Buna karşın reaksiyonun pH 10.5'da gerçekleştirildiği örneklerde reaksiyon sıcaklığının 46°C veya 62°C olması örneklerin çözünürlük değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır.

Çizelge 5.16. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan çözünürlük değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen çözünürlük değeri (%)	YYY ile hesaplanan çözünürlük değeri (%)
T (°C)	pH		
Kontrol		3.34 a	-
38	10	2.34 b	2.35
38	11	1.26 de	1.22
38	12	1.23 de	1.21
46	10.5	1.32 d	1.32
46	11.5	0.69 g	0.83
54	10	1.58 c	1.54
54	11	1.20 de	1.03
54	12	1.13 def	1.09
62	10.5	1.14 def	1.28
62	11.5	1.01 ef	1.00
70	10	1.07 def	1.04
70	11	0.93 fg	0.88
70	12	0.71 g	0.71

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Sang ve Seib (2006) tarafından yüksek amilozlu mısır nişastasının (Hylon VII) çözünürlük değerinde çapraz bağlanma sonrasında düşüş olduğu belirtilmiş olup doğal ve STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı Hylon VII örneklerinin çözünürlük değerleri sırasıyla %5.0 ve %1.1 olarak belirlenmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi suda çözünürlüğü düşük olan doğal nişasta dimetilsülfoksit (DMSO) ve potasyum hidroksit (KOH) çözeltilerinde

çözünmektedir. Diğer yandan çapraz bağlı nişastalar bu çözeltilerde de (KOH ve DMSO) çözünmemektedir (Woo and Seib, 2002; Hwang et al., 2009).

Şekil 4.3'te belirtilen koşullarda üretilen örneklerin 95°C'de bağladığı su miktarlarını (şişme derecesi) sıcaklık (T) ve pH'nın fonksiyonu olarak gösteren üçüncü derece model denklemler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Çapraz bağlı mısır ve buğday nişastalarının şişme derecesi (g/g) değerleri için üretilen model denklemler sırasıyla Eşitlik 5.15 ve 5.16'da verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Şişme derecesi (Mısır)} = & 395.6981 + 0.2872 \times T - 82.8814 \times \text{pH} - 0.03049 \\ & \times T \times \text{pH} - 0.00026 \times T^2 + 6.5965 \times \text{pH}^2 + 0.0003 \times T^2 \times \text{pH} + 0.0008 \times T \times \\ & \text{pH}^2 - 0.000004 \times T^3 - 0.1775 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.15)$$

$$\begin{aligned} \text{Şişme derecesi (Buğday)} = & - 880.7528 - 0.6342 \times T + 251.9349 \times \text{pH} + \\ & 0.00236 \times T \times \text{pH} + 0.0084 \times T^2 - 23.3453 \times \text{pH}^2 - 0.000693 \times T^2 \times \text{pH} + \\ & 0.00422 \times T \times \text{pH}^2 - 0.000001012 \times T^3 + 0.7075 \times \text{pH}^3 \end{aligned} \quad (5.16)$$

Yanıt yüzey yöntemi ile elde edilen üçüncü dereceden denklemler kullanılarak, hem mısır hem de buğday nişastasından 13 farklı koşulda üretilen örneklerin şişme derecesi değerleri hesaplanmış ve deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Mısır nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.15 kullanılarak YYY ile hesaplanan şişme derecesi değerleri Çizelge 5.17'de verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R² değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak mısır nişastası için hesaplanan şişme derecesi değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R² değeri 0.999 olarak saptanmıştır. Yukarıdaki koşullarda üretilen örneklerin şişme derecesi değerlerinin tahmininde mısır nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.17 incelendiğinde çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin şişme derecesi değerlerinin normal mısır nişastasına göre önemli derecede düşük olduğu görülmektedir (p<0.05). Doğal haldeki mısır nişastasının şişme derecesi değeri 7.95 g/g iken, 70°C ve pH 12'de reaksiyon sonucu üretilen çapraz bağlı mısır nişastasının şişme derecesi değeri 3.47 g/g'a kadar düşmüştür. Çapraz bağlı

mısır nişastaları arasında en yüksek şişme derecesi değeri en düşük sıcaklık ve pH'da reaksiyonun gerçekleştirildiği örneğe aittir (38°C ve pH 10; 7.31 g/g). Reaksiyonun aynı sıcaklıkta gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon pH'sındaki artış örneklerin şişme derecesi değerlerinde önemli düşüğe neden olmuştur (p<0.05). Örneğin reaksiyonun 38°C'de gerçekleştirildiği çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde pH 10, 11 ve 12 olarak değiştirildiğinde şişme derecesi değerleri sırasıyla 7.31, 4.77 ve 3.67 g/g olarak önemli düşüş göstermiştir (p<0.05). Benzer düşüşler reaksiyonun gerçekleştirildiği diğer tüm sıcaklıklarda da görülmüştür. Reaksiyonun aynı pH'da gerçekleştirildiği örneklerde, reaksiyon sıcaklığındaki artış örneklerin şişme derecesi değerlerinde genel olarak düşüğe neden olmuştur.

Çizelge 5.17. Çapraz bağlı mısır nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan şişme derecesi değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen şişme derecesi (g/g)	YYY ile hesaplanan şişme derecesi (g/g)
T (°C)	pH		
Kontrol		7.95 a	-
38	10	7.31 b	7.34
38	11	4.77 g	4.86
38	12	3.67 l	3.73
46	10.5	5.54 e	5.62
46	11.5	3.97 j	4.06
54	10	6.71 c	6.79
54	11	4.55 h	4.50
54	12	3.58 l	3.58
62	10.5	5.06 f	5.15
62	11.5	3.77 h	3.88
70	10	6.06 d	6.11
70	11	4.07 i	4.19
70	12	3.47 m	3.46

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çeşitli araştırmacılar da STMP:STPP karışımı kullanılarak gerçekleştirilen çapraz bağlanmanın, nişasta örneklerinin şişme değerlerinde düşüğe neden olduğunu

belirtmişlerdir. Chung et al. (2004) doğal mısır nişastasının şişme değerinin çok yüksek olduğunu, STMP:STPP karışımı kullanılarak gerçekleştirilen çapraz bağlama sonucunda ise örneklerin şişme değerlerinde düşüş gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca kullanılan STMP:STPP miktarının artmasıyla da çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin şişme derecesi azalma göstermiştir. Sang ve Seib (2006) de yüksek amilozlu mısır nişastasının (Hylon VII) şişme derecesi değerinde çapraz bağlanma sonrasında düşüş olduğunu belirtmiştir.

38°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinin şişme derecesi (7.31 g/g), hem diğer çapraz bağlı nişasta örneklerinin şişme derecesi değerlerinden çok yüksektir, hem de doğal mısır nişastasının şişme derecesi değerine (7.95 g/g) oldukça yakındır (Çizelge 5.17). Bu örneğin şişme özelliğinin iyi olması ile RVA'da viskozite eğrisi oluşturabilmesi (Şekil 5.5) birbirini destekler doğrultuda bulgulardır. Ayrıca bu örneğin ısıtma sonrası alan artışı değeri de (%420) diğer çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinden oldukça yüksektir, bu sonuç da şişme derecesi ve RVA sonuçlarını desteklemektedir. Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin alan artışı değerleri ile şişme derecesi değerleri arasındaki korelasyon katsayısının ($R=0.963$) da oldukça yüksek olması bu sonuçların birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. 38°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğinden sonra en yüksek şişme derecesi değerine sahip olan örnek 54°C ve pH 10'da üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneğidir (6.71 g/g) ve bu örnek RVA'da viskozite eğrisi oluşturamamıştır. Sonuç olarak Çizelge 5.17'deki koşullarda üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde şişme derecesi değerinin 6.71 g/g'dan düşük olması durumunda örneklerin RVA'da viskozite eğrisi oluşturamadığı söylenebilir.

Buğday nişastası için deneysel olarak belirlenen ve Eşitlik 5.16 kullanılarak YYY ile hesaplanan şişme derecesi değerleri Çizelge 5.18'de verilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile hesaplanan değerlerin doğruluğu, deneysel veriler ile karşılaştırılarak ve R^2 değerleri hesaplanarak incelenmiştir. Elde edilen model denklemler kullanılarak buğday nişastası için hesaplanan şişme derecesi değerlerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değeri 0.998 olarak

saptanmıştır. Yukarıdaki koşullarda üretilen örneklerinin şişme derecesi değerlerinin tahmininde buğday nişastası için elde edilen model denklemin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 5.18. Çapraz bağlı buğday nişastaları için deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan şişme derecesi değerleri¹

Üretim koşulları		Deneysel olarak belirlenen şişme derecesi (g/g)	YYY ile hesaplanan şişme derecesi (g/g)
T (°C)	pH		
Kontrol		7.58 a	-
38	10	6.45 b	6.47
38	11	4.72 e	4.79
38	12	3.44 i	3.44
46	10.5	5.47 c	5.41
46	11.5	3.62 h	3.66
54	10	5.43 c	5.51
54	11	4.22 f	4.27
54	12	3.40 i	3.48
62	10.5	4.85 e	4.90
62	11.5	3.52 hi	3.48
70	10	5.20 d	5.22
70	11	3.96 g	4.06
70	12	3.44 i	3.49

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Birçok araştırmacı bu tez kapsamındaki sonuçlara uyumlu olarak STMP:STPP karışımı kullanılarak gerçekleştirilen çapraz bağlama sonucunda nişastanın şişme derecesinin azaldığını belirtmişlerdir. Chung et al. (2004), Mun ve Shin (2006) ile Sang ve Seib (2006) STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinin şişme derecelerinin azaldığını belirtmişlerdir. Shin et al. (2003) da buğday nişastası kullanarak benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Doğal buğday nişastasının şişme derecesinin 7.6 g/g olduğunu, STMP:STPP karışımı kullanılarak üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneğininin şişme derecesinin ise 2.8 g/g'a düştüğünü belirtmişlerdir.

Çapraz bağlı mısır nişastası örneklerinde olduğu gibi, çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin de şişme derecesi ile RVA sonuçları birbirini desteklemektedir. Üretilen çapraz bağlı nişastaların hiçbiri RVA'da tipik viskozite eğrisi oluşturmamıştır. Çapraz bağlı buğday nişastaları arasında en yüksek şişme derecesi değeri 38°C ve pH 10'da üretilen örneğe aittir (6.45 g/g). Bu değer RVA'da viskozite eğrisi oluşturmayan ve 54°C ve pH 10'da üretilen mısır nişastasının şişme derecesi değerine (6.71 g/g) oldukça yakındır. Çizelge 5.18'deki koşullarda üretilen çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinde şişme derecesi değerinin 6.45 g/g'dan düşük olması durumunda örneklerin RVA'da viskozite eğrisi oluşturamadığı söylenebilir. Mısır nişastasında olduğu gibi, çapraz bağlı buğday nişastası örneklerinin alan artışı değerleri ile şişme derecesi değerleri arasındaki korelasyon katsayısı (R=0.954) da oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum çapraz bağlı buğday nişastası için de ısıtma sonrası alan artışı değerleri ile şişme derecesi değerlerinin sonuçlarının birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

5.2.7. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan unların kalite özellikleri

Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan unların (Un 1 ve Un 2) bazı kalite özellikleri Çizelge 5.19'da verilmiştir.

Çizelge 5.19. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) kalite özellikleri¹

Örnek	Protein (%, km)	Kül (%, km)	Düşme sayısı ² (sn)	Sedimentasyon		Gluten (%, km)		Gluten indeks (%)
				Zeleny ³ (ml)	Modifiye ³ (ml)	Yaş	Kuru	
Un 1	9.3 b	0.71 a	305 b	18 b	9 b	24.0 b	8.4 b	76.2 b
Un 2	11.7 a	0.59 b	407 a	34 a	44 a	31.0 a	10.7 a	91.0 a

¹Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında t-testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

^{2,3}Sonuçlar sırasıyla %15 ve %14 rutubete göre verilmiştir

Un 1'in protein, kül, yaş ve kuru gluten miktarları sırasıyla %9.3, %0.71, %24.0 ve %8.4'tür. Un 2'nin protein, kül, yaş ve kuru gluten içerikleri ise sırasıyla %11.7,

%0.59, %31.0 ve %10.7 olarak belirlenmiştir. Un 2'nin düşme sayısı ve gluten indeks değerleri sırasıyla 407 sn ve %91.0 iken, Un 1'de bu değerler sırasıyla 305 sn ve %76.2 olarak belirlenmiştir. Örneklerin sedimentasyon değerlerine bakıldığında Un 2'nin sedimentasyon değerinin 37°C'de 2 saat inkübasyon sonunda 34 ml'den 44 ml'ye çıktığı, Un 1'in ise 18 ml'den 9 ml'ye düştüğü görülmektedir. Sedimentasyon değerinin 37°C'de inkübasyon sonunda düşüş göstermesi, bu unun üretildiği buğday örneğinde süne zararı olduğunun bir göstergesidir. Sedimentasyon değerinin 37°C'de bekleme sonunda artış göstermesi de, Un 2'nin gluten kalitesinin iyi olduğunun bir göstergesidir. Un 2'nin kül içeriği hariç Çizelge 5.19'da gösterilen diğer tüm kalite özellikleri Un 1'e ait değerlerden daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Süneli unlarda öğütme sırasında una daha fazla kepek karışmaktadır. Bu nedenle Un 1'in Un 2'ye göre daha fazla kül içermesi beklenen bir sonuçtur. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde Un 2'nin kalite özelliklerinin Un 1'e göre daha iyi olduğu görülmüş; Un 2'nin kraker üretiminde, Un 1'in ise bisküvi üretiminde kullanılmasına karar verilmiştir.

Un 1 ve Un 2'nin farinogram karakteristikleri Çizelge 5.20'de verilmiştir. Un 1'in farinograf su absorpsiyonu, gelişme süresi, stabilite değeri yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerleri sırasıyla %57.3, 1.5 dak, 2.75 dak, 90 BU ve 110 BU'dur. Un 2'nin ise sırasıyla %62.0, 5.0 dak, 11.75 dak, 30 BU ve 80 BU'dur. Un 2'nin su absorpsiyon değeri, gelişme süresi ve stabilite değeri Un 1'den daha yüksek bulunmuştur. Kaliteli unlarda bu değerlerin yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur. Bisküvi üretiminde kullanılacak unun (Un 1) yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi kraker üretiminde kullanılacak ununkinden (Un 2) daha yüksektir. Un 1 süneli olduğu için bu unun yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerlerinin yüksek çıkması da beklenen bir sonuçtur. Unların farinogram karakteristikleri de diğer özelliklerinde olduğu gibi (Çizelge 5.19) Un 2'nin gluten kalitesinin Un 1'inkinden daha iyi olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.20. Bisküvi ve kraker üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) farinogram özellikleri¹

Örnek	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme süresi (dak)	Stabilite (dak)	Yoğurma Tolerans sayısı (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Un 1	57.3	1.5	2.75	90	110
Un 2	62.0	5.0	11.75	30	80

Un 1 ve Un 2'ye ait Miksolab karakteristikleri Çizelge 5.21'de verilmiştir. Un 2'nin miksolab su absorpsiyonu %55.6 iken, Un 1'in su absorpsiyonu daha düşüktür (%53.1). Un 2'nin miksolab stabilite değeri (7.38 dak) Un 1'in stabilite değerinden (4.85 dak) yüksek bulunmuştur. Un 2'nin ve Un 1'in C1 değerlerinin yaklaşık aynı olduğu görülmektedir. Un 1'in C2 değeri Un 2'den daha düşük bulunmuştur. C2 değeri hamurun sıcaklık ve yoğurma sonucu zayıflaması ile ilişkilidir ve bu değer ne kadar düşükse yani C1-C2 farkı ne kadar fazla ise un kalitesi de o kadar düşüktür (Kahraman et al., 2008; Öztürk et al., 2008; Köksel et al., 2009). Daha önce de belirtildiği gibi bisküvi üretiminde kullanılan Un 1 sünelidir ve bu unun C2 değerinin daha kaliteli olan Un 2'den düşük olması beklenen bir sonuçtur. Ayrıca C1-C2 farkı da beklenildiği gibi Un 1'de daha fazladır. Diğer yandan Miksolabda elde edilen grafiğin dördüncü bölümünde konsistensin C3'ten C4'e düşmesi unların amilaz aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir. Çizelge 5.21'den de görüleceği üzere Un 1'in C3 ve C4 dirençleri arasındaki fark, Un 2'den fazladır. Bu durum Un 1'in amilaz aktivitesinin Un 2'ye göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Un 1'in düşme sayısı değerinin (305 sn) Un 2'den (407 sn) düşük olması bunu desteklemektedir.

Çizelge 5.21. Kraker ve bisküvi üretiminde kullanılan un örneklerinin (Un 1 ve Un 2) Miksolab karakteristikleri¹

Miksolab karakteristiği	Un 1	Un 2
Su absorpsiyonu (%)	53.1	55.6
Stabilite (dak)	4.85	7.38
C1 (Nm)	1.13	1.11
C2 (Nm)	0.36	0.43
C1-C2 (Nm)	0.77	0.68
C3 (Nm)	2.08	1.87
C4 (Nm)	1.90	1.74
C5 (Nm)	2.55	2.39
C3-C4 (Nm)	0.18	0.13
α (Nm/dak)	-0.056	-0.058
β (Nm/dak)	0.546	0.412
γ (Nm/dak)	-0.024	-0.018

5.2.8. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi kalitesi üzerine etkisi

Daha önce de belirtildiği gibi CFR tarafından STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların gıdalarda kullanımıyla ilgili getirilen kısıtlama nedeniyle, bu ajanların birlikte kullanılması ile üretilen çapraz bağlı nişastaların fosfor içerikleri %0.4'ü geçmemelidir (CRF, 2001). Bu tez kapsamında üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin bisküvi üretiminde EDN kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amacıyla maksimum %0.4 fosfor ve yüksek oranda EDN içeren çapraz bağlı (ÇB) mısır (c70x12) ve buğday (w38x12) nişastaları kullanılmıştır. Bisküvi üretiminde bu örneklerin yanı sıra buğday kepeği, bazı ticari EDN kaynakları (Tip2 EDN-Hylon VII, Tip3 EDN-Novelose 330 ve Tip4 EDN-Fibersym), doğal buğday ve mısır nişastaları kullanılmıştır. Nişasta örnekleri unun %25, 50 ve 75'i oranında Un 1 ile yer değiştirecek şekilde formülasyona ilave edilmiştir. Üretilen bisküvi örneklerinin fiziksel özellikleri Çizelge 5.22'de gösterilmiştir.

Bisküvi üretimi sırasında hamurlara şekil verilirken konsistensleri arasında da bazı farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılıklar çap ve kalınlık gibi kalite özellikleri üzerinde etkili olacağı için hamur ve bisküvi özellikleri birlikte tartışılmıştır. Çizelge 5.22'den görüleceği üzere bisküviye ilave edilen kepek ve nişasta oranı arttıkça bisküvi çap değerlerinde kontrol örneğine göre genellikle düşüş, kalınlık değerlerinde ise artış söz konusudur. Bazı örneklerde bu azalma ve artma istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur ($p<0.05$). Sadece bu çalışmada üretilen ÇB buğday nişastası örneği (w38x12) ilave edilen bisküvilerin çap ve kalınlık değerleri diğer örneklerden farklı sonuca neden olmuştur. Bu örneğin %50 ve %75 oranında ilave edildiği bisküvilerin çapları kontrol örneğinden önemli derecede yüksek, kalınlıkları ise düşük bulunmuştur ($p<0.05$). ÇB buğday nişastası örneğinin (w38x12) ilave edildiği bisküvi hamurlarının konsistensinin kontrol örneğinden düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum bisküvinin pişme sırasında daha fazla yayılmasına dolayısıyla çap değerlerinin artmasına ve kalınlık değerlerinin düşmesine neden olmuştur.

Novelose 330 ve Hylon VII ilave edilen bisküvi hamurlarının konsistensinin diğer hamurlara göre oldukça yüksek olduğu ve ilave oranının artmasıyla hamurun konsistensinin de arttığı gözlenmiştir. %75 oranında Novelose 330 ilave edilen bisküvi hamuru çok kuru olduğu için bu hamurdan bisküvi üretimi mümkün olmamıştır. Hamurun daha sert olması bisküvilerin pişme sırasında yayılmasını engellemiş, bisküvi çaplarında düşüşe kalınlıklarında ise artışa neden olmuştur. Benzer şekilde kepek çok fazla su absorbladığı için bisküvi hamuruna eklenen su yeterli olmamış ve bu durum pişme sırasında yayılmasını engellemiştir. Tez kapsamında üretilen bisküviler arasında en düşük çap ve en yüksek kalınlık değerlerine sahip olanlar Hylon VII ve kepek ilave edilerek üretilen bisküvilerdir. Kontrol örneğinin çapı 84.6 mm iken, %75 oranında Hylon VII ve kepek ilave edilen bisküvi örneklerinin çapları sırasıyla 64.7 mm ve 64.6 mm'e düşmüştür. Benzer durum kalınlık değerlerinde de söz konusudur. Kontrol örneği ile %75 oranında Hylon VII ve kepek ilave edilen bisküvi örneklerinin kalınlıkları sırasıyla 8.6, 12.2 ve 14.2 mm olarak belirlenmiştir.

Bisküvi örneklerinin yayılma oranları çap ve kalınlık değerleri ile paralellik göstermekte ve ÇB buğday nişastası örneği (w38x12) ilave edilen bisküviler hariç kepek ve diğer nişastaların oranlarının arttırılmasıyla bisküvilerin yayılma oranı önemli ($p<0.05$) derecede düşmektedir (Çizelge 5.22). Yayılma oranlarındaki en fazla değişim Hylon VII, Novelose 330 ve kepek ilave edilen örneklerde gözlenmiştir. Kontrol örneğinin yayılma oranı 9.8 iken, %75 oranında Hylon VII ve

kepek ilave edilen bisküvi örneklerinin yayılma oranları sırasıyla 5.3 ve 4.6 olarak belirlenmiştir. ÇB buğday nişastası örneğinin (w38x12) ilave edildiği bisküvilerde ise %50 ve %75 ilave oranında, bisküvilerin yayılma oranları kontrol örneğinden önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 5.22. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi¹

Besinsel Lif Kaynağı	İlave Oranı (%)	Çap (mm)	Kalınlık (mm)	Yayılma oranı
Mısır nişastası	0	84.6 a	8.6 d	9.8 a
	25	82.0 b	9.3 c	8.8 b
	50	80.4 b	10.2 b	7.9 c
	75	74.5 c	11.9 a	6.2 d
Buğday nişastası	0	84.6 a	8.6 c	9.8 a
	25	83.6 ab	9.3 b	9.0 b
	50	85.2 a	9.2 b	9.3 b
	75	82.3 b	10.0 a	8.3 c
c70x12	0	84.6 a	8.6 c	9.8 a
	25	80.6 b	9.5 b	8.4 b
	50	80.0 b	9.6 b	8.3 b
	75	76.3 c	11.1 a	6.9 c
w38x12	0	84.6 a	8.6 a	9.8 b
	25	84.7 ab	8.4 ab	9.8 b
	50	88.3 b	8.3 b	10.6 a
	75	89.2 b	8.3 b	10.8 a
Hylon VII	0	84.6 a	8.6 c	9.8 a
	25	74.9 b	10.9 b	6.9 b
	50	70.4 c	11.8 a	6.0 c
	75	64.7 d	12.2 a	5.3 d
Novelose 330	0	84.6 a	8.6 c	9.8 a
	25	73.3 b	11.5 b	6.4 b
	50	66.2 c	12.7 a	5.2 c
	75	-	-	-
Fibersym	0	84.6 a	8.6 c	9.8 a
	25	83.9 a	8.8 c	9.5 a
	50	83.0 a	9.6 b	8.6 b
	75	80.5 b	10.1 a	7.9 c
Buğday kepeği	0	84.6 a	8.6 d	9.8 a
	25	73.6 b	12.3 c	6.0 b
	50	68.0 c	13.1 b	5.2 c
	75	64.6 d	14.2 a	4.6 d

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Farklı nişasta kaynakları ve buğday kepeği ilave edilerek üretilen bisküvi örneklerinin sertlik ve renk değerleri Çizelge 5.23'te gösterilmiştir. Doğal buğday nişastası ve ÇB mısır nişastası örneği (c70x12) ilavesinin bisküvi sertlik değerlerinde kontrol örneğine göre istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmadığı, w38x12, Fibersym ve Hylon VII ilavesinin ise önemli düşüşe neden olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bisküvi örneklerinin sertlik değerlerindeki en belirgin azalma Hylon VII ilavesi sonucunda gözlenmiştir. Kontrol örneğinin sertlik değeri 22.9 N iken, %75 oranında Hylon VII ilave edilen bisküvi örneğinin sertlik değeri 6.8 N'a kadar düşmüştür. Doğal mısır nişastası, Novelose 330 ve buğday kepeği ilavesi ise bisküvi sertlik değerlerinde kontrol örneğine göre artışa neden olmuştur. Sertlik değerlerindeki en fazla artış, kepek ilave edilen bisküvilerde gözlenmiştir. Kontrol örneğinin sertlik değeri 22.9 N iken, %75 oranında kepek ilave edilen bisküvi örneğinin sertlik değeri 88.3 N'a kadar yükselmiştir. Novelose 330 örneği mısır nişastasının retrograde edilmesi ile elde edilen ticari bir modifiye nişastadır. Doğal mısır nişastası ve Novelose 330 ilave edilen bisküvi örneklerinin daha sert olması mısır nişastası ve türevlerinin bisküvi üretiminde olumsuzluğa neden olduğunu düşündürmektedir. Ancak ÇB mısır nişastası (c70x12) ilave edilen bisküvi örneğinin sertlik değerleri ile kontrol örneğinin sertlik değeri arasında önemli ($p<0.05$) bir farklılık olmaması, çapraz bağlama uygulaması ile doğal mısır nişastasının bisküvide yarattığı olumsuz etkinin önüne geçilebileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.23'ten görüleceği gibi doğal nişasta ve farklı EDN kaynakları ilavesi ile bisküvi örneklerinin renkleri daha açık olmuştur. Bu örneklerde nişasta ilave oranının artırılması genellikle örneklerin L^* değerlerinde önemli artışa, a^* ve b^* değerlerinde ise önemli düşüşe neden olmuştur ($p<0.05$). Renkteki en fazla açılma Hylon VII ilave edilen örneklerde gözlenmiştir. Kontrol örneğinin L^* , a^* ve b^* değerleri 76.2, 8.7 ve 39.5 iken, %75 oranında Hylon VII ilave edilen bisküvi örneklerinde bu değerler 89.1, 0.2 ve 17.6 olarak değişim göstermiştir. Bu muhtemelen nişasta ilavesi ile undaki protein ve basit şeker oranlarının düşmesi nedeniyle Maillard reaksiyonunun daha az gerçekleşmesinden kaynaklanmış olabilir. Kepek ilavesi sonucunda ise beklenildiği gibi bisküvi renkleri oldukça

koyulaşmış ve L* ve b* değerleri azalırken, a* değerleri yükselmiştir.

Çizelge 5.23. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin sertlik ve renk özellikleri (L*, a*, b*) üzerine etkisi¹

Besinsel Lif kaynağı	İlave Oranı (%)	Sertlik (N)	L*	a*	b*
Mısır nişastası	0	22.9 b	76.2 c	8.7 a	39.5 a
	25	25.0 b	79.3 bc	8.2 a	32.9 b
	50	33.9 a	80.8 b	4.7 b	26.8 c
	75	35.3 a	84.4 a	3.0 c	24.9 c
Buğday nişastası	0	22.9 a	76.2 c	8.7 a	39.5 a
	25	23.5 a	78.3 bc	7.3 b	32.8 b
	50	22.4 a	80.0 b	6.9 b	33.2 b
	75	24.4 a	82.6 a	4.8 c	28.6 c
c70x12	0	22.9 a	76.2 c	8.7 a	39.5 a
	25	24.1 a	79.0 b	8.2 a	32.6 b
	50	23.5 a	82.4 a	5.9 b	29.9 c
	75	21.9 a	83.4 a	4.0 c	26.6 d
w38x12	0	22.9 a	76.2 c	8.7 a	39.5 a
	25	21.5 a	80.3 b	6.3 b	33.1 b
	50	20.1 a	80.7 b	5.7 b	31.0 bc
	75	16.1 b	84.9 a	4.3 c	29.2 c
Hylon VII	0	22.9 a	76.2 d	8.7 a	39.5 a
	25	24.8 a	83.0 c	5.0 b	29.1 b
	50	19.4 a	86.4 b	1.7 c	23.7 c
	75	6.8 b	89.1 a	0.2 d	17.6 d
Novelose 330	0	22.9 b	76.2 c	8.7 a	39.5 a
	25	33.8 a	83.5 b	5.6 b	31.2 b
	50	30.5 a	86.6 a	3.4 c	26.1 c
	75	-	-	-	-
Fibersym	0	22.9 a	76.2 d	8.7 a	39.5 a
	25	23.1 a	80.7 c	5.9 b	34.5 b
	50	19.8 b	83.7 b	4.4 c	32.1 c
	75	17.6 b	87.9 a	2.6 d	26.5 d
Buğday kepeği	0	22.9 a	76.2 a	8.7 b	39.5 a
	25	53.3 b	68.3 b	8.9 b	31.1 b
	50	81.3 a	65.5 c	9.1 a	30.3 b
	75	88.3 a	61.7 d	9.3 a	31.3 b

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.24'te farklı nişasta kaynakları ilave edilen bisküvi örneklerinin AOAC 991.43 (AOAC,1998) toplam besinsel lif tayin metoduna göre belirlenen EDN/TBL içerikleri verilmiştir. Bisküvi üretiminde kullanılan un (Un 1), doğal mısır ve buğday nişastalarının EDN miktarları oldukça düşük ve sırasıyla %3.7, %2.5 ve %3.0'dır. Tez kapsamında bisküvi ve kraker üretiminde kullanılmak üzere fazla miktarda üretilen ÇB mısır ve buğday nişastasları örneklerinin (c70x12 ve w38x12) EDN içerikleri ise %80.4 ve %83.9 olarak belirlenmiştir. Bisküvi üretiminde kullanılan Hylon VII, Novelose 330 ve Fibersym örneklerinin EDN içerikleri %16.1, %36.5 ve %69.9 olarak belirlenmiştir. Buğday kepeğinin TBL içeriği ise %48.5'tir. Çizelge 5.24'te görüldüğü gibi doğal mısır ve buğday nişastaları ilave edilen bisküvi örneklerinin EDN içerikleri beklenildiği gibi oldukça düşüktür ve değişik ilave oranları bisküvilerin EDN içeriklerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Bisküvi örneklerinin EDN içeriklerindeki en fazla değişim ÇB buğday nişastasları (w38x12) ilave edilen bisküvi örneklerinde gözlenmiştir ve en yüksek EDN içeriğine sahip olan örnek %75 oranında ÇB buğday nişastasları (w38x12) ilave edilen bisküvidir (%32.4). ÇB mısır ve buğday nişastasları örneklerinin (c70x12 ve w38x12) EDN içeriklerinin oldukça yakın olmasına rağmen, aynı ilave oranlarında ÇB buğday nişastasları (w38x12) ilave edilen bisküvilerin EDN içerikleri, ÇB mısır nişastasları (c70x12) ilave edilenlerinkine göre daha yüksektir. Örneğin %75 oranında ÇB buğday nişastasları ilave edilen bisküvi örneğinin EDN içeriği %32.4 iken, %75 oranında ÇB mısır nişastasları ilave edilen bisküvi örneğinin EDN içeriği %18.0 olarak belirlenmiştir. Bu durum ÇB mısır nişastasları örneğinin (c70x12) bisküvi üretimi sırasındaki ısıl işleme daha az dayanıklı olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan Fibersym buğday nişastasından elde edilen ticari bir Tıp4 EDN kaynağıdır ve %69.9 oranında EDN içermektedir. %75 oranında Fibersym ilave edilen bisküvi örneğinin EDN içeriğinin (%25.1), %75 oranında ÇB mısır nişastasları (c70x12) ilave edilen bisküvi örneğinin EDN içeriğinden (%18.0) yüksek olması da ÇB mısır nişastaslarının (c70x12) ısıl işleme daha az dayanıklı olduğu fikrini desteklemektedir.

%75 oranında kepek ilave edilen bisküvi örneğinin TBL içeriği %27.2 olarak belirlenmiştir. Ancak geleneksel bir lif olan kepek kullanılarak üretilen bisküvi

örneklerinin fiziksel özellikler ve renk bakımından tüketicileri olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan bu tez kapsamında üretilen ÇB buğday nişastası (w38x12) %75 oranında kullanıldığında bile hem bisküvi görünüşünde herhangi bir olumsuz etki yaratmamış, hem de bisküvi örneklerinin EDN içeriğini (%32.4) oldukça arttırmıştır. Bu nedenle yüksek lif içerikli bisküvi üretiminde, geleneksel lifler ve ticari EDN kaynakları yerine bu tez kapsamında buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta kullanımının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Çizelge 5.24. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının bisküvi örneklerinin EDN/TBL içerikleri üzerine etkisi¹

Besinsel Lif Kaynağı	İlave Oranı (%)			
	0	25	50	75
Mısır nişastası	1.0 a	1.2 a	1.1 a	1.1 a
Buğday nişastası	1.0 a	1.3 a	1.4 a	1.2 a
c70x12	1.0 d	5.2 c	10.4 b	18.0 a
w38x12	1.0 d	16.0 c	22.7 b	32.4 a
Hylon VII	1.0 c	1.5 c	3.8 b	7.6 a
Novelose 330	1.0 d	7.4 c	10.4 b	-
Fibersym	1.0 d	10.7 c	19.4 b	25.1 a
Buğday kepeği	1.0 d	12.4 c	18.0 b	27.2 a

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı satırda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

5.2.9. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker kalitesi üzerine etkisi

Daha önce de belirtildiği gibi CFR tarafından STMP ve STPP kullanılarak üretilen çapraz bağlı nişastaların gıdalarda kullanımıyla ilgili getirilen kısıtlama nedeniyle, bu ajanların birlikte kullanılması ile üretilen çapraz bağlı nişastaların fosfor içerikleri %0.4'ü geçmemelidir (CRF, 2001). Bu tez kapsamında üretilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin kraker üretiminde EDN kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amacıyla maksimum %0.4 fosfor ve yüksek oranda EDN içeren ÇB mısır (c70x12) ve buğday nişastaları (w38x12) kullanılmıştır. Bisküvi üretiminde olduğu gibi kraker üretiminde de bu örneklerin yanısıra buğday kepeği, bazı ticari EDN kaynakları (Tip 2 EDN-Hylon VII, Tip 3 EDN-Novelose 330 ve Tip 4 EDN-Fibersym), doğal buğday ve mısır nişastaları kullanılmıştır. Bu örnekler %15, 30 ve

45 oranında Un 2 ile yer değiştirecek şekilde formülasyona ilave edilmiştir. Madde 4.3.3'te belirtildiği gibi kraker formülasyonuna ilave edilen nişasta miktarı arttıķa hamur oldukça kuru olmuş ve toparlanıp silindirlerden geçirilmesi mümkün olmamıştır. Bu nedenle nişasta ilave edilen örneklerde hamura eklenen su miktarı, nişasta ilave oranına göre yeniden düzenlenmiştir (Çizelge 4.6). Ancak %30 ve %45 oranında Novelose 330 ile %45 oranında Hylon VII ilave edilen hamurlarda su miktarında düzenleme yapılırsa da uygun kıvamda hamur elde edilememiştir. Dolayısıyla bu nişastaların belirtilen oranlarda ilavesi ile kraker üretimi geręekleřtirilememiřtir. Üretilen kraker örneklerinin fiziksel özellikleri Çizelge 5.25'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.25'ten görüleceği üzere doğal ve EDN içeren nişastalar, kraker örneklerinin uzunluk, genişlik ve kalınlık değerlerinde genellikle azalmaya neden olmuştur. Bazı örneklerde bu azalma istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Kraker örnekleri arasında en düşük uzunluk ve genişlik değerleri %45 oranında kepek ilave edilen kraker örneğinde gözlenmiştir. Kontrol örneğinin uzunluk ve genişlik değerleri sırasıyla 51.4 ve 49.5 mm iken, %45 oranında kepek ilave edilen kraker örneğinde bu değerler sırasıyla 48.3 ve 46.4 mm olmuştur. Kalınlık değerlerinde de en büyük azalma %45 oranında kepek ilave edilen kraker örneğinde gözlenmiştir. Kontrol örneğinin kalınlık değeri 4.4. mm iken, %45 kepek ilavesi ile kraker örneğinin kalınlık değeri 2.2 mm'ye kadar düşmüştür. Yukarıdaki sonuçlardan da görüleceği üzere, kepek ve nişasta ilavesi kraker örneklerinin bazılarının uzunluk, genişlik ve kalınlık değerlerinde istatistiksel olarak önemli fark yaratsa da fiziksel özellikler üzerindeki olumsuz etkileri çok fazla değildir ve kraker örneklerinin fiziksel özelliklerindeki değişim bisküvi örneklerinde gözlenenenden daha azdır.

Çizelge 5.25. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker örneklerinin fiziksel özellikleri üzerine etkisi¹

Besinsel Lif kaynağı	İlave Oranı (%)	Uzunluk (mm)	Genişlik (mm)	Kalınlık (mm)
Mısır nişastası	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	51.6 a	48.8 b	4.2 b
	30	49.7 b	47.6 c	4.0 c
	45	49.5 b	46.8 d	3.5 d
Buğday nişastası	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	51.2 a	48.2 b	4.3 b
	30	50.8 b	48.1 b	4.0 c
	45	49.5 c	47.0 c	3.3 d
c70x12	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	51.3 a	49.4 a	4.1 b
	30	49.6 b	49.6 a	3.6 c
	45	49.8 b	47.4 b	3.6 c
w38x12	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	51.7 a	48.8 b	4.3 b
	30	51.6 a	48.1 c	3.5 c
	45	50.5 b	47.5 d	3.2 c
Hylon VII	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	49.4 b	48.4 b	4.2 a
	30	49.0 b	46.5 c	3.8 b
	45	-	-	-
Novelose 330	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	49.4 b	48.8 a	4.2 a
	30	-	-	-
	45	-	-	-
Fibersym	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	51.3 a	47.2 b	4.5 a
	30	50.7 a	47.4 b	4.1 b
	45	49.2 b	47.6 b	3.7 c
Buğday kepeği	0	51.4 a	49.5 a	4.4 a
	15	48.5 b	46.8 b	3.1 b
	30	48.5 b	47.0 b	2.5 c
	45	48.3 b	46.4 b	2.2 d

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Kraker örneklerinin sertlik ve renk değerleri Çizelge 5.26'da gösterilmiştir. Doğal ve EDN içeren nişasta ile kepek ilavesi kraker örneklerinin sertlik değerlerinde genel olarak önemli düşüşe neden olmuştur ($p<0.05$). Sertlik değerlerindeki en belirgin azalma, bisküvi örneklerinde de olduğu gibi Hylon VII örneğinde görülmüştür. Kontrol örneğinin sertlik değeri 18.0 N iken, %30 oranında Hylon VII ilave edilen kraker örneğinin sertlik değeri 3.8 N'a kadar düşmüştür. Bisküvi örneklerinin aksine, kepek ilavesi ile kraker örneklerinin sertlik değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Kontrol örneğinin sertlik değeri 18.0 N iken, %75 oranında kepek ilave edilen kraker örneğinin sertlik değeri 9.5 N olarak belirlenmiştir. Bu durumun kraker üretimi sırasında kepek ve nişasta ilave edilen hamurlara daha fazla miktarda su ilave edilmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kraker hamuruna ilave edilen doğal ve EDN içeren nişastalar kraker örneklerinin L^* ve a^* değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Doğal ve EDN içeren nişasta ilavesi kraker örneklerinin b^* değerlerinde ise genellikle önemli ($p<0.05$) düşüşe neden olmuştur. Bu durum muhtemelen nişasta ilavesi ile undaki protein ve basit şeker oranlarının azalması nedeniyle Maillard reaksiyonunun daha az gerçekleşmesinden kaynaklanmış olabilir. Kepek ilavesi sonucunda ise beklenildiği gibi kraker renkleri koyulaşmış ve örneklerin L^* değerleri azalırken, a^* ve b^* değerleri yükselmiştir.

Çizelge 5.26. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının kraker örneklerinin sertlik ve renk özellikleri üzerine (L*, a*, b*) etkisi¹

Besinsel EDN Kaynağı	İlave Oranı (%)	Sertlik (N)	L	a	b
Mısır nişastası	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	10.6 b	90.5 a	3.3 a	13.3 b
	30	6.7 b	92.4 a	3.3 a	12.8 b
	45	7.1 b	92.4 a	3.4 a	14.0 b
Buğday nişastası	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	17.0 ab	92.4 a	2.5 a	17.3 a
	30	14.5 ab	94.3 a	2.9 a	16.1 a
	45	7.2 b	91.0 a	3.3 a	16.0 a
c70x12	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	16.1 a	93.1 a	2.6 a	17.0 a
	30	9.6 b	93.0 a	3.5 a	15.1 ab
	45	5.1 c	94.2 a	3.3 a	12.9 b
w38x12	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	9.3 b	90.4 a	3.9 a	15.9 a
	30	8.3 b	94.3 a	3.5 a	15.2 a
	45	6.2 b	91.7 a	3.9 a	12.4 b
Hylon VII	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	12.2 b	92.5 a	2.3 a	14.0 b
	30	3.8 c	93.0 a	2.9 a	13.6 b
	45	-	-	-	-
Novelose 330	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	13.7 b	93.6 a	2.3 a	14.2 b
	30	-	-	-	-
	45	-	-	-	-
Fibersym	0	18.0 a	93.1 a	2.8 a	16.5 a
	15	9.3 b	92.1 a	3.1 a	14.1 b
	30	8.3 a	92.3 a	3.0 a	14.0 b
	45	6.2 b	92.4 a	3.1 a	13.6 b
Kepek	0	18.0 a	93.1 a	2.8 c	16.5 b
	15	18.3 a	80.2 b	3.8 b	24.3 a
	30	16.7 a	73.1 c	7.1 a	24.9 a
	45	9.5 b	61.9 d	7.1 a	24.7 a

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Çizelge 5.27'de farklı nişasta kaynakları ve kepek ilave edilen kraker örneklerinin AOAC 991.43 (AOAC,1998) toplam besinsel lif tayin metoduna göre belirlenen EDN/TBL içerikleri verilmiştir. Kraker üretiminde kullanılan un (Un 2) ile doğal mısır ve buğday nişastalarının EDN miktarları oldukça düşük ve sırasıyla %3.2, %2.5 ve %3.0'dır. Tez kapsamında kraker üretiminde kullanılmak üzere fazla miktarda

üretilen ÇB mısır (c70x12) ve buğday (w38x12) örneklerinin EDN içerikleri ise %80.4 ve %83.9'dur. Kraker üretiminde kullanılan Hylon VII, Novelose 330 ve Fibersym örneklerinin EDN içerikleri %16.1, %36.5 ve %69.9 olarak belirlenmiştir. Buğday kepeğinin TBL içeriği ise %48.5'tir. Çizelge 5.27'den görüldüğü gibi, doğal buğday ve mısır nişastaları ilave edilen kraker örneklerinin EDN içerikleri beklenildiği gibi oldukça düşüktür ve değişik ilave oranları krakerlerin EDN içeriklerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır. Kraker örneklerinin EDN içeriklerindeki en fazla değişim ÇB buğday nişastası (w38x12) ilave edilen örneklerde gözlenmiştir ve en yüksek EDN içeriğine sahip olan kraker örneği %45 oranında ÇB buğday nişastası (w38x12) ilave edilen örnektir (%23.7). Seçilen çapraz bağlı nişasta örneklerinin EDN içerikleri yaklaşık aynı olsa da, ÇB buğday nişastası (w38x12) ilave edilen krakerlerin EDN içerikleri ÇB mısır nişastası (c70x12) ilave edilenlerin EDN içeriklerinden daha fazla bulunmuştur. Örneğin %45 oranında ÇB buğday nişastası (w38x12) ilave edilen krakerde EDN içeriği %23.7 iken, %45 oranında ÇB mısır nişastası (c70x12) ilave edilen krakerde EDN içeriği %15.2 olarak belirlenmiştir. Daha önce belirtildiği gibi benzer durum bisküvi örneklerinde de gözlenmiştir (Çizelge 5.24). Bu durum ÇB mısır nişastasının (c70x12) kraker üretimi sırasındaki ısı işleme daha az dayanıklı olduğu fikrini desteklemektedir. Diğer taraftan Fibersym buğday nişastasından elde edilen ticari bir EDN Tip 4 kaynağıdır ve %69.9 oranında EDN içermektedir. %45 oranında Fibersym ilave edilen kraker örneğinin EDN içeriğinin (%19.4), %45 oranında ÇB mısır nişastası (c70x12) ilave edilen bisküvi örneğinin EDN içeriğinden (%15.2) yüksek olması da buğdaydan elde edilen çapraz bağlı nişastaların ısı işleme daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

%45 oranında kepek ilave edilen kraker örneğinin TBL içeriği %26.7 olarak belirlenmiştir. Ancak kepek ilavesi ile kraker örneklerin rengi koyulaşmıştır ve bu durumun tüketicileri olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir. Tez kapsamında üretilen ÇB buğday nişastası (w38x12) %45 oranında kullanıldığında bile hem kraker görünüşünde herhangi bir olumsuz etki yaratmamış, hem de kraker örneklerinin EDN içeriklerini (%23.7) oldukça arttırmıştır. Bu nedenle yüksek lif içerikli kraker üretiminde, geleneksel lifler ve ticari EDN kaynakları yerine

bu tez kapsamında buğday nişastasından üretilen çapraz bağlı nişasta kullanımının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Çizelge 5.27. Kepek ve farklı EDN kaynaklarının krakerler örneklerinin EDN/TBL içerikleri üzerine etkisi¹

Besinsel Lif Kaynağı	İlave Oranı (%)			
	0	15	30	45
Mısır nişastası	1.3 a	1.2 a	1.4 a	1.4 a
Buğday nişastası	1.3 a	1.4 a	1.4 a	1.2 a
c70x12	1.3 d	7.8 c	11.9 b	15.2 a
w38x12	1.3 d	9.9 c	17.7 b	23.7 a
Hylon VII	1.3 c	4.8 b	9.6 a	-
Novelose 330	1.3 b	8.9 a	-	-
Fibersym	1.3 d	7.9 c	13.3 b	19.4 a
Buğday kepeği	1.3 d	10.9 c	18.3 b	26.7 a

¹Her bir besinsel lif kaynağı için aynı satırda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında mısır ve buğday nişastalarına STMP:STPP karışımı kullanılarak kimyasal modifikasyon uygulanmış ve örneklerin enzime dirençli nişasta içerikleri arttırılmaya çalışılmıştır. Reaksiyon koşulları (pH ve sıcaklık) yanıt yüzey yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve ön deneme sonuçlarına göre 38-70°C ve pH 10-12 aralıklarında örnek üretilmiştir. Ayrıca, fosfor içeriği %0.4'ü geçmeyecek şekilde fosfor içeren ve yüksek oranda EDN içeriğine sahip ÇB mısır nişastası (70°C x pH 12) ve buğday nişastası (38°C x pH 12) örneklerinden fazla miktarda üretilmiş ve bu örneklerin bisküvi ve kraker kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu örneklerin bisküvi ve kraker kalitesine etkisi kepek ve bazı ticari EDN kaynakları ile karşılaştırılmıştır.

- Ön denemelerde çapraz bağlama ile EDN oluşturmada yüksek amiloz içerikli mısır nişastasının normal amiloz içerikli nişastalara göre avantaj sağlamadığı görülmüştür. Ayrıca nişastaya çapraz bağlama öncesinde uygulanan asit modifikasyon veya jelatinizasyon işlemleri de EDN oluşturmada doğal haldeki nişastaya göre avantaj sağlamamıştır.
- Reaksiyonun aynı sıcaklıkta gerçekleştirildiği örneklerde pH'nın 11 ve üzerinde olması hem mısır hem de buğday nişastalarının EDN ve fosfor içeriklerinde artışa neden olmuştur. EDN oluşumunda, pH'nın sıcaklıktan daha önemli bir etkiye sahip olduğu ve yüksek pH'da gerçekleşen çapraz bağlanmanın sıcaklığın artmasıyla arttığı belirlenmiştir. Mısır ve buğday nişastalarından üretilen ÇB nişasta örneklerindeki en yüksek EDN ve fosfor içerikleri 70°C ve pH 12'de üretilen örneklerde gözlenmiştir. Belli sıcaklık ve pH'da üretilen ÇB buğday nişastası örneklerinin EDN ve fosfor içerikleri, aynı sıcaklık ve pH'da üretilen mısır nişastası örneklerinin EDN ve fosfor içeriklerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum buğday nişastasının yapısal olarak çapraz bağlanmaya mısır nişastasından daha uygun olduğunun bir göstergesidir.

- Aynı sıcaklıkta üretilen ÇB mısır ve buğday nişastası örneklerinde reaksiyon pH'sının artması örneklerin T_o ve T_p değerlerinde genellikle artışa, ΔH değerlerinde ise düşüğe neden olmuştur.
- Çapraz bağlama sonucunda hem mısır hem de buğday nişastası örneklerinin şişme derecesi ve çözünürlük değerlerinde azalma gözlenmiştir. ÇB nişasta örneklerinin şişme özelliklerindeki azalma, örneklerin RVA özelliklerini de etkilemiş ve üretilen ÇB nişastaların çoğu RVA'da tipik bir grafik oluşturmamıştır. Sadece reaksiyon sıcaklığının 38°C ve pH'sının 10 olduğu durumda üretilen ÇB mısır nişastası örneği diğerlerinden oldukça farklı bir viskozite eğrisi oluşturmuştur. Bu örnekte shear thinning (karıştırma ile viskozite azalması) çok az gözlenmiştir. Bu örneğin düşük pH'lı jel yapısındaki gıdalarda, konsistenste değişikliğe neden olmadan kullanılabileceği düşünülmektedir.
- Buğday nişastasından 38°C ve pH 12'de üretilen ÇB nişasta örneği hariç, bisküviye ilave edilen kepek ve diğer EDN kaynakları bisküvilerin çap değerlerinde kontrol örneğine göre azalmaya, kalınlık değerlerinde ise artışa neden olmuştur. Yayılma oranları açısından da en olumlu etki w38x12 kodlu örnek ilave edilen bisküvilerde gözlenmiştir. Doğal mısır nişastası, Novelose 330 ve kepek ilave edilen örnekler hariç, tüm bisküvi örneklerinin sertlik değerlerinde azalma söz konusudur. Nişasta ilave edilen bisküvi örneklerinin renklerinin daha açık olduğu gözlenmiştir. Bisküvi örnekleri arasında en yüksek EDN içeriği ÇB buğday nişastası (w38x12) ilavesi ile elde edilmiştir (%32.4). Seçilen ÇB nişasta örneklerinin EDN içeriklerinin yakın olmasına rağmen, ÇB buğday nişastası ilave edilen bisküvilerin EDN içeriklerinin, ÇB mısır nişastası ilave edilenlerinkine göre daha yüksek olması, buğdaydan elde edilen ÇB nişastaların ısıl işleme daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. %75 kepek ilave edilen bisküvi örneğinin TBL içeriği yüksek bulunmuştur ancak bu örneğin fiziksel özellikleri ve renginin tüketicileri olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

- Doğal ve EDN içeren nişastalar kraker örneklerinin bazılarının uzunluk, genişlik ve kalınlık değerlerinde istatistiksel olarak önemli fark yaratmıştır, ancak fiziksel özellikler üzerindeki olumsuz etkileri bisküvi örneklerindeki kadar belirgin olmamıştır. Doğal ve EDN içeren nişastalar ile kepek ilavesi kraker örneklerinin sertlik değerlerinde genel olarak düşüşe neden olmuştur. Nişasta ilave edilen kraker örneklerinin renklerinin daha açık olduğu gözlenmiştir. Kraker örneklerinde en yüksek EDN içeriği ÇB buğday nişastası ilavesi ile elde edilmiştir (%23.7). Daha önce de belirtildiği gibi kraker ve bisküvi üretiminde kullanılan ÇB nişasta örneklerinin EDN içerikleri yaklaşık aynıdır. Ancak ÇB buğday nişastası ilave edilen krakerlerin EDN içerikleri ÇB mısır nişastası ilave edilenlerden daha fazla bulunmuştur. Bu durum buğdaydan elde edilen ÇB nişastaların ısı işleme daha dayanıklı olduğu fikrini desteklemektedir. %45 kepek ilave edilen kraker örneğinin TBL içeriği yüksek bulunmuştur ancak bu örneğin renginin tüketicileri olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, mısır ve buğday nişastalarından STMP:STPP karışımı kullanılarak çapraz bağlama yöntemi ile yüksek miktarda Tip4 EDN üretimi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen ÇB nişastaların su bağlama özelliklerinin düşük olması nedeniyle bisküvi ve kraker gibi fırıncılık ürünlerinde, formülasyonda fazla değişiklik yapmadan, yüksek oranlarda rahatlıkla kullanılabilceği görülmüştür. Ticari EDN kaynakları ve kepek kullanımı sonucunda fırıncılık ürünlerinin kalite özelliklerinin bozulduğu göz önünde bulundurulursa, bu tez kapsamında üretilen ÇB nişastaların bu tip ürünlerin EDN içeriğinin artırılması amacıyla alternatif bir lif kaynağı olacağı düşünülmektedir. Puding, krema, hazır çorba gibi yüksek nem içerikli ürünlerde ÇB nişastaların EDN kaynağı olarak kullanılabilmeleri için, su bağlama özelliklerinin artırılmasına yönelik araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- AACCI, 2000, American Association of Cereal Chemist International, Approved methods of the AACC, 8th Edition, The Association, St. Paul, MN, USA.
- Al-Tamimi, E. K., Seib, P. A., Snyder, B. S. and Haub, M. D., 2010, Consumption of cross-linked resistant starch (RS4XL) on glucose and insulin responses in humans, Hindawi Publishing Corporation, Journal of Nutrition and Metabolism Volume 2010, Article ID 651063, 6 pages.
- Annison, G., Illman, R. J. and Topping, D. L., 2003, Acetylated, propionylated or butyrylated starches raise large bowel short-chain fatty acids preferentially when fed to rats, Journal of Nutrition, 133, 11, 3523–3528.
- AOAC, 1998, Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists, Association of Official Chemists, Arlington, VA.
- AOAC, 2006, Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International, Maryland, USA.
- Baghurst, P. A., Baghurst, K. I. and Record, S. J., 1996, Dietary fiber, non-starch polysaccharides and resistant starch – A review, Food Australia, 48, 3, 3–35.
- Baixauli, R., Salvador, A., Martinez-Cervera, S. and Fiszman, S. M., 2008, Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products, Food Science and Technology, 41, 1927–1933.
- Berry, C. S., 1986, Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre, Journal of Cereal Science, 4, 301–304.
- Bingham, S. A., Day, N. E. and Luben, R., 2003, Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): An observational study, The Lancet, 361, 1496–1501.
- Bird, A. R., Flory, C., Davies, D. A., Usher, S. and Topping, D. L., 2004, Novel barley cultivar (*Himalaya 292*) with a specific gene mutation in starch synthase IIa raises large bowel starch and short-chain fatty acids in rats, The Journal of Nutrition, 831–836.
- Birkett, A., Muir, J., Phillips, J., Jones, G. and O’Dea, K., 1996, Resistant starch lowers fecal concentrations of ammonia and phenols in humans, American Journal of Clinical Nutrition, 63, 766–772.
- Bjorck, I., Nyman, M., Pedersen, B., Siljestrom, M., Asp, N. G. and Eggum, B.O., 1987, Formation of enzyme resistant starch during autoclaving of wheat starch: Studies *in vitro* and *in vivo*, Journal of Cereal Science, 6, 159–172.

- Brand Miller, J., Pang, E. and Bramall, L., 1992, Rice: a high or low glycemic index food?, *American Journal of Clinical Nutrition*, 56, 1034–1036.
- Brimhall, B. 1944, Structure of pyrodextrins, *Industrial and Engineering Chemistry*, 36, 72–75.
- Brown, I. J., McNaught, K. J., Andrew, D. and Morita, T., 2001, Resistant starch: Plant breeding, application, development, and commercial use, In: *Advanced Dietary Fiber Technology*, Iowa State University Press: Ames, IA, USA.
- Brown, I. L., McNaught, K. J. and Moloney, E., 1995, New direction in starch technology and nutrition, *Food Australia*, 47, 272–275.
- Brown, I. L., Wang, X., Topping, D. L., Playne, M. J. and Conway, P. L., 1998, High amylose maize starch as a versatile prebiotic for use with probiotic bacteria, *Food Australia*, 47, 272–275.
- Brown, I. L., Warhurst, M., Arcot, J., Playne, M. J., Illman, R. J. and Topping, D. L., 1997, Fecal numbers of *Bifidobacteria* are higher in pigs fed *Bifidobacterium longum* with a high amylose cornstarch than with a low amylose corn starch, *Journal of Nutrition*, 127, 1822–1827.
- Brumovsky, J. O. and Thompson, D. B., 2001, Production of boiling-stable granular resistant starch by partial acid hydrolysis and hydrothermal treatments of high-amylose maize starch, *Cereal Chemistry*, 78, 680–689.
- Buttriss, J. L. and Stokes, C. S., 2008, Dietary fibre and health: An overview, *British Nutrition Foundation, Nutrition Bulletin*, 33, 186–200.
- CFR, 2001, Food starch modified Title: 21. Chapter 1, Part 172, Sect 172.892, In: *Food Additives Permitted in Food for Human Consumption*, Government Printing Office, Washington, DC, USA. <http://cfr.vlex.com/vid/172-food-starch-modified-19706090>
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S. and Webb, C., 2002, Application of cereals and cereal components in functional foods: A review, *International Journal of Food Microbiology*, 79, 131–141.
- Chatakanonda, P., Varavinit, S. and Chinachoti, P., 2000, Effect of crosslinking on thermal and microscopic transitions of rice starch, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 33, 276–284.
- Chung, H. J., Jeong, H. Y. and Lim, S. T., 2003, Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose corn starch, *Carbohydrate Polymers*, 54, 449–455.
- Chung, H. J., Woo, K. W. and Lim, S.T., 2004, Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches, *Carbohydrate Polymers*, 55, 9–15.

- Chung, H. J., Lee, S. Y., Kim, J. H., Lee, J. W., Byun, B. W. and Lim, S. T., 2010, Pasting characteristics and in vitro digestibility of γ -irradiated RS4 waxy maize starches, *Journal of Cereal Science*, 52, 53–58.
- Crosbie, G. B., 1991, The relationship between starch swelling properties, paste viscosity and boiled noodle quality in wheat flour, *Journal of Cereal Science*, 13, 145–150.
- De Deckere, E. A. M., Kloots, W. J. and Vanamelsvoort, J. M. M., 1993, Resistant starch decreases serum total cholesterol and triacylglycerol concentrations in rats, *Journal of Nutrition*, 123, 2142–2151.
- De Roos, N., Heijnen, M. L., De Graaf, C., Woestenenk, G. and Hobbel, E., 1995, Resistant starch has little effect on appetite, food intake and insulin secretion of healthy young men, *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 7, 532–541.
- Deetae, P., Shobsngob, S., Varanyanond, W., Chinachoti, P., Naivikul, O. and Varavinit, S., 2008, Preparation, pasting properties and freeze–thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch, *Carbohydrate Polymers*, 73, 351–358.
- Dubat, A., 2010, A new AACC International approved method to measure rheological properties of a dough sample, *Cereal Foods World*, 55, 3, 150–153.
- Escarpa, A., Gonzales, M. C., Morales, M. D. and Saura-Calixto, F., 1997, An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation, *Food Chemistry*, 60, 4, 527–532.
- FAO/WHO, 2002, Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases, Report of a joint FAO/WHO expert consultation, WHO technical report series, Vol. 916, The World Health Organization, Switzerland.
- Farhat, I. A., Protzmann, J., Becker, A., Valles-Pamies, B., Neale, R. and Hill, S. E., 2001, Effect of the extent of conversion and retrogradation on the digestibility of potato starch, *Starch/Stärke*, 53, 431–436.
- Ferguson, L. R., Tasman-Jones, C., Englyst, H. and Harris, P. J., 2000, Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short-chain fatty acid production in rats, *Nutrition & Cancer*, 36, 230–237.
- Fredriksson, H., Björck, I., Andersson, R., Liljeberg, H., Silverio, J., Eliasson, A. C. and Aman, P., 2000, Studies on α -amylase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato, *Carbohydrate Polymers*, 43, 81–87.
- Frohberg, C. and Quanz, M., 2008, Use of linear poly- α -1,4-glucans as resistant starch, United States Patent Application 20080249297,

<http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?WO¼ 2005040223>.

- Fuentes-Zaragoza, E., Sanchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Alvarez, J. A., 2011, Resistant starch as prebiotic: A review, *Starch/ Stärke*, 63, 406–415
- Garcia-Alonso, A., Jimenez-Escrig, A., Martin-Carron, N., Bravo, L. and Saura-Calixto, F., 1999, Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch, *Food Chemistry*, 66, 181–187.
- Gee, J. M., Faulks, R. M. and Johnson, I. T., 1991, Physiological effects of retrograded α -amylase-resistant comstarch in rats, *Journal of Nutrition*, 121, 44–49.
- Gonzalez-Soto, R. A., Mora-Escobedo, R., Hernandez-Sanchez, R., Sanchez-Rivera, M. and Bello-Perez, L. A., 2007, The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch, *Food Research International*, 40, 304–310.
- Gökmen V. and Süğüt, İ, 2007, A non-contact computer vision based analysis of color in foods, *International Journal of Food Engineering*, 3, 5, Article 5.
- Haralampu, S. G., 2000, Resistant starch—A review of the physical properties and biological impact of RS₃, *Carbohydrate Polymers*, 41, 285–292.
- Hashimoto, N., Ito, Y., Han, K. H., Shimada, K. I., Sakikawa, M., Topping, L. D., Bird, A. R., Noda, T., Chiji, H. and Fukushima, M., 2006, Potato pulps lowered the serum cholesterol and triglyceride levels in rats, *Journal of Nutrition Science Vitaminology*, 52, 445–450.
- Hasjim, J., 2009, Enzyme digestibility of starch and methods to produce enzyme-resistant starch to improve human health, PhD Thesis, Iowa State University, USA.
- Hasjim, J., Lee, S. O., Hendrich, S., Setiawan, S., Ai, Y. and Jane, J. L., 2010, Characterization of a novel resistant-starch and its effects on postprandial plasma-glucose and insulin responses, *Cereal Chemistry*, 87, 4, 257–262.
- Henningsson, A. M., Margareta, E. and Nyman, G. L., 2003, Influences of dietary adaptation and source of resistant starch in the hindgut of rats, *British Journal of Nutrition*, 89, 3, 319–328.
- Higgins, J. A., Higbee, D. R., Donahoo, W. T., Brown, I. L., Bell, M. L. and Bessesen, D. H., 2004, Resistant starch consumption promotes lipid oxidation, *Nutrition & Metabolism*, 1–8.
- Hirsch, J. B. and Kokini, J. L., 2002, Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behavior and pasting properties of cross-linked waxy maize starches, *Cereal Chemistry*,

79, 102–107.

Hoseney, R. C., 1994, Principles of cereal science and technology, AACC Inc., ISBN 0-913250-79-1, St. Paul, Minnesota, USA.

<http://www.bndni.com/fibersol-2.html>

Hung, P. V. and Morita, N., 2004, Dough properties and bread quality of flours supplemented with cross-linked cornstarches, Food Research International, 37, 461–467.

Hwang, D. K., Kim, S. W., Kim, J. H., Ryu, J. H., Yoo, S. H., Park, C. S. Kim, B. Y. and Baik, M. Y., 2009, In vitro digestibility of hydroxypropylated and cross-linked waxy and non-waxy rice starches, Starch/Stärke, 61, 20–27.

IOM, 1997, Institute of Medicine of the National Academies, Dietary Reference Intakes: Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids, The National Academy Press, Washington, DC, USA.

Jiang, G. and Liu, Q., 2002, Characterization of residues from partially hydrolyzed potato and high amylose corn starches by pancreatic α -amylase, Starch/Stärke, 54, 527–533.

Jiang, H., Jane, J. L., Acevedo, D., Gren, A., Shinn, G., Schrenker, D., Srichuwong, S., Campbell, M. and Wu, Y., 2010, Variations in starch physicochemical properties from a generation means analysis study using amylo maize V and VII parents, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 5633–5639.

Kahraman, K., Şakıyan, O., Öztürk, S., Köksel, H., Şumnu, G. and Dubat, A., 2008, Utilization of Mixolab to predict the suitability of flours in terms of cake quality, European Food Research and Technology, 227, 2, 565–570.

Kaur, L., Singh, J. and Singh, N., 2005, Effect of cross-linking on some properties of potato starches, Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 1945–1954.

Köksel, H., 2005, Karbonhidratlar. Gıda Kimyası. Saldamlı, İ. (Ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.

Köksel, H., Atlı, A., Dağ, A. and Sivri, D., 2002, Commercial milling of suni bug (*Eurygaster* spp.) damaged wheat, Nahrung/Food, 46, 1, 25–27.

Köksel, H., Basman, A., Kahraman, K. and Öztürk, S., 2007, Effect of acid modification and heat treatments on resistant starch formation and functional properties of corn starch, International Journal of Food Properties, 10, 691–702.

Köksel, H., Kahraman, K., Şanal, T., Özay Sivri, D. and Dubat, A., 2009, Potential

Utilization of Mixolab for the Quality Evaluation of Bread Wheat Genotypes, *Cereal Chemistry*, 86, 5, 522–526.

- Lee, L., Ng, P. K. W. and Steffe, J. F., 2002, A modified procedure (one-stage fermentation) for evaluating flour cracked-making potential, *Food engineering Progress*, 6, 2, 201–207.
- Leu, R. K. L., Hu, Y. and Young, G. P., 2002, Effects of resistant starch and nonstarch polysaccharides on colonic luminal environment and genotoxin-induced apoptosis in the rat, *Carcinogenesis*, 23, 5, 713–719.
- Lim, H and Seib, P. A., 1993, Location of phosphate esters in a wheat starch phosphate by P-nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Cereal Chemistry*, 70, 145–152.
- Lim, S. T., 1990, Preparation and properties of a thick-boiling, phosphorylated wheat starch for food use, and location of phosphate esters on starch by ³¹P-NMR spectroscopy, PhD Thesis, Kansas State University, USA
- Lopez, H. W., Levrat-Verny, M. A., Coudray, C., Besson, C., Krespine, V., Messenger, A., Demigne, C. and Remesy, C., 2001, Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats, *Journal of Nutrition*, 131, 1283–1289.
- Martinez-Flores, H. E., Chang, Y. K., Martinez-Bustos, F. and Sgarbierid, V., 2004, Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters, *Nutrition Research*, 24, 1, 85–93.
- Mermelstein, N. H., 2009, Analyzing for resistant starch, *Food Technology*, 4, 80–84.
- Mikusova, L., Sturdik, E., Mosovska, S., Brindzova, L. and Mikulajova, A., 2009, Development of new bakery products with high dietary fibre content and antioxidant activity for obesity prevention, In *Proceedings of 4th international dietary fibre conference*, Vienna, Austria: International Association for Cereal Science and Technology (ICC), p. 185.
- Morais, M. B., Feste, A., Miller, R. G. and Lifschitz, C. H., 1996, Effect of resistant and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron, and zinc in infant pigs, *Pediatric Research*, 39, 5, 872–876.
- Morita, N., Maeda, T., Miyazaki, M., Yamamori, M., Miura, H. and Ohtsuka, I., 2002, Dough and Baking Properties of High-Amylose and Waxy Wheat Flours, *Cereal Chemistry*, 79, 4, 491–495.
- Mun, S. H. and Shin, M., 2006, Mild hydrolysis of resistant starch from maize, *Food Chemistry*, 96, 115–121.
- Nugent, A. P., 2005, Health properties of resistant starch, *British Nutrition*

Foundation, Nutrition Bulletin, 30, 27–54.

Ohkuma, K., Matsuda, I. and Nogami, Y., 1994, U.S. Patent 5358729, Matsutani Chemical Industries Co.

Ohkuma, K., Hanno, Y., Inada, K., Matsuda, I. and Katta, Y., 1995, U.S. Patent 5472732, Matsutani Chemical Industries Co.

Öztürk, S., Köksel, H. and Ng, P. K. W., 2009a, Characterization of resistant starch samples prepared from two high-amylose maize starches through debranching and heat treatments, *Cereal Chemistry*, 86, 5, 503–510.

Öztürk, S., Köksel, H. and Ng, P. K. W., 2009b, Farinograph properties and bread quality of flours supplemented with resistant starch, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 6, 449–457.

Öztürk, S., Köksel, H. and Ng, P. K. W., 2011, Production of resistant starch from acid-modified amylotype starches with enhanced functional properties, *Journal of Food Engineering*, 103, 156–164.

Öztürk, S., Tiftik, B., Kahraman, K. and Köksel, H., 2008, Predicting the cookie quality of flours by using Mixolab, *European Food Research and Technology*, 227, 5, 1549–1554.

Patil, S. K., 2004, Resistant starches as low-carb ingredients—current applications and issues, *Cereal Foods World*, 49, 292–294.

Prosky, L., Asp, G. N., Furda, I., de Vries, J. W., Schweizer, T. F. and Harland, B. F., 1984, Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets: interlaboratory study, *Journal of the Association of Analytical Chemistry* 67, 1044–1052.

Raben, A., Andersen, K., Karberg, M. A., Holst, J.J. and Astrup, A., 1997, Acetylation of or β -cyclodextrin addition to potato starch: beneficial effect on glucose metabolism and appetite sensations, *American Journal of Clinical Nutrition*, 66, 304–314

Raben, A., Tagliabue, A., Christensen, N. J., Madsen, J., Holst, J. J. and Astrup, A., 1994, Resistant starch: The effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety, *American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 544–551.

Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Astroth, K. and Eisenbraun, G. J. 1991, Effect of resistant starch on intestinal responses in rats, *Cereal Chemistry*, 68, 2, 130–132.

Reader, D., Johnson, M. L., Hollander, P. and Franz, M., 1997, Response of resistant starch in a food bar vs. two commercially available bars in persons with type II diabetes mellitus, *Diabetes*, 46, 1, 254A.

- Roberfroid, M. B., 2000, Prebiotics and probiotics: Are they functional foods?, *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 6, 1682–1687.
- Rotuier, J. M. and Looten, P., 2006, Nutriose: Analytical aspects, *Dietary fibre 2006*, Helsinki, Finland, 12-14, June.
- Russell, P. L., Berry, C. S. and Greenwell, P., 1988, Characterization of resistant starch from wheat and maize, *Journal of Cereal Science*, 9, 1-15.
- Sajilata, M. G., Singhai, R. S. and Kulkarni, P., 2006, Resistant starch – A review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 1–17.
- Sang, Y. and Seib, P. A., 2006, Resistant starches from amylose mutants of corn by simultaneous heat-moisture treatment and phosphorylation, *Carbohydrate Polymers*, 63, 167–175.
- Sang, Y., Prakash, O. and Seib, P. A., 2007, Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by ^{31}P nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR) spectroscopy, *Carbohydrate Polymers*, 67, 201–212.
- Sanz, T., Salvador, A. and Fiszman, S.M., 2008, Resistant starch (RS) in battered fried products: Functionality and high-fibre benefit, *Food Hydrocolloids*, 22, 543–549.
- Scholz-Ahrens, E. K., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Yahya, A., Gluer, C.C. and Schrezenmeir, J., 2007, Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure, *Journal of Nutrition*, 137, 838–846.
- Shamai, K., Bianco-Peled, H. and Shimoni, E., 2003, Polymorphism of resistant starch type III, *Carbohydrate Polymers*, 54, 363–369.
- Sharma, A., Yadav, B. S. and Ritika, B., 2008, Resistant starch: Physiological roles and food applications, *Food Reviews International*, 24, 193–234.
- Shi, X. and BeMiller, J. N., 2000, Effect of sulfate and citrate salts on derivatization of amylose and amylopectin during hydroxypropylation of corn starch, *Carbohydrate Polymers*, 43, 333–336
- Shin, M., Woo, K. and Seib, P. A., 2003, Hot-Water Solubilities and Water Sorptions of Resistant Starches at 25°C, *Cereal Chemistry*, 80, 5, 564–566.
- Shin, S. I., Choi, H. J., Chung, K. M., Hamaker, B. R., Park, K. H., Moon, T. W., 2004, Slowly digestible starch from debranched waxy sorghum starch: preparation and properties, *Cereal Chemistry*, 81, 404–408.
- Sievert, D. and Pomeranz, Y., 1989, Enzyme-resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical and microscopic methods,

Cereal Chemistry, 66, 342–347.

Sievert, D. and Wursch, P., 1993, Thermal behaviour of potato amylose and enzyme-resistant starch from maize, *Cereal Chemistry*, 70, 333–350.

Singh, J., Kaur, L. and McCarthy, O. J., 2007, Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review, *Food Hydrocolloids*, 21, 1–22.

Sözer, N., Dalgıç, A. C. and Kaya, A., 2007, Thermal, textural and cooking properties of spaghetti enriched with resistant starch, *Journal of Food Engineering*, 81, 476–484.

Szczodrak, J. and Pomeranz, Y., 1999, Starch and enzyme-resistant starch from high-amylose barley, *Cereal Chemistry*, 68, 6, 589–596.

Tapsell, L. C., 2004, Diet and metabolic syndrome: Where does resistant starch fit in?, *Journal of the Association of Analytical Chemists International*, 87, 3, 756–760.

Tharanathan, R. N. and Mahadevamma, S., 2003, Grain legumes: A boon to human nutrition, *Trends in Food Science & Technology*, 14, 507–518.

Thompson, A. and Wolfrom, M. L., 1958, The composition of pyrodextrins, *Journal of the American Chemical Society*, 80, 6618–6620.

Topping, D. L. and Clifton, P. M., 2001, Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides, *Physiological Reviews*, 81, 1031–1064.

Tovar, J., Melito, C., Herrera, E., Rascon, A. and Perez, E., 2002, Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels, *Food Chemistry*, 76, 455–459.

Truwell, A. S., 1992, Glycemic index of foods, *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, 2, 91–101.

Tufvesson, F., Skrabanja, V., Björck, I., Elmstahl, H.L. and Eliasson, A.C., 2001, Digestibility of starch systems containing amylose-glycerol monopalmitin complexes, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 34, 131–139.

Vasanthan, T. and Bhatt, R. S., 1998, Enhancement of Resistant Starch (RS3) in Amylomaize, Barley, Field Pea and Lentil Starches, *Starch/Stärke*, 50, 286–291.

Wang, X., Conway, P. L., Brown, I. L. and Evans, A. J., 1999, *In vitro* utilization of amylopectin and high-amylose maize (Amylomaize) starch granules by

- human colonic bacteria, *Journal of Applied Microbiology*, 87, 631–639.
- Wang, Y. J. and Wang, L., 2002, Characterization of acetylated waxy maize starches prepared under catalysis by different alkali and alkaline-earth hydroxides, *Starch/Stärke*, 54, 25–30.
- Wang, Y. J., Kozlowski, R. and Delgado, G. A., 2001, Enzyme-resistant dextrans from highamylose corn mutant starches, *Starch/Stärke*, 53, 21–26.
- Wepner, B., Berghoper, E., Miesenberger, E., Tiefenbacher, K. and Ng, P. K. W., 1999, Citrate starch – Application as resistant starch in different food systems, *Starch* 51, 354–361.
- Woo, K. S. and Seib, P. A., 2002, Cross-linked resistant starch. Preparation and properties, *Cereal Chemistry*, 79, 819–825.
- Woo, K. S., Maningat, C. C. and Seib, P. A., 2009, Increasing dietary fiber in foods: The case for phosphorylated cross-linked resistant starch, a highly concentrated form of dietary fiber, *Cereal Foods World*, 217–223.
- Wu, Y. and Seib, P. A., 1990, Acetylated and Hydroxypropylated distarch phosphates from waxy barley: Paste properties and freeze-thaw stability, *Cereal Chemistry*, 67, 2, 202–208.
- Xie, X. and Liu, Q., 2004, Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches, *Starch/Stärke*, 56, 364–370.
- Yeo, L. L. and Seib, P. A., 2009, White pan bread and sugar-snap cookies containing wheat starch phosphate, a cross-linked resistant starch, *Cereal Chemistry*, 86, 210–220.
- Younes, H., Levrat, M. A., Demige, C. and Remesy, C., 1996, Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rat, *Lipids*, 30, 847–853.
- Yu, L. and Christe, G., 2001, Measurement of starch thermal transition using differential scanning calorimetry, *Carbohydrate Polymers*, 46, 179–184.
- Zheng, G. H. , Han, H. L. and Bhatta, R. S., 1999, Functional properties of cross-linked and hydroxypropylated waxy hull-less barley starches, *Cereal Chemistry*, 76, 182–188.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kevser KAHRAMAN
Doğum Yeri : Kayseri
Doğum tarihi : 17.12.1980
Medeni durumu : Evli
Adres : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
06800 Beytepe/Ankara
Tel : 0 (312) 297 7100
Fax : 0 (312) 299 2123
E-posta : kevserak@hacettepe.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu:

Yüksek Lisans : 2003–2005, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Lisans : 1998–2002, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi:

2002–2003 Araştırma Görevlisi, Cumhuriyet Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas
2003– Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara