

**FARKLI NİŞASTA KAYNAKLARINDAN ENZİME DİRENÇLİ
NİŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF
ENZYLE RESISTANT STARCH FROM
DIFFERENT STARCH SOURCES**

SERPİL ÖZTÜRK

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2008

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

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

Başkan :.....
Prof. Dr. Hazım Özkaya

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Hamit Köksel

Üye :.....
Prof. Dr. Gülüm Şumnu

Üye :.....
Prof. Dr. Serpil Şahin

Üye :.....
Doç. Dr. Dilek Sivri Özay

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Erdem Yazgan
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

FARKLI NİŞASTA KAYNAKLARINDAN ENZİME DİRENÇLİ NİŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Serpil Öztürk

ÖZ

Bu çalışmada, yüksek amilozlu mısır nişastaları (Hylon V ve Hylon VII) pullulanaz enzimi ile 3, 6, 12, 24 ve 48 saat ya da HCl ile 1, 2 ve 3 saat hidrolize edilmiştir. Enzime dirençli nişasta (EDN) oluşturmak için, doğal ve enzim/asit ile hidrolize edilmiş nişasta örnekleri farklı otoklavlama-bekletme döngüleri ve 50°C' de ya da liyofilizatörde kurutma yöntemlerine tabi tutulmuştur. Jel filtrasyon yöntemi ile, artan hidroliz süresiyle çok yüksek ve yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarının azaldığı, orta ve düşük molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarının arttığı belirlenmiştir. Enzim ile hidrolize olan örneklerde, artan hidroliz süresi ile örneklerin EDN içerikleri artmıştır. En yüksek miktardaki EDN (%57.8), Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile 48 saat enzim hidrolizinin ardından 9 kez otoklavlama-bekletme (133°C-95°C) döngüsü uygulanan ve 50°C' de kurutulan örnekte elde edilmiştir. Enzim ile hidroliz, DSC pik sıcaklığının (T_p) azalmasına ve entalpi değerlerinin (ΔH) artmasına neden olmuştur. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin RVA ısıtma öncesi viskozite değerleri etüvde kurutulanlardan yüksektir. Hidroliz sonrası otoklavlama-bekletme döngüsü uygulaması, maksimum viskozite, karıştırma ile viskozite azalması ve son viskozite değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Hidrolizatların ve tüm otoklavlama-bekletme uygulanan örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri doğal nişastalara göre fazladır. Enzim hidrolizatları albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesini olumsuz yönde etkilerken emülsiyon stabilitesini iyileştirmiştir. Asit ile hidrolize olan örneklerde, artan hidroliz süresi ile örneklerin EDN içerikleri değişmemiştir. Otoklavlama-bekletme uygulanan örneklerin T_o ve T_p değerleri doğal nişasta ve asit hidrolizatlarına göre yüksektir. Asit hidroliz seviyesi arttıkça RVA ısıtma öncesi viskozite değeri artarken, maksimum viskozite, karıştırma ile viskozite azalması ve son viskozite değerleri azalmıştır. Otoklavlama-bekletme uygulanan örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri doğal nişasta ve hidrolizatlara göre fazladır. Asit hidrolizatları ve otoklavlama-bekletme uygulanan örnekler albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerlerini iyileştirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzime dirençli nişasta, yüksek amilozlu/amilotip mısır nişastası, dallanma noktalarından kırma, asit modifikasyonu, DSC, RVA, emülsiyon özellikleri.

Danışman: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Müh. Bölümü.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF ENZYME RESISTANT STARCH FROM DIFFERENT STARCH SOURCES

Serpil Öztürk

ABSTRACT

In this study, high amylose corn starch samples (Hylon V and Hylon VII) were debranched with pullulanase for 3, 6, 12, 24 and 48 hr or hydrolyzed with HCl for 1, 2 and 3 hr. For resistant starch (RS) formation, native and enzyme/acid hydrolysed starch samples were subjected to various autoclaving-storing cycles and final drying in oven (at 50°C) or freeze-dryer. As the hydrolysis time increased, relative quantities of very high and high molecular weight fractions decreased, while medium and low molecular weight fractions increased, as determined by gel filtration. In enzyme hydrolyzed samples, RS contents increased with increasing debranching time. The highest RS content (57.8%) was obtained with nine autoclaving-storing (133°C-95°C) cycles following 48 hr of debranching and oven drying of the Hylon VII sample. Debranching caused decreases in DSC peak temperature (T_p) and increases in enthalpy (ΔH) values. RVA cold viscosity values of freeze-dried samples were higher than those of oven-dried samples. Autoclaving-storing cycles after debranching caused decreases in maximum, breakdown and final viscosity values. The solubility and water binding values of the debranched and all of the autoclaved-stored samples were higher than those of their respective native starches. Debranched samples affected the emulsion capacity of albumin solution adversely, but improved its emulsion stability. In acid hydrolyzed samples, RS contents did not change with increasing hydrolysis time. The autoclaved-stored samples had higher T_o and T_p values than those of their respective native and acid hydrolyzed samples. RVA cold viscosity values increased while the maximum, breakdown and final viscosity values decreased as the level of acid hydrolysis increased. The autoclaved-stored samples had greater solubility and water binding values than those of their respective native and acid hydrolyzed samples. Acid hydrolysates and the autoclaved-stored samples improved the emulsifying capacity and stability values of albumin solution.

Keywords: Enzyme resistant starch, high amylose/amylo type corn starch, debranching, acid modification, DSC, RVA, emulsifying properties.

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

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesinde büyük yardım ve desteğini gördüğüm tez danışmanım sayın ve sevgili hocam Prof. Dr. Hamit KÖKSEL' e,

Tez çalışmamın büyük bir kısmını Michigan State University, Food Science and Human Nutrition Bölümü' nde yapmama ve laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan Prof. Dr. Perry K.W. NG' e,

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

Yurt Dışı Araştırma Bursu desteği ile tez çalışmamı Michigan State University, Food Science and Human Nutrition Bölümü' nde yapmama imkan sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK)' na,

Lisansüstü Öğrenim Araştırma Projesi (Proje no: 08 T07 604 002) kapsamında tez çalışmama maddi destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi' ne,

Çalışmalarım sırasında benimle birlikte emek veren sevgili arkadaşım Arş Gör. Kevser KAHRAMAN' a,

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

Sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim dostlarım Bengi AKBULUT PINAR ile Ayşe ÖZBEY' e,

İhtiyaç duyduğum her an yanımda olan Yelda ZENCİR' e,

Ve hayatım boyunca bana destek olan aileme,

İçten teşekkürlerimi sunarım.

Serpil ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
EKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Nişasta Granülünün Yapısı.....	3
2.2. Nişastanın Jelatinizasyonu.....	4
2.3. Enzime Dirençli Nişasta.....	6
2.3.1. Enzime dirençli nişasta oluşumu.....	8
2.3.2. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri.....	11
2.3.3. Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları.....	12
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Metotlar.....	15
3.2.1. Nişasta örneklerinin enzim ile modifikasyonu.....	15
3.2.2. Nişasta örneklerinin asit ile modifikasyonu.....	15
3.2.3. Enzime dirençli nişasta üretimi.....	16
3.2.4. Rutubet miktarı tayini.....	21
3.2.5. Nişasta hidrolizatlarında moleküler ağırlık dağılımının tayini.....	21
3.2.6. Enzime dirençli nişasta miktarı tayini.....	22
3.2.7. Nişasta örneklerinin termal özellikleri.....	22

3.2.8. Nişasta örneklerinin viskozite özellikleri.....	23
3.2.9. Nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri.....	24
3.2.9.1. Çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	24
3.2.9.2. Emülsiyon oluşturma özellikleri.....	25
3.2.10. Nişasta örneklerinde renk analizi.....	26
3.2.11. İstatistiksel analiz.....	26
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Nişasta Örneklerinden Pullulanaz Enzimi ile Hazırlanan Hidrolizatların Özellikleri.....	27
4.1.1. Enzim hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı.....	27
4.1.2. Enzim hidrolizatlarının enzime dirençli nişasta miktarları.....	30
4.1.3. Enzim hidrolizatlarının termal özellikleri.....	32
4.1.4. Enzim hidrolizatlarının viskozite özellikleri.....	33
4.1.5. Enzim hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri.....	37
4.1.5.1. Enzim hidrolizatlarının çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	37
4.1.5.2. Enzim hidrolizatlarının emülsiyon oluşturma özellikleri.....	38
4.2. Pullulanaz Enzimi ile Hidroliz ve Otoklavlama-Bekletme Döngüleri Uygulanmış Nişasta Örneklerinin Özellikleri.....	40
4.2.1. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları.....	40
4.2.2. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin termal özellikleri.....	43
4.2.3. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin viskozite özellikleri.....	45
4.2.4. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri.....	59
4.2.4.1. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	59
4.2.4.2. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin emülsiyon oluşturma özellikleri.....	62

4.3. Nişasta Örneklerinden Asit ile Hazırlanan Hidrolizatların Özellikleri.....	65
4.3.1. Asit hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı.....	65
4.3.2. Asit hidrolizatlarının enzime dirençli nişasta miktarları.....	68
4.3.3. Asit hidrolizatlarının termal özellikleri.....	69
4.3.4. Asit hidrolizatlarının viskozite özellikleri.....	70
4.3.5. Asit hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri.....	74
4.3.5.1. Asit hidrolizatlarının çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	74
4.3.5.2. Asit hidrolizatlarının emülsiyon oluşturma özellikleri.....	75
4.4. Asit Hidrolizi ve Otoklavlama-Bekletme Döngüleri Uygulanmış Nişasta Örneklerinin Özellikleri.....	76
4.4.1. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları.....	76
4.4.2. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin termal özellikleri.....	78
4.4.3. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin viskozite özellikleri.....	79
4.4.4. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri.....	85
4.4.4.1. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	85
4.4.4.2. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin emülsiyon oluşturma özellikleri.....	87
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	90
KAYNAKLAR.....	94
EKLER.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	117

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Uygulama 1' e ait üretim akım şeması.....	17
Şekil 3.2. Uygulama 2' ye ait üretim akım şeması.....	18
Şekil 3.3. Uygulama 3' e ait üretim akım şeması.....	20
Şekil 3.4. Glukoz standart eğrisi.....	22
Şekil 4.1. Hylon V ve enzim hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları.....	28
Şekil 4.2. Hylon VII ve enzim hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları.....	29
Şekil 4.3. Hylon V ve enzim hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri.....	33
Şekil 4.4. Hylon VII ve enzim hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri....	34
Şekil 4.5. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	46
Şekil 4.6. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	47
Şekil 4.7. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	48
Şekil 4.8. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	49
Şekil 4.9. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	53
Şekil 4.10. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	54
Şekil 4.11. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	55

Şekil 4.12. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama- bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	56
Şekil 4.13. Hylon V ve asit hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları.....	66
Şekil 4.14. Hylon VII ve asit hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları.....	67
Şekil 4.15. Hylon V ve asit hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri.....	71
Şekil 4.16. Hylon VII ve asit hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri.....	72
Şekil 4.17. Hylon V nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama- bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	80
Şekil 4.18. Hylon V nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama- bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	81
Şekil 4.19. Hylon VII nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama- bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	82
Şekil 4.20. Hylon VII nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama- bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Bazı gıdaların enzime dirençli nişasta miktarları.....	7
Çizelge 3.1. “Hylon” profilinde sıcaklık-hız değişimi.....	23
Çizelge 4.1. Hylon V, Hylon VII ve enzim hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı.....	30
Çizelge 4.2. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	31
Çizelge 4.3. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin DSC değerlerine etkisi.....	32
Çizelge 4.4. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	36
Çizelge 4.5. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi.....	37
Çizelge 4.6. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi.....	39
Çizelge 4.7. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	41
Çizelge 4.8. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	42
Çizelge 4.9. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi.....	43
Çizelge 4.10. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi.....	44
Çizelge 4.11. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	50
Çizelge 4.12. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	57
Çizelge 4.13. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi.....	59

Çizelge 4.14. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi.....	61
Çizelge 4.15. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi.....	63
Çizelge 4.16. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi.....	64
Çizelge 4.17. Hylon V, Hylon VII ve asit hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı.....	68
Çizelge 4.18. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin EDN miktarına etkisi.....	69
Çizelge 4.19. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin DSC değerlerine etkisi.....	69
Çizelge 4.20. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	73
Çizelge 4.21. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi.....	74
Çizelge 4.22. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi.....	75
Çizelge 4.23. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	77
Çizelge 4.24. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi.....	78
Çizelge 4.25. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA ile elde edilen viskozite değerlerine etkisi.....	84
Çizelge 4.26. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi.....	86
Çizelge 4.27. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi.....	88

EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek 1. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII' e ait DSC termogramı.....	101
Ek 2. Hylon V ve Hylon VII' den 0 ve 48 saat pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan hidrolizatlara ait DSC termogramları.....	102
Ek 3. Enzim hidrolizatlarına ait korelasyon katsayıları.....	103
Ek 4. Modifiye nişastalar için kullanılan RVA profilinde sıcaklık-hız değişimi.	104
Ek 5. Modifiye nişastalar için kullanılan profil ile elde edilen RVA viskozite grafikleri.....	105
Ek 6. Hylon profili ile elde edilen RVA viskozite grafikleri	105
Ek 7. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin CIE renk değerlerine etkisi.....	106
Ek 8. Hylon V' den enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilmiş nişastalara ait örnek DSC termogramı.....	107
Ek 9. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örneklerle ait korelasyon katsayıları.....	108
Ek 10. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi.....	109
Ek 11. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi.....	110
Ek 12. Hylon V ve Hylon VII' den 3 saat asit hidrolizi ile üretilen örneklerle ait DSC termogramı.....	111
Ek 13. Asit hidrolizatlarına ait korelasyon katsayıları.....	112
Ek 14. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin CIE renk değerlerine etkisi.....	113
Ek 15. Hylon V' den asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen nişastalara ait örnek DSC termogramı.....	114
Ek 16. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örneklerle ait korelasyon katsayıları.....	115
Ek 17. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi.....	116

1. GİRİŞ

Nişasta α -D-glukoz birimlerinin polimerleşmesinden oluşan bir polisakkarit olup yapısında amiloz ve amilopektin olmak üzere iki tür polimer bulunmaktadır. Nişastanın iğerdiği amiloz ve amilopektin oranı kaynağına göre değişebilmektedir. Yüksek oranda amiloz içeren hububat nişastaları “amilotip nişasta” olarak adlandırılmaktadır. Mısırın yüksek amiloz (%55-70) içeren çeşitli mutantları bulunmaktadır. Amiloz/amilopektin oranının jelatinizasyon ve retrogradasyonu etkilediği düşünölmektedir. Normal nişastalarda kaynağına bağlı olmakla birlikte jelatinizasyon genelde 55-60°C’ de geręekleřmektedir. Ancak yüksek oranda amiloz içeren nişastaların jelatinizasyon sıcaklığı normal oranda amiloz içeren nişastalara göre daha yüksektir. Bu nedenle normal pişirme koşullarında bu tip nişastaların jelatinizasyonu mümkün olmamakta, jelatinizasyon ancak yüksek basınę ve yüksek sıcaklık sağlayan otoklav gibi sistemlerde geręekleřebilmektedir.

Asit modifikasyonu nişastanın modifikasyonunda kullanılan en eski yöntemlerden birisidir. Asit, nişastanın amorf kısımlarına etki ederek buradaki glukozidik bağları hidrolize eder. Asit hidrolizi ile nişastanın granöler yapısı bozulmadan bazı fizikokimyasal özellikleri değişmektedir. Hidrolizle oluşan kısa zincirler daha az şişmekte ve viskozitesi daha düşük olmaktadır. Hidroliz süresinin artmasıyla jelatinizasyon sonrası retrogradasyon hızı da artmaktadır.

Nişastalar, enzim inkübasyonu sonrasındaki davranışlarına göre; hızlı sindirilebilen nişasta, yavaş sindirilebilen nişasta ve direnęli nişasta şeklinde sınıflandırılmaktadırlar. Enzime direnęli nişasta (EDN), sağlıklı bireylerin ince bağırsağında sindirilemeyen ancak kalın bağırsakta fermente olabilen nişasta ve nişasta paręalanma ürünleridir. Prebiyotik, besinsel lif ve yağ ikame edici özellikleri nedeniyle gıdalarda kullanılma potansiyeline sahip olan EDN’ nin dışkı miktarı (fecal bulking) ve atımı ile kısa zincirli yağ asidi oluşturma özelliği bakımından besinsel liflere önemli ölçüde benzedikleri bildirilmektedir. Ayrıca, EDN ince bağırsakta sindirilemediği için gıdanın glisemik indeksini azaltmakta ve diyabetli hastaların diyetlerinde kullanılabilirlerdir. Serumdaki kolesterol ve trigliseritlerin seviyesini de azaltmaktadır.

Genel olarak EDN, ısıtma işlemleri, kısmi asit hidrolizi, enzim modifikasyonu, asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısıtma işlem uygulaması, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemlerle oluşturulmaktadır. Nişastanın amiloz/amilopektin oranı, zincir uzunluğu ve amiloz-lipid kompleksinin varlığı ile nişastaya uygulanan ısıtma işlemleri (ısıtma, soğutma, kurutma, vs.) gıdalardaki EDN oluşumu ve miktarı üzerine etki etmektedir. 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 gelir. Kısa zincirli moleküllerin mobiliteleri uzun zincirli moleküllere göre daha fazla olduğu için nişasta zincirlerinin uzunluğu asit hidrolizi ile azaltıldığında retrogradasyonun hızı ve dolayısıyla EDN miktarı artacaktır. Amilopektinin yapısındaki dallanma noktaları da retrogradasyonu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle nişasta pullulanaz ya da izoamilaz gibi α -1,6 bağlarına etki eden bir enzim ile muamele edilirse granüldeki düz zincirler artacaktır. Bu durumda retrogradasyon sırasında oluşacak EDN miktarında artış olacaktır. Bir gıda bileşeni olarak EDN, özellikle kahvaltılık hububat ürünleri, yüksek lifli ekmek ve kekler gibi bazı hububat ürünlerinde kullanılabilir. Fonksiyonel lif niteliği, özellikle beyaz renkli, kabul edilebilir tat-koku ve boyut özelliği ile pek çok geleneksel lif kaynağına göre daha rahatlıkla kullanılabilir.

Bu çalışmada, yüksek amiloz içeren mısır nişastalarından (Hylon V, %55 amiloz ve Hylon VII, %70 amiloz) enzim veya asit hidrolizi ile nişasta hidrolizatları hazırlanmış, hidrolizatların molekül ağırlık dağılımları belirlenmiş ve bu hidrolizatlara farklı otoklavlama-bekletme döngüleri ve farklı kurutma yöntemleri (50°C' de etüvde kurutma ya da liyofilizasyon) uygulanarak enzime dirençli nişasta (EDN) içeren nişasta türevlerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Nişasta hidrolizatlarının ve EDN içeren nişasta türevlerinin sulu sistemde ısıtma-soğutma sırasındaki davranışları mikro-viskoanalizör (RapidVisco Analyzer: RVA) ile, nişasta retrogradasyonu ise DSC (Differential Scanning Calorimetry: diferansiyel taramalı kalorimetre) ile incelenmiştir. Ayrıca tüm örneklerin fonksiyonel özellikleri (çözünürlük, su bağlama, emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi) de belirlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Nişasta Granülünün Yapısı

Nişasta α -D-glukkoz birimlerinin polimerleşmesinden oluşan bir polisakkarittir. Nişastanın yapısında amiloz ve amilopektin olmak üzere iki tür polimer bulunmaktadır (Hoseney, 1994). Nişastanın içerdiği amiloz ve amilopektin oranı kaynağına göre değişebilmektedir (Garcia-Alonso et al., 1999; Tharanathan and Tharanathan, 2001). Farklı bitkilerin yapısında bulunan nişastada amiloz miktarı %17' den (pirinç) %38' e (mercimek) kadar değişmektedir. Hububat nişastalarında amiloz oranı yaklaşık %23, amilopektin oranı ise %77' dir. Çeşitli hububat mutantlarının %100 amilopektin içeren nişastalara (mumsu: waxy) sahip olduğu saptanmıştır. Bazı hububat nişastaları ise yüksek oranda amiloz içermektedir. Yüksek oranda amiloz içeren hububat nişastaları "amilotip nişasta" olarak adlandırılmaktadır. Mısırın yüksek amiloz (%55-70) içeren çeşitli mutantları bulunmaktadır (Shi et al., 1998; Garcia-Alonso et al., 1999; Yoshimoto et al., 2000; Chung et al., 2003; Sakharam, 2004).

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 düşük düzeyde dallanma noktaları vardır ve bunlar α -1,6 bağlarından oluşur. 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 20000 ile 250000 arasında değişmektedir. Amilopektin de amiloz gibi α -1,4 bağı ile bağlanmış D-glukoz birimlerinden oluşmuştur. Ancak amilopektin çok daha fazla dallanmış bir yapıdadır ve dallanma noktalarında α -1,6 bağları bulunmaktadır. Herbir dal 20-25 glukoz biriminden oluşur (Hoseney, 1994; Parker and Ring, 2001). 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 küçük miktarda 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 Jelatinizasyonu

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 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 çözeltiliye 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 (double helix) şeklinde yeniden dizilmeye başlar. Bu olaya retrogradasyon denir (Haralampu, 2000). Nişastanın her iki polimerinin de (amiloz ve amilopektin) retrogradasyonda rolü vardır (Escarpa et al.,1997; Garcia-Alonso et al., 1999). Ancak amiloz retrogradasyonu birkaç saat içinde gerçekleşirken amilopektin retrogradasyonu günler süren uzun bir prosestir (Eerlingen et al., 1994; Garcia-Alonso et al., 1999).

Amiloz/amilopektin oranının jelatinizasyon ve retrogradasyonu etkilediği düşünülmektedir (Czuchajowska et al., 1998; Fredrikkson et al., 1998; Yurvey et al., 1998). Normal nişastalarda kaynağına bağlı olmakla birlikte jelatinizasyon genelde 50-55°C' de gerçekleşmektedir. Ancak yüksek amiloz içeren nişastaların jelatinizasyon sıcaklığı normal oranda amiloz içeren nişastalara göre daha yüksektir (Jiang and Liu, 2002; Jeong and Lim, 2003; Varavinit et al., 2003; Xie and Liu, 2004). Bu nedenle normal pişirme koşullarında bu tip nişastaların jelatinizasyonu mümkün olmamakta, jelatinizasyon ancak yüksek basınç ve

yüksek sıcaklık sağlayan otoklav gibi sistemlerde gerçekleştirilmektedir (Chung et al., 2003; Sakharam, 2004). Amilotip nişastadaki amilopektinin uzun zincirlere sahip olması nedeniyle daha dirençli kristaller oluşturduğu ve böylece ısı işlemlere daha dayanıklı hale geldiği düşünülmektedir (Chung et al., 2003).

Nişastanın sulu bir sistemde sıcaklık değişimiyle viskozitesinde meydana gelen değişimler Amilograf ve mikroviskoanalizör (RVA: Rapid ViscoAnalyser) gibi cihazlarla incelenmektedir. Bu viskoanalizörlerde nişasta:su sistemi incelenirken sıcaklık artışıyla nişasta granülleri 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). RVA ve Amilograf gibi sistemlerde sıcaklık 95°C' nin üzerine çıkarılamamaktadır. Bu nedenle RVA kullanıldığında yüksek amiloz içeren nişastanın jelatinizasyonu gerçekleşmemekte, granüler yapı korunmakta ve dolayısıyla oldukça düşük bir viskozite grafiği elde edilmektedir (Song and Jane, 2000; Yoshimoto et al., 2000; Jiang and Liu, 2002; Jeong and Lim, 2003; Varavinit et al., 2003; Xie and Liu, 2004). Amiloz oranının artması ile granülün su alarak şişmesi zorlaşmakta, dolayısıyla yüksek amiloz içeren nişastalar normal oranda amiloz içerenlere göre daha yavaş şişmektedir. Yüksek amiloz içeren nişastaların RVA' da düşük viskozite vermelerinin bu konu ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Tester and Morrison, 1990; Song and Jane, 2000).

Nişastanın jelatinizasyonunun incelenmesinde kullanılan başka bir cihaz da mikrokalerimetre (DSC: Differential Scanning Calorimetry)' dir. 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. Enzime Dirençli Nişasta

Nişastalar, enzim inkübasyonu sonrasındaki davranışlarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadırlar (Berry, 1986).

1. Hızlı sindirilebilen nişasta (Rapidly digestible starch): Amorf ve dispers haldeki nişasta olup nemli ısıda pişirilmiş ekmek ve patates gibi nişastalı gıdalarda yüksek miktarda bulunur.

2. Yavaş sindirilebilen nişasta (Slowly digestible starch): Tamamen ancak çok yavaş sindirilebilen nişastadır. Hububat nişastaları gibi pişmiş gıdalarda granüler ya da retrograde halde bulunan, fiziksel olarak erişilemez amorf nişastaları kapsar.

3. Dirençli nişasta (Resistant starch): İlk olarak Englist et al. (1982) tarafından *in vitro* koşullarda amilaz ve pullulanaz enzimleri ile hidrolize dirençli nişasta fraksiyonunu tanımlamak için dirençli nişasta terimi kullanılmıştır. Nişasta kalın bağırsaklara ulaşabilmekte ve bağırsak mikroflorası tarafından fermente edilmektedir. Bu nedenle ince bağırsakta sindirilemeyen besinsel lifin bir fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Toplam nişasta miktarından hızlı ve yavaş sindirilebilen nişasta miktarları çıkarılarak hesaplanabilmektedir (Sajilata et al., 2006).

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, ekmek)

- Tip4 EDN; kimyasal olarak modifiye edilmiş nişasta (örnek: asetat nişastaları, fosfat nişastaları, sitrat nişastaları ve çapraz bağlı nişastalar)

Bazı gıdaların EDN içerikleri Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı gıdaların enzime dirençli nişasta miktarları¹

Gıda	EDN miktarı ²
	(%)
Ekmek (beyaz ekmek)	1.2
Çavdar ekmeği	3.2
Yulaf ekmeği	1.2
Tortilla (mısır)	3.0
Pizza hamuru (pişmiş)	2.8
Mısır gevreği	3.2
Yulaf ezmesi	1.0
Patlamış pirinç	2.3
Patlamış buğday	6.2
Kek	0.5-1.8
Bisküvi-Kraker	0.5-2.8
Muz	4.0
Erişte (pişmiş)	0.4-1.6
Makarna (pişmiş)	1.1-1.4
Pirinç (pişmiş)	1.2-1.7
Baklagiller (pişmiş)	1.0-4.2
Patates (pişmiş)	0.5-2.8

¹ Murphy et al., 2008

² EDN: Enzime dirençli nişasta

Tip1 ve Tip2 EDN gıdaların uygun bir şekilde ön işlenmesi ile yavaş da olsa sindirilebilirken, Tip3 ve Tip4 EDN sindirime karşı direnç göstermektedir (Vasanthan and Bhattu, 1998). Termal stabilitesi nedeniyle bu dört grup içinde en çok ilgi çeken Tip3 EDN' dir (Haralampu, 2000; Shamaı et al., 2003). Bu özelliği Tip3 EDN' nin normal pişirme işlemlerinde stabil olmasını ve besinsel özelliğini korumasını, dolayısıyla birçok gıdada ingrediye olarak kullanılabilmesini

sağlamaktadır (Haralampu, 2000). Bu nedenle gıdanın Tip3 EDN içeriğinin farklı proseslerle artırılması ile ilgili çalışmalar giderek önem kazanmaktadır.

2.3.1. Enzime dirençli nişasta oluşumu

Tahıllarda, sebze ve meyvelerde ve işlenmiş gıdalarda farklı miktarlarda EDN bulunmaktadır. Bunun yanı sıra gıdaya uygulanan bazı işlemler ile EDN miktarı değişebilmektedir. Genel olarak EDN, ısıtma işlemler, kısmi asit hidrolizi, enzim modifikasyonu, asit ya da enzim modifikasyonunun birlikte ısıtma işlem uygulaması, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemlerle oluşturulmaktadır. Gıdalardaki EDN oluşumu ve miktarı üzerine etki eden faktörler nişastaya uygulanan ısıtma işlemler (ısıtma, soğutma, kurutma, vs.), nişastanın amiloz: amilopektin oranı, moleküllerin zincir uzunluğu, amiloz-lipid kompleksinin varlığı şeklinde sıralanabilir (Charalampopoulos et al., 2002; Sajilata et al., 2006).

Tip3 EDN oluşturmak için nişasta önce jelatinize daha sonra retrograde edilmelidir (Escarpa et al., 1997). Granüler yapı, aşırı su varlığında ısıtma ile jelatinizasyon sonucu dağılmaktadır (Farhat et al., 2001). Nişastanın jelatinizasyonundan sonra hareketli haldeki düz amiloz molekülleri hidrojen bağları ile kuvvetlenerek ikili sarmal yapı şeklinde yeniden dizilirler. Nişastanın ikili sarmal yapısının düzenlenmesi ile oluşan kristal yapı nişastayı hidrolize eden enzimlere dirençli hale gelir (Vasanthan and Bhattu, 1998). Enzimatik ve fizikokimyasal araştırmalar Tip3 EDN oluşumundan nişastanın retrogradasyon sırasındaki kristalizasyonunun sorumlu olduğunu göstermiştir (Berry, 1986; Sievert and Pomeranz, 1989; Vasanthan and Bhattu, 1998; Chung et al., 2003; Jeong and Lim, 2003). Nişastanın retrogradasyonu sırasındaki depolama koşulları oldukça önemlidir. Amiloz amilopektine göre daha kısa sürede retrograde olmaktadır. Oluşan amiloz kristalleri amilopektin kristallerine göre sıcaklığa daha dayanıklıdır. Amilopektin kristalleri yaklaşık 60°C' de erimekte, dolayısıyla depolama sırasında yüksek sıcaklıklara çıkılması ile EDN miktarında azalma görülmektedir (Garcia-Alonso et al., 1999). Liyofilizasyon ile kurutma yapılan örneklerde ise EDN miktarı düşük bulunmuştur. Bunun sebebi liyofilizasyon sırasında amiloz polimerlerinin düzenlenmesinin engellenmesi ve böylece retrogradasyonun sınırlı düzeyde gerçekleşmesi olarak gösterilmiştir (Köksel et al., 2008).

Farklı sıcaklık ve zaman kombinasyonları uygulanarak çeşitli nişasta kaynaklarından Tip3 EDN oluşumu gerçekleştirilmektedir. Normal amiloz içeriğine sahip nişastalarda 100°C' nin üzerindeki pişirme işlemleri ile EDN oluşumu sağlanabilmektedir. Çeşitli araştırmalarda 110°C (Berry, 1986), 121°C (Berry, 1986; Björk et al., 1987; Sievert and Pomeranz, 1989; Sievert and Wursch, 1993), 127°C (Berry, 1986; Björk et al., 1987), 134°C (Berry, 1986; Björk et al., 1987; Russell et al., 1988; Sievert and Pomeranz, 1989) ve 148°C (Sievert and Pomeranz, 1989) sıcaklık ve 30 dakika ile 1 saat arasında değişen zaman uygulamaları ile EDN oluşturulmuştur. Garcia-Alonso et al. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, patates nişastasına 120°C' de 20 dakika ısı işlem uygulanarak jelatinize edilmiş ve ardından -20°C' de 16 saat dondurulup, 60°C' de kurutularak EDN oluşumu (%21.2) sağlanmıştır.

Brumovsky and Thompson (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek amiloz içeren mısır nişastasında ısı işlem uygulaması ile birlikte kısmi asit hidrolizinin EDN oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir. Asit hidrolizi nişastanın modifikasyonunda kullanılan yöntemlerden birisidir. Asit, nişastanın amorf kısımlarına etki ederek buradaki glukozidik bağları hidrolize eder (Hoseney, 1994; Vasanthan and Bhatta, 1998; Puchongkavarin et al., 2003). Nişastanın ikili sarmal yapısı nedeniyle, asit kristalin bölgelere etki edememektedir. Ancak uzun süreli asit hidrolizinde kristalin bölgeler de etkilenmeye başlar (Puchongkavarin et al., 2003). Asit, nişastanın amorf bölgelerini etkilediği için hidroliz sonucunda nişastanın kristalinitesi artmaktadır (Atichokudomchai et al., 2000; Atichokudomchai et al., 2001; Chung et al., 2003). Asit hidrolizi nişastanın amilopektin içeriğinden etkilenmektedir. Yüksek amiloz içeren nişastalar asit hidrolizine karşı direnç gösterirken (Shi et al., 1998) mumsu nişastalar asit ile daha hızlı hidrolize uğrar (Wang and Wang, 2001). Asit hidrolizi ile nişastanın granüler yapısı bozulmadan bazı fizikokimyasal özellikleri değişmektedir. Asitle hidroliz sonucunda nişastanın moleküler ağırlığı azalmakta, çözünürlüğü artmaktadır (Wang and Wang, 2001). Hidrolizle oluşan kısa zincirler daha az şişmekte ve viskozite daha düşük olmaktadır (Hoseney, 1994). Ayrıca jelleşme sırasında kısa zincirler arasındaki etkileşimin daha fazla olması nedeniyle asit modifiye nişastalar normal nişastalara göre daha sert bir jel oluşturmaktadır (Hoseney, 1994; Wang and Wang, 2001). Kısa zincirli moleküllerin mobiliteleri uzun zincirli moleküllere göre daha fazla olduğu için nişasta zincirlerinin uzunluğu asit

hidrolizi ile azaltıldığında retrogradasyonun hızı (Wang and Wang, 2001; Chung et al., 2003) ve dolayısıyla Tip3 EDN miktarı artmaktadır (Vasantan and Bhatt, 1998; Thompson, 2000; Lehmann et al., 2003).

Amilopektinin yapısındaki dallanma noktaları retrogradasyonu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle amilopektin ısı işlem öncesi ya da sonrasında pullulanaz ya da izoamilaz gibi α -1,6 bağlarına etki eden bir enzim ile muamele edilirse granüldeki lineer zincirler artacaktır. Bu durumda retrogradasyon sırasında oluşacak Tip3 EDN miktarında artış olacaktır (Berry, 1986; Vasanthan and Bhatt, 1998, Leong et al., 2007). Muz nişastası ile yapılan bir çalışmada, pullulanaz enzimi ile muamele edildikten sonra 121°C' de otoklavlama ve 4-60°C' de bekletme döngüsü ile hazırlanan preparatlarda EDN miktarının arttığı gözlenmiştir (Gonzales-Soto et al., 2007).

Tip3 EDN miktarını amilozun polimerizasyon derecesi (PD) de etkilemektedir. PD>100 olduğunda EDN miktarının arttığı, PD<100 olduğunda ise sabit kaldığı bildirilmiştir (Haralampu, 2000). Amilopektinin dallanma noktaları molekülün hareketini kısıtlamakta ve PD ikili sarmal oluşturacak büyüklükte olmadığı için amilopektin Tip3 EDN oluşturamamaktadır (Eerlingen et al., 1994; Haralampu, 2000).

Amilotip mısır nişastasındaki uzun yan zincirler bu nişastanın retrogradasyon eğilimini arttırmaktadır (Chung et al., 2003). Yapıda ikili sarmal oluşturmak için yeterli uzunlukta zincirler bulunduğundan bu nişastanın enzimatik hidrolize olan direnci artmaktadır (Eerlingen and Delcour, 1995). Yüksek amilozlu patates nişastasında 100°C' de ısı işlem uygulaması ile EDN oluşumunun (%25-30) düşük amilozlu patates nişastasından (%0-5 EDN) fazla olduğu saptanmıştır (Leeman et al., 2006).

Kimyasal yöntemlerle EDN (Tip4 EDN) oluşumunda ise, nişasta bir takım kimyasallarla çapraz bağ oluşturularak modifiye edilmektedir. Bu amaçla, sodyum trimetafosfat, fosfor oksiklorit, sitrik asit, asetik asit/dikarboksilik asit karışımı gibi kimyasallar kullanılmaktadır. Bir çalışmada, sitrik asit ile 140°C' de 7 saat muamele edilen normal ve yüksek amilozlu mısır nişastalarında sırasıyla %78.8 ve %86.4 oranında EDN oluştuğu belirlenmiştir. Üretilen bu sitrat nişastalarının RVA

analizi sırasında viskozite oluşturmadiğı, DSC analizinde de ise normal nişastaya göre daha küçük pik verdiğı gözlenmiştir (Xie and Liu, 2004). Başka bir çalışmada, sitrik asit ile 140°C' de 5 saat muamele edilen mısır, patates ve buğday nişastalarında sırasıyla %50.8, 50.2 ve 57.5 oranında EDN oluştuğı saptanmıştır (Wepner et al., 1999). Han and BeMiller (2007) tarafından yapılan çalışmada, normal mısır nişastasının POCl₃ ile çapraz bağlanması ve asetilasyon uygulaması ile %24 EDN oluşumu sağlanmıştır. Başka bir çalışmada, sodium trimetafosfat ile 130°C' de 2 saat muamele edilen buğday ve mısır nişastalarının EDN içerikleri sırasıyla %75.7 ve %57.8' e çıkmıştır (Woo and Seib, 2002).

2.3.2. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri

Normal nişasta gibi sindirilememesi nedeniyle EDN' nin sağlık üzerine bazı yararları bulunmaktadır (Haralampu, 2000). EDN, çözünmeyen lif sınıfına girmekte ancak çözünür lifler gibi fizyolojik faydaları bulunmaktadır. Farelerle yapılan çalışmalarda EDN' nin ince bağırsaktan sindirilmeden geçerek kalın bağırsakta fermente olduğunu gösterilmiştir (Gee et al., 1991; Ranhotra et al., 1991).

İnce bağırsaklarda emilemeyen nişasta kalın bağırsak mikroflorası tarafından fermente edilmektedir. Genellikle insan ya da hayvan dışkısında nişastaya rastlanmaz, bu da tamamen fermente olabildiğini gösterir. İnsan dışkısı ile yapılan *in vitro* alışmalarda nişastadan bütirat üretiminin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bütirat, kalın bağırsak epitel hücreleri için temel enerji kaynağı olması nedeniyle kolon kanserinin önlenmesinde fermente olabilen EDN fraksiyonu önem taşımaktadır (Asp and Björck, 1992). EDN dışkı miktarını (fecal bulk) arttırmakta, kolon pH' sını düşürmekte ve kolon kanser riskini azaltmaktadır (Haralampu, 2000). Birçok araştırmada kısa zincirli yağ asitlerinin bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir. EDN kolon mikroflorası için substrat konumundadır ve bu mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır (Ferguson et al., 2000; Haralampu, 2000; Charalampopoulos et al., 2002; Henningsson et al., 2003). EDN ile beslenen domuz ve farelerde kolon pH' sında önemli bir azalma olduğu ve yüksek miktarda kısa zincirli yağ asiti oluşumu belirlenmiştir (Ferguson et al., 2000; Henningsson et al., 2003). EDN ile buğday kepeği gibi bir çözünmeyen lifin birlikte tüketimi sonucunda üretilen kısa zincirli yağ asiti

miktarının, özellikle bütiratın çok daha fazla olduğu belirlenmiştir (Leu et al., 2002). EDN probiyotik mikroorganizmaların gelişimi için de önemlidir. *Bifidobacteria* türleri için substrat konumunda olduğu ve sindirim sisteminde bu bakteriler için koruyucu görev yaptığı düşünülmektedir (Brown et al., 1997; Brown et al., 1998; Wang et al., 1999).

EDN ince bağırsakta sindirilemediği için gıdanın glisemik indeksini de azaltmaktadır (Fredriksson et al., 2000; Shamai 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 kan glukoz seviyesinde azalma ve tokluk hissinde artış sağlamaktadır (Raben et al., 1994; Reader et al., 1997). Bir çalışmada, normal ağırlıkta sağlıklı fareler 50 g EDN içermeyen 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).

İnsan ve farelerle yapılan çeşitli çalışmalarda EDN' nin serum kolesterol ve trigliseritlerin seviyesini de azalttığı belirtilmektedir (Behall et al., 1989; Reiser et al., 1989; Noakes et al., 1996; Kim et al., 2003). Ayrıca EDN' nin kalsiyum, magnezyum, çinko, demir ve bakır gibi minerallerin emilimini arttırdığı (Morais et al., 1996; Lopez et al., 2001), safra taşı oluşumunu ise azalttığı bildirilmiştir (Birkett et al., 2000).

2.3.3. Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları

Son zamanlarda retrogradasyon eğilimleri nedeniyle yüksek amiloz içeren nişastalar ekmek, kahvaltılık hububat ürünleri ve çeşitli ekstrüde ürünlere katılabilen besinsel lif kaynakları arasında yer almakta ve bu tür ürünlerde kullanıldığında EDN miktarını arttırılabileceği belirtilmektedir (Sievert and Pomeranz, 1989; Haralampu, 2000; Thompson, 2000; Dimantov et al., 2004).

EDN' nin bir gıda bileşeni olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Örneğin, EDN' nin bazı gıdalarda gevrekliği ve kabarmayı arttırdığı ve lif içeren bazı gıdalara göre renk, tat-koku ve tekstür gibi özellikleri iyileştirdiği tespit edilmiştir (Yue and Waring, 1998). Fonksiyonel lif niteliği, özellikle beyaz renkli, kabul edilebilir tat-koku ve boyut özelliği ile pek çok besinsel lif kaynağına

göre rahatlıkla kullanılabilir (Charalampopoulos et al., 2002). Proses koşullarına daha fazla uyumlu olduğu için EDN kullanıldığında üretim koşulları ve ürün formülasyonunda daha az modifikasyon yapılmaktadır (Sakharam, 2004).

EDN ile ilgili pratiğe yönelik uygulamalar daha çok orta ve düşük nem içerikli gıdalar ve özellikle de kahvaltılık hububat, yüksek lifli ekmek ve kepekli kekler gibi bazı hububat ürünlerinde gerçekleştirilmiştir. Bu ürünlerde EDN' nin diğer geleneksel besinsel lif kaynaklarına kıyasla bazen daha iyi (ekmek, bisküvi), bazen de benzer nitelikte (krakerler) duyu özellikleri verdiği tespit edilmiştir. Ekstrüde ürünlerde de olumlu değişiklikler gözlenmiştir. Gaz hücrelerinin genişlemesinin oldukça önemli olduğu ekstrüde ürünlerde kullanılan ticari besinsel lifler gıdanın fiziksel yapısını kuvvetlendirerek genişlemesini (expansion) sınırlandırmaktadırlar. Bu ürünlerin formülasyonlarına Tip3 EDN katılabilmekte ve herhangi bir olumsuz etki yaratmamaktadır (Haralampu, 2000). Ekmek üretiminde kepek ve benzeri ticari lifler kullanıldığında koyu renkli ve düşük hacimli bir ürün elde edilmektedir. Ayrıca bu besinsel lifler kullanıldığında hamurun su absorpsiyonunu artmakta, reolojik özellikleri değişmekte ve hamurun işlenebilirliği zorlaşmaktadır (Sakharam, 2004). EDN kullanımı ile bu sorunun önüne geçilebilmektedir.

Bir çalışmada, muz nişastasından otoklavlama (121°C)-bekletme (4°C) döngüsü ile EDN içeren (%19.3) örnek hazırlanmış ve bisküvi üretiminde %15 oranında kullanılmıştır. Kontrol bisküvisinin EDN miktarı %1.48 iken EDN içeren örneğin ilevesi ile bisküvide EDN miktarı %8.42' ye çıkmıştır (Aparicio-Saguilan et al., 2007). Sozer et al. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, makarna üretiminde %10 oranında ticari EDN ve kepek kullanılmıştır. EDN ile üretilen makarnalarda pişme kaybı ve sertlik değerleri kepekli makarnaya göre daha düşük bulunmuştur. Baixauli et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, kek üretiminde %5-20 oranlarında ticari EDN kullanılmış ve %15 ilave oranının üzerine çıkıldığında kek hacmi ve gaz hücrelerinin alanının önemli miktarda azaldığı saptanmıştır. Kızartılmış ürünlerde kullanılacak olan kaplama maddesinde %20 oranında ticari EDN ilavesi ile kabul edilebilir özellikte ve EDN içeriği yüksek (%13) ürün üretimi gerçekleştirilmiştir (Sanz et al., 2008). Ekmek üretiminde %10 oranında sitrat nişastası (%50.8 EDN) kullanımı ile ekmeğin EDN miktarı %0.85' den %4.08' e yükselmiştir (Wepner et al., 1999). Başka bir çalışmada, ekmeğin una %5 ve 10

oranında ticari çapraz bağlı nişasta ilave edildiğinde ekmek hacminde çok az dūřuř olmakla beraber dış görünüş özellikleri değişmemiştir. Ekmek içi gaz hücrelerinin boyutu %10 oranında nişasta ilavesi ile artmıştır (Hung and Morita, 2004). Ozturk et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, ekmek üretiminde %10, 20 ve 30 oranlarında ticari EDN (Hylon VII, Novelose330 ve CrystaLean) kullanımı ile ekmeğin EDN miktarı %1.21' den %4.10-12.7' e çıkmıştır. Ekmeklerin duysal özellikleri (renk, gözenek, dış görünüş ve simetri) EDN ilavesi ile değişmemiş, ekmek hacimleri ise %20 ilave oranının üzerine çıkıldığında azalmıştır.

Son yıllarda enzime dirençli nişasta yağ ikame edici maddeler arasında kabul edilmektedir. Yağ içeriği azaltılmış ya da yağı tamamen uzaklaştırılmış gıdalarda, yağın özelliklerini sağlamak üzere kullanılan maddeler yağ ikame edici maddeler (fat replacer) olarak adlandırılmaktadır. Mısır, buğday, patates, pirinç ve baklagil gibi kaynaklardan elde edilen nişasta doğal halde ya da modifiye edilerek (hidroliz, oksidasyon, çapraz bağlama, substitüsyon vb.) bu amaçla kullanılmaktadır (Akoh, 1998). Nişasta bazlı yağ ikame edicilerin kullanımının başlıca avantajı nişastanın suda disperse olarak jel oluşturmasıdır. Böylelikle yağın gıdaya kazandırdığı tekstür kısmen sağlanabilmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan yüksek amiloz içeren mısır nişastaları (Hylon V, %55 amiloz ve Hylon VII, %70 amiloz) National Starch Chemical Co. (Bridgewater, NJ, USA) firmasından, pullulanaz (Promozyme) Novozymes (Bagsvaerd, Denmark) firmasından satın alınmıştır.

3.2. Metotlar

3.2.1. Nişasta rneklerinin enzim ile modifikasyonu

Nişasta rneklerinin enzim ile modifikasyonunda Guraya et al. (2001) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri (400 g) 1:10 oranında su ile karıştırılıp 30 dakika kaynatıldıktan sonra 135°C' de 30 dakika otoklav uygulanmıştır. Pullulanaz enzimi (Promozyme, 400 PUN/mL) ile reaksiyon için rnekler 1500 U/kg nişasta oranında enzim ilave edilerek optimum sıcaklık derecesinde (60°C) farklı sürelerde (3, 6, 12, 24 ve 48 saat) inkübe edilmiştir. Daha sonra enzim inaktivasyonu için otoklavda 100°C' de 15 dakika ısıl işlem uygulanmış ve ardından örnekler etüvde 50°C' de kurutulmuştur. Enzim ilave edilmeden üretilen örnekler kontrol olarak kullanılmış (0 saat hidroliz) ve bu örnekler de enzim ilave edilen örneklerde olduğu gibi 100°C' de 15 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Örnekler kurutulduktan sonra öğütülerek 212 µm' lik elekten elenmiştir.

3.2.1. Nişasta rneklerinin asit ile modifikasyonu

Nişasta rneklerinin asit ile modifikasyonunda Atichokudomchai et al. (2000) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri (160 g) %6' lık HCl (240 ml) ile karıştırılıp 40°C' ye ayarlı etüvde farklı sürelerde (1, 2 ve 3 saat) bekletilerek hidroliz edilmiştir. Hidroliz süresi sonunda pH, %10' luk NaOH ile 6.5' e ayarlanmıştır. Örnekler, 500 xg hızda 5 dakika santrifüj edilip sıvı kısım döküldükten sonra 2.5 katı kadar saf su ile aynı hız ve sürede 3 kez santrifüj edilerek yıkanmış, metal tepsilere aktarılarak 40°C' ye ayarlanmış olan etüvde kurutulmuştur. Örnekler kurutulduktan sonra öğütülerek 212 µm' lik elekten elenmiştir.

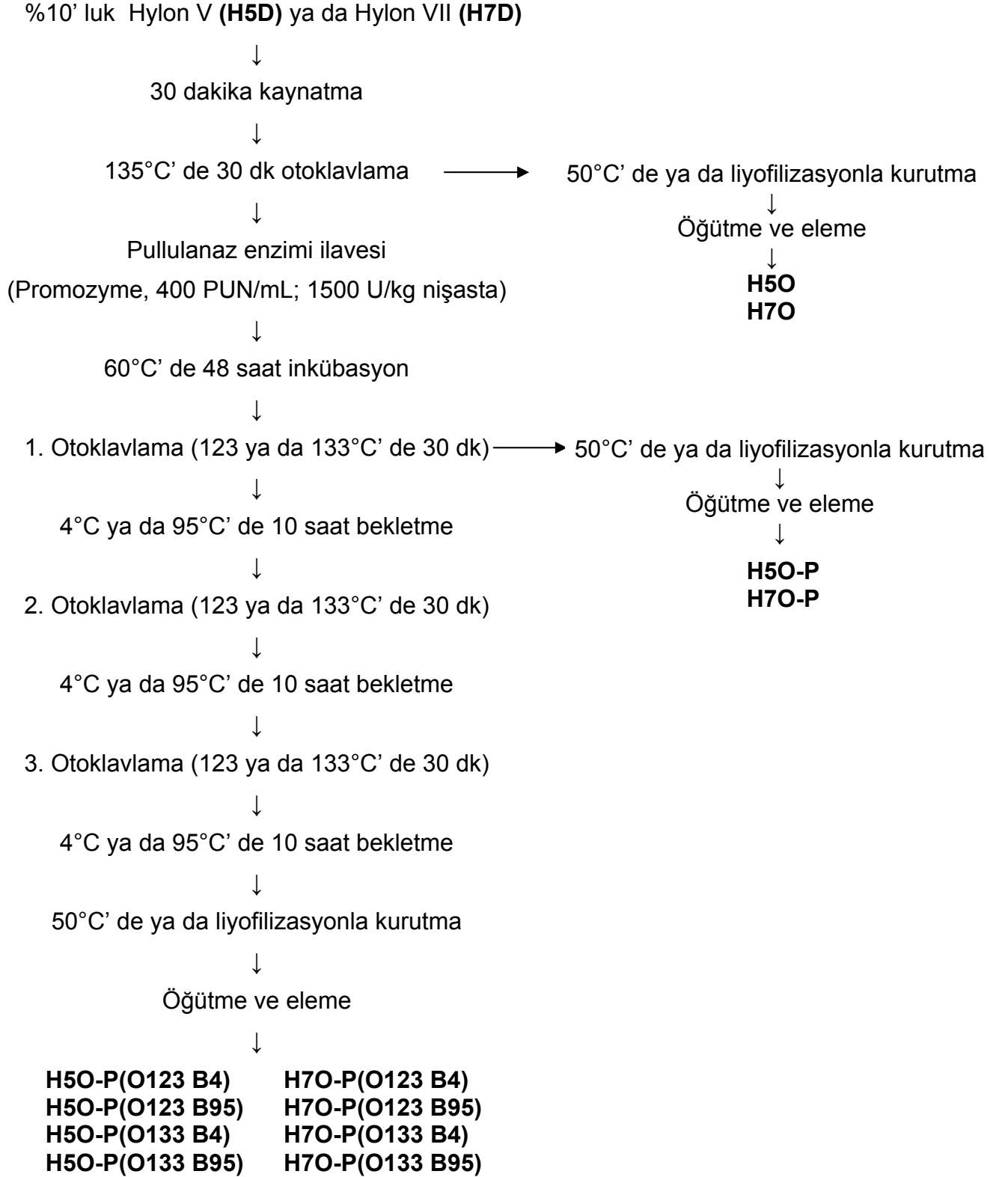
3.2.3. Enzime dirençli nişasta üretimi

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden enzim veya asit hidrolizinin ardından farklı otoklavlama-bekletme döngüleri ve farklı kurutma yöntemleri (Uygulama 1, 2 ve 3) ile enzime dirençli nişasta (EDN) içeren örnekler hazırlanmıştır.

Uygulama 1: Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri (600 g) 1:10 oranında su ile karıştırılıp 30 dakika kaynatıldıktan sonra otoklavda 135°C' de 30 dakika ısı işlem uygulanmıştır. Pullulanaz enzimi (1500 U/kg nişasta) ile 60°C' de 48 saat inkübe edilmiştir. Enzim ile inkübasyon süresinin sonunda örnekler 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklavlanmış ve ardından 4°C ya da 95°C' de 10 saat bekletilmiştir. Otoklavlama-bekletme döngüsü 3 kez uygulanmıştır. Örnekler etüvde 50°C' de ya da liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek 212 µm' lik elekten elenmiştir. Uygulama 1' e ait üretim akım şeması Şekil 3.1' de verilmiştir.

Uygulama 2: Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri (600 g) 1:10 oranında su ile karıştırılıp 30 dakika kaynatıldıktan sonra otoklavda 135°C' de 30 dakika ısı işlem uygulanmıştır. Pullulanaz enzimi (1500 U/kg nişasta) ile 60°C' de 48 saat inkübe edilmiştir. Enzim ile inkübasyon süresinin sonunda örnekler 133°C' de 30 dakika otoklavlanmış ve ardından 4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletilmiştir. Otoklavlama-bekletme döngüsü 9 kez uygulanmış ve 3., 6. ve 9. döngüler sonunda örnekler alınmıştır. Alınan örnekler etüvde 50°C' de ya da liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek 212 µm' lik elekten elenmiştir. Uygulama 2' ye ait üretim akım şeması Şekil 3.2' de verilmiştir.

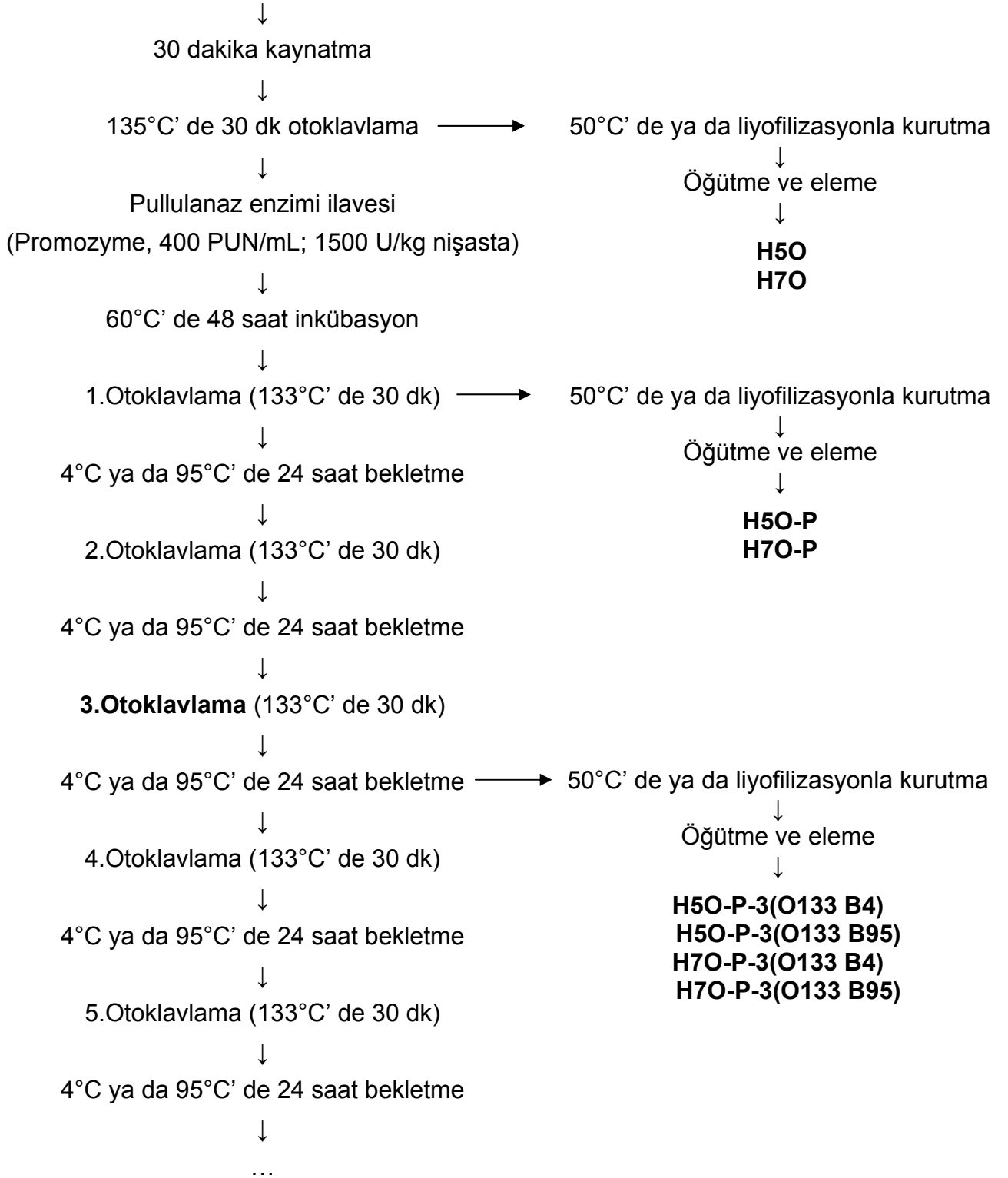
Uygulama 3: Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan üretilen 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları (160 g) 1:10 oranında saf su ile karıştırılıp 30 dakika kaynatıldıktan sonra otoklavda 135°C' de 30 dakika ısı işlem uygulanmış ve ardından 4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletilmiştir. Örnekler 2 kez, 133°C' de 30 dakika otoklav ve ardından 4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletme döngüsü uygulanmıştır. Örnekler 50°C' de etüvde ya da liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek 212 µm' lik elekten elenmiştir. Uygulama 3' e ait üretim akım şeması Şekil 3.3' de verilmiştir.



Şekil 3.1. Uygulama 1' e ait üretim akım şeması

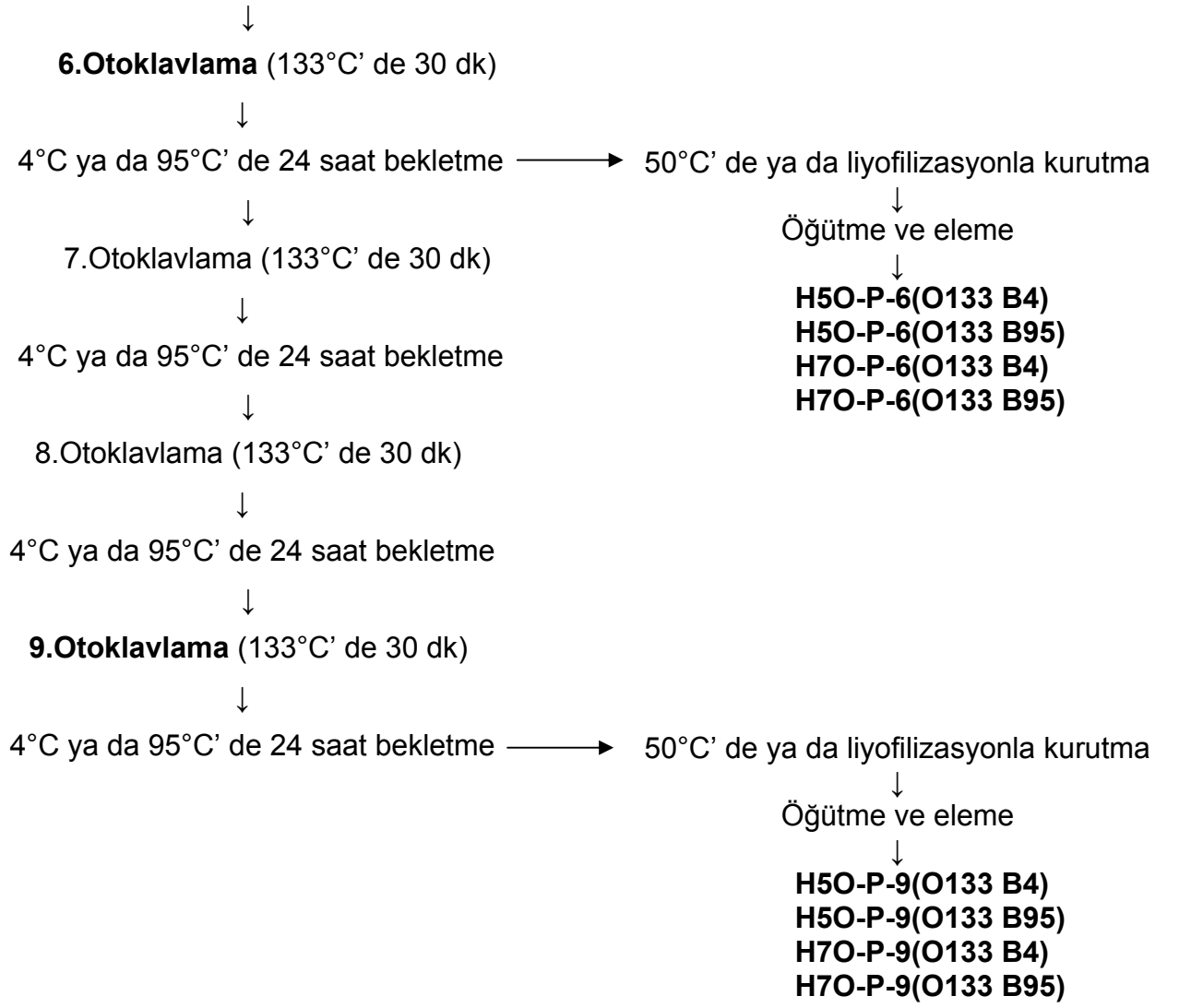
H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

%10' luk Hylon V (**H5D**) ya da Hylon VII (**H7D**)



Şekil 3.2. Uygulama 2' ye ait üretim akım şeması

H5: Hylon V; H7: Hylon VII; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı



Şekil 3.2. (devam)

%10' luk Hylon V ve 1, 2, 3 saatlik asit hidrolizatları
ya da %10' luk Hylon VII ve 1, 2, 3 saatlik asit hidrolizatları



30 dakika kaynatma



1. Otoklavlama (135°C' de 30 dk)



4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletme



2. Otoklavlama (133°C' de 30 dk)



4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletme



3. Otoklavlama (133°C' de 30 dk)



4°C ya da 95°C' de 24 saat bekletme



50°C' de ya da liyofilizasyonla kurutma



Öğütme ve eleme (212 µm)



H5-D(O133 B4)	H7-D(O133 B4)
H5-D(O133 B95)	H7-D(O133 B95)
H5-A1(O133 B4)	H7-A1(O133 B4)
H5-A1(O133 B95)	H7-A1(O133 B95)
H5-A2(O133 B4)	H7-A2(O133 B4)
H5-A2(O133 B95)	H7-A2(O133 B95)
H5-A3(O133 B4)	H7-A3(O133 B4)
H5-A3(O133 B95)	H5-A3(O133 B95)

Şekil 3.3. Uygulama 3' e ait üretim akım şeması

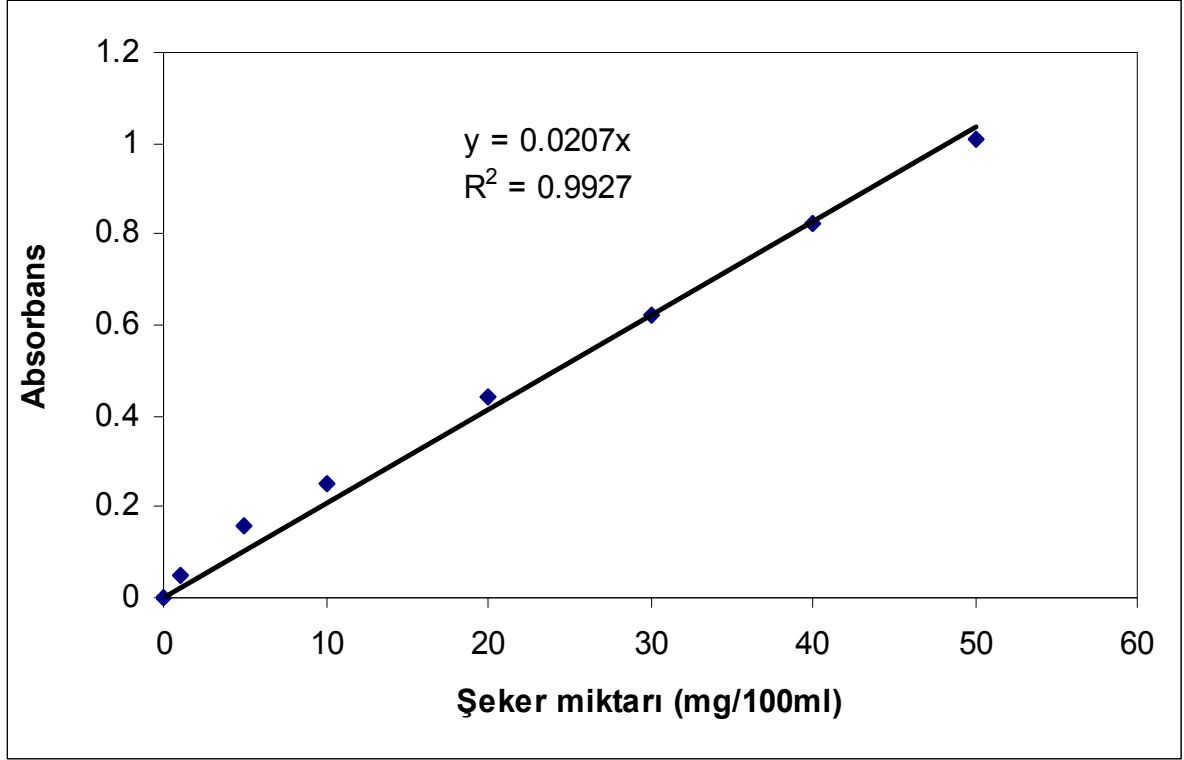
H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

3.2.4. Rutubet miktarı tayini

Nişasta, nişasta hidrolizatları ve EDN içeren örneklerin rutubet miktarları AACC Metot No: 44-15A (AACCI, 1990)' e göre belirlenmiştir.

3.2.5. Nişasta hidrolizatlarında moleküler ağırlık dağılımının tayini

Doğal haldeki nişasta örnekleri ve bundan asit ve enzim modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların moleküler ağırlık dağılımları jel filtrasyon yöntemi ile belirlenmiştir (Fredriksson et al., 1998, Han and Lim, 2004). Deney tüpüne 50 mg örnek alındıktan sonra üzerine 1 ml 1 N KOH eklenerek 5 dakika vortekslenmiştir. Bu çözeltinin üzerine 9 ml saf su ilave edilerek KOH konsantrasyonu 0.1 N' e düşürülmüştür. Daha sonra 1 ml örnek çözeltisi Sepharose CL-6B matriks (Sigma-Aldrich, USA) doldurulmuş kolona (1.5 x 75 cm) yüklenmiştir. Mobil faz olarak 0.5 ml/dak akış hızında 0.1 N KOH kullanılmıştır. Örneklerin moleküler ağırlık dağılımlarının belirlenmesi amacıyla 40, 70, 110, 500 (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) ve 2000 kDa (Blue dextran, Sigma Chem. Co., MO, USA) moleküler ağırlıklı dekstranlar standart olarak kullanılmıştır. Dekstran çözeltileri de örnek çözeltileri gibi hazırlanarak kolona yüklenmiştir. Fraksiyon toplayıcı (Isco Retriever 500 Model, USA) kullanılarak kolondan 1.5 ml' lik fraksiyonlar toplanmıştır. Elde edilen fraksiyonlarda karbonhidrat miktarı fenol-sülfürik asit metodu (Dubois et al., 1956) ile belirlenmiştir. Yönteme göre; fraksiyonlardan 200 µl örnek alınarak saf su ile 2 ml' ye seyreltilmiş ve üzerine 100 µl fenol çözeltisi (ağırlıkça %80' lik) ilave edilmiştir. Bu tüplere 5 ml %96' lık sülfürik asit eklenmiştir. Tüpler oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek renk oluşumu sağlanmış, absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu UV-VIS Scanning Spectrophotometer, Japan) 488 nm dalga boyunda okunmuştur. Fraksiyonlardaki toplam karbonhidrat miktarı glukoz standart eğrisi referans alınarak hesaplanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Glukoz standart eğrisi

3.2.6. Enzime dirençli nişasta miktarı tayini

Nişasta, nişasta hidrolizatları ve EDN içeren örneklerin enzime dirençli nişasta miktarları "Megazyme resistant starch kit" (Megazyme Int., Wicklow, Ireland) kullanılarak AOAC 2002.02 (AOAC, 1998) ve AACC 32-40 (AACCI, 1990) yöntemlerine göre belirlenmiştir. Bu yöntemde örnek, α -amilaz ve amiloglukozidaz enzimleri ile 37°C' de 16 saat inkübe edilerek nişastanın çözünmesi ve glukoz dönüşmesi sağlanır. Reaksiyon etil alkol ilavesi ile sonlandırılıp santrifüj edilerek çöken EDN peleti alınır. EDN peleti KOH ile çözündürülür ve çözünen nişasta amiloglukozidaz ile glukoz dönüşür. Oluşan glukoz spektrofotometrik olarak belirlenir.

3.2.7. Nişasta örneklerinin termal özellikleri

Nişasta, nişasta hidrolizatları ve EDN içeren örneklerde jelatinizasyon ve retrogradasyonun incelenmesi diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC: differential scanning calorimetry) cihazı ile yapılmıştır (Tufvesson et al., 2001, Yu and Chiriste, 2001). Analiz için örnek hazırlama aşamasında, yüksek hacimli DSC

kaplarına ~3 mg nişasta örneği tartılmış, üzerine yaklaşık 3 katı su ilave edilmiş ve ardından hemen hermetik kapatma düzeneğinde kapatılmıştır. Analizden önce örnekler 1 gece buzdolabında bekletilerek suyun homojen dağılımı sağlanmıştır. Örnekler 5°C/dak ısıtma hızıyla oda sıcaklığından 180°C' a ısıtılarak termogramları hazırlanmıştır. Referans olarak boş DSC kabı kapağı kapatılarak kullanılmıştır. Örneklerde jelatinizasyon ve retrogradasyon endotermik piklerden yararlanılarak izlenmekte olup, başlangıç (T_o) ve pik (T_p) sıcaklıkları ile pikin altında kalan alandan entalpi değerleri (ΔH) hesaplanarak termogramlar değerlendirilmiştir.

3.2.8. Nişasta örneklerinin viskozite özellikleri

Mikroviskoanalizör (Rapid ViscoAnalyser: RVA) ile nişasta, nişasta hidrolizatları ve EDN içeren örneklerin davranışlarının incelenmesi için %14 nem esasına göre 4 gram örnek kullanılmıştır. Örnek, cihazın özel kabına tartılmış olan distile su üzerine ilave edilip karıştırıcı palet yerleştirildikten sonra cihaza konularak Hylon V ve Hylon VII için oluşturulmuş sıcaklık-süre profiline ("Hylon" profili) RVA özellikleri belirlenmiştir. Kullanılan profilin detayları Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1 . "Hylon" profiline sıcaklık-hız değişimi

Süre		
Saat:Dak:Sn	Kriter	Değer
00:00:00	Sıcaklık	30°C
00:00:00	Hız	960 rpm
00:00:10	Hız	160 rpm
00:06:00	Sıcaklık	30°C
00:11:00	Sıcaklık	95°C
00:31:00	Sıcaklık	95°C
00:36:00	Sıcaklık	40°C
00:38:00	Sıcaklık	40°C

Analizde kullanılan su ve örnek miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$M_2 = \frac{(100 - 14) \times M_1}{(100 - W_1)} \quad (3.1)$$

$$W_2 = 25.0 + (M_1 - M_2) \quad (3.2)$$

M_1 = %14 nem esasına göre tartılması gereken örnek miktarı, (4 g)

M_2 = nem miktarına göre düzeltilmiş örnek miktarı, g

W_1 = örneğin nem miktarı, %

W_2 = düzeltilmiş su miktarı, g

Bu kapsamda, düşük sıcaklıktaki viskozite (ısıtma öncesi viskozite-cold viscosity), 95°C' deki maksimum viskozite (peak viscosity), karıştırma ile viskozite azalması (breakdown), son viskozite (final viscosity) ve çirilenme başlangıç sıcaklığı (pasting temperature) değerleri belirlenerek uygulanan işlemler sonucu nişasta özelliklerinde ortaya çıkan değişiklikler incelenmiştir.

3.2.9. Nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri

3.2.9.1. Çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Nişasta, nişasta hidrolizatları ve ısıl işlem uygulanmış örneklerin su bağlama ve çözünürlük özelliklerinin belirlenmesi için Singh and Singh (2003) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilmiştir. Bu amaçla deney tüplerine 0.5 g örnek tartılıp üzerine 5 ml saf su ilave edilmiş ve 5 dakika aralıklarla 15 saniye vorteks ile karıştırılmıştır (8 kez). Karıştırma işlemi sonunda örnekler 2100 xg hızda 10 dakika santrifüj (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Germany) uygulanmıştır. Süpernatant kurutma kabına aktarılarak tartılmış ve etüvde 100°C' de 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Çökelen kısım da tartılarak etüvde 100°C' de 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Çözünürlük ve su bağlama değerleri aşağıdaki formüllere göre % olarak hesaplanmıştır:

$$\text{Çözünürlük (\%)} = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (3.3)$$

M_1 = örnek miktarı, g

M_2 = kuru ağırlık , g

$$\text{Su bağlama (\%)} = \frac{M_3 - M_4}{M_1} \times 100 \quad (3.4)$$

M_1 = örnek miktarı, g

M_3 = tüpteki yağ çökelti, g

M_4 = tüpteki kuru çökelti, g

3.2.9.2. Emülsiyon oluşturma özellikleri

Nişasta, nişasta hidrolizatları ve ısıtılmış örneklerin emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerlerinin belirlenmesi için Ahmedna et al. (1999) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Örnekler Köksel et al. (2007) tarafından belirtilen yöntemle göre hazırlanmıştır. Örnekler protein içermediği için emülsiyon kapasitesinin belirlenmesi esnasında oluşan emülsiyon fazı çok az olduğundan ön denemelerde yapılan ölçümlerde güçlüklerle karşılaşmıştır. Bu sebeple emülsiyon oluşturma kabiliyeti yüksek olan protein çözeltisi (albümin) kullanılmıştır. Emülsiyon kapasitesi ve stabilitesinin belirlenmesi için 0.5 gram örnek üzerine 5 ml %0.05' lik protein çözeltisi ilave edilerek süspansiyon 15 sn vortekslenmiştir. Hazırlanan bu süspansiyon üzerine 5 ml mısır özü yağı (Unikom Gıda San. ve Tic. A.Ş.) ilave edilip 23 500 rpm hızda 90 sn homojenize (Art-Micra D-8, Germany) edilerek emülsiyon oluşumu sağlanmıştır. Emülsiyon kapasitesinin belirlenmesi için, homojenize edilen örnekler 2100 xg hızda 20 dakika santrifüj (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Germany) edilmiştir. Tüplerdeki emülsifiye olmuş tabakanın yüksekliği ve toplam sıvı yüksekliği kaydedilmiş ve emülsiyon kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{EK (\%)} = \frac{H_1}{H_T} \times 100 \quad (3.5)$$

EK: Emülsiyon kapasitesi

H₁: Emülsifiye olan tabakanın yüksekliği

H_T: Toplam sıvı yüksekliği

Emülsiyon stabilitesinin belirlenmesi için, homojenize edilen örnekler 45°C' deki su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakılmış ve ardından oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Örnekler bu süre sonunda 2100 xg hızda 20 dakika santrifüj (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Germany) edilmiştir. Tüplerdeki emülsifiye olmuş tabakanın yüksekliği ve toplam sıvı yüksekliği kaydedilmiş ve emülsiyon stabilitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$ES (\%) = \frac{H_2}{H_T} \times 100 \quad (3.6)$$

ES: Emülsiyon stabilitesi

H₂: Emülsifiye olan tabakanın yüksekliği

H_T: Toplam sıvı yüksekliği

3.2.10. Nişasta örneklerinde renk analizi

Nişasta örneklerinin renkleri Minolta Spectrophotometer (CD-3600d, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. CIE Renk Değerleri (L*, a*, b*)' nden oluşan üçlü skalada L*=100 beyaz, L*=0 siyah; yüksek pozitif a* kırmızı, yüksek negatif a* yeşil; yüksek pozitif b* sarı ve yüksek negatif b* mavi olarak değerlendirilmiştir.

3.2.11. İstatistiksel analiz

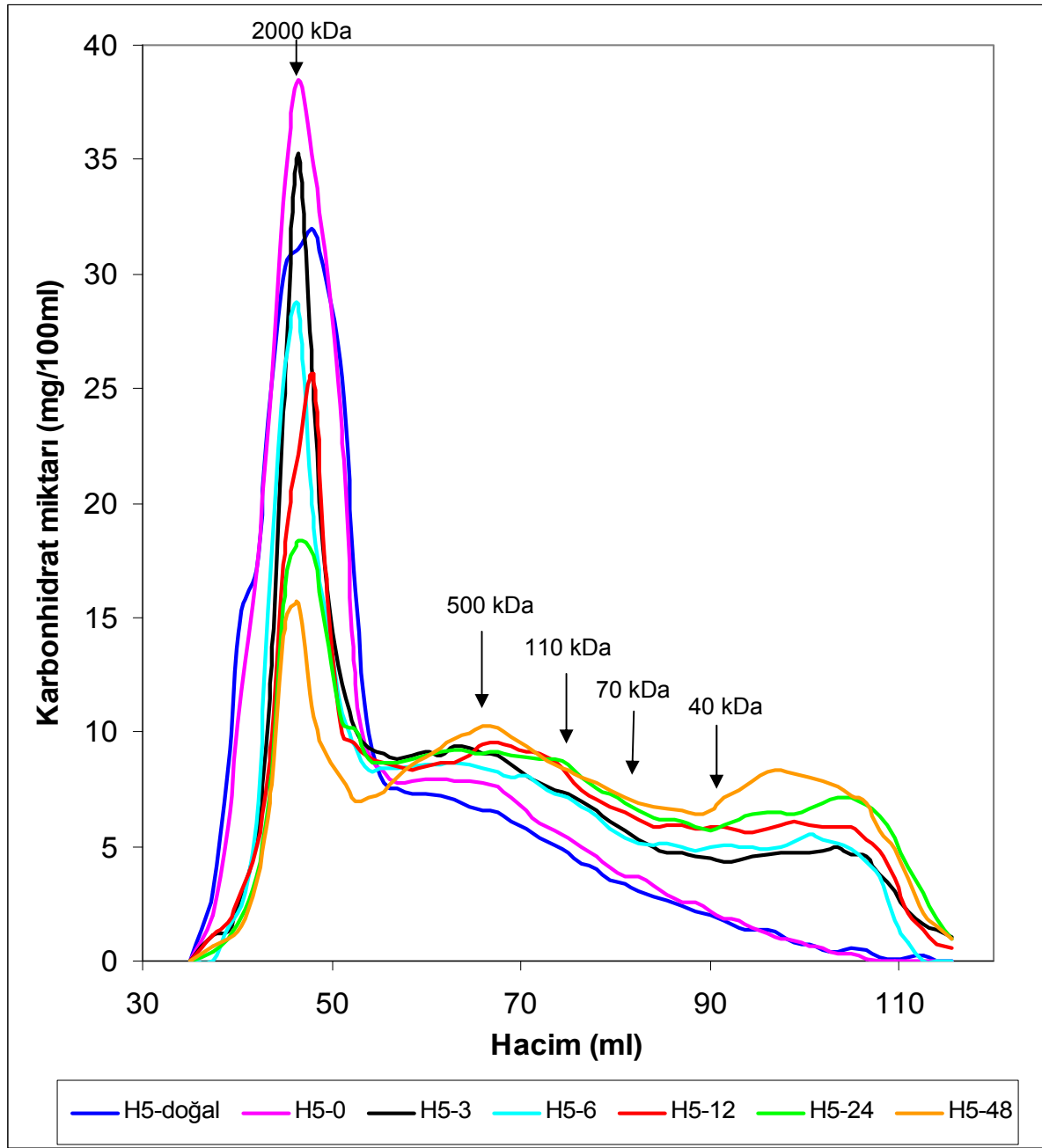
Araştırma sonuçları SPSS 11.5 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Farklar önemli bulunduğu ortalamalar DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca, kurutma yöntemlerinin karşılaştırılması amacıyla t-testi kullanılarak ikili karşılaştırma yapılmıştır. Parametreler arasındaki korelasyon katsayıları Microsoft Excel programı ile hesaplanmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

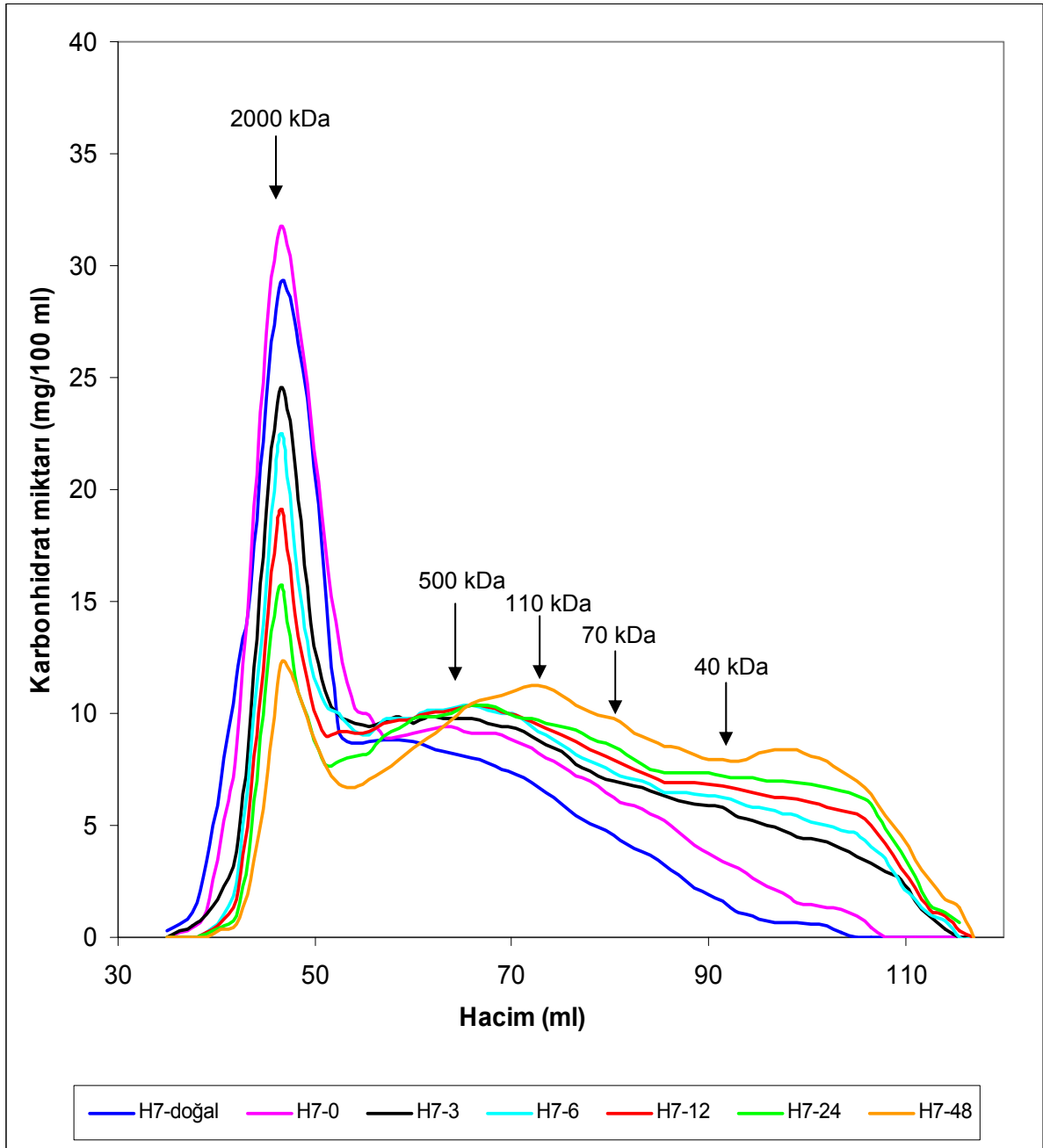
4.1. Nişasta Örneklerinden Pullulanaz Enzimi ile Hazırlanan Hidrolizatların Özellikleri

4.1.1. Enzim hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan farklı sürelerde pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatları jel filtrasyon yöntemi ile değişik molekül ağırlıklarına sahip fraksiyonlara ayrılmıştır. Her bir fraksiyondaki toplam karbonhidrat miktarı belirlenmiş ve kolondan çıkış hacmine göre grafiğe geçirilerek kromatogramlar hazırlanmıştır. Hidrolizatların moleküler ağırlık dağılımlarının karşılaştırılabilmesi amacıyla kromatogramlar çok yüksek (>3200 kDa), yüksek (3200-960 kDa), orta (960-30 kDa) ve düşük (<30 kDa) moleküler ağırlıklı olmak üzere dört bölgeye ayrılmış ve her bir bölgede kurve altında kalan alan integrasyon yoluyla hesaplanmıştır. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII ile enzim hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2' de, moleküler ağırlık dağılımları ise Çizelge 4.1' de verilmiştir. Örneklerin moleküler ağırlık dağılımlarının belirlenmesi amacıyla kullanılan standartların kolondan çıkış hacimleri de kromatogramlar üzerinde belirtilmiştir.



Şekil 4.1. Hylon V ve enzim hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları
H5: Hylon V; 0-48: Enzim ile inkübasyon süresi (saat)



Şekil 4.2. Hylon VII ve enzim hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları
H7: Hylon VII; 0-48: Enzim ile inkübasyon süresi (saat)

Çizelge 4.1. Hylon V, Hylon VII ve enzim hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Çok Yüksek Molekül Ağırlıklı	Yüksek Molekül Ağırlıklı	Orta Molekül Ağırlıklı	Düşük Molekül Ağırlıklı
		Fraksiyonlar (>3200 kDa) (%)	Fraksiyonlar (3200-960 kDa) (%)	Fraksiyonlar (960-30 kDa) (%)	Fraksiyonlar (<30 kDa) (%)
Hylon V	Doğal	9.7	53.8	32.7	3.8
	0	7.4	54.0	35.2	3.4
	3	2.1	36.2	43.9	17.8
	6	1.8	35.5	44.3	18.4
	12	1.4	30.0	46.7	21.9
	24	1.3	25.4	47.3	25.9
	48	1.3	20.0	49.5	29.2
Hylon VII	Doğal	5.3	46.6	45.0	3.1
	0	2.7	43.6	46.9	6.8
	3	1.5	30.3	50.6	17.6
	6	0.6	26.7	52.6	20.2
	12	0.4	22.9	53.6	23.0
	24	0.3	19.0	54.6	26.1
	48	0.2	15.3	55.1	29.4

Pullulanaz enzimi nişasta molekülündeki dallanma noktalarına etki ederek α -1,6 bağlarını kırmaktadır. Böylelikle granüldeki lineer zincirler artmaktadır. Enzim ile hidrolizin nişasta üzerine en önemli etkisi moleküler büyüklüğü azaltmak şeklinde olmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde enzim ile hidroliz süresinin artmasıyla çok yüksek ve yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarının azaldığı görülmektedir. Bu azalma orta ve düşük molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarında artışa neden olmuştur.

4.1.2. Enzim hidrolizatlarının enzime dirençli nişasta miktarları

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatlarının enzime dirençli nişasta (EDN) miktarları Çizelge 4.2' de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Hidroliz Süresi (saat)	EDN Miktarı ² (%)	
	Hylon V	Hylon VII
0	26.2 c	30.3 d
3	34.6 b	36.6 c
6	34.4 b	39.3 b
12	35.5 b	38.0 b
24	35.4 b	41.1 a
48	39.0 a	42.5 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

² EDN: Enzime dirençli nişasta

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri sırasıyla %43.0 ve %53.0 EDN içermektedir. Doğal haldeki nişastada bulunan EDN, Tip2 EDN olup yeterli ısı işlem uygulaması ile yapısı bozulabilmektedir (Brown, 1996; Nugent, 2005). Bu nedenle otoklavlanmış olan örneklerde (0 saat) EDN miktarı azalmaktadır. Burada Tip2 EDN' nin yapısı bozulmakta, otoklavlama sırasındaki kısmi jelatinizasyon ve kurutma sırasındaki retrogradasyon ile Tip3 EDN oluşmaktadır. Enzim ile hidroliz edilen örneklerin EDN miktarları sadece otoklavlanan örneklerle göre yüksektir ($p < 0.05$). Enzim ile hidroliz 60°C' de gerçekleştirilmiş ve ardından örnekler 50°C' de kurutulmuştur. Bu koşullarda Tip3 EDN oluşumunun gerçekleştiği düşünülmektedir. Hidroliz ile birlikte nişastadaki dallanma noktaları parçalanmakta ve lineer zincirlerin sayısı artmaktadır. Oluşan bu lineer zincirler, enzim ile inkübasyon ve sonrasındaki kurutma sırasında birbirleriyle daha kolay etkileşime girip enzime dirençli yapıların oluşumunu arttırmaktadır. Hylon V' den üretilen örneklerde 48 saat hidroliz ile diğer hidroliz seviyelerine göre daha yüksek miktarda EDN oluşmuştur. Hylon VII' den üretilen örneklerde ise artan hidroliz süresi ile EDN miktarında artış olmakta ve bazılarında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır ($p < 0.05$). Hylon VII' den üretilen örneklerin EDN miktarları Hylon V' den üretilen örneklerden yüksektir. Hylon VII' nin yüksek amiloz içeriğinden dolayı bu beklenen bir sonuçtur (Haralampu, 2000; Dimantov, 2004).

4.1.3. Enzim hidrolizatlarının termal özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatlarının DSC değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin DSC değerlerine etkisi^{1, 2}

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)
Hylon V	Doğal	145.5 a	158.0 a	11.4 a
	0	147.5 a	154.6 b	7.2 e
	3	139.3 b	147.3 c	7.0 e
	6	141.9 b	147.2 c	7.3 e
	12	139.7 b	146.4 c	7.8 d
	24	140.2 b	144.5 c	8.0 c
	48	138.0 b	144.1 c	9.1 b
Hylon VII	Doğal	146.8 a	157.7 a	14.8 a
	0	146.4 a	153.7 b	5.3 d
	3	145.6 a	149.5 c	5.5 d
	6	144.5 a	149.3 c	6.0 d
	12	143.9 a	149.9 c	7.2 c
	24	142.9 a	147.8 c	8.6 b
	48	143.6 a	149.2 c	9.0 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

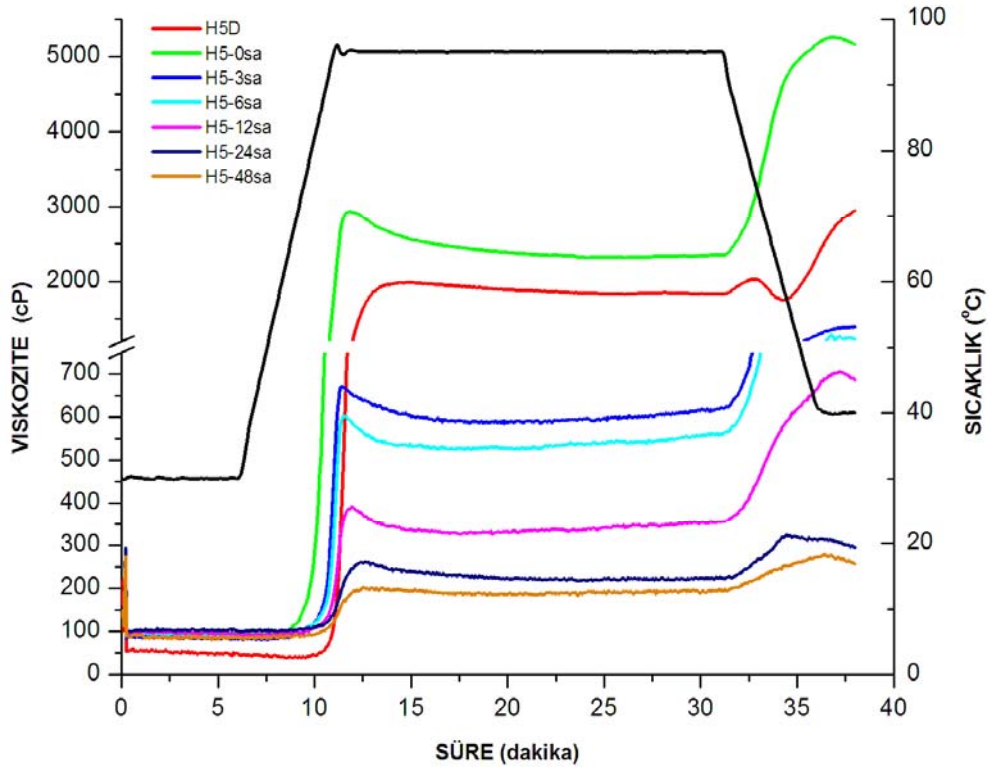
² T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH: Termal geçiş enerjisi

Hylon V' den üretilen örneklerde enzim hidrolizi ile T_o değerleri azalmıştır ancak farklı hidroliz seviyelerindeki örnekler arasında fark yoktur. Hylon VII' de ise doğal nişasta ile enzim hidrolizatları arasında T_o değerleri bakımından fark gözlenmemiştir. Otoklav uygulaması (0 saat hidroliz) ile Hylon V ve Hylon VII örneklerinin T_p ve ΔH değerleri doğal nişastalara göre azalmıştır. Otoklavlanan örnek enzim ile hidrolize edildiğinde T_p değerinde azalma, 12 saat ve üzerindeki hidrolizde ise ΔH değerinde artış meydana gelmiştir. Ancak T_p değerleri açısından hidroliz seviyeleri arasında fark gözlenmemektedir. Artan hidroliz ile ΔH

değerlerinde artış olmuştur. Bu artış bazı hidroliz sürelerinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. ΔH değerindeki artış EDN miktarındaki artışla (Bkz. Çizelge 4.2.) paralellik göstermektedir. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII ile bunlardan 0 ve 48 saat pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan hidrolizatların DSC termogramları sırasıyla Ek 1 ve Ek 2' de verilmiştir. Ayrıca termal özellikler ile EDN miktarı arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmış ve EDN miktarı ile T_p ($p < 0.001$), T_o ($p < 0.01$) ve ΔH ($p < 0.05$) değerleri arasında önemli korelasyon bulunmuştur (Ek 3).

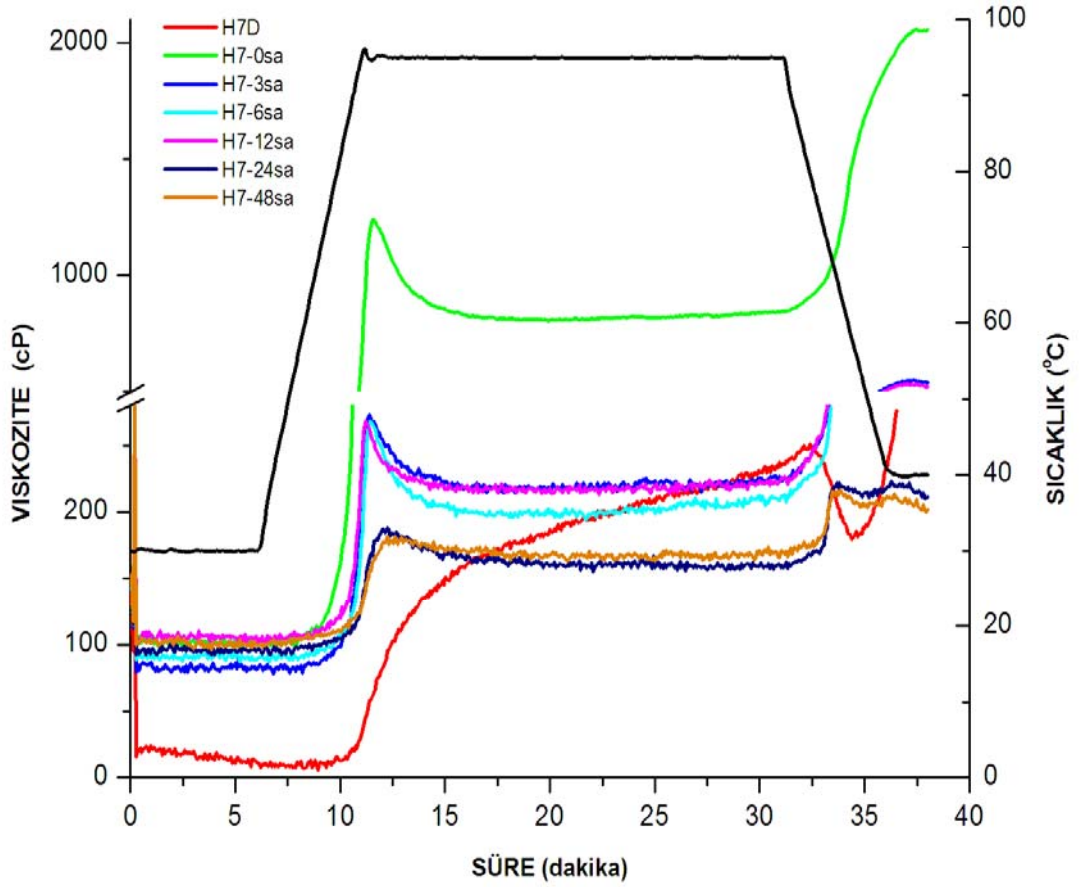
4.1.4. Enzim hidrolizatlarının viskozite özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatlarının RVA viskozite grafikleri sırasıyla Şekil 4.3 ve 4.4' de, bunlara ait analiz sonuçları ise Çizelge 4.4' de verilmiştir.



Şekil 4.3. Hylon V ve enzim hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; 0-48: Enzim ile inkübasyon süresi (saat)



Şekil 4.4. Hylon VII ve enzim hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; 0-48: Enzim ile inkübasyon süresi (saat)

Otoklavda uygulanan ısı işlem sırasında nişastanın yapısı kısmen bozulduğu ve ortama çözünür nişasta geçtiği için RVA analizinde su yapıya alınarak viskozite artışına neden olmaktadır. Bu nedenle sadece otoklav uygulanan örneklerin (0 saat hidroliz) viskozite değerleri doğal nişastalara göre artmaktadır ($p < 0.05$). Enzim hidrolizi ile molekül büyüklüğündeki azalma viskozite değerlerinin düşmesine neden olmuştur. Hylon V için enzim ile hidroliz süresinin artmasıyla birlikte örneklere ait maksimum viskozite ve son viskozite değerlerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Yüksek amilozlu nişasta örneklerinin jelatinizasyon sıcaklığı çok yüksek olduğu için RVA' da ölçüm yapılan koşullarda (95°C) jelatinize olamamakta ve bu nedenle özellikle Hylon VII' de belirgin bir pik viskozitesi elde edilememektedir (Şekil 4.4.). Yapılan ön denemelerde modifiye nişastalar için cihazı üreten firma tarafından önerilen analiz profili kullanılarak amilotip nişastanın viskozite grafiği elde edilmiştir. Profilinin detayları ve bu profil kullanılarak elde edilen viskozite grafikleri Ekler bölümünde verilmiştir. Bu profilde örnekler 95°C' de 4 dakika karıştırılmaktadır (Ek 4). Örneğin 95°C' de kısa süre tutulması nedeniyle jelatinizasyon tam olarak gerçekleşmemekte ve bu nedenle gerçek bir pik viskozitesi değerinden söz edilememektedir (Ek 5). Nişastanın fizikokimyasal özelliklerine etki eden faktörlerin başında amiloz/amilopektin oranı gelmektedir. Amilotip nişastaların su alarak şişmeleri normal oranda amiloz içeren nişastalara göre daha düşüktür. Amilotip nişastaların RVA' da düşük viskozite vermelerinin şişme özelliklerinin az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Tester and Morrison, 1990; Shi et al., 1998; Song and Jane, 2000). Amilotip mısır nişastasının viskozitesini kısmen de olsa artırıp uygulamalar arasındaki farkı görebilmek amacıyla bu süre uzatılarak profil modifiye edilmiş ve yeni bir profil oluşturulmuştur (Bkz. Çizelge 3.1.). Bu yeni profilde, 95°C' de uygulama süresi daha uzun olup ayrıca ısıtma öncesi viskoziteyi gözlemleyebilmek için de başlangıç sıcaklığı 30°C olarak seçilmiştir. Isıtmanın sürdürülmesiyle nişasta granüllerinin su alıp şişmesi ve çözünürlüğün giderek artması nedeniyle 95°C' de uygulama süresi boyunca Hylon VII nişastasının viskozitesinde bir artış olmuştur. Hylon V de ise 95°C' de uygulama süresi içinde viskozite bir pik değerine ulaşmış ve karıştırma ile viskozite azalması meydana gelmiştir (Ek 6). Bu nedenle, grafikleri karşılaştırabilmek amacıyla 8. ve 32. dakikalar arasındaki en yüksek viskozite maksimum viskozite değeri olarak kabul edilmiştir.

Otoklav uygulaması ile örneklerin viskozite değerlerinde artış olmakta ve hem ısıtma öncesi viskozite hem de belirgin bir pik viskozitesi vermektedirler. Hylon VII nişasta örneğinde 3, 6 ve 12 saat enzim hidrolizi ile RVA değerlerinde artış olmuştur. Enzim hidrolizi ile birlikte nişastanın yapısı açılmakta, bu da su almasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle su alma miktarı Hylon V' e göre daha az olan Hylon VII örneğinde belli bir dereceye kadar enzim modifikasyonu ile su alması kolaylaşmış, viskozite değerlerinde artış görülmüştür. Doğal haldeki nişasta

örnekleri az da olsa ısıtma öncesi belli bir viskozite değerine sahiptir. Otoklavlama ile birlikte bu değer artış göstermiştir ancak enzim hidrolizatları arasında fark görülmemektedir. Otoklavlanan örneklerin (0 saat) çirilenme başlangıç sıcaklıkları doğal nişastalara göre azalmıştır. Çirilenme başlangıç sıcaklığındaki azalma nişasta granül yapısının bozulmasından kaynaklanmaktadır (Han and BeMiller, 2007). Enzim hidrolizatlarında çirilenme başlangıç sıcaklığı artış göstermektedir. Bu durum, örneklerde EDN oluşumu sırasında nişasta zincirlerinin yeniden düzenlenmesinden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.4. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirilenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
Hylon V	Doğal	38 c	1988 b	214 b	2952 b	88.0 a
	0	104 a	2940 a	626 a	5166 a	68.0 c
	3	93 b	671 c	88 c	1391 c	78.5 b
	6	99 b	604 d	82 c	1239 d	77.0 b
	12	96 b	394 e	71 cd	688 e	80.5 b
	24	93 b	265 f	49 d	296 f	79.0 b
	48	96 b	203 g	21 e	257 f	89.0 a
Hylon VII	Doğal	8 c	248 b	56 b	395 d	87.5 a
	0	107 a	1243 a	405 a	2057 a	62.5 c
	3	90 b	273 b	53 b	541 b	79.0 b
	6	97 ab	268 b	64 b	455 c	79.5 b
	12	112 a	270 b	52 b	524 b	76.5 b
	24	103 a	189 c	34 c	211 e	86.5 a
	48	106 a	184 c	20 c	202 e	87.5 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

RVA viskozite değerleri ile EDN miktarı ve termal özellikler arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmıştır. EDN miktarı ile ısıtma öncesi viskozite (p<0.001), maksimum viskozite ve son viskozite (p<0.05) değerleri arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur. Isıtma öncesi viskozite değeri ile T_o (p<0.01), T_p

($p < 0.05$) ve ΔH ($p < 0.001$) değerleri arasında ve maksimum viskozite ile T_p ($p < 0.05$) değeri arasında önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Bkz. Ek 3).

4.1.5. Enzim hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri

4.1.5.1. Enzim hidrolizatlarının çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatlarının çözünürlük ve su bağlama değerleri Çizelge 4.5' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)
Hylon V	Doğal	0.13 g	132 c
	0	0.80 f	257 a
	3	2.68 e	248 a
	6	2.96 d	236 b
	12	3.63 c	233 b
	24	4.06 b	230 b
	48	4.25 a	234 b
Hylon VII	Doğal	0.09 e	133 d
	0	0.97 d	272 a
	3	2.22 c	244 b
	6	2.47 b	245 b
	12	2.50 b	251 b
	24	3.28 a	236 c
	48	3.27 a	229 c

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

Enzim hidrolizi ile birlikte doğal haldeki nişastalara göre su bağlama ve çözünürlük değerlerinde istatistiksel olarak önemli artışlar olmuştur ($p < 0.05$). Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerindeki artışlar yaklaşık aynıdır. Hidrolizatlar kendi içinde değerlendirildiğinde, artan hidrolizle birlikte çözünürlük değerlerinin arttığı

görülmektedir ($p<0.05$). Su bağlama değerleri ise Hylon V nişasta örneğinde 3 saat hidrolizden sonra azalmış daha fazla hidroliz ile değişiklik olmamıştır. Hylon VII örneğinde 24 ve 48 saat hidroliz ile azalma devam etmiştir. Bu örneklerin EDN içerikleri de yüksektir (Bkz. Çizelge 4.2.). Su bağlama değerinin azalmasının dirençli nişastayı oluşturan sıkı yapıdan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çözünürlük ve su bağlama değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler ve RVA viskozite özellikleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Çözünürlük değeri ile EDN miktarı ve T_p değeri ($p<0.001$), T_o değeri ($p<0.01$) ve RVA viskozite değerleri ($p<0.05$) arasında önemli korelasyonlar belirlenmiştir. Su bağlama değeri ile ΔH ve ısıtma öncesi viskozite değeri ($p<0.001$), EDN miktarı ($p<0.01$) ve T_o , T_p ve çirilenme başlangıç sıcaklığı değerleri ($p<0.05$) arasında önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Bkz. Ek 3).

4.1.5.2. Enzim hidrolizatlarının emülsiyon oluşturma özellikleri

Proteinler emülsiyon oluşturma özelliğine sahiptir. Nişasta ise tek başına emülsiyon oluşturmaz ancak, emülsiyonların özelliklerini olumlu ya da olumsuz yönde etkiler. Bu nedenle bu tez kapsamında, farklı nişastaların albümin proteininin oluşturduğu emülsiyona etkisi incelenmiştir. Albümin çözeltisinin (%0.05' lik) emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi değerleri sırasıyla %21.3 ve %18.3 olarak bulunmuştur.

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatlarının emülsiyon kapasite ve stabilite değerleri Çizelge 4.6' da verilmiştir. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinin albümin protein çözeltisine ilavesi ile emülsiyon kapasite değerlerinde değişiklik olmamaktadır. Enzim hidrolizatlarının ilavesi ile emülsiyon kapasitesi değerlerinde azalma gözlenmiştir. Enzim ile hidroliz seviyeleri arasında istatistiksel olarak önemli fark olmamıştır. Doğal nişasta örnekleri ile enzim hidrolizatlarının protein çözeltisine ilavesi ile emülsiyon stabilite değerlerinde artış gözlenmiştir. Buna göre enzim hidrolizatlarının, albüminin emülsiyon kapasitesini olumsuz yönde etkilediği ancak emülsiyon stabilitesini iyileştirdiği söylenebilir.

Emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler, RVA viskozite özellikleri, çözünürlük ve su bağlama değerleri arasındaki korelasyonlar

hesaplanmıştır. Emülsiyon kapasitesi ile RVA viskozite değerleri (ısıtma öncesi viskozite hariç) ve çözünürlük değeri arasında $p<0.05$ seviyesinde korelasyon bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ile T_o ($p<0.05$), ΔH , su bağlama ve çirleşme başlangıç sıcaklığı ($p<0.001$) ve ısıtma öncesi viskozite ($p<0.01$) değerleri arasında önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Bkz. Ek 3).

Çizelge 4.6. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Emülsiyon Kapasitesi (%)	Emülsiyon Stabilitesi (%)
Albümin (%0.05)	-	21.3 a	18.3 c
Hylon V	Doğal	21.2 a	47.0 a
	0	18.6 a	51.9 a
	3	14.7 b	51.8 a
	6	13.3 b	50.9 a
	12	13.2 b	50.0 a
	24	13.2 b	31.0 b
	48	13.3 b	27.0 b
Albümin (%0.05)	-	21.3 a	18.3 c
Hylon VII	Doğal	21.0 a	47.1 a
	0	14.2 b	47.7 a
	3	14.2 b	39.8 b
	6	14.0 b	38.5 b
	12	12.0 b	33.0 b
	24	12.0 b	34.5 b
	48	12.0 b	35.7 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan örneklerin CIE renk değerleri Ek 7' te verilmiştir. Otoklavlama ile L^* değerlerinde azalma, b^* değerlerinde ise artış gözlenmiştir. Enzim hidroliz seviyesinin renk değerleri üzerine önemli etkisi olmamıştır.

4.2. Pullulanaz Enzimi ile Hidroliz ve Otoklavlama-Bekletme Döngüleri Uygulanmış Nişasta Örneklerinin Özellikleri

4.2.1. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları

Pullulanaz enzimi uygulanarak üretilen hidrolizatların EDN miktarları incelendiğinde, 48 saat hidrolizin EDN oluşumu için uygun olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.2.). Bu nedenle, çalışmanın bu kısmında sadece 48 saat enzim hidrolizi gerçekleştirilmiş ve ardından örnekler farklı otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmıştır. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1 ve Uygulama 2) ile üretilen örneklerin EDN miktarları sırasıyla Çizelge 4.7 ve 4.8' de verilmiştir.

Doğal haldeki nişastada bulunan EDN, Tip2 EDN olup uygulanan ısıl işlem ile yapısı bozulmaktadır. Bu nedenle otoklavlanmış olan örneklerde (H5O ve H7O) EDN miktarı azalmaktadır ($p < 0.05$). Otoklav uygulamasının ardından enzim hidrolizi ile birlikte EDN miktarında artış olmaktadır (H5O-P ve H7O-P). Enzim hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile EDN miktarında daha fazla artış olmuş ve bazı örneklerde bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Etüvde 50°C ' de kurutulan örnekler ile liyofilize edilerek kurutulan örneklerin EDN miktarlarını karşılaştırmak için t-testi kullanılmış ve etüvde kurutulan örneklerin EDN miktarları daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). 50°C ' de uzun süreli kurutma sırasında nişastanın retrogradasyonu için uygun koşullar oluşmakta ve EDN oluşumu artmaktadır. Liyofilizasyonla kurutma yönteminde örnekler önce kuru buz kullanılarak hızlı bir şekilde dondurulmuş ve ardından liyofilizatörde kurutulmuştur. Donmuş haldeki nişasta zincirlerinin hareketi kısıtlandığından retrogradasyon büyük ölçüde engellenmektedir. Bu durum 50°C ' de uzun süreli kurutmaya göre EDN miktarında daha az artışa neden olmaktadır.

Çizelge 4.7. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ³	EDN Miktarı ² (%)	
	50°C' de Kurutma	Liyofilizasyon
H5O	23.4 c	16.8 c
H5O-P	37.4 b	27.5 b
H5O-P(O123 B4)	38.0 ab	33.6 a
H5O-P(O123 B95)	38.7 ab	28.4 b
H5O-P(O133 B4)	38.0 ab	34.0 a
H5O-P(O133 B95)	39.7 a	32.3 a
H7O	33.2 b	24.9c
H7O-P	42.8 a	32.8 b
H7O-P(O123 B4)	46.4 a	38.0 b
H7O-P(O123 B95)	44.4 a	34.8 b
H7O-P(O133 B4)	48.0 a	41.6 a
H7O-P(O133 B95)	46.2 a	35.4 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² EDN: Enzime dirençli nişasta

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Yüksek sıcaklıkta (133°C) otoklavlama ile elde edilen EDN miktarları düşük sıcaklıktaki (123°C) otoklavlamaya göre daha yüksektir. Bu farklılık bazı örneklerde önemli bulunmuştur. Bu nedenle, çalışmanın sonraki aşamasında örnekler sadece 133°C' de otoklavlanarak hazırlanmıştır (Uygulama 2). Çizelge 4.8 incelendiğinde, 50°C' de kurutulan ve aynı sıcaklık derecesinde bekletilen (4°C ya da 95°C) örneklerde Hylon V için 6 döngü ile 9 döngü arasında önemli fark olmazken Hylon VII' de 9 döngü uygulaması ile oldukça yüksek miktarda EDN oluşturulduğu görülmektedir. En yüksek miktardaki EDN (%57.8), Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile 48 saat enzim modifikasyonunun ardından 9 kez otoklavlama-bekletme (133°C-95°C) döngüsü uygulanan ve 50°C' de kurutulan örnekte oluşturulmuştur. Bu değer literatürde karşılaşılan en yüksek değerdir.

Liyofilizasyonla kurutulmuş örneklerin EDN miktarları 50°C' de kurutulmuşlardan daha düşüktür (p<0.05). 50°C' de uzun süreli kurutma sırasında retrogradasyon daha fazla olmakta ve bu da Tip3 EDN' nin artışını sağlamaktadır.

Çizelge 4.8. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ³	EDN Miktarı ² (%)	
	50°C' de Kurutma	Liyofilizasyon
H5O	27.3 c	17.7 c
H5O-P	41.5 b	24.4 ab
H5O- P-3(O133 B4)	44.6 b	19.8 b
H5O- P-3(O133 B95)	44.7 b	27.6 ab
H5O- P-6(O133 B4)	42.2 b	27.1 ab
H5O- P-6(O133 B95)	48.3 a	21.4 ab
H5O- P-9(O133 B4)	42.2 b	27.5 a
H5O- P-9(O133 B95)	47.7 a	30.5 a
H7O	29.1 f	23.5 e
H7O-P	40.9 e	33.1 d
H7O- P-3(O133 B4)	42.6 de	38.8 b
H7O- P-3(O133 B95)	43.5 cd	36.5 c
H7O- P-6(O133 B4)	45.2 c	43.4 a
H7O- P-6(O133 B95)	49.5 b	42.1 a
H7O- P-9(O133 B4)	51.7 b	42.6 a
H7O- P-9(O133 B95)	57.8 a	41.9 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² EDN: Enzime dirençli nişasta

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; O: 135°C'de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.

4.2.2. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin termal özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden enzim hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1 ve Uygulama 2) ile üretilen örneklere ait DSC değerleri sırasıyla Çizelge 4.9 ve 4.10' da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi^{1, 2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)
H5D	145.5 ab	158.0 a	11.4 a	145.5 b	158.0 a	11.4 a
H5O	148.2 a	158.0 a	10.1 b	156.6 a	152.7 a	11.4 a
H5O-P	140.1 b	147.9 b	5.3 d	140.0 b	146.6 b	10.1 b
H5O-P(O123 B4)	141.3 b	147.5 b	8.0 c	140.1 b	146.8 b	6.4 e
H5O-P(O123 B95)	141.3 b	146.4 b	5.4 d	141.1 b	145.5 b	7.8 d
H5O-P(O133 B4)	140.7 b	147.5 b	11.5 a	144.0 b	148.2 b	9.3 c
H5O-P(O133 B95)	142.4 b	147.8 b	11.9 a	144.4 b	149.8 b	8.9 c
H7D	146.8 b	157.7 a	14.8 a	146.8 b	157.7 a	14.8 a
H7O	149.9 a	154.9 b	4.8 e	149.4 a	156.9 a	8.6 b
H7O-P	144.6 b	149.5 c	6.5 d	144.9 b	149.3 b	6.5 d
H7O-P(O123 B4)	145.2 b	149.9 c	5.2 e	146.0 b	149.2 b	3.6 e
H7O-P(O123 B95)	145.8 b	148.7 c	6.2 d	144.8 b	149.3 b	7.6 c
H7O-P(O133 B4)	145.6 b	151.6 c	7.9 c	145.3 b	150.1 b	7.8 c
H7O-P(O133 B95)	146.1 b	150.5 c	8.7 b	146.6 b	150.8 b	7.3 c

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH: Termal geçiş enerjisi

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; D: Doğal nişasta; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Enzim hidrolizi ile üretilen örneklerin (H5O-P ve H7O-P) T_p ve ΔH değerleri doğal nişastalara göre azalmış (p<0.05), T_o değerlerinde değişiklik olmamıştır. Enzim hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü T_o ve T_p

değerlerini etkilememiştir. 133°C' de otoklavlanan örneklerin ΔH değerleri 123°C' de otoklavlananlara göre daha yüksektir ($p < 0.05$). t-testi sonuçlarına göre 50°C' de kurutma ile liyofilize ederek kurutma yöntemleri arasında DSC değerleri açısından fark görülmemiştir.

Çizelge 4.10. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi^{1, 2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)
H5D	145.5 ab	158.0 a	11.4 b	145.5 bc	158.0 b	11.4 a
H5O	148.5 a	152.1 b	11.1 b	158.8 a	161.7 a	10.9 ab
H5O-P	141.9 b	148.2 b	7.7 d	139.5 c	146.6 d	10.1 cd
H5O-P-3(O133 B4)	144.0 ab	151.7 b	7.6 d	143.1 bc	147.8 cd	8.6 e
H5O-P-3(O133 B95)	142.7 b	148.8 b	9.6 c	141.9 bc	149.2 cd	9.9 c
H5O-P-6(O133 B4)	145.6 ab	150.1 b	7.8 d	143.0 c	147.7 cd	10.6 b
H5O-P-6(O133 B95)	144.7 ab	151.1 b	11.1 b	144.3 bc	148.8 cd	10.7 b
H5O-P-9(O133 B4)	142.5 b	148.7 b	8.1 d	145.1 bc	150.1 c	9.1 de
H5O-P-9(O133 B95)	145.6 ab	151.0 b	12.4 a	146.4 b	150.8 c	9.6 cd
H7D	146.8 a	157.7 b	14.8 a	146.8 ab	157.7 a	14.8 a
H7O	144.9 b	159.7 a	8.5 g	149.3 a	156.5 a	9.6 c
H7O-P	143.3 bc	150.9 c	8.7 f	144.5 b	149.7 bc	8.6 de
H7O-P-3(O133 B4)	146.8 a	150.3 c	7.3 h	143.1 b	150.2 bc	8.4 e
H7O-P-3(O133 B95)	144.8 b	150.2 c	10.8 e	145.4 ab	149.6 c	8.1 e
H7O-P-6(O133 B4)	146.4 a	151.0 c	12.1 c	145.0 ab	149.7 bc	8.9 cd
H7O-P-6(O133 B95)	142.1 cd	150.4 c	12.6 b	146.3 ab	149.8 bc	9.4 cd
H7O-P-9(O133 B4)	140.0 d	149.6 c	14.4 a	147.2 ab	150.5 bc	9.4 cd
H7O-P-9(O133 B95)	146.5 a	151.3 c	11.1 d	146.2 ab	151.9 b	12.2 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p < 0.05$)

² T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH : Termal geçiş enerjisi

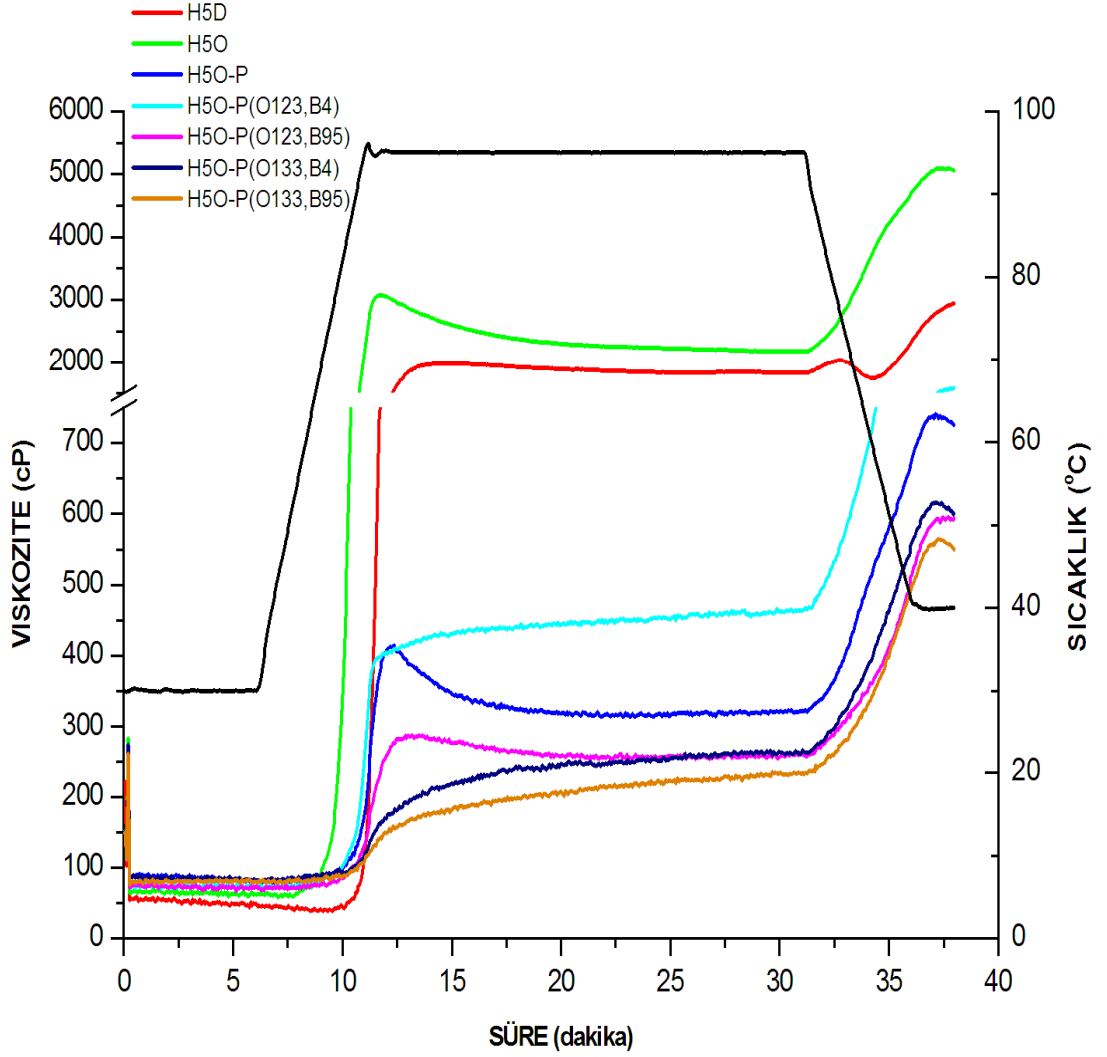
³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı

Çizelge 4.10 incelendiğinde, enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme uygulaması ile üretilen örneklerin çoğunun T_o değerlerinin doğal nişastalarinkinden farklı olmadığı görülmektedir. Doğal nişastalarla karşılaştırıldığında, enzim ile hidroliz T_p ve ΔH değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Otoklavlama-bekletme uygulaması T_p değerlerini etkilememiştir. t-testi sonuçlarına göre 50°C' de kurutma ile liyofilize ederek kurutma yöntemleri arasında T_o ve T_p değerleri açısından fark görülmezken, liyofilize edilerek kurutulan örneklerin ΔH değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Hylon V' den enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilmiş nişastalara ait örnek DSC termogramı Ek 8' de verilmiştir.

Termal özellikler ile EDN miktarı arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmış ve EDN miktarı ile T_o ve T_p değerleri arasında önemli ($p<0.001$) korelasyon bulunmuştur (Ek 9).

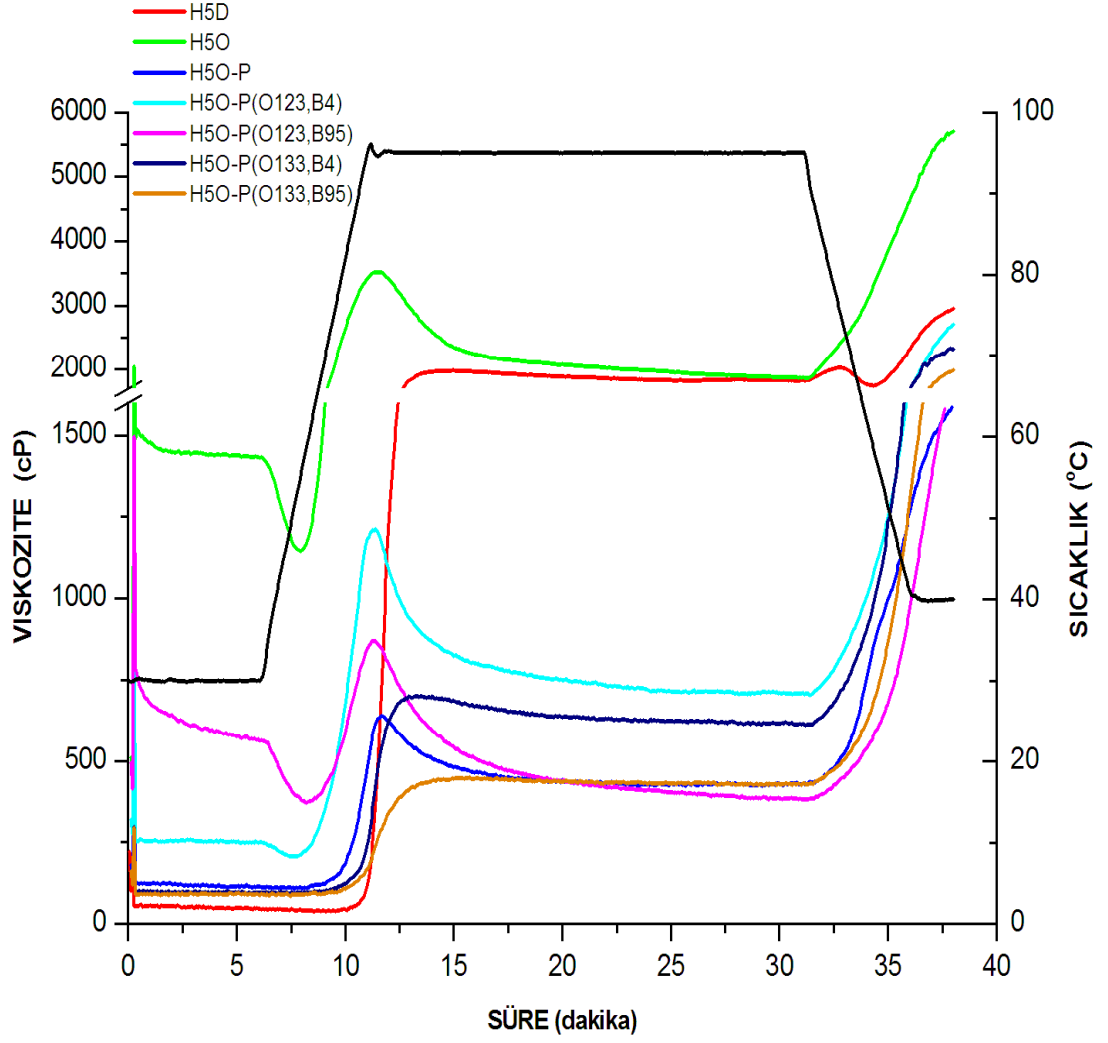
4.2.3. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin viskozite özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1) ile üretilen örneklerle ait RVA viskozite grafikleri Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8' de, analiz sonuçları ise Çizelge 4.11' de verilmiştir.



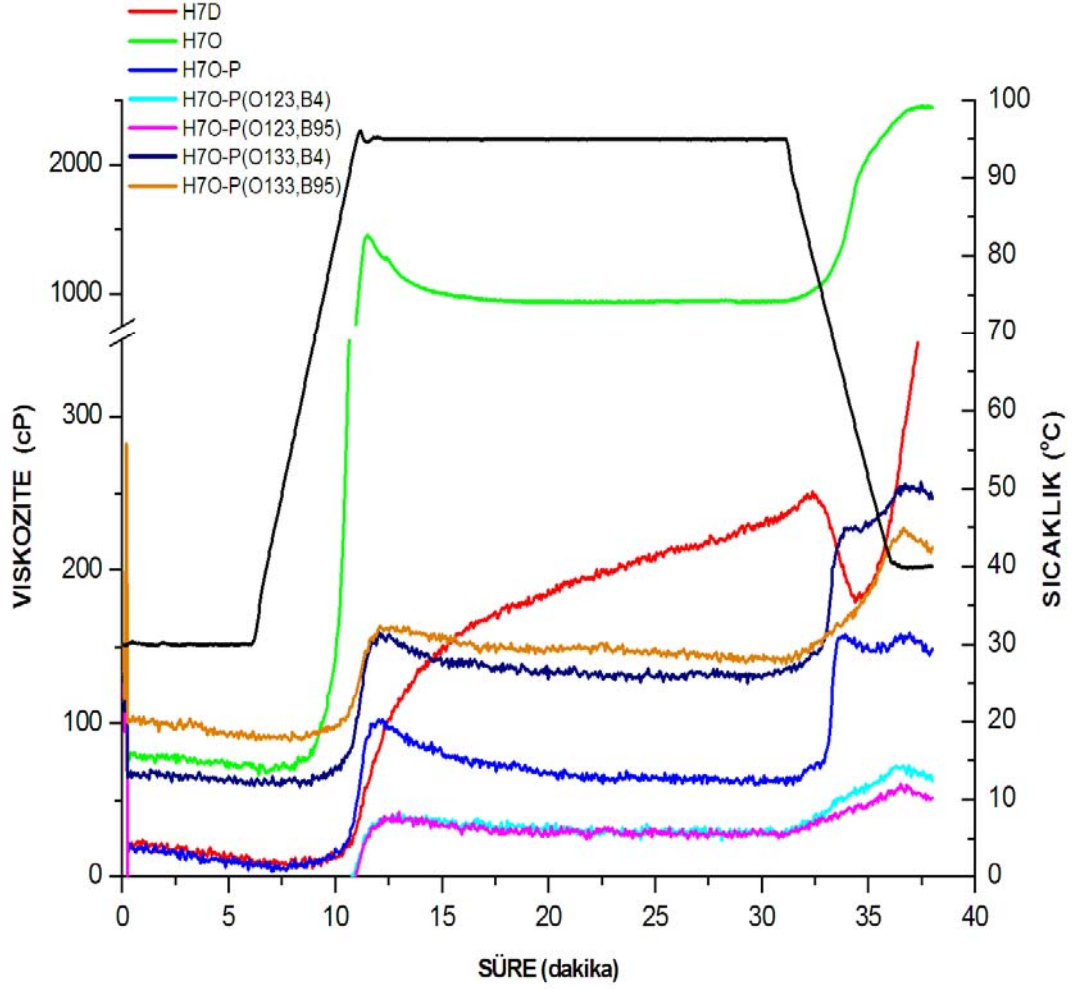
Şekil 4.5. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133:123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme



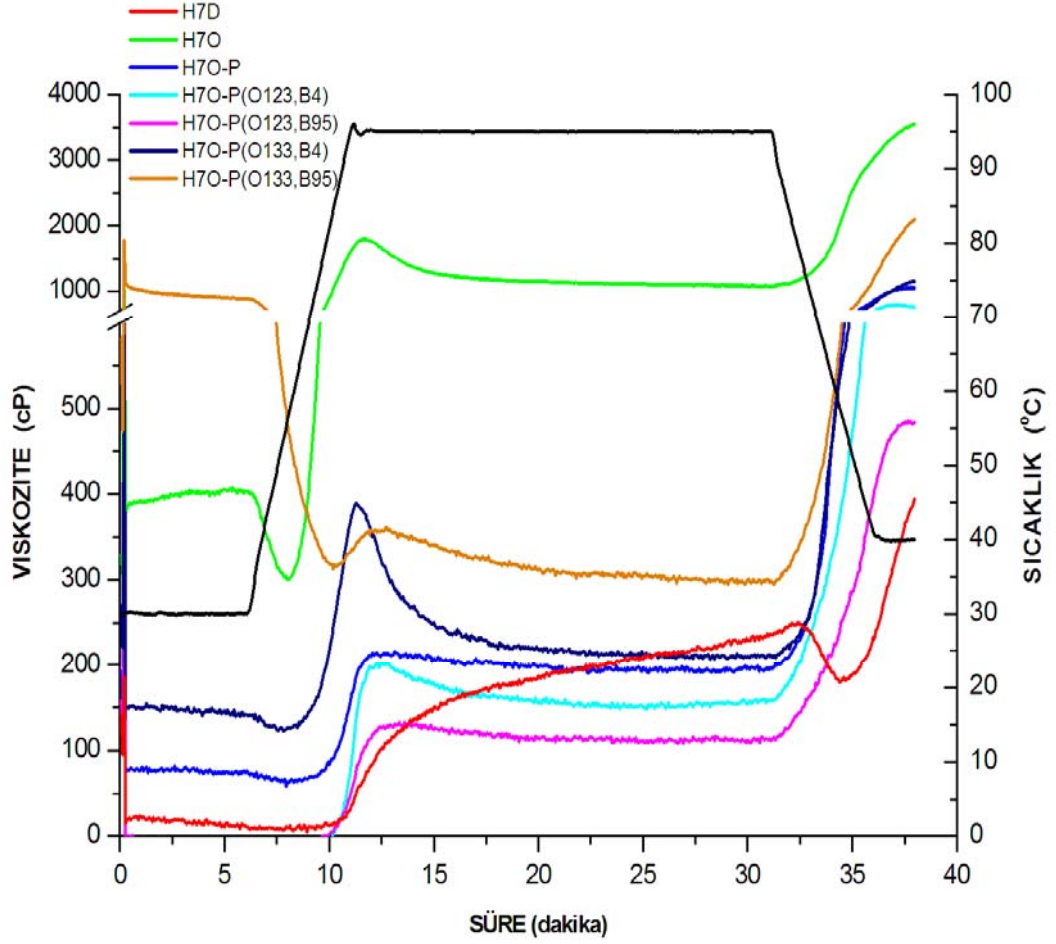
Şekil 4.6. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133:123°C ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4°C ya da 95°C' de 10 saat bekletme



Şekil 4.7. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133:123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme



Şekil 4.8. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133:123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Çizelge 4.11. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma					Liyofilizasyon				
	Isıtma Öncesi Viskozite	Maksimum Viskozite	Karıştırma ile Viskozite Azalması	Son Viskozite	Çirşlenme Başlangıç Sıcaklığı	Isıtma Öncesi Viskozite	Maksimum Viskozite	Karıştırma ile Viskozite Azalması	Son Viskozite	Çirşlenme Başlangıç Sıcaklığı
	(cP)	(cP)	(cP)	(cP)	(°C)	(cP)	(cP)	(cP)	(cP)	(°C)
H5D	38 b	1988 b	214 b	2952 b	88.0 a	38 d	1988 c	214 c	2952 b	88.0 a
H5O	72 a	3077 a	902 a	5057 a	58.5 e	1476 a	3528 a	1660 a	5728 a	55.0 d
H5O-P	93 a	415 c	104 c	726 d	72.0 c	129 c	641 e	221 c	1667 f	62.5 c
H5O-P(O123 B4)	80 a	498 c	37 c	1586 c	66.5 d	261 c	1212 b	511 b	2723 c	56.5 d
H5O-P(O123 B95)	80 a	290 c	41 c	595 e	76.0 b	672 b	872 d	492 b	1694 f	64.0 c
H5O-P(O133 B4)	92 a	280 c	22 c	601 e	76.5 b	104 cd	704 e	93 d	2339 d	70.0 b
H5O-P(O133 B95)	87 a	247 c	18 c	549 e	76.5 b	98 cd	441 f	19 d	1994 e	70.0 b
H7D	8 b	248 b	56 b	395 b	87.5 a	8 e	248 d	56 c	395 g	87.5 a
H7O	82 a	1459 a	518 a	2444 a	69.0 c	408 b	1801 a	724 a	3557 a	59.5 d
H7O-P	53 a	142 c	45 bc	149 c	79.0 b	84 d	218 d	30 c	1048 d	74.5 b
H7O-P(O123 B4)	0 c	42 d	16 c	63 d	76.0 b	0 e	204 d	57 c	757 e	68.0 c
H7O-P(O123 B95)	0 c	43 d	18 c	52 d	75.0 b	0 e	135 e	30 c	484 f	68.5 c
H7O-P(O133 B4)	70 a	160 c	36 c	247 c	79.0 b	156 c	390 c	184 b	1152 c	67.5 c
H7O-P(O133 B95)	105 a	166 c	28 c	215 c	90.0 a	1013 a	472 b	178 b	2100 b	87.0 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

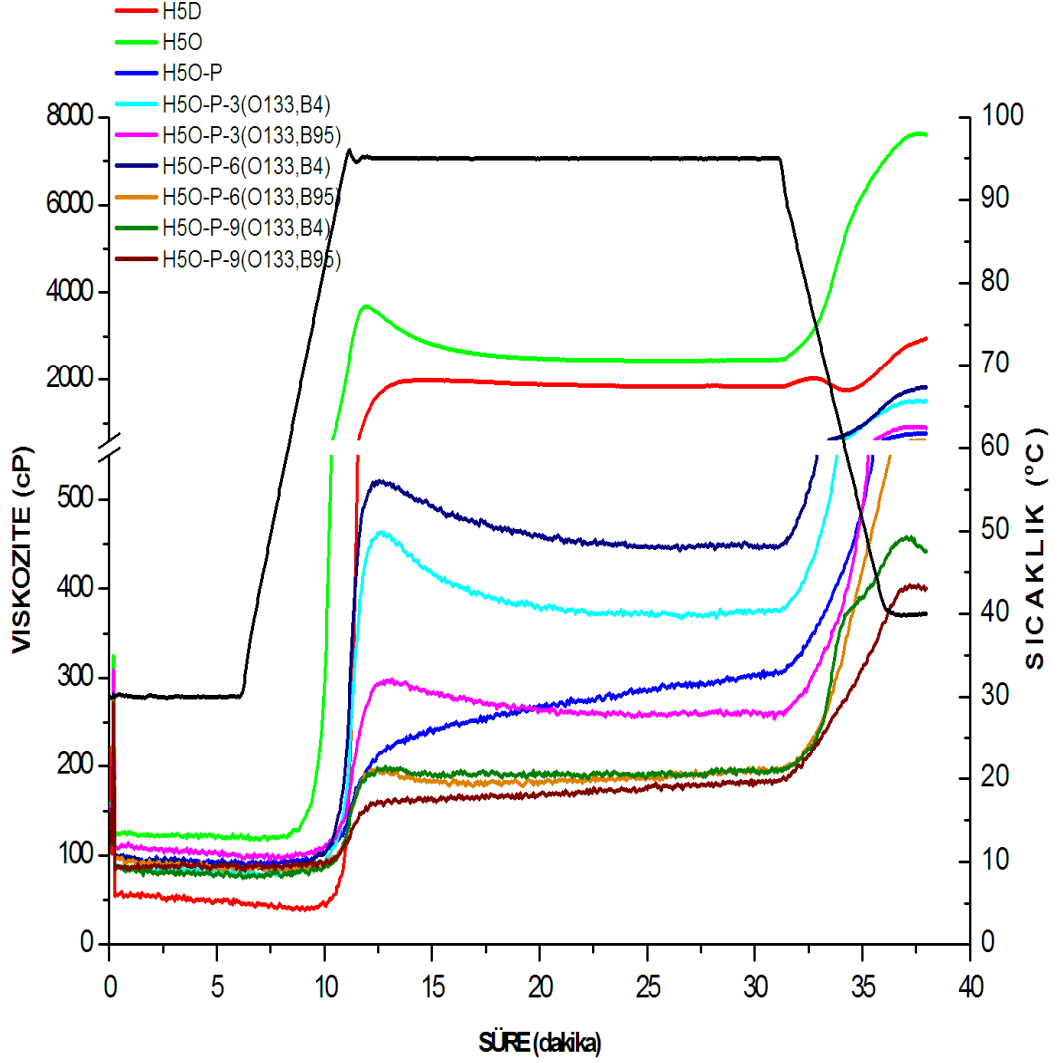
² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Çizelge 4.11 incelendiğinde, liyofilize edilerek kurutulan örneklerin ısıtma öncesi viskozite değerlerinin 50°C' de kurutulan örneklerden yüksek olduğu görülmektedir. 50°C' de uzun süreli kurutma sırasında meydana gelen nişasta retrogradasyonu sonucu suyun yapıya girmesi engellenmiştir, bu nedenle başlangıçta gözlenen ısıtma öncesi viskozitesi daha düşüktür. Isıtma öncesi viskozite değerlerinin düşük olmasının, nişasta zincirlerinin H-bağı ile gevşek bağlı yapılar oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu gevşek bağlı yapılar, 50°C de kurutma sırasındaki çok miktarda H-bağı ya da liyofilizasyon sırasındaki az miktardaki H-bağı ile oluşmaktadır. Bu yapı, EDN oluşumundaki retrogradasyondan farklıdır. Liyofilizasyon sırasında, H-bağı az sayıda olduğu için, örneğin su alması kolaylaşmaktadır. Bu nedenle liyofilize örnekler düşük sıcaklıkta yüksek viskozite göstermektedir. H-bağı fazla olduğunda (50°C' de kurutulan örneklerde), RVA' da analiz sırasında başlangıçtaki düşük sıcaklıklarda yapının su alması güçleşmektedir. RVA' da analizin daha ileri aşamalarında sıcaklığın artması ile H-bağları zayıflayıp kırılacağından yapıya su girmeye başlamakta ve viskozite artmaktadır. Doğal haldeki nişasta ile jelatinize nişastada gözlenen pikler şekil olarak benzer ise de, bu piklerin oluşum mekanizmaları farklıdır (Köksel et al., 2008). Ayrıca, H5O ve H7O örneklerinin çirleşme başlangıç sıcaklıkları doğal nişastalardan düşüktür ve liyofilizasyonla kurutulan örneklerde çirleşme başlangıç sıcaklığı daha fazla düşmektedir.

Genel olarak liyofilize edilen örneklerin tüm viskozite değerleri 50°C' de kurutulan örneklerden daha yüksektir ($p < 0.05$). 135°C' de 30 dakika otoklavlandıktan sonra kurutulan örneklerin (H5O ve H7O) viskozite değerleri diğer tüm örneklerden daha yüksektir. Enzim hidrolizi ile (H5O-P ve H7O-P) viskozite değerlerinde (ısıtma öncesi viskozite hariç) büyük bir düşüş olmaktadır. Hylon V' den üretilen ve 50°C' de kurutulan tüm örneklerde, enzim hidrolizi sonrasında uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile maksimum viskozite ve karıştırma ile viskozite azalması değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmamıştır. Liyofilizasyon yöntemi ile kurutulan örneklerde otoklavlama-bekletme döngüsü 50°C' de kurutulanlara göre viskozite değerlerinde daha fazla artışa neden olmuştur. Hylon VII' den üretilen örneklerde, 123°C' de otoklav uygulanan örnekler [H7O-P(O123 B4) ve H7O-P(O123 B95)] ısıtma öncesi viskoziteye sahip değildir. Bu durumun, ortamda bulunan mevcut nişasta moleküllerinin her iki kurutma sırasında da EDN

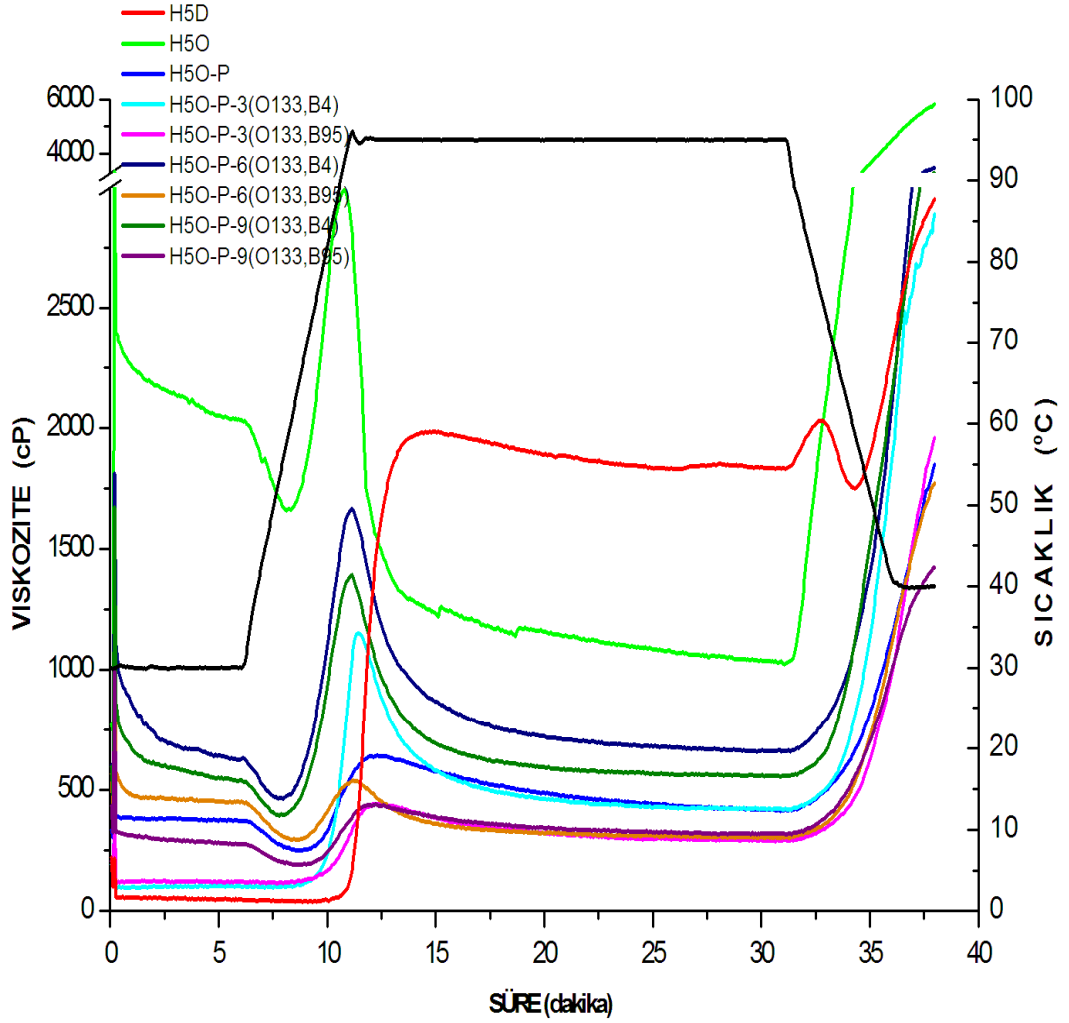
oluşturacak şekilde yeniden dizilmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu örneklerin diğer tüm viskozite değerleri de düşük olup EDN miktarları sadece otoklavlanan örneğe göre yüksektir. Hylon VII' den üretilen ve 133°C' de otoklav uygulanan örnekler [H7O-P(O133 B4) ve H7O-P(O133 B95)] ise ısıtma öncesi viskoziteye sahiptir. Bunun nedeni, kurutma sırasında EDN oluşumunun devam etmesine rağmen, ilk otoklavda tamamlanmamış olan granüler degradasyonun bu aşamada devam etmesi ve çözünür faza geçen yeni nişasta moleküllerinin ısıtma öncesinde viskoziteyi arttırması olabilir.

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 2) ile üretilen örnekler için RVA viskozite grafikleri Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12' de, analiz sonuçları ise Çizelge 4.12' de verilmiştir.



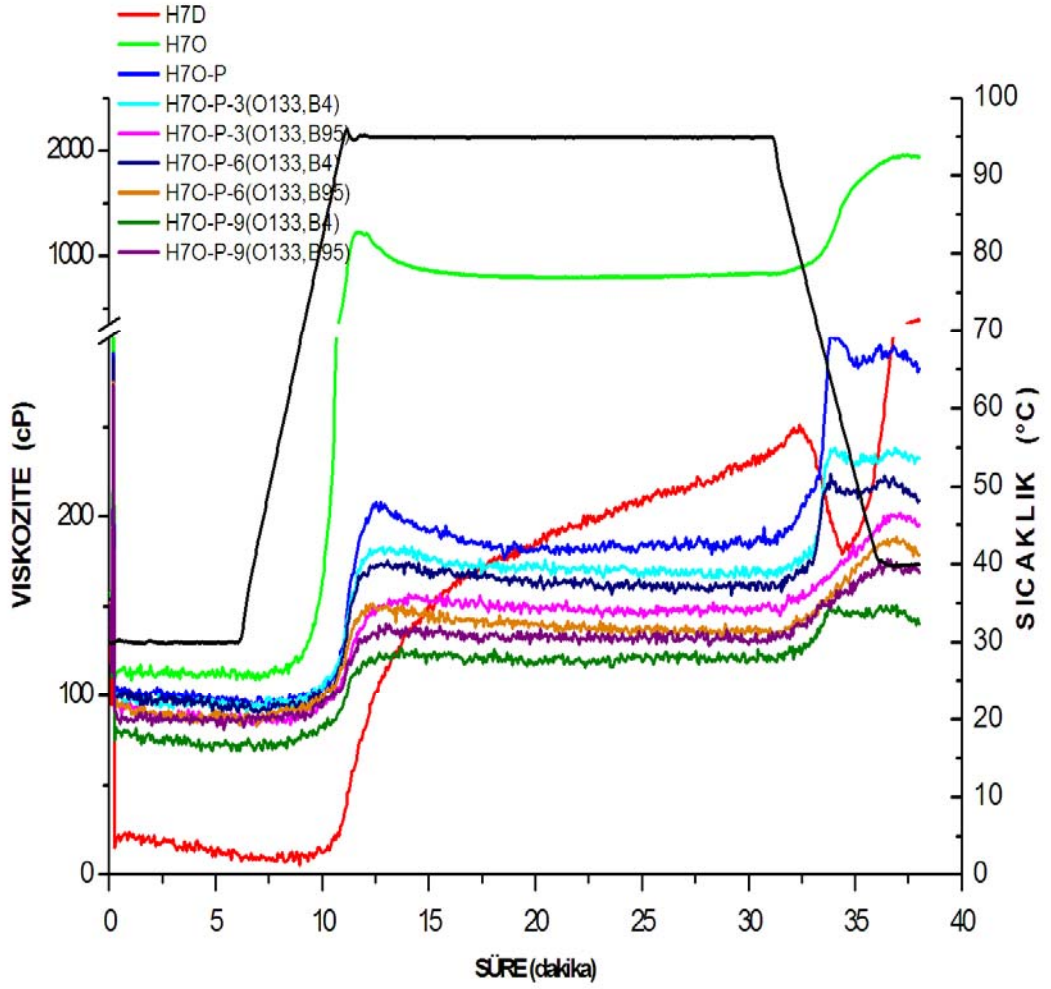
Şekil 4.9. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.



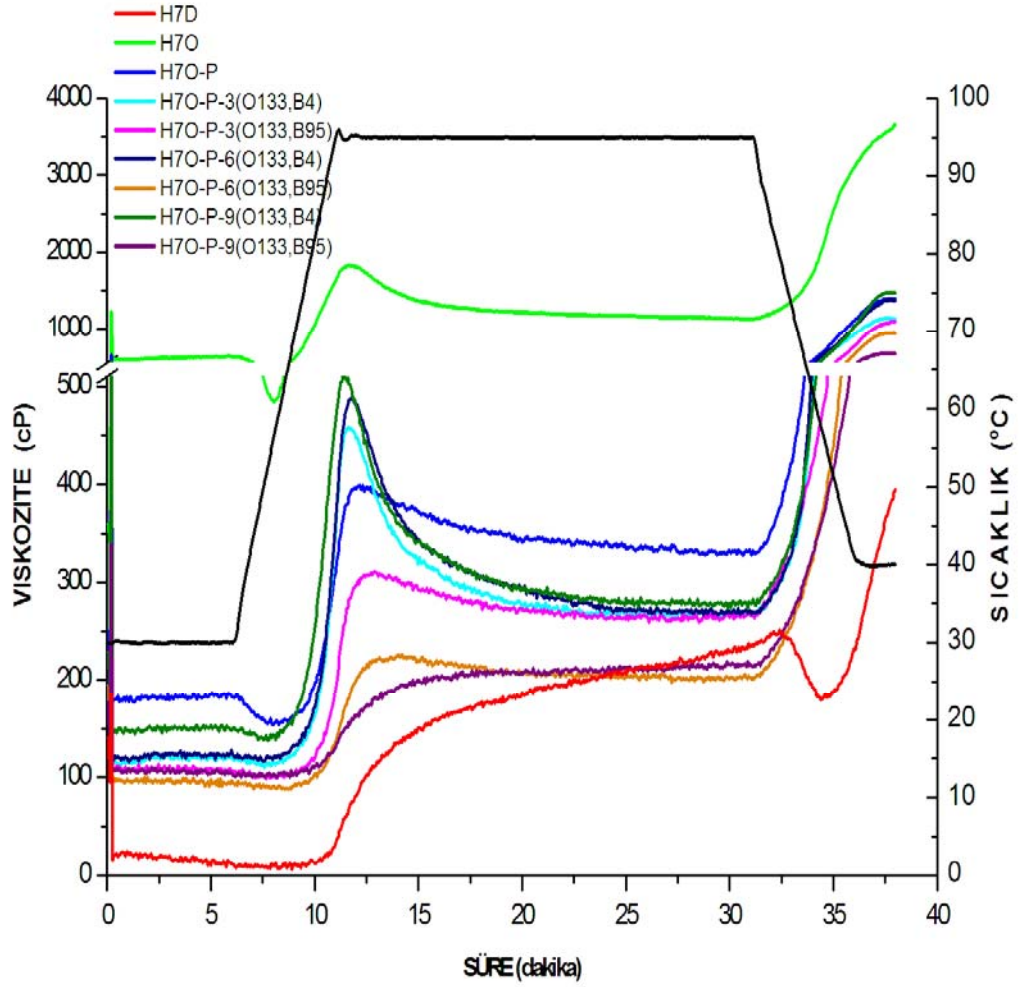
Şekil 4.10. Hylon V nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.



Şekil 4.11. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.



Şekil 4.12. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.

Çizelge 4.12. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma					Liyofilizasyon				
	Isıtma	Karıştırma		Çirilenme	Sıcaklığı (°C)	Isıtma	Karıştırma		Çirilenme	Sıcaklığı (°C)
	Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)		Başlangıç	Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	ile Viskozite Azalması (cP)	
H5D	38 c	1988 b	214 b	2952 b	88.0 b	38 h	1988 b	214 c	2952 b	88.0 a
H5O	127 a	3687 a	1227 a	7609 a	62.9 c	2226 a	2871 a	1581 a	6285 a	64.6 d
H5O-P	100 ab	325 e	25 e	760 f	88.8 b	387 e	644 f	230 c	1851 c	73.4 c
H5O-P-3(O133 B4)	90 b	464 d	91 c	1499 d	86.2 b	110 g	1154 e	735 b	2889 b	71.6 c
H5O-P-3(O133 B95)	114 ab	300 e	46 de	899 e	86.6 b	129 g	447 g	158 c	1960 c	72.9 c
H5O-P-6(O133 B4)	99 ab	523 c	79 cd	1816 c	85.4 b	848 b	1666 c	1009 b	3470 b	75.5 c
H5O-P-6(O133 B95)	96 b	210 f	18 e	599 g	91.5 ab	479 d	542 f	241 c	1772 c	76.3 c
H5O-P-9(O133 B4)	87 b	207 f	18 e	442 h	93.6 a	666 c	1393 d	838 b	3276 b	76.7 c
H5O-P-9(O133 B95)	95 b	199 f	19 e	400 h	94.1 a	315 f	442 g	128 c	1425 c	82.5 b
H7D	8 c	248 b	56 b	395 b	87.5 b	8 f	248 f	56 de	395 f	87.5 c
H7O	120 a	1230 a	401 a	1946 a	70.3 c	638 a	1832 a	703 a	3661 a	65.9 f
H7O-P	105 ab	209 c	28 c	283 c	89.3 b	188 b	402 d	77 d	1395 b	73.8 e
H7O-P-3(O133 B4)	103 ab	184 cd	19 cd	233 d	89.8 b	125 d	459 c	195 c	1134 c	75.4 e
H7O-P-3(O133 B95)	97 b	159 de	14 d	196 de	94.0 a	115 d	312 e	50 e	1095 c	83.3 d
H7O-P-6(O133 B4)	104 ab	177 d	20 cd	209 de	94.9 a	129 d	488 bc	222 b	1373 b	82.5 d
H7O-P-6(O133 B95)	96 b	154 de	22 cd	179 e	94.9 a	101 e	227 f	29 f	945 d	82.5 d
H7O-P-9(O133 B4)	102 ab	129 e	11 d	141 f	94.9 a	156 c	513 b	241 b	1466 b	89.4 b
H7O-P-9(O133 B95)	92 b	144 e	15 d	169 f	94.9 a	112 d	231 f	18 g	673 e	93.2 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dk otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dk otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı

Çizelge 4.12 incelendiğinde de benzer sonuçlar görülmektedir. Otoklav uygulaması ile örneklerin viskozite değerleri doğal nişastalara göre artmakta, enzim hidrolizi ve ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile viskozite değerleri azalmaktadır ($p<0.05$). 50°C ' de kurutulan örneklerin ısıtma öncesi viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur. LSD testi sonuçlarına göre liyofilize edilerek kurutulan örneklerin ise ısıtma öncesi viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak fark olup t-testi sonuçlarına göre bunlar 50°C 'de kurutulanlardan da yüksektir ($p<0.05$). Liyofilizasyonla kurutulan örneklerin diğer tüm viskozite değerleri 50°C ' de kurutulanlardan yüksektir ($p<0.05$). Her iki grupta da 6 otoklav döngüsü ile üretilen örneklerin viskozite değerleri, 3 ve 9 otoklav döngüsüyle üretilenlerden yüksek bulunmuştur. Genel olarak, otoklavlama sonrasında 4°C ' de bekletilen örneklerin viskozite değerleri 95°C ' de bekletilenlerden yüksektir. Genel olarak ele alındığında Hylon VII ile üretilen örneklerin tüm viskozite değerleri Hylon V ile üretilenlerden düşüktür. Otoklav uygulaması ile örneklerin çirışlenme başlangıç sıcaklık değerleri azalmakta ve ardından uygulanan enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü ile tekrar artış olmaktadır. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin çirışlenme başlangıç sıcaklıkları t-testi sonuçlarına göre 50°C ' de kurutulan örneklerden düşüktür.

RVA viskozite değerleri ile EDN miktarı ve termal özellikler arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmıştır. EDN miktarı ile maksimum viskozite, son viskozite, karıştırma ile viskozite azalması, çirışlenme başlangıç sıcaklığı, T_o ve T_p değerleri arasında $p<0.001$ ve EDN miktarı ile ısıtma öncesi viskozite değeri arasında $p<0.05$ seviyelerinde korelasyon bulunmuştur. Ayrıca, ısıtma öncesi viskozite ile T_o ($p<0.001$) ve T_p ($p<0.01$) değerleri arasında ve maksimum viskozite ile T_o ve T_p ($p<0.001$) değerleri arasında önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 9).

4.2.4. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri

4.2.4.1. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1 ve Uygulama 2) ile üretilen örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri sırasıyla Çizelge 4.13 ve 4.14' de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)
H5D	0.13 f	132 d	0.13 g	132 g
H5O	1.26 e	268 a	2.37 f	447 c
H5O-P	3.55 d	221 b	4.19 c	342 d
H5O-P(O123 B4)	4.01 c	226 b	3.57 e	459 b
H5O-P(O123 B95)	3.82 c	221 b	3.88 d	504 a
H5O-P(O133 B4)	5.72 a	215 c	5.05 b	273 e
H5O-P(O133 B95)	5.31 b	213 c	5.46 a	260 f
H7D	0.09 d	133 c	0.09 e	133 g
H7O	1.07 c	262 a	2.07 d	412 c
H7O-P	3.12 b	219 b	3.42 c	406 d
H7O-P(O123 B4)	4.94 a	226 b	3.82 b	379 e
H7O-P(O123 B95)	3.32 b	222 b	4.49 a	369 f
H7O-P(O133 B4)	3.23 b	225 b	3.64 b	424 b
H7O-P(O133 B95)	3.47 b	223 b	3.44 c	509 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Doğal haldeki nişasta örneklerine otoklav uygulandığında (H5O ve H7O) su bağlama değerinde artış olmuştur. Otoklavlama sonrasında enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan ve 50°C' de kurutulan örneklerde su bağlama değerleri azalmıştır ($p<0.05$) ancak yine de doğal haldeki nişastaların su bağlama değerlerinden yüksektir. Liyofilizasyonla kurutulan örneklerde ise, otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan bazı örneklerin su bağlama değerlerinin sadece otoklav uygulanmış örneklere (H5O ve H7O) göre arttığı görülmektedir. Liyofilizasyonla kurutulan örneklerin su bağlama değerleri t-testi sonuçlarına göre 50°C' de kurutulanlara göre daha yüksektir ($p<0.05$). Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinin her ikisinde de enzim hidrolizi ve ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile çözünürlük değerleri artmaktadır. Kurutma yönteminin çözünürlük üzerine istatistiksel olarak önemli etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Hylon V' den üretilen örneklerde, otoklav sıcaklığının artmasıyla (133°C) çözünürlük değerlerinde artış, su bağlama değerlerinde azalma olmuştur. Hylon VII' de ise yüksek sıcaklıkta otoklavlama ile özellikle liyofilize örneklerde su bağlama değerlerinde artış olmuştur.

Çizelge 4.14 incelendiğinde, otoklavlama-bekletme döngü sayısının artmasıyla, 50°C' de kurutulan örneklerin su bağlama değerlerinde azalma olduğu görülmektedir. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerde 6 ve 9 döngü ile daha yüksek su bağlama değerleri elde edilmiştir. Otoklavlama-bekletme döngü sayısının artmasıyla örneklerin çözünürlük değerlerinde artış gözlenmektedir. En yüksek çözünürlük değerleri, Hylon V' den enzim hidrolizi ve ardından 9 otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örneklerde elde edilmiştir. t-testi sonuçlarına göre kurutma yönteminin çözünürlük değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli etkisi olmamıştır. Hylon V ve Hylon VII arasında su bağlama değerleri açısından çok büyük farklar gözlenmezken, Hylon V ile elde edilen çözünürlük değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.14. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Çözünürlük	Su Bağlama	Çözünürlük	Su Bağlama
	(%)	(%)	(%)	(%)
H5D	0.13 f	132 d	0.13 d	132 d
H5O	1.61 e	251 a	4.44 c	466 b
H5O-P	4.25 c	227 b	4.32 c	489 a
H5O-P-3(O133 B4)	3.77 d	232 b	4.03 c	398 c
H5O-P-3(O133 B95)	4.01 cd	219 c	4.40 c	399 c
H5O-P-6(O133 B4)	4.04 cd	223 bc	4.10 c	497 a
H5O-P-6(O133 B95)	5.27 b	214 c	5.60 b	494 a
H5O-P-9(O133 B4)	7.78 a	218 c	7.77 a	497 a
H5O-P-9(O133 B95)	7.54 a	210 c	7.27 a	473 b
H7D	0.09 g	133 d	0.09 e	133 c
H7O	1.09 f	255 a	1.61 d	387 b
H7O-P	3.11 e	225 b	3.68 c	425 a
H7O-P-3(O133 B4)	3.11 e	223 b	3.98 c	407 ab
H7O-P-3(O133 B95)	3.64 d	219 bc	4.25 b	390 b
H7O-P-6(O133 B4)	3.38 d	216 c	3.72 c	385 b
H7O-P-6(O133 B95)	4.13 c	210 c	4.28 b	387 b
H7O-P-9(O133 B4)	5.36 a	213 c	4.10 c	437 a
H7O-P-9(O133,95)	5.00 b	212 c	5.56 a	363 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı

Çözünürlük ve su bağlama değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler ve RVA viskozite özellikleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Çözünürlük ile EDN miktarı arasında p<0.001; çözünürlük ile T_p, maksimum viskozite ve çirleşme başlangıç sıcaklığı değerleri arasında p<0.01 ve çözünürlük ile T_o, ΔH, karıştırma ile viskozite azalması ve son viskozite değerleri arasında p<0.05 seviyelerinde önemli korelasyonlar belirlenmiştir. Su bağlama değeri ile ısıtma öncesi viskozite

ve karıştırma ile viskozite azalması değerleri arasında $p < 0.001$; su bağlama değeri ile son viskozite ve çirşlenme başlangıç sıcaklığı değerleri arasında $p < 0.01$ ve su bağlama değeri ile maksimum viskozite değerleri arasında $p < 0.05$ seviyelerinde önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 9).

4.2.4.2. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin emülsiyon oluşturma özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1 ve Uygulama 2) ile üretilen örneklerin emülsiyon kapasite ve stabilite değerleri sırasıyla Çizelge 4.15 ve 4.16' da verilmiştir.

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesini etkilemezken emülsiyon stabilitesini arttırmıştır. Otoklav uygulanan örneklerin (H5O ve H7O) albümin çözeltisine ilavesi ile emülsiyon kapasite ve stabilite değerleri artmaktadır. Enzim hidrolizinin ardından 50°C ' de kurutulan örneklerin (H5O-P ve H7O-P) albümin çözeltisine ilavesi ile emülsiyon kapasite değerleri azalmakta, stabilite değerleri ise değişmemektedir. Enzim hidrolizinin ardından otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örnekler ile sadece enzim hidrolizi uygulanan örneklerin emülsiyon özellikleri arasında fark gözlenmemiştir. Enzim hidrolizinin ardından liyofilize edilerek kurutulan örneklerin albümin çözeltisine ilavesi ile emülsiyon kapasite değerleri istatistiksel olarak değişmemekte, emülsiyon stabilite değerleri ise artmaktadır. Çizelge 4.16 incelendiğinde de benzer sonuçlar görülmektedir. Otoklavlama-bekletme döngü sayısının artması ile emülsiyon özelliklerinde önemli değişim olmamıştır. Liyofilize edilerek kurutulan örnekler albümin çözeltisinin emülsiyon stabilitesi değerini arttırmaktadır.

Çizelge 4.15. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi
	(%)	(%)	(%)	(%)
Albümin	21.3 b	18.3 c	21.3 b	18.3 d
H5D	21.2 b	47.0 b	21.2 b	47.0 b
H5O	41.8 a	53.4 a	30.0 a	55.1 a
H5O-P	10.8 c	18.2 c	18.2 b	35.2 c
H5O-P(O123 B4)	10.2 c	18.4 c	18.7 b	23.3 d
H5O-P(O123 B95)	11.0 c	18.7 c	19.1 b	23.6 d
H5O-P(O133 B4)	12.1 c	15.0 c	17.3 b	22.5 d
H5O-P(O133 B95)	12.0 c	18.0 c	18.2 b	21.7 d
Albümin	21.3 b	18.3 c	21.3 b	18.3 d
H7D	21.0 b	47.1 b	21.0 b	47.1 b
H7O	41.4 a	55.5 a	40.8 a	65.1 a
H7O-P	15.7 c	15.7 c	15.2 b	25.2 c
H7O-P(O123 B4)	13.6 c	14.1 c	17.3 b	25.4 c
H7O-P(O123 B95)	12.4 c	16.4 c	15.1 b	25.0 c
H7O-P(O133 B4)	14.6 c	17.1 c	17.1 b	22.2 c
H7O-P(O133 B95)	12.7 c	16.0 c	19.4 b	22.4 c

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

Çizelge 4.16. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi
	(%)	(%)	(%)	(%)
Albümin	21.3 b	18.3 b	21.3 c	18.3 c
H5D	21.2 b	47.0 a	21.2 c	47.0 a
H5O	46.3 a	45.1 a	36.0 a	32.0 b
H5O-P	13.7 c	19.6 b	27.4 b	31.1 b
H5O-P-3(O133 B4)	12.5 c	17.5 b	17.7 d	34.5 b
H5O-P-3(O133 B95)	12.3 c	15.8 b	17.5 d	37.5 b
H5O-P-6(O133 B4)	12.7 c	14.6 b	18.2 d	36.7 b
H5O-P-6(O133 B95)	12.5 c	16.7 b	18.2 d	34.4 b
H5O-P-9(O133 B4)	14.3 c	14.7 b	18.3 d	33.6 b
H5O-P-9(O133 B95)	15.0 c	16.7 b	18.2 d	32.4 b
Albümin	21.3 b	18.3 d	21.3 b	18.3 d
H7D	21.0 b	47.1 b	21.0 b	47.1 b
H7O	52.7 a	56.1 a	52.3 a	60.2 a
H7O-P	16.0 c	24.1 c	15.0 b	23.3 d
H7O-P-3(O133 B4)	16.7 c	24.6 c	18.7 b	38.1 c
H7O-P-3(O133 B95)	15.9 c	23.4 c	16.0 b	35.6 c
H7O-P-6(O133 B4)	15.8 c	21.3 c	14.8 b	35.9 c
H7O-P-6(O133 B95)	15.7 c	22.5 c	15.9 b	35.5 c
H7O-P-9(O133 B4)	14.0 c	21.7 c	15.1 b	35.2 c
H7O-P-9(O133 B95)	14.2 c	22.1 c	16.2 b	36.1 c

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C'de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4 ya da B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı.

Emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler, RVA viskozite özellikleri, çözünürlük ve su bağlama değerleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Emülsiyon kapasitesi ile EDN miktarı, RVA viskozite değerleri (ısıtma öncesi viskozite hariç), çirilenme başlangıç sıcaklığı, T_o , T_p ve çözünürlük değerleri arasında $p < 0.001$ ve emülsiyon kapasitesi ile su bağlama değeri arasında $p < 0.01$ seviyelerinde korelasyonlar bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ile EDN miktarı, RVA viskozite değerleri, çirilenme başlangıç sıcaklığı, su bağlama ($p < 0.001$) ve emülsiyon stabilitesi ile T_o ($p < 0.05$) değerleri arasında önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 9).

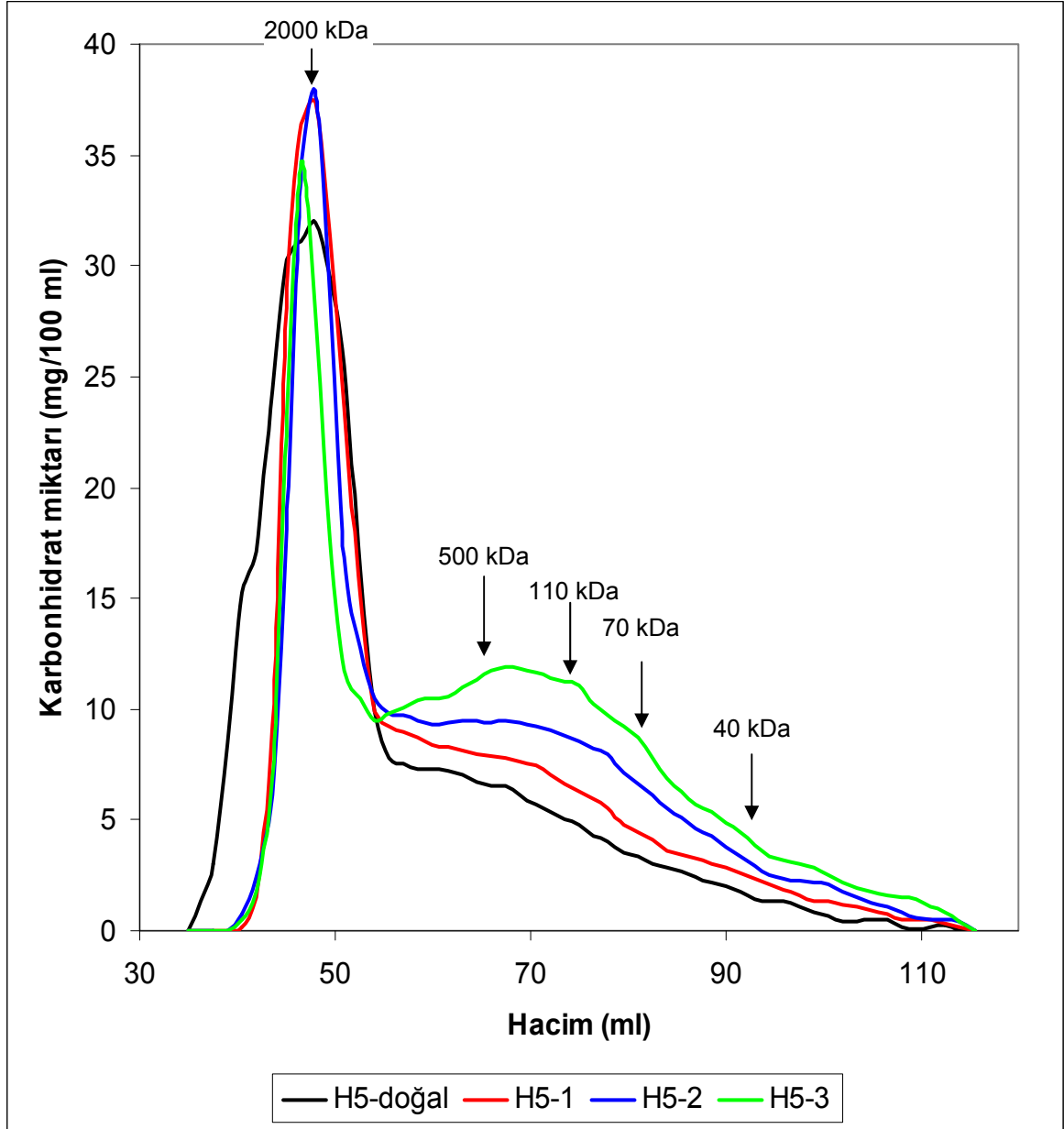
Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 1 ve Uygulama 2) ile üretilen örneklerin CIE renk değerleri sırasıyla Ek 10 ve Ek 11' de verilmiştir. Otoklavlama ile L^* değerlerinde azalma, b^* değerlerinde ise artış gözlenmiştir. 4°C ve 95°C ' de bekletilen örnekler karşılaştırıldığında 95°C ' de bekletilenlerin L^* değerlerinin düşük, b^* değerlerinin ise yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.05$) Sıcaklığın etkisi ile örnekte daha fazla koyu renk oluşumu gözlenmektedir. Otoklavlama-bekletme döngü sayısının artmasıyla L^* değerlerinde azalma ve b^* değerlerinde artış olmuştur. Bu önemli renk değişimi son üründe istenmeyen renk özelliklerine neden olabileceği için otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı daha fazla arttırılmamıştır. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin renkleri 50°C ' de kurutulan örneklerden daha açıktır.

4.3. Nişasta Örneklerinden Asit ile Hazırlanan Hidrolizatların Özellikleri

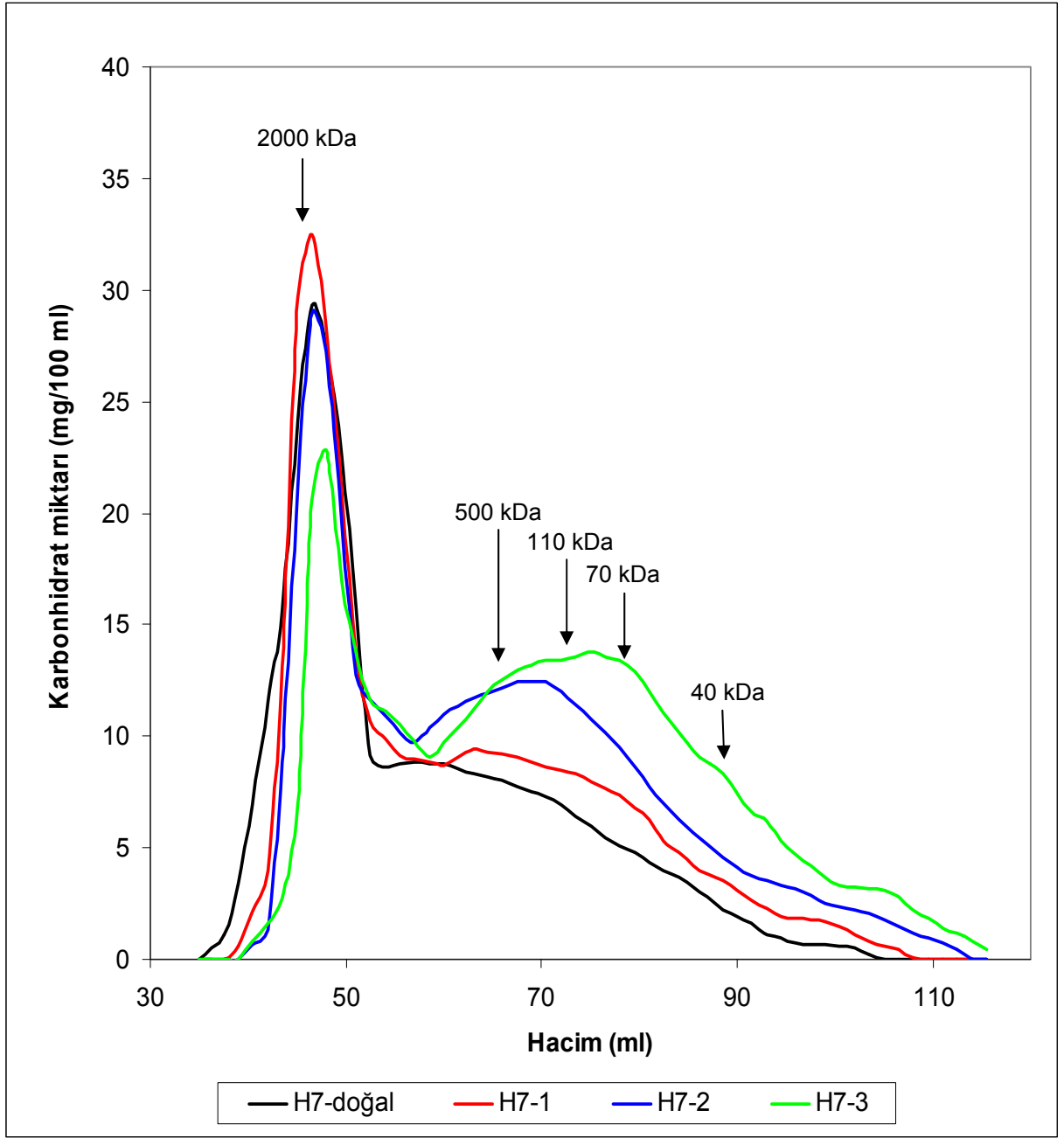
4.3.1. Asit hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan farklı sürelerde asit hidrolizi uygulanarak hazırlanan nişasta hidrolizatları jel filtrasyon yöntemi ile değişik molekül ağırlıklarına sahip olan fraksiyonlara ayrılmıştır. Her bir fraksiyondaki toplam karbonhidrat miktarı belirlenmiş ve kolondan çıkış hacmine göre grafiğe geçirilerek kromatogramlar hazırlanmıştır. Hidrolizatların moleküler ağırlık dağılımlarının karşılaştırılabilmesi amacıyla kromatogramlar çok yüksek (>3200 kDa), yüksek (3200-960 kDa), orta (960-30 kDa) ve düşük (<30 kDa) moleküler ağırlıklı olmak üzere dört bölgeye ayrılmış ve her bir bölgede kurve

altında kalan alan integrasyon yoluyla hesaplanmıştır. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII ile asit hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları sırasıyla Şekil 4.13 ve 4.14' de, moleküler ağırlık dağılımları Çizelge 4.17' de verilmiştir. Örneklerin moleküler ağırlık dağılımlarının belirlenmesi amacıyla kullanılan standartların kolondan çıkış hacimleri de kromatogramlar üzerinde belirtilmiştir.



Şekil 4.13. Hylon V ve asit hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları
H5: Hylon V; 1, 2, 3: Asit ile inkübasyon süresi (saat)



Şekil 4.14. Hylon VII ve asit hidrolizatlarına ait jel filtrasyon kromatogramları
H7: Hylon VII; 1, 2, 3: Asit ile inkübasyon süresi (saat)

Çizelge 4.17. Hylon V, Hylon VII ve asit hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımı

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Çok Yüksek Molekül Ağırlıklı Fraksiyonlar (>3200 kDa)	Yüksek Molekül Ağırlıklı Fraksiyonlar (3200-960 kDa)	Orta Molekül Ağırlıklı Fraksiyonlar (960-30 kDa)	Düşük Molekül Ağırlıklı Fraksiyonlar (<30 kDa)
		(%)	(%)	(%)	(%)
Hylon V	0 (doğal)	9.7	53.8	32.7	3.8
	1	1.5	51.7	40.6	6.2
	2	0.5	42.0	49.2	8.8
	3	0.4	33.8	55.3	10.6
Hylon VII	0 (doğal)	5.3	46.6	45.0	3.1
	1	1.3	43.5	49.3	6.0
	2	1.1	33.7	55.7	9.5
	3	0.9	25.4	60.5	13.3

Asit nişasta molekülünün amorf kısmına etki ederek buradaki glukozidik bağları hidrolize etmektedir. Asit ile hidrolizin nişasta üzerine en önemli etkisi moleküler büyüklüğü azaltmak şeklindedir. Çizelge 4.17 incelendiğinde asit ile hidroliz süresinin artmasıyla çok yüksek ve yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarının azaldığı görülmektedir. Bu azalma orta ve düşük molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarında artışa neden olmuştur. Bu gözlem Singh and Ali (2000) ve Chang et al. (2004)' in çalışmaları ile uyum göstermektedir. Asit hidrolizatları ile enzim hidrolizatları karşılaştırıldığında, asit hidrolizi ile orta molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarındaki artışın daha fazla, düşük molekül ağırlıklı fraksiyonların miktarındaki artışın ise daha az olduğu görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.1.).

4.3.2. Asit hidrolizatlarının enzime dirençli nişasta miktarları

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların EDN miktarları Çizelge 4.18' de verilmiştir. Asit hidrolizi düşük sıcaklıkta (40°C) gerçekleştiği için doğal olarak granüler yapıda bulunan EDN' de herhangi bir bozulma olmamaktadır. Bu nedenle asit hidrolizi ile Tip2 EDN yapısı değişmemekte ve EDN miktarında önemli bir azalma ya da artış gözlenmemektedir. Tüm hidroliz seviyelerinde Hylon VII' den üretilen örneklerin EDN miktarları Hylon V' den üretilen örneklerden yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin EDN miktarına etkisi¹

Hidroliz Süresi (saat)	EDN Miktarı ² (%)	
	Hylon V	Hylon VII
0 (doğal)	43.0 a	53.0 a
1	41.4 a	51.6 a
2	42.5 a	53.7 a
3	42.9 a	52.0 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² EDN: Enzime dirençli nişasta

4.3.3. Asit hidrolizatlarının termal özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların DSC değerleri Çizelge 4.19' da verilmiştir. Hylon V ve Hylon VII' den 3 saat asit hidrolizi ile üretilen örneklere ait DSC termogramı Ek 12' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.19. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin DSC değerlerine etkisi^{1, 2}

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)
Hylon V	0 (doğal)	145.5 a	158.0 a	11.4 a
	1	138.2 b	146.1 b	10.4 a
	2	136.1 b	144.2 b	11.4 a
	3	134.6 b	142.1 b	11.0 a
Hylon VII	0 (doğal)	146.8 a	157.7 a	14.8 a
	1	143.4 b	149.7 b	7.8 b
	2	140.8 c	147.0 b	7.8 b
	3	140.4 c	148.2 b	8.5 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

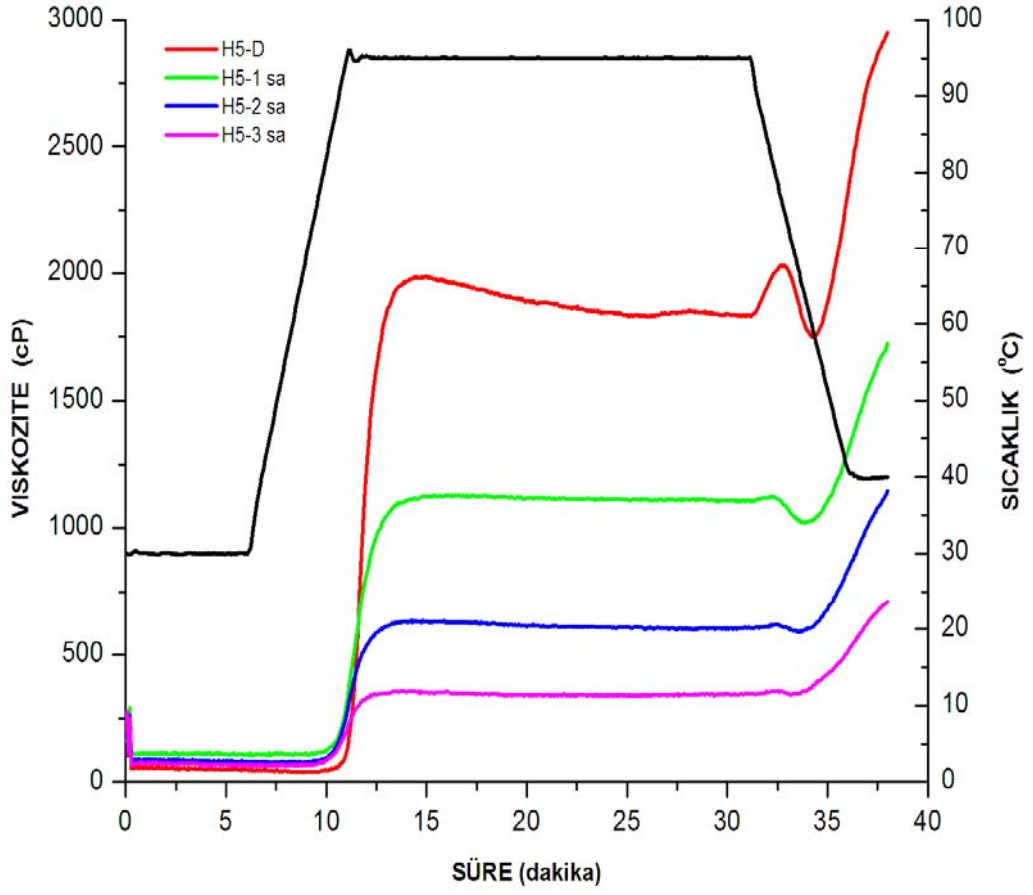
² T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH: Termal geçiş enerjisi

Asit hidrolizi ile örneklerin T_o ve T_p değerleri doğal nişastalara göre azalmıştır. Hylon V' den üretilen hidrolizatlarda hidroliz seviyesinin DSC değerlerine etkisi olmazken, Hylon VII' den üretilen 2 ve 3 saatlik hidrolizatların T_o değerlerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Doğal haldeki Hylon V ile asit hidrolizatları arasında ΔH değerleri bakımından fark görülmezken Hylon VII' den üretilenlerin ΔH değerlerinde doğal nişastaya göre azalma olmuştur. Bu durum, muhtemelen Hylon V ve Hylon VII arasındaki yapısal farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Granüler Hylon VII' nin doğal halde yapısında bulunan EDN bölgeleri Hylon V' e göre daha fazla olduğu için bu bölgeler birbirleri ile daha fazla interaksiyona girme olanağı bulmaktadır. Bu interaksiyon sonucu oluşan iki kademeli yapının sıcaklık etkisi ile bozulması için farklı düzeylerde enerji gerekmektedir. Birincisi doğal halde granüler yapıda bulunan EDN bölgeleri arasındaki interaksiyonun bozulması için gerekli enerji ikincisi ise EDN bölgelerini oluşturan H-bağlarının açılması için gerekli enerjidir. Asit hidrolizi öncelikli olarak farklı EDN bölgeleri arasındaki interaksiyonu sağlayan kısımları hidrolize ettiği için asit hidrolizatları jelatinize olurken daha düşük seviyede enerjiye ihtiyaç duymakta ve bu nedenle ΔH değerleri daha düşük olmaktadır. Hylon V' in doğal halde yapısında bulunan EDN bölgeleri daha az olduğu için bunlar arasındaki interaksiyon Hylon VII' de olduğu kadar fazla olmamaktadır. Bu nedenle doğal haldeki Hylon V ile asit hidrolizatları için gerekli olan enerji miktarı da değişmemektedir. Ayrıca bu örneklerin içerdikleri farklı hızlarda sindirilebilir nişasta miktarları arasında da farklılıklar bulunabilir ve bunlar DSC sonuçlarını farklı şekilde etkileyebilir. Bu konunun ileride farklı hızlarda sindirilebilir nişasta miktarları bakımından da incelenmesi yararlı olacaktır.

Örnek sayısı korelatif bir ilişkinin belirlenmesi için az olmasına rağmen aralarındaki muhtemel ilişkiyi görmek amacıyla termal özellikler ile EDN miktarı arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmış ve EDN miktarı ile T_p ($p < 0.001$) ve T_o ($p < 0.05$) değerleri arasında önemli korelasyon bulunmuştur (Ek 13).

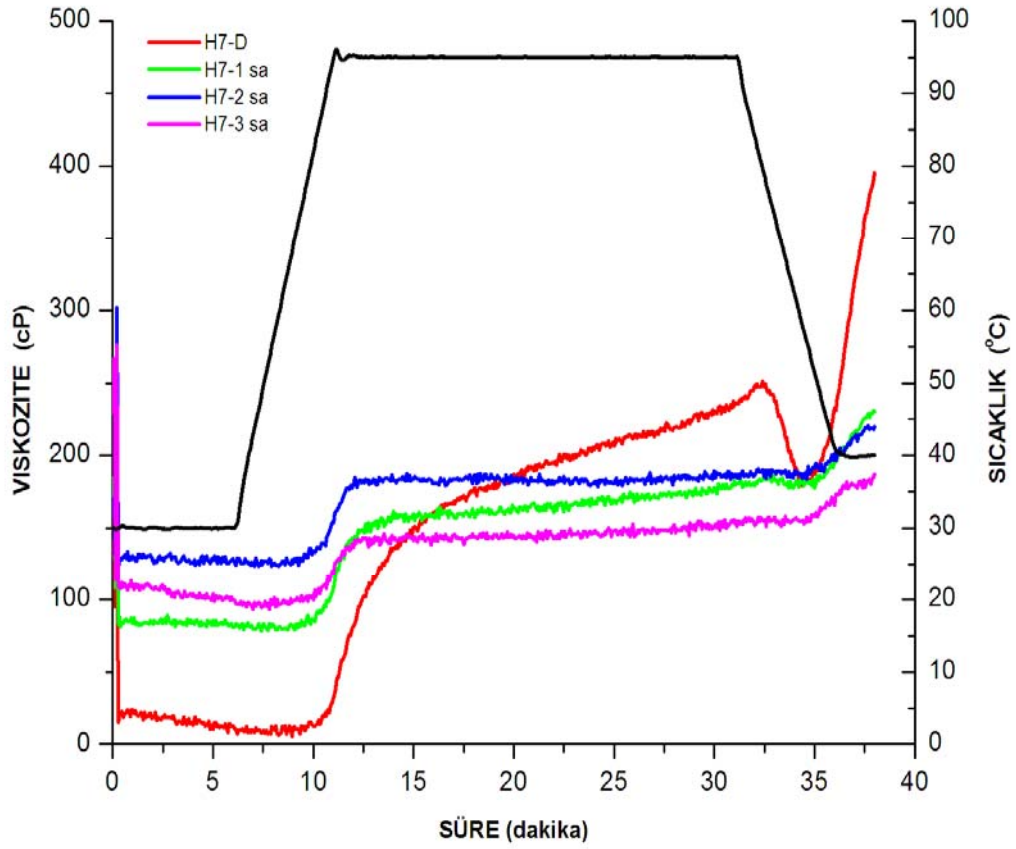
4.3.4. Asit hidrolizatlarının viskozite özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların RVA grafikleri sırasıyla Şekil 4.15 ve 4.16' da, analiz sonuçları ise Çizelge 4.20' de verilmiştir.



Şekil 4.15. Hylon V ve asit hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; 1, 2, 3 sa: Asit ile inkübasyon süresi (saat)



Şekil 4.16. Hylon VII ve asit hidrolizatlarına ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; 1, 2, 3 sa: Asit ile inkübasyon süresi (saat)

Asit hidrolizinin sonucu olan molekül büyüklüğündeki azalma RVA viskozite değerlerinin düşmesine neden olmaktadır. Hylon V nişasta örneklerinde asit ile hidroliz süresinin artmasıyla maksimum viskozite ve son viskozite değerlerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Buna göre nişasta örneklerinin asit etkisi ile hidrolizinin gerçekleştiği ve inkübasyon süresi ilerledikçe hidroliz derecesinin arttığı gözlenmektedir. Hidrolizatların ısıtma öncesi viskozite değerleri doğal haldeki örneklerinkinden yüksektir. Bu durumun, örneklerin çözünürlüğünün hidroliz ile artması sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.20. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
Hylon V	0 (doğal)	38 c	1988 a	214 a	2952 a	88.0 a
	1	117 a	1134 b	115 b	1721 b	87.0 a
	2	91 ab	635 c	47 c	1144 c	89.3 a
	3	78 b	359 d	19 c	708 d	91.5 a
Hylon VII	0 (doğal)	8 c	248 a	56 a	395 a	87.5 b
	1	90 b	184 b	10 b	230 b	95.0 a
	2	135 a	193 b	11 b	220 b	92.0 a
	3	113 ab	161 b	13 b	187 b	94.0 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

Hylon VII nişasta örneğinde asit hidrolizi ile RVA değerlerinde farklı davranış gözlenmektedir. Asit hidrolizi ile birlikte nişastanın yapısı bozulmakta, bu da suda çözünmesini kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle RVA testinin ilk aşamasında su alma hızı Hylon V' e göre daha düşük olan Hylon VII örneğinin belli bir dereceye kadar asit modifikasyonu ile su alması kolaylaşmış, özellikle ısıtma öncesi viskozite değerlerinde başlangıç değerine göre daha fazla artış görülmüştür. Bu durumun da yine hidroliz ile birlikte örneklerin çözünürlüğündeki artıştan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Genel olarak Hylon V ve Hylon VII örnekleri karşılaştırıldığında, ısıtma öncesi viskozite değerleri dışında Hylon VII' e ait tüm viskozite değerlerinin Hylon V' ten düşük olduğu görülmektedir. Hylon V nişasta örneğinde asit ile hidrolizin çirişlenme başlangıç sıcaklığı üzerine etkisi olmazken, Hylon VII örneklerinde asit hidrolizatlarının çirişlenme başlangıç sıcaklıklarının arttığı görülmektedir. Hidroliz seviyeleri arasında çirişlenme başlangıç sıcaklıkları bakımından istatistiksel olarak önemli fark yoktur.

Örnek sayısı korelatif bir ilişkinin belirlenmesi için az olmasına rağmen aralarındaki muhtemel ilişkiyi görmek amacıyla RVA viskozite değerleri ile EDN miktarı ve termal özellikler arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmıştır. Isıtma öncesi

viskozite ile EDN miktarı ($p<0.01$), T_p ve ΔH ($p<0.05$) değerleri arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur (Ek 13).

4.3.5. Asit hidrolizatlarının fonksiyonel özellikleri

4.3.5.1. Asit hidrolizatlarının çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların çözünürlük ve su bağlama değerleri Çizelge 4.21' de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)
Hylon V	0 (doğal)	0.13 b	132 b
	1	0.87 a	158 a
	2	0.93 a	162 a
	3	0.86 a	162 a
Hylon VII	0 (doğal)	0.09 b	133 b
	1	1.18 a	174 a
	2	1.29 a	178 a
	3	1.09 a	176 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama değerleri oldukça yakındır. Asit hidrolizi ile çözünürlük ve su bağlama değerlerinde istatistiksel olarak önemli artış olmuştur. Ancak enzim hidrolizi ile elde edilen değerlere ulaşamamıştır (Bkz. Çizelge 4.5.). Tüm örnekler yaklaşık %1 seviyesinde çözünürlüğe sahiptir. Bunun nedeni asit hidrolizatlarının üretimi sırasında oluşan çok küçük molekül ağırlıklı parçalanma ürünlerinin santrifügasyon sırasında çökelmeyip örnekten uzaklaştırılmasıdır. Pullulanaz enzimi ile hidrolizde ise oluşan parçalanma ürünleri hem daha büyük molekül ağırlıklıdır hem de üretim sırasında santrifüj uygulaması yapılmamaktadır. Böylelikle çözünen nişasta bu örneklerden uzaklaşmamaktadır. Hylon VII' deki artışlar Hylon V' dekine göre daha

fazladır. Asit hidroliz seviyeleri arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir.

Örnek sayısı korelatif bir ilişkinin belirlenmesi için az olmasına rağmen aralarındaki muhtemel ilişkiyi görmek amacıyla çözünürlük ve su bağlama değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler ve RVA viskozite özellikleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Çözünürlük ile EDN miktarı arasında $p<0.001$; çözünürlük ile ısıtma öncesi viskozite ve ΔH değerleri arasında $p<0.01$ ve çözünürlük ile çirilenme başlangıç sıcaklığı ve T_p değerleri arasında $p<0.05$ seviyelerinde önemli korelasyonlar belirlenmiştir. Su bağlama değeri ile EDN miktarı, ısıtma öncesi viskozite ve ΔH değerleri arasında $p<0.01$; su bağlama değeri ile karıştırma ile viskozite azalması, çirilenme başlangıç sıcaklığı ve T_p değerleri arasında $p<0.05$ seviyelerinde önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 13).

4.3.5.2. Asit hidrolizatlarının emülsiyon oluşturma özellikleri

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların emülsiyon kapasite ve stabilite değerleri Çizelge 4.22' de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi ¹

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	Emülsiyon Kapasitesi (%)	Emülsiyon Stabilitesi (%)
Albümin	-	21.3 b	18.3 c
Hylon V	0 (doğal)	21.2 b	47.0 b
	1	55.7 a	50.9 a
	2	53.4 a	56.9 a
	3	54.8 a	56.4 a
Albümin	-	21.3 b	18.3 c
Hylon VII	0 (doğal)	21.0 b	47.1 b
	1	51.3 a	51.7 a
	2	54.4 a	53.6 a
	3	56.3 a	52.2 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0.05$)

Doğal haldeki nişastalar albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesi değerini etkilemezken emülsiyon stabilitesi değerini arttırmıştır. Asit hidrolizatlarının albümin çözeltisine ilavesi ile emülsiyon kapasite ve stabilitesi değerleri istatistiksel olarak önemli miktarda artmaktadır ($p<0.05$). Hidroliz seviyeleri arasında emülsiyon özellikleri bakımından fark gözlenmemektedir. Asit hidrolizatlarının enzim hidrolizatlarına göre albüminin emülsiyon özelliklerine önemli miktarda olumlu etkisi olmuştur.

Örnek sayısı korelatif bir ilişkinin belirlenmesi için az olmasına rağmen aralarındaki muhtemel ilişkiyi görmek amacıyla emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler, RVA viskozite özellikleri, çözünürlük ve su bağlama değerleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Emülsiyon kapasitesi ile T_p değeri ($p<0.001$), T_o değeri ($p<0.01$), EDN miktarı ve çözünürlük değeri ($p<0.05$) arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ile RVA son viskozite değeri arasında $p<0.05$ seviyesinde korelasyon tespit edilmiştir (Ek 13).

Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan asit modifikasyonu ile üretilen hidrolizatların CIE renk değerleri Ek 14' te verilmiştir. Asit hidrolizi ile L^* değerlerinde değişim olmazken, b^* değerlerinde azalma olmuştur. Asit hidrolizi düşük sıcaklıkta gerçekleştirildiği için örneklerin renklerinde önemli bir değişim gözlenmemektedir.

4.4. Asit Hidrolizi ve Otoklavlama-Bekletme Döngüleri Uygulanmış Nişasta Örneklerinin Özellikleri

4.4.1. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklerin EDN miktarları Çizelge 4.23' de verilmiştir.

Otoklav uygulaması ile örneklerde Tip 2 EDN yapısı bozulduğundan EDN miktarı azalmakta, Tip 3 EDN oluşmaktadır. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinin her ikisinde de 50°C ' de kurutulan örneklerde asit ile hidrolizin EDN miktarı üzerine bazı etkileri görülse de bu örneklerin EDN miktarlarındaki farklılıklar istatistiksel

olarak önemli bulunmamıştır. Hylon VII için 50°C' de kurutulan örneklerde 4°C' de bekletme 95°C' de bekletmeye göre EDN miktarı bakımından daha iyi sonuç vermiştir. Hylon V' den liyofilize edilerek üretilen örneklerde asit ile hidroliz doğal nişastaya göre EDN miktarında önemli artışa neden olmuştur. Sonuçlar t-testi ile karşılaştırıldığında liyofilizasyonla kurutulan örneklerdeki EDN miktarı 50°C' de kurutulanlardan daha düşük bulunmuştur (p<0.05).

Çizelge 4.23. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ³	EDN Miktarı ² (%)	
	50°C' de Kurutma	Liyofilizasyon
H5-D(O133 B4)	26.7 a	12.2 c
H5-D(O133 B95)	26.8 a	12.2 c
H5-A1(O133 B4)	26.2 a	21.1 b
H5-A1(O133 B95)	26.0 a	21.0 b
H5-A2(O133 B4)	23.6 b	23.4 a
H5-A2(O133 B95)	23.4 b	22.8 b
H5-A3(O133 B4)	27.4 a	24.5 a
H5-A3(O133 B95)	27.7 a	23.5 a
H7-D(O133 B4)	37.4 a	29.9 ab
H7-D(O133 B95)	37.3 a	26.9 b
H7-A1(O133 B4)	39.5 a	31.8 a
H7-A1(O133 B95)	36.6 b	30.5 a
H7-A2(O133 B4)	38.0 a	32.6 a
H7-A2(O133 B95)	36.4 b	30.3 a
H7-A3(O133 B4)	38.7 a	30.9 a
H7-A3(O133 B95)	36.6 b	28.0 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² EDN: Enzime dirençli nişasta

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

4.4.2. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin termal özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklerin DSC değerleri 4.24' te verilmiştir.

Çizelge 4.24. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin DSC değerlerine etkisi ^{1, 2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)	T _o (°C)	T _p (°C)	ΔH (J/g)
H5-D(O133 B4)	149.6 a	154.3 a	8.3 b	151.8 a	155.0 a	8.7 bc
H5-D(O133 B95)	150.0 a	154.0 a	5.8 c	149.5 ab	153.3 ab	7.9 c
H5-A1(O133 B4)	148.3 a	153.8 a	6.8 c	147.9 bc	152.3 bc	7.9 c
H5-A1(O133 B95)	150.0 a	152.8 a	6.1 c	142.9 d	149.8 d	8.2 c
H5-A2(O133 B4)	140.1 c	151.4 b	8.9 a	146.6 bc	150.3 d	9.3 b
H5-A2(O133 B95)	146.2 ab	151.6 b	8.6 a	145.6 c	151.0 cd	9.7 b
H5-A3(O133 B4)	144.6 b	150.0 c	8.7 a	143.5 d	149.5 d	10.8 a
H5-A3(O133 B95)	145.4 b	150.3 c	8.8 a	145.3 c	149.0 d	10.5 a
H7-D(O133 B4)	147.5 a	152.3 a	6.8 b	147.1 ab	152.7 a	5.7 b
H7-D(O133 B95)	148.9 a	153.8 a	6.4 b	146.7 ab	151.6 a	5.3 b
H7-A1(O133 B4)	147.9 a	152.4 a	5.8 c	149.9 a	152.5 a	6.0 b
H7-A1(O133 B95)	148.3 a	152.6 a	5.6 c	149.4 a	152.5 a	5.6 b
H7-A2(O133 B4)	144.6 a	150.8 bc	5.6 c	147.3 ab	150.7 a	5.9 b
H7-A2(O133 B95)	147.5 a	151.0 b	5.8 c	147.0 ab	150.7 a	5.7 b
H7-A3(O133 B4)	146.2 a	150.0 c	7.5 a	145.3 b	150.5 a	10.3 a
H7-A3(O133 B95)	146.1 a	150.5 c	7.5 a	140.9 c	146.2 b	10.5 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² T_o: Başlangıç sıcaklığı; T_p: Pik sıcaklığı; ΔH: Termal geçiş enerjisi

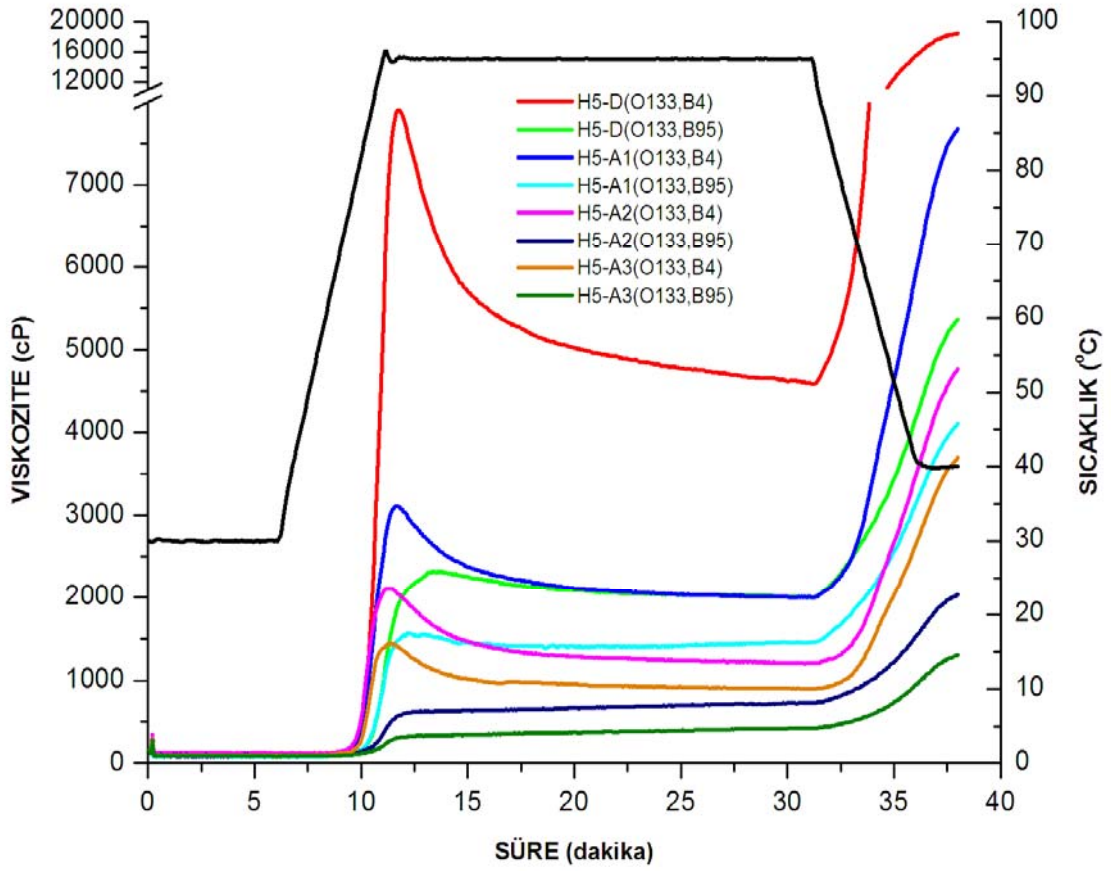
³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

Asit hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile hidrolizatlara göre (Bkz. Çizelge 4.19.) genel olarak T_o ve T_p değerleri artmış, ΔH değerleri azalmıştır. Hylon V ve Hylon VII'den 2 ve 3 saatlik asit hidrolizi ve ardından otoklavlama-bekletme döngüsü ve etüvde 50°C ' de kurutma uygulaması ile üretilen örneklerin T_p değerleri doğal nişasta ve 1 saatlik hidrolizatlardan üretilenlere göre düşüktür ($p<0.05$). Etüvde 50°C ' de kurutulan örneklerde, Hylon V için 2 ve 3 saatlik, Hylon VII için ise sadece 3 saatlik hidrolizatlardan üretilenlerin ΔH değerleri diğerlerinden yüksektir. Liyofilizasyonla kurutulan örneklerde ise 3 saatlik hidrolizatlardan üretilenlerin ΔH değerleri diğerlerinden yüksektir. Hylon V'den üretilen örneklerde, liyofilizasyonla kurutulanların T_p ve ΔH değerleri etüvde 50°C ' de kurutulanlardan yüksektir ($p<0.05$). Hylon VII' den üretilen örneklerde ise kurutma yöntemleri arasında DSC değerleri bakımından fark görülmemiştir. Hylon V' den asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen nişastalara ait örnek DSC termogramı Ek 15' te verilmiştir.

Termal özellikler ile EDN miktarı arasındaki korelasyon değerleri hesaplandığında EDN miktarı ile ΔH değeri arasında önemli ($p<0.05$) korelasyon bulunmuştur (Ek 16).

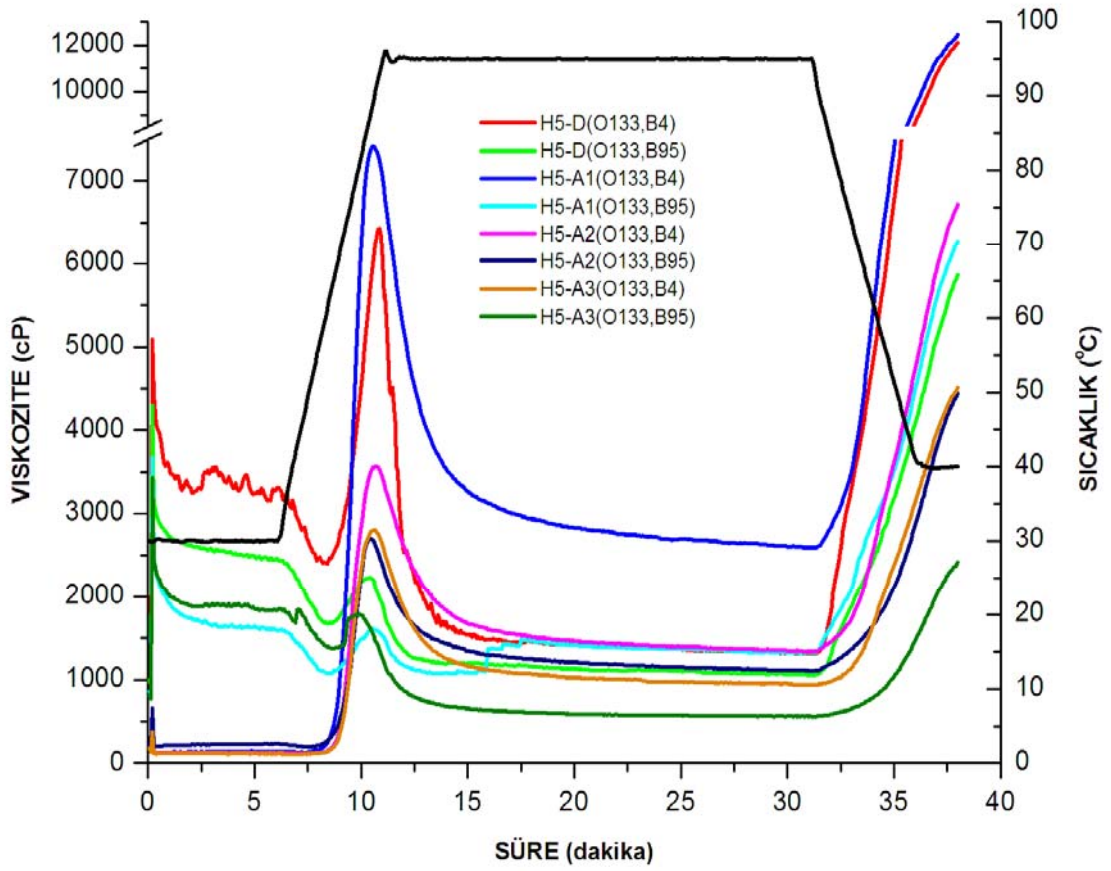
4.4.3. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin viskozite özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri Şekil 4.17, 4.18, 4.19 ve 4.20' de, analiz sonuçları ise Çizelge 4.25' de verilmiştir.



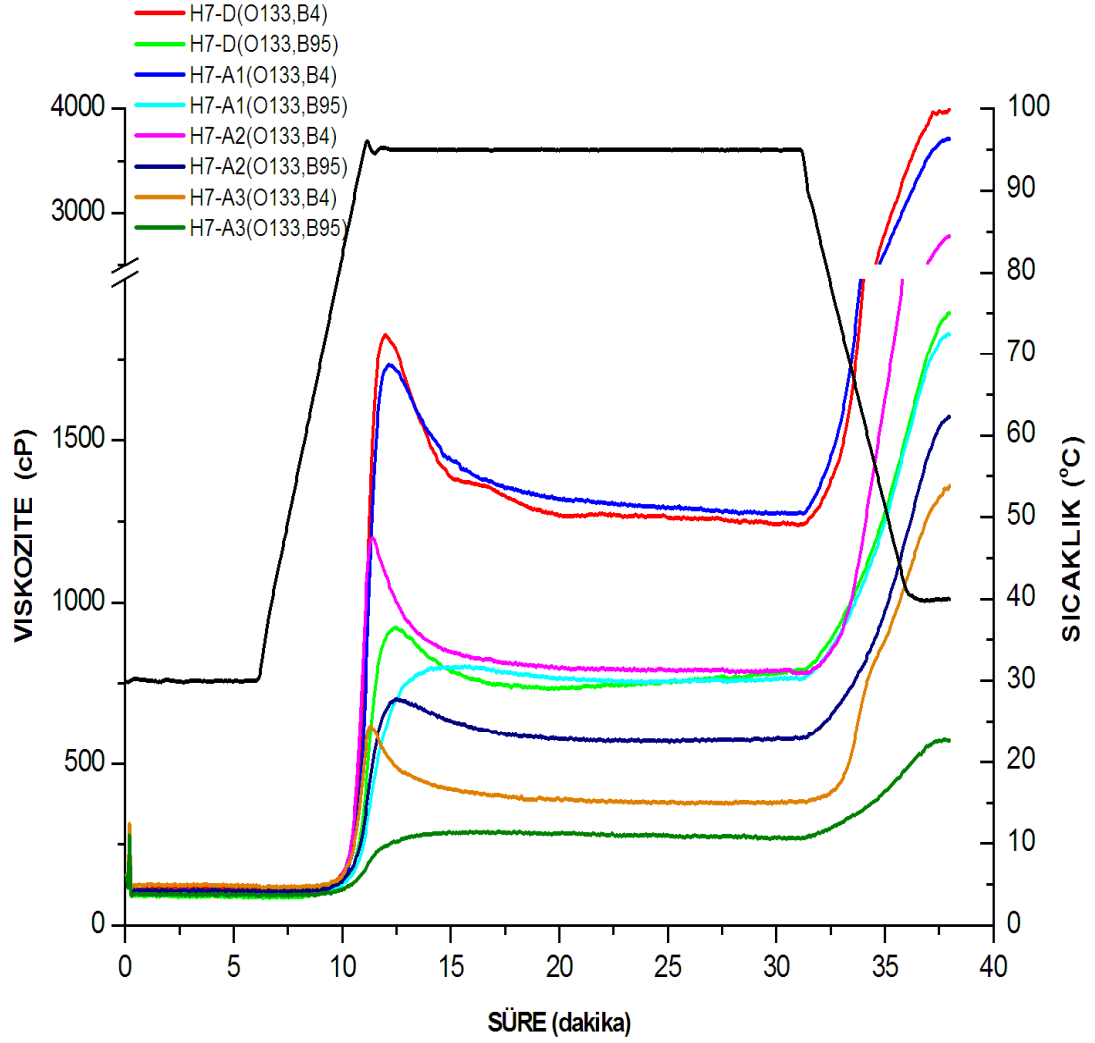
Şekil 4.17. Hylon V nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 24 saat bekletme



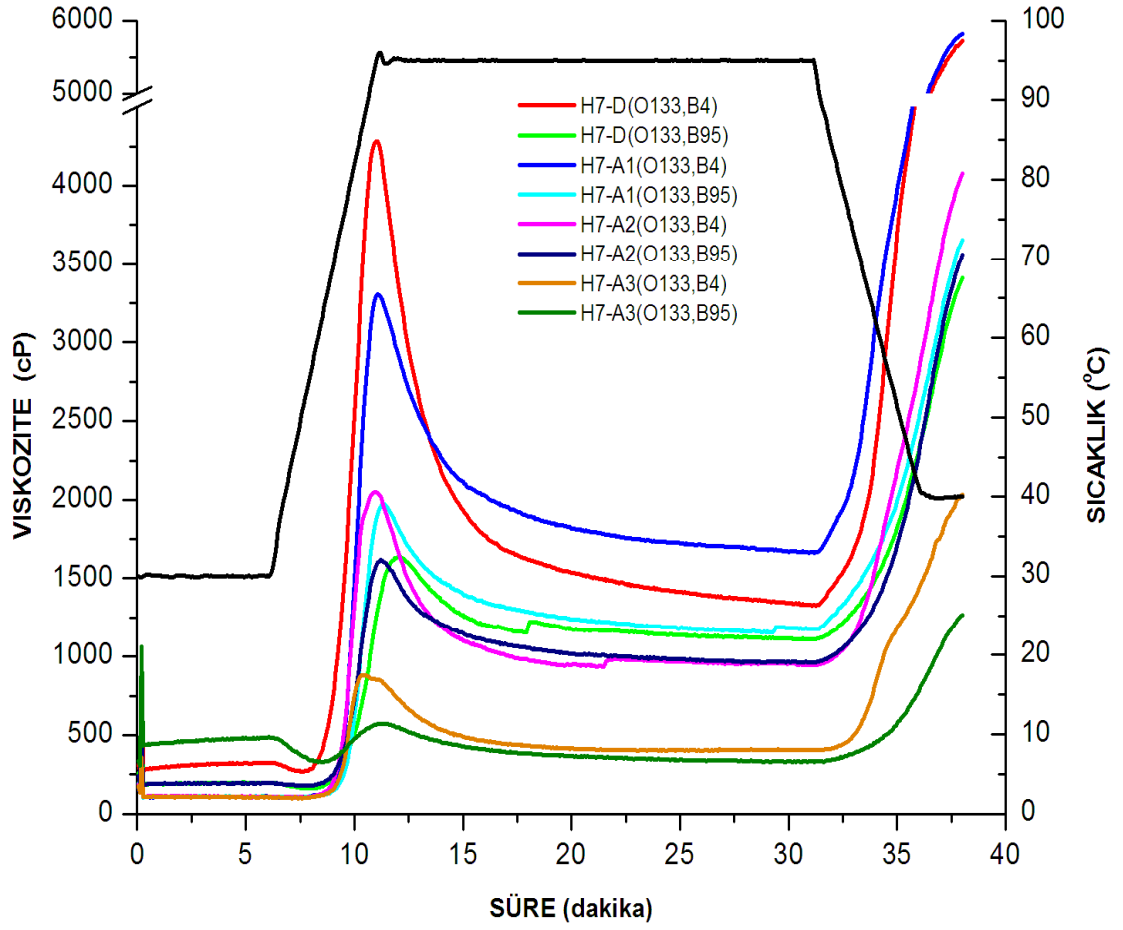
Şekil 4.18. Hylon V nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 24 saat 95°C' de bekletme



Şekil 4.19. Hylon VII nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve 50°C' de kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme



Şekil 4.20. Hylon VII nişasta örneğinden asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve liyofilizasyonla kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

Çizelge 4.25. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin RVA ile elde edilen viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma					Liyofilizasyon				
	Karıştırma					Karıştırma				
	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
H5-D(O133 B4)	106 b	7905 a	3319 a	18468 a	73.8 d	3439 a	5551 b	3915 a	12111 a	68.9 b
H5-D(O133 B95)	110 b	2319 c	316 e	5370 c	75.9 c	2721 b	2232 d	1176 b	5861 c	69.4 b
H5-A1(O133 B4)	94 c	3114 b	1111 b	7682 b	73.8 d	147 d	7419 a	4831 a	12431 a	65.8 c
H5-A1(O133 B95)	95 c	1585 e	134 f	4113 e	77.6 c	1899 c	1720 d	399 c	6273 b	71.6 a
H5-A2(O133 B4)	136 a	2116 d	915 c	4765 d	72.9 e	134 d	3566 c	2226 b	6720 b	68.5 b
H5-A2(O133 B95)	109 b	772 g	51 g	2037 g	80.3 b	236 d	2699 cd	1596 b	4447 d	70.2 a
H5-A3(O133 B4)	107 b	1443 f	548 d	3698 f	75.4 cd	124 d	2806 c	1872 b	4512 d	68.6 b
H5-A3(O133 B95)	98 c	448 h	27 g	1308 h	84.8 a	2005 c	1792 d	1233 b	2413 e	70.3 a
H7-D(O133 B4)	118 b	1829 a	591 a	3992 a	77.6 c	328 b	4287 a	2959 a	5725 a	59.8 d
H7-D(O133 B95)	97 c	924 d	143 e	1897 d	77.2 c	114 d	3303 b	1641 b	5823 a	64.2 bc
H7-A1(O133 B4)	108 b	1735 b	463 b	3714 b	78.0 c	114 d	1977 c	803 d	3654 c	63.3 c
H7-A1(O133 B95)	108 b	808 e	47 f	1830 d	79.3 c	118 d	2049 c	1107 c	4079 b	65.8 b
H7-A2(O133 B4)	111 b	1200 c	420 c	2783 c	79.3 c	200 c	1620 d	660 e	3559 c	65.0 bc
H7-A2(O133 B95)	113 b	700 f	126 e	1574 e	82.4 b	112 d	882 e	481 f	2031 d	65.8 b
H7-A3(O133 B4)	132 a	616 g	239 d	1359 f	83.2 b	486 a	575 f	247 g	1268 e	67.2 b
H7-A3(O133 B95)	100 bc	294 h	28 g	570 g	87.1 a	201 c	1636 d	527 f	3411 c	70.2 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

Hylon V için, liyofilizasyonla kurutulan örneklerin ısıtma öncesi viskozite değerleri 50°C' de kurutulan örneklerden yüksektir. Hidroliz derecesinin artmasıyla viskozite değerleri azalmıştır. Doğal haldeki Hylon V nişasta örneğinden 133/4°C' de otoklavlama-bekleme döngüsü ve 50°C' de kurutma ile üretilen örneğin viskozite değerleri (ısıtma öncesi viskozite hariç) diğer tüm örneklerden daha yüksektir. En yüksek ısıtma öncesi viskozite değeri ise (3439 cP), yine doğal haldeki Hylon V' den 133/4°C' de otoklavlama-bekletme döngüsünden sonra liyofilizasyonla kurutularak üretilen örnekte elde edilmiştir. Hylon VII nişasta örneğinde de Hylon V' dekine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Liyofilizasyonla kurutulan örneklerin viskozite değerleri 50°C de kurutulanlardan yüksektir. Isıtma öncesi viskozite değerleri incelendiğinde özellikle 3 saatlik hidrolizattan üretilen örneklerde liyofilizasyonla kurutma ile ısıtma öncesi viskozite değerlerinde artış olduğu görülmektedir. Genel olarak, Hylon V ile elde edilen viskozite değerleri Hylon VII' den yüksek bulunmuştur.

RVA viskozite değerleri ile EDN miktarı ve termal özellikler arasındaki korelasyon değerleri hesaplanmıştır. EDN miktarı ile karıştırma ile viskozite azalması ($p<0.05$) ve çirilenme başlangıç sıcaklığı ($p<0.001$) değerleri arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur. Ayrıca, ısıtma öncesi viskozite değeri ile ΔH değeri ($p<0.001$) ve son viskozite ile T_p değeri ($p<0.05$) arasında da önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 16).

4.4.4. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri

4.4.4.1. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri Çizelge 4.26' da verilmiştir.

Çizelge 4.26. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)	Çözünürlük (%)	Su Bağlama (%)
H5-D(O133 B4)	1.00 g	254 a	1.46 g	511 a
H5-D(O133 B95)	1.35 f	244 b	2.51 cd	472 c
H5-A1(O133 B4)	1.65 e	254 a	1.80 f	383 d
H5-A1(O133 B95)	1.94 d	250 ab	2.66 b	481 b
H5-A2(O133 B4)	2.30 c	259 a	2.04 e	352 e
H5-A2(O133 B95)	2.49 b	236 c	2.93 b	393 d
H5-A3(O133 B4)	2.68 a	247 b	2.42 d	356 e
H5-A3(O133 B95)	2.73 a	231 c	3.65 a	492 b
H7-D(O133 B4)	1.51 d	259 a	1.04 f	453 a
H7-D(O133 B95)	1.93 bc	255 a	2.06 e	391 d
H7-A1(O133 B4)	1.81 c	259 a	1.67 d	377 e
H7-A1(O133 B95)	1.87 c	250 b	2.03 d	375 e
H7-A2(O133 B4)	1.86 c	258 a	2.43 c	371 e
H7-A2(O133 B95)	2.08 a	248 b	2.79 b	404 c
H7-A3(O133 B4)	2.10 a	246 b	2.34 c	355 f
H7-A3(O133 B95)	2.25 a	249 b	3.21 a	418 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

Isıl işlem uygulanan hidrolizatların su bağlama ve çözünürlük değerleri aynı süreyle sadece hidroliz uygulanmış örneklerinkinden (Bkz. Çizelge 4.21.) fazladır. Çözünürlük değerlerinin artan hidroliz seviyesiyle birlikte arttığı görülmektedir. t-testi ile karşılaştırıldığında liyofilize edilerek kurutulan örneklerin su bağlama değerleri 50°C' de kurutulanlardan yüksektir. Genel olarak bakıldığında Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri arasında önemli fark görülmemektedir.

Çözünürlük ve su bağlama değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler ve RVA viskozite özellikleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Çözünürlük ile T_p değeri arasında $p<0.001$; çözünürlük ile T_o ve ΔH değerleri arasında $p<0.01$ ve çözünürlük ile RVA maksimum viskozite ve son viskozite değerleri arasında $p<0.05$ seviyelerinde önemli korelasyonlar bulunmuştur. Su bağlama değeri ile EDN miktarı, ısıtma öncesi viskozite ve çirışlenme başlangıç sıcaklığı değerleri arasında $p<0.001$; su bağlama değeri ile karıştırma ile viskozite azalması değeri arasında $p<0.01$ seviyelerinde önemli korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 16).

4.4.4.2. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüleri uygulanmış nişasta örneklerinin emülsiyon oluşturma özellikleri

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklerin emülsiyon kapasite ve stabilitesi değerleri Çizelge 4.27' de verilmiştir.

Asit hidrolizatlarına otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen örnekler protein çözültisinin emülsiyon kapasite ve stabilite değerlerini arttırmaktadır. Hylon V' den asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen ve 50°C ' de kurutulan örneklerde hidroliz seviyesinin emülsiyon özelliklerine etkisi olmamıştır. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerde ise emülsiyon stabilite değerleri ısıtma işlemi uygulanmış 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatlarda daha yüksek bulunmuştur. Hylon VII' den üretilen örneklerde 50°C ' de kurutulanlar arasında ısıtma işlemi uygulanmış 2 ve 3 saatlik hidrolizatların emülsiyon kapasite değerlerinde artış olduğu gözlenmektedir. t-testi sonucuna göre liyofilize edilerek kurutulan örneklerin emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerlerinin 50°C ' de kurutulanlardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.27. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin emülsiyon oluşturma özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma		Liyofilizasyon	
	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi	Emülsiyon Kapasitesi	Emülsiyon Stabilitesi
	(%)	(%)	(%)	(%)
Albümin	21.3 b	18.3 b	21.3 b	18.3 d
H5-D	21.2 b	47.0 a	21.2 b	47.0 c
H5-D(O133 B4)	53.7 a	51.8 a	54.0 a	57.1 b
H5-D(O133 B95)	53.2 a	50.0 a	55.4 a	57.1 b
H5-A1(O133 B4)	50.9 a	50.8 a	54.8 a	57.4 b
H5-A1(O133 B95)	50.9 a	50.9 a	56.2 a	57.4 b
H5-A2(O133 B4)	50.0 a	51.9 a	53.8 a	61.3 ab
H5-A2(O133 B95)	50.9 a	51.8 a	54.6 a	63.1 a
H5-A3(O133 B4)	51.4 a	51.8 a	56.6 a	63.5 a
H5-A3(O133 B95)	50.0 a	50.0 a	57.8 a	67.0 a
Albümin	21.3 c	18.3 c	21.3 b	18.3 c
H7-D	21.0 c	47.1 b	21.0 b	47.1 b
H7-D(O133 B4)	50.0 b	53.6 a	58.2 a	61.3 a
H7-D(O133 B95)	48.7 b	52.8 a	58.1 a	60.2 a
H7-A1(O133 B4)	49.6 b	53.2 a	56.8 a	58.8 a
H7-A1(O133 B95)	49.1 b	53.2 a	56.6 a	57.7 a
H7-A2(O133 B4)	52.7 a	53.3 a	56.2 a	59.8 a
H7-A2(O133 B95)	51.4 a	53.2 a	56.8 a	59.8 a
H7-A3(O133 B4)	52.3 a	53.3 a	56.0 a	57.9 a
H7-A3(O133 B95)	52.7 a	53.3 a	56.0 a	58.7 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

Emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerleri ile EDN miktarı, termal özellikler, RVA viskozite özellikleri, çözünürlük ve su bağlama değerleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır. Emülsiyon kapasitesi ile EDN miktarı, ΔH , çirilenme başlangıç sıcaklığı ve su bağlama değerleri arasında p<0.001 ve emülsiyon kapasitesi ile

Çözünürlük değeri arasında $p<0.01$ seviyelerinde korelasyonlar bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ile su bağlama değeri arasında $p<0.001$; emülsiyon stabilitesi ile RVA viskozite değerleri arasında $p<0.01$ ve emülsiyon stabilitesi ile ΔH ve çirilenme başlangıç sıcaklığı değerleri arasında $p<0.05$ seviyelerinde korelasyonlar tespit edilmiştir (Ek 16).

Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinden asit hidrolizi, farklı otoklavlama-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri (Uygulama 3) ile üretilen örneklerin CIE renk değerleri Ek 17' de verilmiştir. Otoklavlama ile L^* değerlerinde azalma, b^* değerlerinde ise artış gözlenmiştir. Asit hidrolizatlarından üretilen örneklerin L^* değerleri doğal nişastadan üretilenlerinkinden düşüktür. 4°C ve 95°C ' de bekletilen örnekler karşılaştırıldığında 95°C ' de bekletilenlerin L^* değerlerinin düşük, b^* değerlerinin ise yüksek olduğu görülmektedir. Sıcaklığın etkisi ile örnekte koyu renk oluşumu gözlenmektedir. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin renk değerleri 50°C ' de kurutulan örneklerden daha açıktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, yüksek amiloz içeren mısır nişastalarından (Hylon V, %55 amiloz ve Hylon VII, %70 amiloz) enzim veya asit hidrolizi ile nişasta hidrolizatları hazırlanmış ve bu hidrolizatlara farklı otoklavlama-bekletme döngüleri ve farklı kurutma yöntemleri (50°C' de etüvde kurutma ya da liyofilizasyon) uygulanarak enzime dirençli nişasta (EDN) içeren nişasta türevlerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Nişasta hidrolizatlarının ve EDN içeren nişasta türevlerinin sulu sistemde ısıtma-soğutma sırasındaki davranışları mikro-viskoanalizör (RapidVisco Analyzer: RVA) ile, nişasta jelatinizasyonu ve retrogradasyonu ise DSC (Differential Scanning Calorimetry: diferansiyel taramalı kalorimetre) ile incelenmiştir. Ayrıca tüm örneklerin EDN miktarları ve fonksiyonel özellikleri (çözünürlük, su bağlama, emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi) de belirlenmiştir.

- Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örnekleri ile bunlardan enzim ve asit hidrolizi ile hazırlanan nişasta hidrolizatlarının moleküler ağırlık dağılımları incelendiğinde hidroliz süresinin artmasıyla çok yüksek (>3200 kDa) ve yüksek (3200-960 kDa) molekül ağırlıklı fraksiyonların azaldığı, orta (960-30 kDa) ve düşük (<30 kDa) molekül ağırlıklı fraksiyonların ise arttığı tespit edilmiştir.
- Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinin yapısında bulunan EDN, Tip2 EDN' dir. Tip2 EDN' nin yapısı yeterli ısı işlem uygulaması ile bozulabilmektedir. Bu nedenle otoklavlanmış örneklerde EDN miktarı azalmaktadır. Otoklavlama sırasında Tip2 EDN' nin yapısı bozulurken jelatinizasyon ve sonrasındaki kurutma sırasındaki retrogradasyonla Tip3 EDN oluşmaktadır. Otoklav uygulamasının ardından enzim ile hidroliz edilen örneklerde EDN miktarında artış olmuştur. Enzim hidrolizinin gerçekleştirildiği koşulların Tip3 EDN' nin oluşumu için uygun olduğu anlaşılmıştır. Hidroliz ile birlikte nişastadaki dallanma noktaları parçalanmakta ve oluşan lineer zincirler enzim ile inkübasyon ve sonrasındaki kurutma sırasında birbirleriyle daha kolay etkileşime girip enzime dirençli yapıların oluşumunu arttırmaktadır. Enzim hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile EDN miktarında daha fazla artış olmuştur.
- Asit hidrolizi düşük sıcaklıkta (40°C) gerçekleştiği için doğal olarak granüler yapıda bulunan EDN' de herhangi bir bozulma olmamaktadır. Bu nedenle asit

hidrolizi ile üretilen örneklerde Tip2 EDN yapısı değişmemiş ve EDN miktarında önemli bir azalma ya da artış gözlenmemiştir. Bu örnekler otoklav uygulaması ile Tip3 EDN oluşmuş ancak asit ile hidroliz seviyesinin EDN miktarına etkisi olmamıştır.

- Otoklavlama-bekletme döngüsünün ardından etüvde 50°C' de kurutulan örneklerin EDN miktarları liyofilize edilerek kurutulan örneklerinkinden yüksek bulunmuştur. 50°C' de uzun süreli kurutma sırasında nişastanın retrogradasyonu için uygun koşullar oluşmakta ve Tip3 EDN oluşumu artmaktadır. Liyofilizasyonla kurutma yönteminde ise donmuş haldeki nişasta zincirlerinin hareketi kısıtlandığından retrogradasyon büyük ölçüde engellenmekte ve bu durum EDN miktarında daha az artışa neden olmaktadır.
- Bu çalışma kapsamında en yüksek miktardaki EDN (%57.8), Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile 48 saat enzim hidrolizinin ardından 9 kez otoklavlama-bekletme (133°C-95°C) döngüsü uygulanan ve 50°C' de kurutulan örnekte oluşturulmuştur. Bu değer benzer uygulamalar için literatürde karşılaşılan en yüksek değerdir.
- Enzim hidrolizi ile üretilen örneklerin DSC pik sıcaklığı (T_p) ve termal geçiş enerjisi (ΔH) değerleri doğal nişastalara göre azalmış, başlangıç sıcaklığı (T_o) değerlerinde değişiklik olmamıştır. Enzim hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü T_p değerlerini önemli ölçüde etkilemezken ΔH değerlerinde farklar gözlenmiştir. Asit hidrolizinin ardından uygulanan otoklavlama-bekletme döngüsü ile hidrolizatlara göre genel olarak T_o ve T_p değerleri artmış, ΔH değerleri azalmıştır.
- Yüksek amiloz içeren nişastaların jelatinizasyon sıcaklığı normal oranda amiloz içeren nişastalara göre daha yüksektir. Bu nedenle bu çalışmada kullanılan nişastaların jelatinizasyonu otoklavda yüksek basınç ve sıcaklığın etkisiyle kısmen gerçekleşmiştir. Otoklavlanan örneklerin viskozite değerleri doğal nişastalara göre artmıştır. Otoklavdaki ısı işlemi ile nişastanın yapısı kısmen bozulduğu ve ortama çözünür nişasta geçtiği için RVA analizinde su yapıya alınarak viskozite artışına neden olmaktadır. Enzim ya da asit hidrolizi ile molekül büyüklüğündeki azalma viskozite değerlerinin (ısıtma öncesi viskozite

hariç) düşmesine neden olmuştur. Hidroliz sonrası otoklavlama-bekletme döngüsü uygulaması viskozite değerlerinde azalmaya neden olmuştur.

- Isıtma öncesi viskozite (cold viskozite) birçok gıda için önemli bir özelliktir. Bu çalışmada, doğal nişastalara enzim ya da asit hidrolizi ve ardından otoklavlama-bekletme döngüsü uygulaması ile ısıtma öncesi viskozitelerinin arttığı görülmüştür. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin ısıtma öncesi viskozite değerleri etüvde kurutulanlardan yüksektir. EDN bölgeleri arasındaki gevşek bağlı yapıların oluşumunu sağlayan H-bağlarının az ya da çok sayıda olmasının ısıtma öncesi viskozitenin oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. 50°C' de kurutma sırasında yüksek miktarda H-bağı olduğu için yapıya suyun girmesi engellenmekte ve bu nedenle ısıtma öncesi viskozite düşük olmaktadır. Liyofilizasyon sırasında, H-bağı az sayıda olduğu için, örneğin su alması kolaylaşmaktadır. Bu nedenle liyofilize örnekler düşük sıcaklıkta yüksek viskozite göstermektedir.
- Enzim ve asit hidrolizatlarının ve bunlardan otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen tüm örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri doğal nişastalara göre fazladır. Enzim hidrolizi ile üretilen örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri asit hidrolizi ile üretilenlerinkinden yüksek bulunmuştur. Kurutma yönteminin çözünürlük değerleri üzerine etkisi olmazken liyofilizasyonla kurutulan örneklerin su bağlama değerlerinin 50°C' de kurutulanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
- Doğal nişastalar ile otoklavlanmış nişasta örnekleri albümin çözeltisinin emülsiyon özelliklerini iyileştirmiştir. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme uygulanmış örnekler albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesini olumsuz yönde etkilerken emülsiyon stabilitesini iyileştirmiştir. Asit hidrolizatları ve bunlardan otoklavlama-bekletme uygulanarak üretilen örnekler albümin çözeltisinin emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerlerini önemli ölçüde arttırmıştır. Genel olarak liyofilizasyonla kurutulan örneklerin emülsiyon özellikleri etüvde kurutulanlara göre daha iyi bulunmuştur. Bu örneklerin özellikle emülsiyon oluşumunun önemli olduğu gıdalarda (mayonez vb.) yağ ikame edici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, yüksek amiloz içerikli nişastalardan enzim yada asit modifikasyonu ve çeşitli ısıl işlem uygulamaları ile yüksek miktarda Tip3 EDN üretimi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen örneklerin EDN içerikleri ve diğer özellikleri bakımından uygulanan yöntemler karşılaştırıldığında, teknolojik olarak kullanımına bağlı olmak üzere farklı özellikleri karşıladıkları görülmektedir. Enzim modifikasyonu ile üretilen ve çok yüksek miktarlarda EDN içeren örneklerin fonksiyonel özelliklerinin, özellikle de emülsiyon özelliklerinin çok iyi olmadığı göz önünde bulundurulursa, bu örneklerin çeşitli ürünlerde esas olarak EDN miktarını arttırmaya yönelik kullanılma imkanı olabilir. Emülsiyon özellikleri oldukça iyi olan ancak EDN miktarları çok yüksek olmayan asit modifikasyonu ile üretilen örnekler ise emülsiyon yapısının önemli olduğu gıdalarda daha rahatlıkla kullanılacaktır. Bu bulgular doğrultusunda, bu tür örneklerin çeşitli ürünlerde kullanımına yönelik araştırmaların sürdürülmesi yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- AACCI, 1990, American Association of Cereal Chemist, Approved methods of the AACC, 8th Edition, The Association, St. Paul, MN, USA.
- Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W. and Rao, R.M., 1999, Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 1340-1345.
- Akoh, C.C., 1998, Fat replacers, *Food Technology*, 52, 47-53.
- AOAC, 1998, Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemistst, Association of Official Chemistst, Arlingo, VA.
- Aparicio-Saguilan, A., Sayago-Ayerdi, S.G., Vargas-Torres, A. Tovar, J., Ascencio-Otero, T.E. and Bello-Perez, L.A., 2007, Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 175-181.
- Asp, N.G. and Björck, I., 1992, Resistant starch, *Trends in Food Science and Technology*, 3, 111-114.
- Atichokudomchai, N., Shobsngob, S. and Varavinit, S., 2000, Morphological properties of acid-modified tapioca starch, *Starch/Stärke*, 52, 283-289.
- Atichokudomchai, N., Shobsngob, S., Chinachoti P. and Varavinit, S., 2001, A study of some physicochemical properties of high-crystalline tapioca starch, *Starch/Stärke*, 53, 577-581.
- Baixaulli, R., Sanz, T., Salvador, A. and Fiszman, S.M., 2008, Muffins with resistant starch: Baking performance in relation to the rheological properties of the batter, *Journal of Cereal Science*, 47, 502-509.
- Behall, K.M., Scholfield, D.J., Yuhaniak, I. and Canary, J., 1989, Diets containing high amylose vs amylopectin starch: effects on metabolic variables in human subjects, *American Journal of Clinical Nutrition*, 49, 337-344.
- 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.
- Birkett, A.M., Mathers, J.C., Jones, G.P., Walker, K.Z., Roth, M.J., Muir, J.G., 2000, Changes to the quality and processing of starchy foods in a Western diet can increase polysaccharides escaping digestion and improve *in vitro* fermentation variables, *British Journal of Nutrition*, 84, 63-72.
- Björck, 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.

- Brown, I.L., 1996, Complex carbohydrates and resistant starch, *Nutritional Reviews*, 54, 115-119.
- 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.
- 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.
- Brumovsky, J.O. and Thompson, D.B., 2001, Production of boiling-stable type II resistant starch by partial acid hydrolysis and hydrothermal treatments of high-amylose maize starch, *Cereal Chemistry*, 78, 680-689.
- Chang, Y-H., Lin, J-H. and Lii, C., 2004, Effect of ethanol concentration on the physicochemical properties of waxy corn starch treated by hydrochloric acid, *Carbohydrate Polymers*, 57, 89-96.
- 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.
- 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.
- Czuchajowska, Z., Otto, T., Paszezynska, B. and Byung-Kee, B., 1998, Composition, thermal behaviour and gel texture of prime and tailing starches from garbanzo beans and peas, *Cereal Chemistry*, 75, 466-472.
- Dimantov, A., Greenberg, M., Kesselman, E. and Shimoni, E., 2004, Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 93-100.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Eerlingen, R.C. and Delcour, J.A., 1995, Formation, analysis, structure and preparation of type III enzyme resistant starch, *Journal of Cereal Science*, 22, 129-138.
- Eerlingen, R.C., Jacobs, H. and Delcour, J.A., 1994, Enzyme-resistant starch. V. Effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility, *Cereal Chemistry*, 71, 351-355.
- Englist, H.N., Wiggins, H.S. and Cummings, J.H., 1982, Determination of the non-starch polysaccharides in planty foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates, *Analyst*, 107, 307-318.

- 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, 527-532.
- Farhat, I.A., Protzmann, J., Becker, A., Vallès-Pàmies 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 and Cancer*, 36, 230-237.
- Fredriksson, H., Silverio, J., Andersson, R., Eliasson, A.C. and Aman, P., 1998, The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches, *Carbohydrate Polymers*, 35, 119-134.
- Fredriksson, H., Björck, I., Andersson, R., Liljeberg, H., Silverio, J., Eliasson, A.C. and Aman, P., 2000, Studies on a amylase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato, *Carbohydrate Polymers*, 43, 81-87.
- Garcia-Alonso, A., Jimenez-Escrig, A., Martin-Carron, N., Bravao, 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 cornstarch in rats, *Journal of Nutrition*, 121, 44-49.
- Gonzalez-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernandez-Sanchez, H., 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.
- Guraya, H.S., James, C. and Champagne, E.T., 2001, Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch, *Starch/Stärke*, 53, 131-139.
- Han, J-A. and Lim, S-T., 2004, Structural changes in corn starches during alkaline dissolution by vortexing, *Carbohydrate Polymers*, 55, 193-199.
- Han, J-A. and BeMiller, J.N., 2007, Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches, *Carbohydrate Polymers*, 67, 366-374.
- Haralampu, S.G., 2000, Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RS₃, *Carbohydrate Polymers*, 41, 285-292.

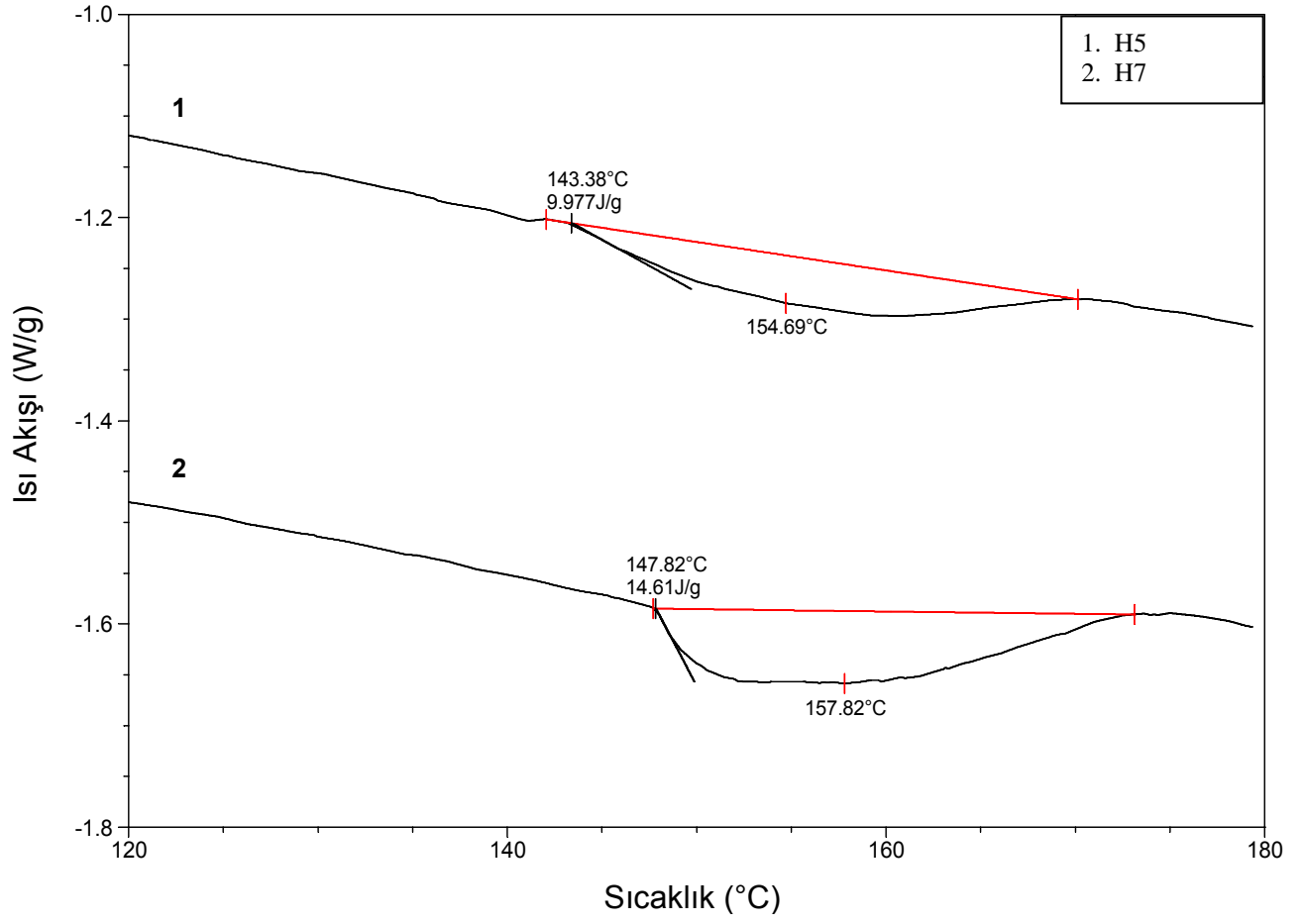
- Henningsson, A.M., Margareta, E., Nyman, G.L. and Björck, I.M.E., 2003, Influences of dietary adaptation and source of resistant starch in the hindgut of rats, *British Journal of Nutrition*, 89, 319-328.
- Hoseney, R.C., 1994, *Principles of cereal science and technology*, AACC Inc., ISBN 0-913250-79-1, St. Paul, Minnesota, USA.
- Hung, P.V. and Morita, N., 2004, Dough properties and bread quality of flours supplemented with cross-linked corn starches, *Food Research International*, 37, 461-467.
- Jeong, H-Y. and Lim, S-T., 2003, Crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose maize starch, *Starch/Stärke*, 55, 511-517.
- 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.
- Kim, W.K., Chung, M.K., Kang, N.E., Kim, M.H. and Park, O.J., 2003, Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 166-172.
- Köksel, H., 2005, *Karbonhidratlar. Gıda Kimyası. Saldamlı, İ. (Ed.)*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Köksel, H., Basman, A., Kahraman, K., Ozturk, 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., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S. and Basman, A., 2008, Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment, *Journal of Cereal Science*, 47, 275-282.
- Leeman, A.M, Karlsson, M.E., Eliasson, A-C. and Björck, I.M.E., 2006, Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio, *Carbohydrate Polymers*, 65, 306-313.
- Lehmann, U., Rössler, C., Schmiedl, D. and Jacobasch, G., 2003, Production and physicochemical characterization of resistant starch type III derived from pea starch, *Nahrung/Food*, 47, 60-63.
- Leong, Y.H., Karim, A.A. and Norziah, M.H., 2007, Effect of pullulanase debranching of sago (Metroxylon sago) starch at subgelatinization temperature on the yield of resistant starch, *Starch/Stärke*, 59, 21-32.
- Leu, R.K., 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, 713-719.

- Lopez, H.W., Levrat-Verny, M.A., Coudray, C., Besson, C., Krespine, V., Messenger, A., Demigné, C. and Rémésy, C., 2001, Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats, *Journal of Nutrition*, 131, 1283-1289.
- Morais, M.B., Feste, A., Miller, R.G. and Lifichitz, C.H., 1996, Effect of resistant starch and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron and zinc in infant pigs, *Pediatric Research*, 39, 872-876.
- Murphy, M.M., Douglass, J.S. and Birkett, A., 2008, Resistant starch intakes in the United States, *Journal of American Diet Association*, 108, 67-78.
- Noakes, M., Clifton, P.M., Nestel, P.J.R., Leu, L. and McIntosh, G., 1996, Effect of high-amylose starch and oat bran on metabolic variables and bowel function in subjects with hypertriglyceridemia, *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, 944-951.
- Nugent, A.P., 2005, Health properties of resistant starch, *Nutrition Bulletin*, 30, 27-54.
- Ozturk, S., Koksel, H. and Ng, P.K.W., 2008, Farinograph properties and bread quality of flours supplemented with resistant starch, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, (basımda).
- Parker, R. and Ring, S.G., 2001, Aspects of the physical chemistry of starch, *Journal of Cereal Science*, 34, 1-17.
- Puchongkavarin, H., Bergthaller, W., Shobsngob, S. and Varavinit, S., 2003, Characterization and utilization of acid-modified rice starches for use in pharmaceutical tablet compression, *Starch/Stärke*, 55, 464-475.
- 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, 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, 254A.
- Reiser, S., Powell, A.S., Scholfield, D.J., Panda, P., Fields, M. and Canary, J.J., 1989, Day-long glucose, insulin, and fructose responses of hyperinsulinemic and nonhyperinsulinemic men adapted to diets containing either fructose or highamylose cornstarch, *American Journal of Clinical Nutrition*, 50, 1008-1014.
- 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., Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R., 2006, Resistant starch — a review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 1-17.
- Sakharam, K.P., 2004, Resistant starches as low-carb ingredients — Current applications and issues, *Cereal Foods World*, 49, 292-294.
- 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.
- Shamai, K., Bianco-Peled, H. and Shimoni, E., 2003, Polymorphism of resistant starch type III, *Carbohydrate Polymers*, 54, 363-369.
- Shi, Y.-C., Capitani, T., Trzasko, P. and Jeffcoat, R., 1998, Molecular structure of a low-amylopectin starch and other high-amylose maize starches, *Journal of Cereal Science*, 27, 289-299.
- 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, V. and Ali, S.Z., 2000, Acid degradation of starch: The effect of acid and starch type, *Carbohydrate Polymers*, 41, 191-195.
- Singh, J. and Singh, N., 2003, Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches, *Food Hydrocolloids*, 17, 63-72.
- Song, Y. and Jane, J., 2000, Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties, *Carbohydrate Polymers*, 41, 365-377.
- Sozer, 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.
- Tester, R.F. and Morrison, W.R., 1990, Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effect of amylopectin, amylose and lipids, *Cereal Chemistry*, 67, 551-557.
- Tharanathan, M. and Tharanathan, R.N., 2001, Resistant starch in wheat-based products: isolation and characterisation, *Journal of Cereal Science*, 34, 73-84.
- Thompson, D.B., 2000, Strategies for the manufacture of resistant starch, *Trends in Food Science and Technology*, 11, 245-253.
- 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.

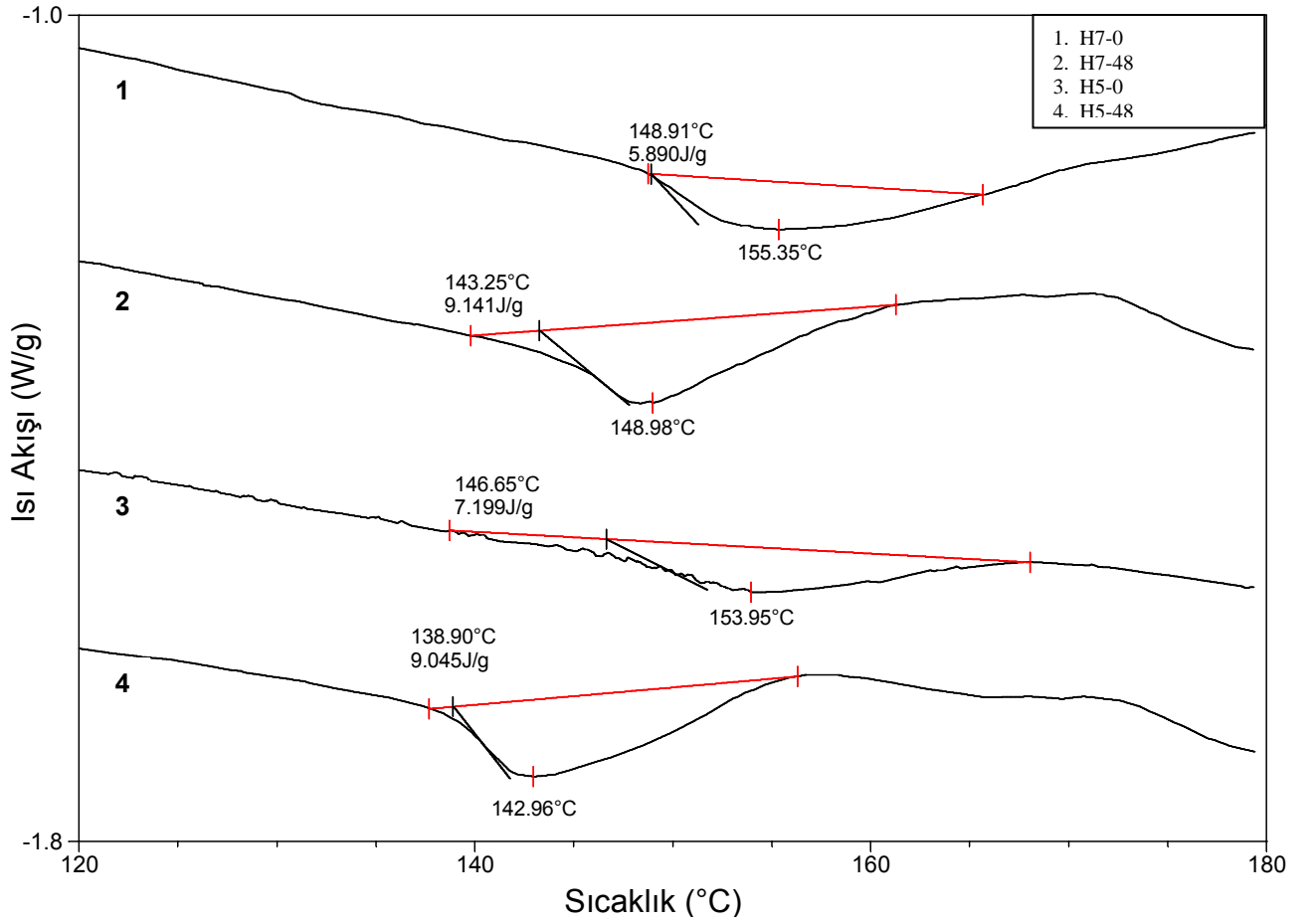
- Varavinit, S., Shobsngob, S., Varayanond, W., Chinachoti, P. and Naivikui, O., 2003, Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of flours from different cultivars of Thai rice, *Starch/Stärke*, 55, 410-415.
- Vasanthan, T. and Bhatta, R.S., 1998, Enhancement of resistant starch (RS₃) in amylo maize, 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 (Amylo maize) starch granules by human colonic bacteria, *Journal of Applied Microbiology*, 87, 631-639.
- Wang, Y-J. and Wang, L., 2001, Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches, *Starch/Stärke*, 53, 570-576.
- Wepner, B., Berghofer, E., Miesenberger, E., Tiefenbacher, K. and Ng, P.K.W., 1999, Citrate Starch – Application as resistant starch in different food systems, *Starch/Stärke*, 51, 354-361.
- Woo, K.S. and Seib, P.A., 2002, Cross-linked resistant starch: preparation and properties, *Cereal Chemistry*, 79, 819-825.
- Xie, X. and Liu, Q., 2004, Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches, *Starch/Stärke*, 56, 364-370.
- Yoshimoto, Y., Tashiro, J., Takenouchi, T. and Tekeda, Y., 2000, Molecular structure and some physicochemical properties of high-amylose barley starches, *Cereal Chemistry*, 77, 279-285.
- Yu, L. and Chiriste, G., 2001, Measurement of starch thermal transition using differential scanning calorimetry, *Carbohydrate Polymers*, 46, 179-184.
- Yue, P. and Waring, S., 1998, Resistant starch in food applications, *Cereal Foods World*, 43, 691-695.
- Yurvey, V.P., Kalistratova, E.N., Van Soest, J.G.J. and Niemann, C., 1998, Thermodynamic properties of barley starches with different amylose content, *Starch/ Stärke*, 50, 463-466.

EKLER



Ek 1. Doğal haldeki Hylon V ve Hylon VII' e ait DSC termogramı

H5: Hylon V, H7: Hylon VII



Ek 2. Hylon V ve Hylon VII' den 0 ve 48 saat pullulanaz enzimi uygulanarak hazırlanan hidrolizatlara ait DSC termogramları

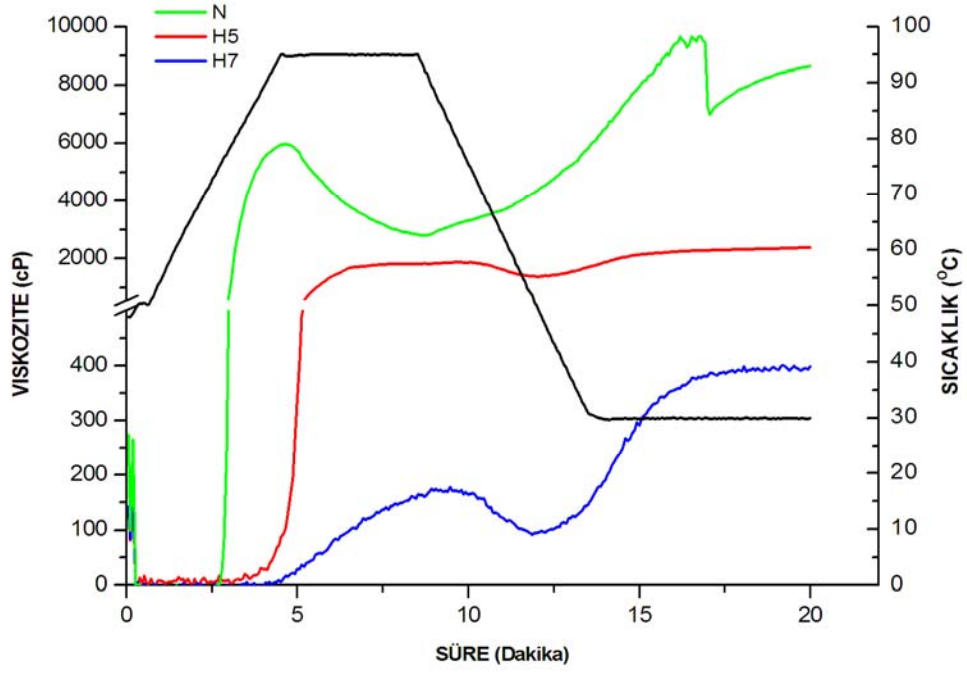
H5: Hylon V, H7: Hylon VII, 0 ve 48: enzim ile hidroliz süresi (saat)

Ek 3. Enzim hidrolizatlarına ait korelasyon katsayıları

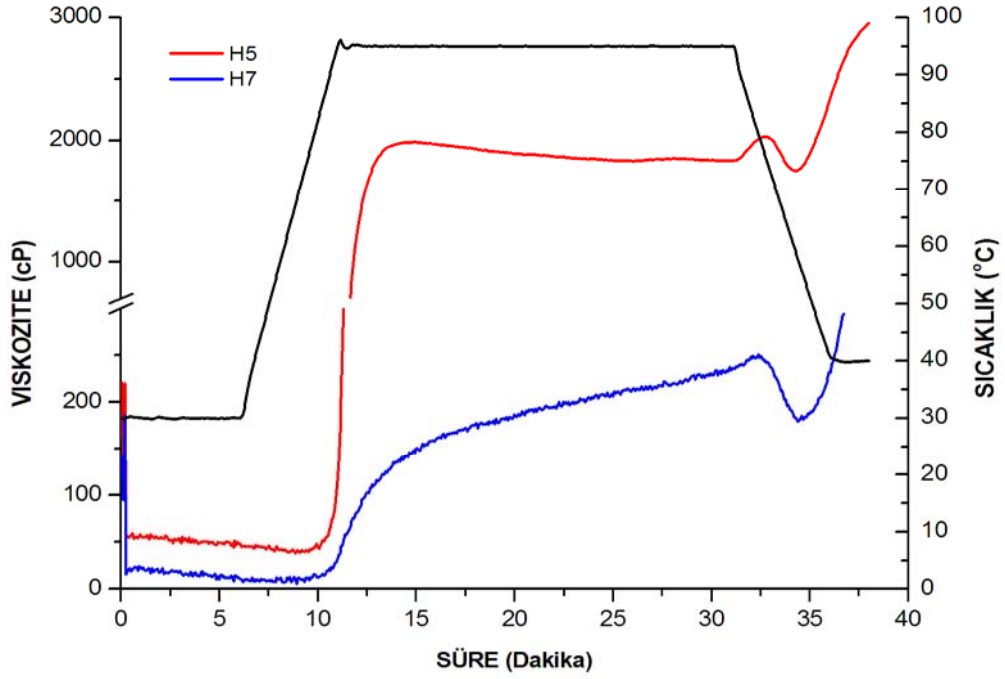
Parametre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. EDN												
2. T_o	0.683**											
3. T_p	0.832***	0.772**										
4. ΔH	0.623*	0.652*	0.447									
5. Isıtma öncesi viskozite	-0.828***	-0.749**	-0.634*	-0.850***								
6. Maksimum viskozite	0.607*	0.109	0.591*	-0.033	-0.077							
7. Karıştırma ile viskozite azalması	0.442	0.154	0.540	-0.207	0.096	0.917***						
8. Son viskozite	0.573*	0.099	0.554*	-0.088	-0.028	0.992***	0.929***					
9. Çirilenme başlangıç sıcaklığı	0.083	0.085	-0.139	0.666*	-0.462	-0.465	-0.708**	-0.521*				
10. Çözünürlük	-0.842***	-0.735**	-0.977***	-0.347	0.608*	-0.625*	-0.584*	-0.605*	0.247			
11. Su bağlama	-0.743**	-0.607*	-0.562*	-0.903***	0.941***	-0.061	0.191	0.009	-0.630*	0.490		
12. Emülsiyon kapasitesi	0.509	0.276	0.461	0.012	-0.256	0.560*	0.525*	0.605*	-0.420	-0.574*	-0.129	
13. Emülsiyon stabilitesi	0.293	0.571*	0.257	0.805***	-0.722**	-0.488	-0.616*	-0.542	0.802***	-0.156	-0.777***	-0.261

Ek 4. Modifiye nişastalar için kullanılan RVA profilinde sıcaklık-hız değişimi

Süre		
Saat:Dak:Sn	Kriter	Değer
00:00:00	Sıcaklık	50°C
00:00:00	Hız	960 rpm
00:00:10	Hız	160 rpm
00:00:30	Sıcaklık	50°C
00:04:30	Sıcaklık	95°C
00:08:30	Sıcaklık	95°C
00:13:30	Sıcaklık	30°C
00:20:00	Sıcaklık	30°C



Ek 5. Modifiye nişastalar için kullanılan profil ile elde edilen RVA viskozite grafikleri
 N: Normal mısır nişastası, H5: Hylon V, H7: Hylon VII



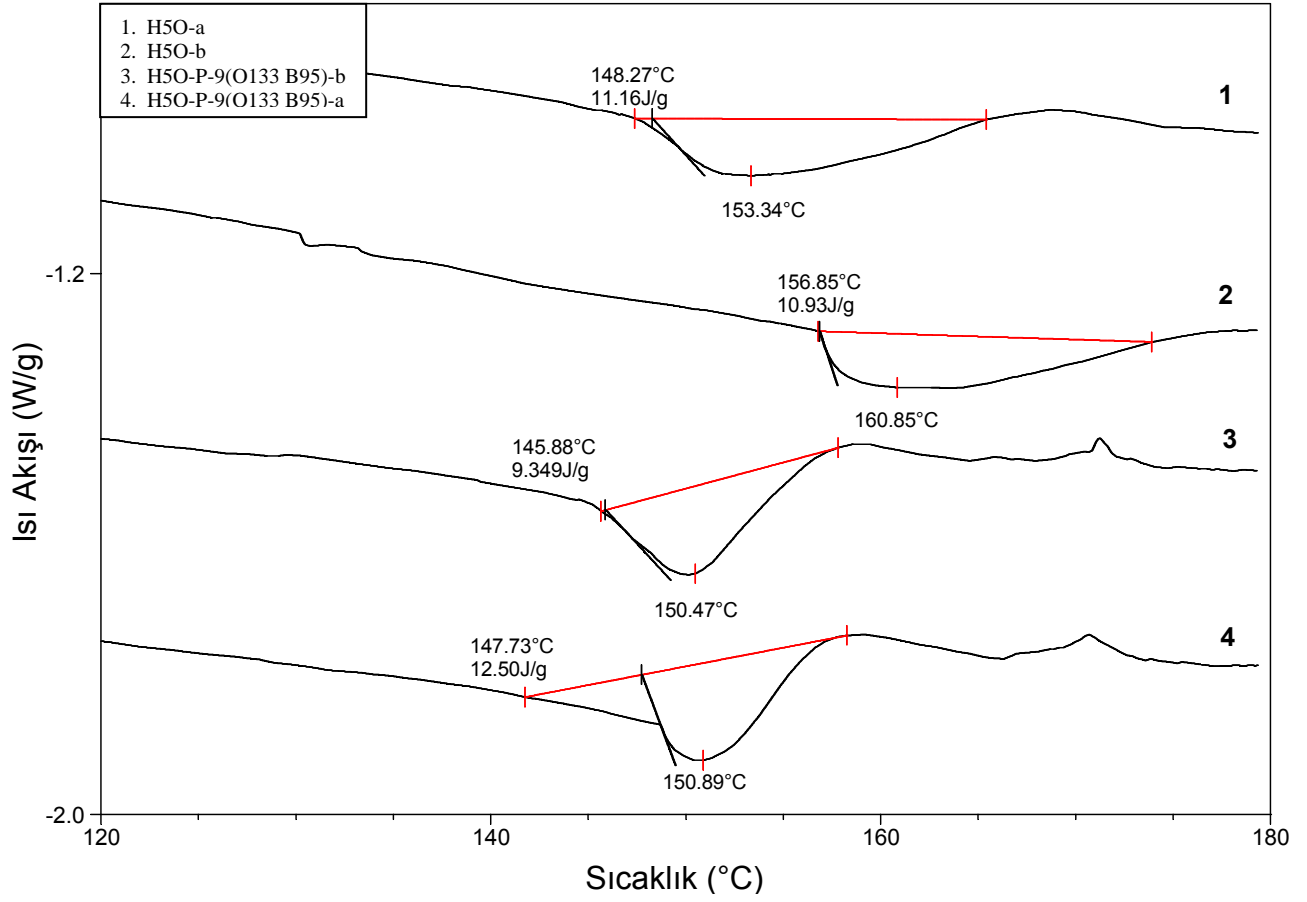
Ek 6. Hylon profili ile elde edilen RVA viskozite grafikleri
 H5: Hylon V, H7: Hylon VII

Ek 7. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizinin CIE renk değerlerine etkisi^{1,2}

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	L*	a*	b*
Hylon V	Doğal	97.0 a	-0.58	4.1 c
	0	91.6 b	-1.12	9.6 a
	3	92.4 b	-0.93	9.3 a
	6	92.1 b	-0.91	9.2 a
	12	92.6 b	-0.89	8.9 ab
	24	93.8 b	-0.89	8.4 b
	48	93.9 b	-0.91	8.3 b
Hylon VII	Doğal	96.4 a	-0.27	3.2 b
	0	91.1 b	-0.21	8.9 a
	3	91.6 b	-0.13	8.3 a
	6	91.4 b	-0.13	8.6 a
	12	91.6 b	-0.09	8.8 a
	24	90.1 b	-0.20	9.1 a
	48	91.2 b	-0.29	8.5 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık



Ek 8. Hylon V' den enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilmiş nişastalara ait örnek DSC termogramı

H5: Hylon V; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B95: 95°C' de 24 saat bekletme; 9: Otoklavlama-bekletme döngü sayısı; a: 50°C' de kurutma, b: Liyofilizasyon

Ek 9. Enzim hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örneklerle ait korelasyon katsayıları

Parametre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. EDN												
2. T_o	0.519***											
3. T_p	0.750***	0.755***										
4. ΔH	0.070	0.077	0.153									
5. Isıtma öncesi viskozite	0.349*	0.607***	0.396**	0.200								
6. Maksimum viskozite	0.760***	0.598***	0.545***	0.173	0.593***							
7. Karıştırma ile viskozite azalması	0.661***	0.619***	0.491**	0.168	0.746***	0.948***						
8. Son viskozite	0.708***	0.557***	0.479**	0.153	0.623***	0.963***	0.922***					
9. Çirşlenme sıcaklığı	-0.517***	-0.202	-0.153	0.300	-0.315*	-0.634***	-0.601***	-0.649***				
10. Çözünürlük	-0.585***	-0.295*	-0.415**	0.285*	-0.030	-0.434**	-0.326*	-0.344*	0.421**			
11. Su bağlama	0.210	0.199	0.007	-0.035	0.566***	0.313*	0.460***	0.427**	-0.418**	0.048		
12. Emülsiyon kapasitesi	0.834***	0.477***	0.596***	0.118	0.307*	0.691***	0.644***	0.648***	-0.496***	-0.502***	0.436**	
13. Emülsiyon stabilitesi	-0.595***	-0.304*	-0.251	0.013	-0.573***	-0.710***	-0.736***	-0.767***	0.752***	0.233	-0.646***	-0.648***

Ek 10. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi^{1,2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
H5D	97.0 a	-0.58	4.1 e	97.0 a	-0.58	4.1 d
H5O	91.9 b	-0.94	9.6 b	97.3 a	-0.44	3.0 f
H5O-P	92.0 b	-0.46	9.0 c	94.9 c	-0.36	5.4 c
H5O-P(O123 B4)	91.5 b	-0.18	9.2 c	96.1 b	-0.26	3.8 e
H5O-P(O123 B95)	90.3 c	0.44	10.8 a	96.3 b	-0.09	4.2 d
H5O-P(O133 B4)	91.5 b	-0.08	8.0 d	94.1 c	-0.01	6.5 b
H5O-P(O133 B95)	90.0 c	0.85	10.5 a	92.6 d	0.52	7.4 a
H7D	96.4 a	-0.27	3.2 c	96.4 b	-0.27	3.2 e
H7O	91.0 b	-0.05	9.3 b	97.0 a	-0.15	2.6 f
H7O-P	91.2 b	0.30	9.4 b	96.5 b	-0.04	3.2 e
H7O-P(O123 B4)	90.4 b	0.42	9.2 b	95.9 bc	-0.01	4.3 d
H7O-P(O123 B95)	89.0 c	1.14	11.6 a	95.3 c	0.13	5.0 b
H7O-P(O133 B4)	88.7 c	0.75	11.6 a	95.3 c	0.04	5.2 a
H7O-P(O133 B95)	86.9 d	1.63	11.6 a	95.0 c	0.25	4.9 c

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² L* : Parlaklık, a* : Kırmızılık, b* : Sarılık

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; O: 135°C' de 30 dakika ; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O123/O133: 123 ya da 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 10 saat bekletme

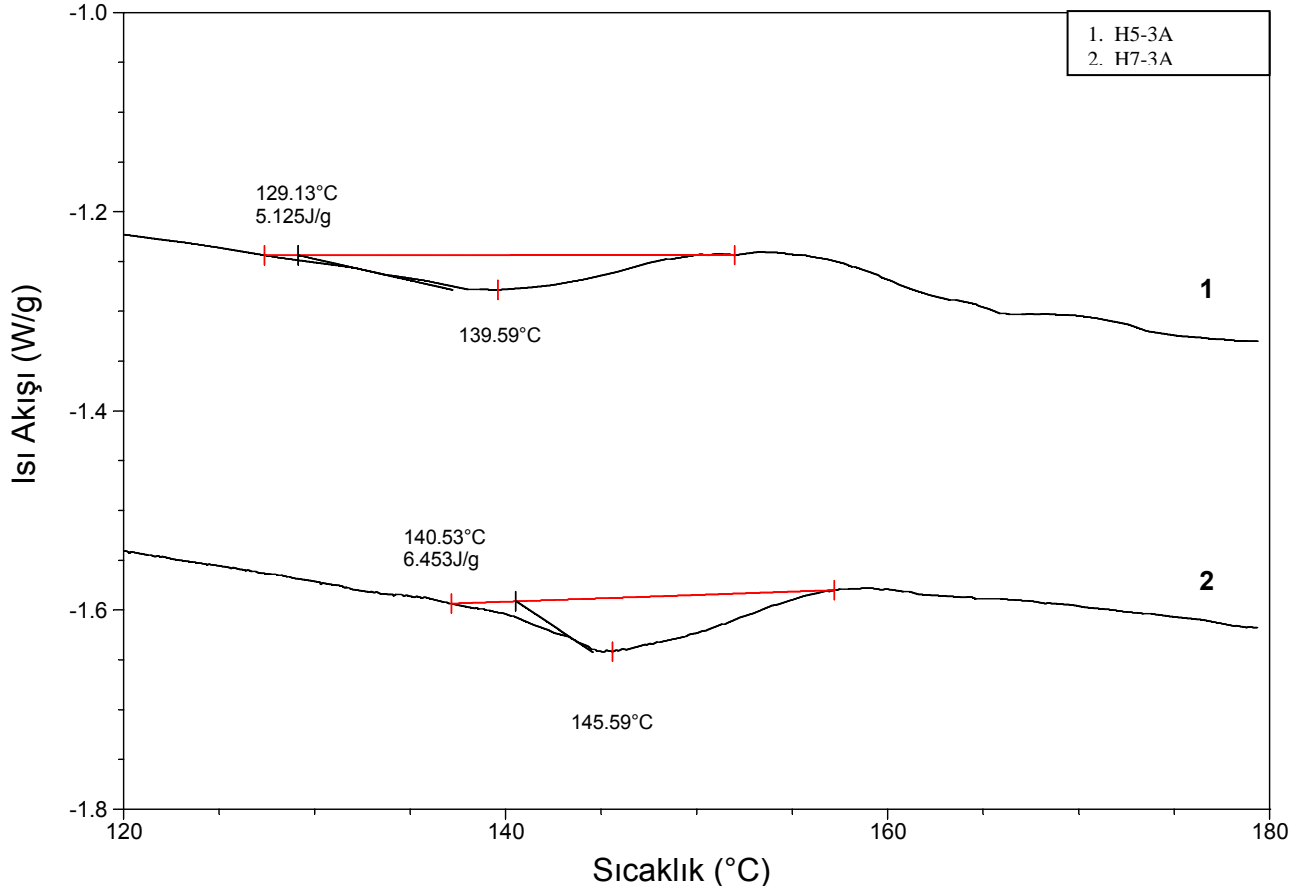
Ek 11. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde enzim hidrolizi, 9 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi^{1,2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
H5D	97.0 a	-0.58	4.1 d	97.0 ab	-0.58	4.1 e
H5O	92.5 b	-0.58	9.7 c	97.5 a	0.27	2.6 f
H5O-P	92.0 b	-0.20	9.5 c	97.4 a	0.13	2.6 f
H5O-P-3(O133 B4)	91.0 bc	0.21	9.6 c	96.0 b	0.09	3.9 e
H5O-P-3(O133 B95)	88.0 d	1.18	10.9 bc	95.3 d	0.20	4.7 d
H5O-P-6(O133 B4)	89.9 c	0.63	10.0 c	95.6 c	0.06	4.7 d
H5O-P-6(O133 B95)	82.5 e	2.53	13.6 a	92.9 f	0.58	7.1 b
H5O-P-9(O133 B4)	88.2 d	0.93	11.7 ab	94.4 e	0.17	6.1 c
H5O-P-9(O133 B95)	80.7 f	2.81	12.9 ab	91.1 g	0.92	8.1 a
H7D	96.4 a	-0.27	3.2 f	96.4 b	-0.27	3.2 f
H7O	91.6 b	0.13	9.4 e	97.4 a	-0.11	2.9 g
H7O-P	92.8 b	0.13	9.4 e	96.7 b	-0.06	3.5 f
H7O-P-3(O133 B4)	89.2 c	0.68	11.2 d	95.7 c	0.05	4.8 e
H7O-P-3(O133,95)	86.0 d	1.52	12.3 cd	94.6 d	0.27	5.7 d
H7O-P-6(O133 B4)	87.5 d	0.95	11.6 d	95.1 c	0.13	5.2 d
H7O-P-6(O133 B95)	80.8 f	2.64	14.2 b	92.4 e	0.56	7.2 b
H7O-P-9(O133 B4)	85.4 e	1.68	13.1 bc	93.9 d	0.32	6.7 c
H7O-P-9(O133 B95)	77.0 g	3.21	15.0 a	89.8 f	0.98	8.6 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² L* : Parlaklık, a* : Kırmızılık, b* : Sarılık

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; O: 135°C' de 30 dakika otoklav; P: Pullulanaz ile 48 saat hidroliz; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme; 3, 6, 9: Otoklavlama-bekletme döngüsü sayısı



Ek 12. Hylon V ve Hylon VII' den 3 saat asit hidrolizi ile üretilen örneklere ait DSC termogramı

H5: Hylon V; H7: Hylon VII; 3A: 3 saat asit hidrolizi

Ek 13. Asit hidrolizatlarına ait korelayon katsayıları

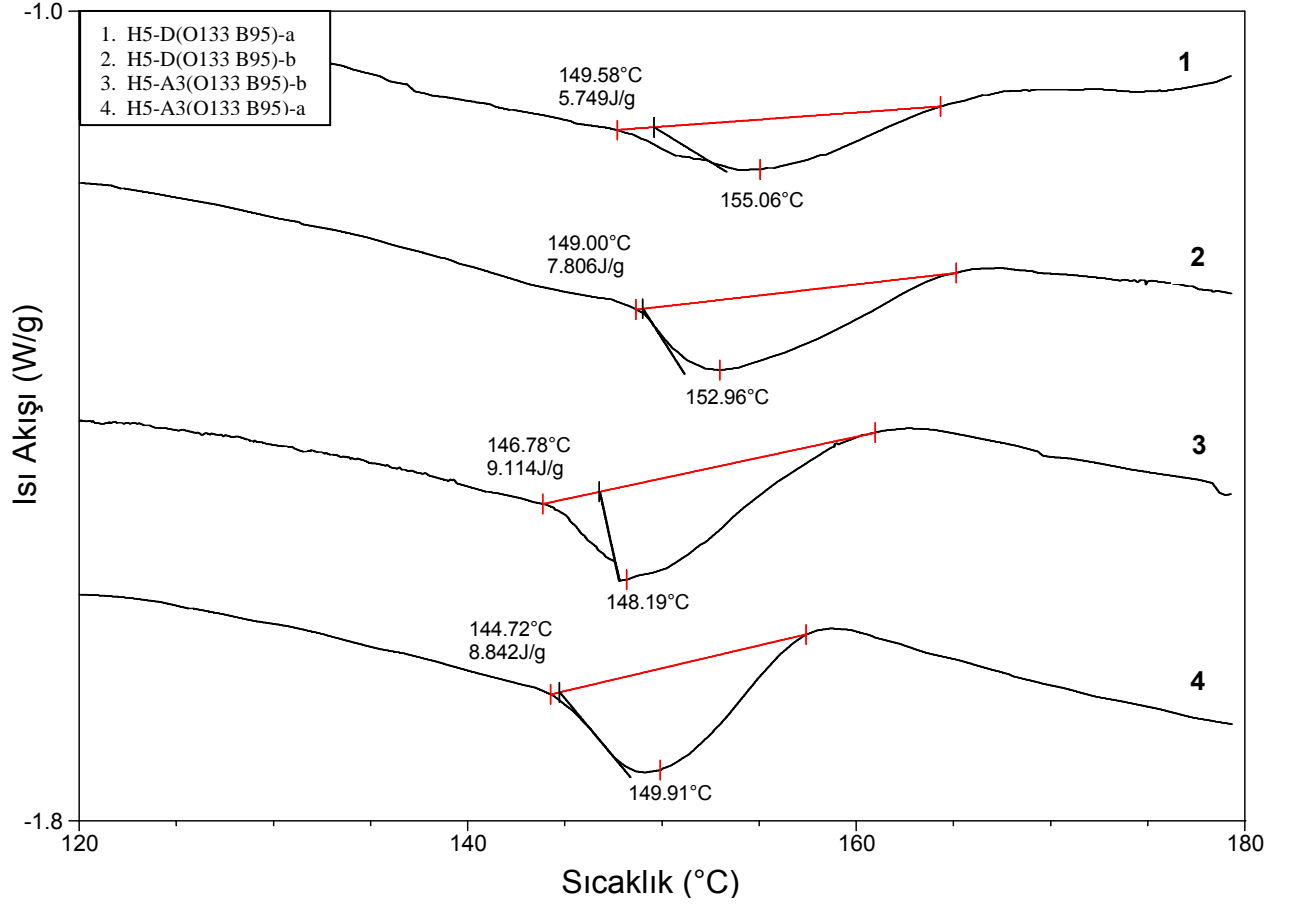
Parametre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. EDN												
2. T_o	-0.790*											
3. T_p	-0.925***	0.950***										
4. ΔH	-0.696	0.233	0.447									
5. Isıtma öncesi viskozite	0.900**	-0.582	-0.739*	-0.831*								
6. Maksimum viskozite	-0.464	0.176	0.386	0.254	-0.281							
7. Karıştırma ile viskozite azalması	-0.622	0.350	0.558	0.378	-0.424	0.975***						
8. Son viskozite	-0.444	0.104	0.332	0.301	-0.296	0.995***	0.961***					
9. Çirşlenme sıcaklığı	0.534	-0.118	-0.339	-0.769	0.464	-0.624	-0.694	-0.652				
10. Çözünürlük	0.928***	-0.557	-0.772*	-0.859**	0.915**	-0.553	-0.692	-0.560	0.716*			
11. Su bağlama	0.905**	-0.509	-0.730*	-0.861**	0.883**	-0.621	-0.745*	-0.633	0.788*	0.988		
12. Emülsiyon kapasitesi	0.811*	-0.900**	-0.933***	-0.369	0.601	-0.430	-0.603	-0.365	0.389	0.709*	0.679	
13. Emülsiyon stabilitesi	-0.072	0.532	0.301	-0.259	0.032	-0.675	-0.555	-0.738*	0.524	0.210	0.305	-0.239

Ek 14. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizinin CIE renk değerlerine etkisi^{1,2}

Örnek	Hidroliz Süresi (saat)	L*	a*	b*
Hylon V	0 (doğal)	97.0 a	-0.58	4.1 a
	1	97.1 a	-0.72	3.8 ab
	2	96.9 a	-0.73	3.7 b
	3	97.0 a	-0.76	3.7 b
Hylon VII	0 (doğal)	96.4 a	-0.27	3.2 ab
	1	96.6 a	-0.35	3.3 ab
	2	96.6 a	-0.34	3.6 a
	3	96.5 a	-0.34	3.1 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık



Ek 15. Hylon V' den asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanarak üretilen nişastalara ait örnek DSC termogramı

H5: Hylon V; D: Doğal nişasta; A3: 3 saatlik asit hidrolizatı; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B95: 95°C' de 24 saat bekletme; a: 50°C' de kurutma, b: Liyofilizasyon

Ek 16. Asit hidrolizi ve otoklavlama-bekletme döngüsü uygulanan örneklere ait korelasyon katsayıları

Parametre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. EDN												
2. T_o	-0.060											
3. T_p	-0.273	0.798***										
4. ΔH	-0.432*	-0.881	-0.631***									
5. Isıtma öncesi viskozite	0.284	0.182	0.157	0.648***								
6. Maksimum viskozite	0.273	0.309	0.429	-0.052	0.193							
7. Karıştırma ile viskozite azalması	0.381*	0.250	0.318	0.146	0.295	0.940***						
8. Son viskozite	0.171	0.267	0.428*	-0.068	0.122	0.932***	0.772***					
9. Çirilenme sıcaklığı	-0.787***	-0.068	-0.042	0.030	-0.209	-0.462*	-0.547*	-0.338				
10. Çözünürlük	0.249	-0.554**	-0.723***	0.533**	0.229	-0.426*	-0.302	-0.431*	0.006			
11. Su bağlama	0.804***	-0.018	-0.144	0.038	0.691***	0.308	0.472**	0.159	-0.750***	0.325		
12. Emülsiyon kapasitesi	0.808***	-0.177	-0.383	0.596***	0.291	0.175	0.369	-0.004	-0.713***	0.457**	0.803***	
13. Emülsiyon stabilitesi	-0.346	-0.028	-0.129	-0.380	-0.657**	-0.485**	-0.529**	-0.445**	0.415*	-0.195	-0.584***	-0.286

Ek 17. Hylon V ve Hylon VII nişasta örneklerinde asit hidrolizi, 3 otoklavlama-bekletme döngüsü ve kurutma işlemlerinin CIE renk değerlerine etkisi^{1,2}

Örnek ³	50°C' de Kurutma			Liyofilizasyon		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
H5-D(O133 B4)	91.5 a	0.19	9.3 b	97.1 a	0.11	3.0 g
H5-D(O133 B95)	88.5 b	1.05	10.8 ab	96.3 b	0.04	3.3 f
H5-A1(O133 B4)	86.6 b	1.30	12.1 ab	93.1 d	0.43	7.8 d
H5-A1(O133 B95)	83.2 d	2.18	13.2 a	94.1 c	0.40	6.1 e
H5-A2(O133 B4)	86.3 b	1.48	12.6 ab	91.5 e	0.74	9.0 a
H5-A2(O133 B95)	81.5 d	2.38	14.1 a	91.3 e	0.80	8.6 c
H5-A3(O133 B4)	84.4 c	2.00	13.5 a	91.2 e	0.81	9.2 a
H5-A3(O133 B95)	81.8 d	2.70	13.8 a	94.2 c	0.44	8.8 b
H7-D(O133 B4)	91.1 a	0.56	9.6 b	96.5 a	0.06	3.6 e
H7-D(O133 B95)	88.1 b	1.32	11.5 ab	96.3 a	0.21	4.0 d
H7-A1(O133 B4)	87.6 b	1.44	13.4 a	91.3 de	0.83	9.6 a
H7-A1(O133 B95)	81.9 c	2.82	14.4 a	90.9 e	0.90	9.6 a
H7-A2(O133 B4)	86.4 b	1.66	13.5 a	92.1 c	0.67	8.6 b
H7-A2(O133 B95)	79.6 c	3.16	14.7 a	91.7 d	0.80	8.5 b
H7-A3(O133 B4)	85.9 b	1.97	13.7 a	91.5 de	0.87	9.5 a
H7-A3(O133 B95)	81.1 c	2.90	13.9 a	94.2 b	0.54	8.5 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık

³ H5: Hylon V; H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; A1, A2 ve A3: 1, 2 ve 3 saatlik asit hidrolizatları; O133: 133°C' de 30 dakika otoklav; B4/B95: 4 ya da 95°C' de 24 saat bekletme

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Serpil Öztürk

Doğum Yeri : İstanbul

Doğum Tarihi : 18.02.1977

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1992-1994, Hasanoğlan Anadolu Öğretmen Lisesi

: 1994-1995, Ayvalık Lisesi

Lisans : 1995-2000, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans : 2000-2002, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi:

2001-2008, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü' nde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmıştır.